

Klinische Kooperationsgruppe Umweltdermatologie und Allergologie HZMGU/TUM
ZAUM – Zentrum Allergie und Umwelt
Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie am Biederstein
Technische Universität München

(Leitung: Frau Univ.-Prof. Dr. med. Heidrun Behrendt)

**Untersuchung von 8-Isoprostanen als Markersubstanzen für oxidativen Stress
bei Patienten mit atopischem Ekzem und anderen Erkrankungen des
atopischen Formenkreises**

Tanja Junge

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

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

Prüfer der Dissertation: 1. Univ.-Prof. Dr. H. Behrendt
2. Priv.-Doz. Dr. M. Mempel

Die Dissertation wurde am 12.12.2007 bei der Technischen Universität München
eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 09.04.2008 angenommen.

Für meine Eltern

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	7
1.1	Oxidativer Stress.....	7
1.2	F ₂ -Isoprostane	11
1.3	Asthma bronchiale und oxidativer Stress	19
1.4	Atopisches Ekzem und oxidativer Stress.....	23
1.5	Allergische Rhinitis und oxidativer Stress.....	28
2	Zielsetzung.....	32
3	Material und Methoden.....	33
3.1	Material.....	33
3.1.1	Probanden und Einschlusskriterien sowie Einflussgrößen.....	33
3.1.2	Serum-, Plasma- und Urinproben von Patienten (s.3.1.1) und gesunden Kontrollpersonen (s.3.1.1)	34
3.1.3	Geräteliste.....	34
3.1.4	Chemikalien und Materialien	35
3.2	Methoden.....	36
3.2.1	Anamnese.....	36
3.2.2	Hautbefunderhebung	36
3.2.3	SCORAD.....	36
3.2.4	Blut -und Urinproben	37
3.2.5	Aufreinigung der Proben	38
3.2.6	Enzymimmunoassay (ELISA).....	43
3.2.7	Kreatininbestimmung	48
3.2.8	IgE-Bestimmung.....	49
3.2.9	Dokumentation.....	49
3.2.10	Datenanalyse und Statistik.....	49
3.2.11	Studienablauf	49
4	Ergebnisse	51
4.1	Vergleich der verschiedenen Aufreinigungsmethoden der Proben und Vergleich des unterschiedlichen Materials zur Detektion der 8-Isoprostanwerte.....	51
4.2	Auswertung der Messungen der Urinproben aller Probanden unter Berücksichtigung jeglicher Einflussfaktoren	59
4.2.1	Natürliche Einflussfaktoren.....	60
4.2.2	Externe Einflussfaktoren	61
4.2.3	Krankheiten als Einflussfaktoren	64
4.3	Auswertungen der in den Blutproben aller Probanden gemessenen IgE -Werten	70
5	Diskussion.....	77
5.1	Einleitende Darstellung der wichtigsten Ergebnisse	77
5.2	Vorversuche.....	78
5.3	Natürliche Einflußfaktoren	79
5.4	Externe Einflussfaktoren	80
5.4.1	Zigarettenkonsum	80
5.4.2	Einnahme von Antioxidantien.....	80
5.4.3	Hormoneinnahme.....	81
5.5	Krankheiten als Einflussfaktoren	82
5.5.1	Zusammenhänge zwischen ganzjähriger allergischer Rhinitis atopischem Ekzem, saisonaler Rhinitis, allergischem Asthma und F2-Isoprostanen	82
5.6	Zusammenhänge zwischen 8-Isoprostanen, Serum-IgE, ganzjähriger und saisonaler allergischer Rhinitis, allergischem Asthma und atopischem Ekzem sowie Antihistaminikatherapie und SCORAD.....	85
6	Zusammenfassung.....	88
7	Literaturverzeichnis	89
8	Danksagung	101
9	Appendices	102
9.1	Appendix I – Dokumentationsbögen.....	102

9.1.1	Anamnesebogen.....	102
9.1.2	Hautbefundbogen.....	105
9.1.3	SCORAD-Bogen	106
9.2	Appendix II – Datensammlung	107
9.2.1	Daten zu Anamneseerhebung.....	107
9.2.2	Daten zu Abbildungen	115

Verzeichnis der Abkürzungen

8-iso-PGF _{2α}	8-Isoprostaglandin F _{2α}
8-OhdG	8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine
AE	Atopisches Ekzem
AR	Allergische Rhinitis
BALF	Bronchoalveoläre Lavage
CysLTs	Cysteinyl Leukotriene
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EBC	Exhaled breath kondensate
ECP	Eosinophiles cationisches Protein
ELISA	Enzymimmuno assay
eNO	exhaled nitric oxid
EPO	Eosinophilen Peroxidase
FEV1	Einsekundenkapazität
GC/MS	Gas chromatographie/Mass spectrometry
GMCSF	Granulozyten-Makrophagen-Colony stimulierender Faktor
GSH	Gluthation
HPLC	High performance lipid chromatographie
MDA	Malondialdehyd
NADPH	Nikotinamid-Adenin-Dinucleotid phosphatabhängiges Superoxid generierendes System
PGE	Prostaglandin E
PGF	Prostaglandin F
PGHS	Prostaglandin H Synthase
PMN's	polymorphkernige Leukozyten
RAST	Radio-Allergo-Sorbent-Test
RHS	Reactive halogen species
RNS	Reactive nitrogen species
ROS	Reactive oxygen species/Reaktive Sauerstoffspezies
SCORAD	Severity scoring of atopic dermatitis
SOD	Superoxiddismutase
TBARS	Thiobarbituric acid-reacting substances

TNF

Tumornekrosefaktor

1 Einleitung

1.1 Oxidativer Stress

Um oxidativen Stress genauer zu charakterisieren, sind vorab die Begriffe freie Radikale und „Reaktive Sauerstoffspezies“ (ROS) zu klären.

Freie Radikale sind aufgrund ihrer atomaren oder molekularen Struktur hochgradig instabile Atome, Moleküle oder Verbindungen und daher sehr reaktiv. Um einen stabilen Status zu erreichen, reagieren sie mit anderen Atomen oder Molekülen in der Zelle [24].

Insbesondere Sauerstoff ist häufig an der Produktion bestimmter freier Radikale, welche ROS heißen beteiligt.

In der mitochondrialen Atmungskette spielt Sauerstoff eine große Rolle in der ATP-Produktion, welche die Energie für viele zelluläre Reaktionen und Funktionen bereitstellt.

Am Ende der Atmungskette wird das Elektron nach zahlreichen Elektrontransfers auf das Sauerstoffmolekül übertragen, welches mit Protonen in Zellen reagiert, um Wasser (H_2O) zu generieren.

Während dieses Vorgangs wird der Sauerstoff (O_2), der in der Atmungskette verbraucht wird, jedoch zum Teil zu 2 bis 3 Prozent zu ROS reduziert [24].

Zu den wichtigsten ROS zählen radikale Sauerstoffverbindungen, wie das Superoxidanion ($O_2^{\cdot-}$), Wasserstoffperoxid (H_2O_2), Hydroxylradikal ($\cdot OH$) und 1O_2 [24, 40], welche als Zwischenprodukte in der Atmungskette entstehen und sehr instabil und reaktionsfreudig sind, aber trotzdem bevor sie Zellen verletzen können, zum Großteil zu Wasser umgewandelt werden.

Die Atmungskette verbraucht 80% des vom Organismus aufgenommenen Sauerstoffs und zählt somit zu den Hauptentstehungsorten von ROS. Eine weitere bedeutende endogene Quelle der ROS-Produktion sind die Zytochrom P450 Enzyme in der Leber, die unter Verwendung von Sauerstoff Verbindungen, die mit der Nahrung oder von außen aufgenommen werden, entgiften und körpereigene Stoffe metabolisieren und dabei geringe Anteile an ROS herstellen.

ROS werden auch in zellfreien Systemen wie Xanthin/Xanthin Oxidase, Thiolen, Ascorbinsäure, Chelatbildnern, Xenobiotica, Übergangsmetallen wie $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ oder $\text{Cu}^{1+}/\text{Cu}^{2+}$ und anderen produziert [40].

Auf der anderen Seite spielen ROS auch eine entscheidende Rolle bei der Abwehr von Pathogenen, da sie in Zellen, die der Immunabwehr dienen, wie neutrophilen Leukozyten und Makrophagen hergestellt werden.

Wenn diese Zellen aktiviert werden produzieren sie mit Hilfe ihres NADPH Oxidase Komplexes Superoxidradikale und Wasserstoffperoxide. H_2O_2 reagiert dann wiederum mit Chloridionen in der Zelle, um Hypochlorite zu produzieren, welches daraufhin das Pathogen zerstört [24].

Außerdem dienen eosinophile Granulozyten, polymorphkernige Leukozyten (PMNs), Mikrogefäßendothelzellen, Erythrozyten und Keratinozyten als Quelle für die ROS-Generierung [30]. Auf einige dieser Quellen wird im späteren Verlauf genauer eingegangen. Neben dieser endogenen Herstellung von ROS bestehen auch exogene Quellen für ROS, denen der Mensch ausgesetzt ist, wie Tabakrauch, UV-Strahlung, Schwermetalle, Nitrogenoxid, organische Lösungsmittel, Pestizide, Herbizide wie Paraquat und Chemotherapeutika [40].

Dadurch dass ROS sehr instabil und hochreaktiv sind, können sie mit den meisten zellulären Makromolekülen, einschließlich Proteinen, Lipiden und DNA reagieren, indem sie von diesen ein Elektron übernehmen, was letztlich einen Zellschaden induziert.

Die Lipidoxidation ist mit über 26000 Arbeiten sehr gut untersucht [23]. Zahlreiche folgenschwere Konsequenzen werden durch diese Oxidationsprozesse ausgelöst. Durch die Oxidation von Proteinen kommt es zu Veränderungen in deren dreidimensionaler Struktur genauso wie zu deren Fragmentation, Aggregation und zu Kreuzverbindungen dieser. Außerdem werden für die Zellfunktion notwendige Enzyme geschädigt sowie Gen-Regulation und -Expression beeinflusst und weitere neue reaktive Spezies (Peroxide, DOPA) gebildet.

Im Fall der DNA-Moleküle werden durch die ROS Strangbrüche verursacht sowie Nukleotide entfernt und zahlreiche Modifizierungen der organischen Basen der Nukleotide verursacht.

Da Lipide Phospholipide enthalten, sind sie essentielle Bestandteile von Membranen, die Zellen und zelluläre Strukturen umgeben, und daher die Lipid Oxidation zur Schädigung dieser führt und letztendlich zur eingeschränkten Lebensfähigkeit der

Zelle. Auf weitere Mechanismen der Lipid Oxidation wird später noch genauer eingegangen.

All die geschilderten Reaktionen sind maßgeblich an der Entwicklung chronischer Erkrankungen beteiligt. Dazu zählen unter anderem kardiovaskuläre Erkrankungen, Lungenerkrankungen, Atherosklerosis, Krebserkrankungen, Diabetes, neurodegenerative Krankheiten, Strahlenschäden, Vergiftungen mit Schwermetallen, Vitaminmangel, chronische Entzündungen, Rauchen, Emphysem, M. Behcet, Systemischer Lupus erythematosus, rheumatoide Arthritis, M. Crohn, Colitis ulcerosa, Dermatitis herpetiformis Dühring und Katarakt [24].

Um der ROS Produktion, die ein natürlicher Prozess im Körper ist, entgegen zu wirken und die Zellen somit zu schützen, gibt es diverse enzymatische und nicht-enzymatische Mechanismen in den Zellen.

ROS können also nur zu ernsthaften Schäden und chronischen Erkrankungen führen, wenn die Anzahl dieser erhöht ist oder die Zahl oder Aktivität der Antioxidantien, also der Radikalfänger, vermindert ist.

Der dann resultierende Zustand, welcher charakterisiert ist durch ein gestörtes Gleichgewicht zwischen der einerseits erhöhten Produktion von ROS und der Entfernung von ROS und der Reparatur geschädigter Moleküle auf der anderen Seite, wird oxidativer Stress genannt [24, 62].

Zu den enzymatischen Antioxidantien, die der ROS Elimination dienen, zählen die Superoxiddismutase (SOD), die Katalase und die Glutathionperoxidase.

Es gibt mehrere SODs, die sich durch ihren Wirkungsort in der Zelle und das für ihre Funktion notwendige Metallion unterscheiden. Die SOD katalysiert die Reaktion vom Superoxidanion zu Wasserstoffperoxid und Sauerstoff $2O_2^{\cdot-} + 2H^+ = H_2O_2 + O_2$.

Die Katalase ist ein Eisenhaltiges Enzym vor allem in den Peroxisomen lokalisiert, das wiederum die Aufspaltung von Wasserstoffperoxid zu Wasser und Sauerstoff katalysiert $2H_2O_2 = 2H_2O + O_2$.

Das Glutathionperoxidase System, bestehend aus der Glutathionperoxidase, Glutathionreduktase und den Kofaktoren Glutathion (GSH) und reduziertem NADPH, kann ebenfalls effektiv H_2O_2 beseitigen.

GSH ist eines der wichtigsten nicht-enzymatischen Antioxidantien in der Zelle neben Vitamin E (α -Tocopherol), Vitamin C (Ascorbinsäure) und Vitamin A.

GSH besteht aus drei Aminosäuren und dient als Kofaktor der Gluthationtransferase, welche für die Eliminierung von Giften, Chemikalien und anderen reaktiven Molekülen in der Zelle zuständig ist und kann auch direkt ROS entgiften.

Um nun den oxidativen Stress messen zu können, wurden Methoden entwickelt, die entweder die erhöhte Anzahl an ROS oder die verminderte Aktivität oder Menge an antioxidativen Mechanismen detektieren.

Zur Messung von ROS im venösen Blut und Serum werden wie bei Ionescu *et al.* Chemiluminescence Assays verwendet. Aber auch Antioxidantien wie die SOD, Katalase, Gluthationperoxidase oder -reduktase werden mit Hilfe spektrophotometrischer Verfahren detektiert [53,99]. Nicht-enzymatische Antioxidantien wie Vitamin A (Retinol) und α -Tocopherol können mittels High performance liquid chromatographie (HPLC) gemessen werden [2].

Da ROS sehr instabil und hoch reaktiv sind, reagieren sie wie schon erwähnt mit Protein-, DNA- und Lipidmolekülen, was zu deren Peroxidation führt.

Im Falle der DNA entsteht in Folge spezifischer enzymatischer Spaltung nach 8-Hydroxylation der Guanin-Base als Produkt 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG). Dieses bei oxidativer Schädigung entstehende Produkt kann mittels Enzymimmuno assay (ELISA) im Urin von Patienten als Marker für oxidativen Stress *in vivo* gemessen werden [78, 27, 51].

Im Rahmen dieser Arbeit soll jedoch die Lipidoxidation und deren Produkte als Marker für oxidativen Stress im Vordergrund stehen.

Zahlreiche Marker wie gerade dargestellt stehen der Messung vor allem *in vitro* zur Verfügung doch mangelt es diesen an Spezifität und Sensitivität und die Messmethoden benötigen invasive Verfahren. In Bezug auf die Lipidperoxidation wird am häufigsten ein Produkt dieser, Malondialdehyd (MDA), mittels eines Thiobarbituric acid-reacting substances (TBARS) assay gemessen [3, 62].

Dieser Marker ist kein spezifisches Produkt der Lipidperoxidation und der Assay ist nicht spezifisch für MDA.

Neuerdings wurde die Messung der F_2 -Isoprostane als verlässlichster Marker für oxidativen Stress *in vivo* etabliert.

Im nächsten Abschnitt wird dieser Marker genauer beschrieben.

1.2 F₂-Isoprostane

1990 wurde zum ersten Mal von Morrow *et al.* [70] über Prostaglandin ähnliche Verbindungen berichtet, die *in vivo* unabhängig von der Prostaglandin H Synthase (PGHS), hauptsächlich durch die mittels freier Radikale und ROS, also nicht-enzymatisch katalysierten Peroxidation der Arachidonsäure, hergestellt werden. Der nicht PGHS-katalysierte Syntheseweg dieser Verbindungen ist dadurch bewiesen, dass durch Gabe von Aspirin oder Indomethacin dieser nicht gehemmt werden kann [26].

Wie schon im vorigen Kapitel erwähnt, können neben DNA und Proteinen, vor allem auch Lipide als Angriffsfläche für ROS dienen. Die Lipidperoxidation ist ein sich selbst ausdehnender Vorgang der durch antioxidative Mechanismen limitiert wird.

(R•= Freie Radikal Spezies, L=Lipid, A=Antioxidant)

Initiation: $R\bullet + LH \rightarrow RH + L\bullet$

Propagation: $L\bullet + O_2 \rightarrow LOO\bullet$

$LOO\bullet + LH \rightarrow LOOH + L\bullet$

Termination: $L\bullet + AH \rightarrow LH + A\bullet$

$A\bullet + LOO\bullet \rightarrow LOO-A$

Diese durch freie Radikale induzierte Peroxidation von Lipiden, die vor allem auch Bestandteil von Membranen sind, kann sehr schädigenden Einfluss auf Membraneigenschaften wie deren Flüssigkeitsgehalt haben oder membrangebundene Enzyme oder Rezeptoren inaktivieren, was die zelluläre Funktion beeinträchtigt und zum Zelltod führen kann.

Der Großteil der Arachidonsäure ist in Phospholipiden der Membran verestert. Daher werden die F₂-Isoprostane anfangs an Phospholipide verestert gebildet und daraufhin durch Phospholipasen aus diesen freigesetzt [97].

Nach der geschilderten Peroxidation der Arachidonsäure, werden drei Arachidon-Radikale produziert, die einer inneren Ringbildung unterzogen werden, um sodann als Zwischenprodukte vier PGH₂ ähnliche bityklische Endoperoxid-Regioisomere zu bilden [62]. Denn diese werden dann zu vier F-Ring Regioisomeren reduziert, von

denen jedes aus acht zu Trauben geformten Diastereoisomeren besteht. Da diese Verbindungen eine Reihe von 64 Isomeren sind, die den Prostanring der Prostaglandine enthalten, werden sie als F_2 -Isoprostane bezeichnet. Isoprostan-Endoperoxide können in vivo umgelagert werden, um E- oder D-Ring und Thromboxan-Ring Verbindungen zu bilden.

E_2 - und D_2 -Isoprostane werden in vivo dehydriert, um reaktive Cyclopentone A_2 - und J_2 -Isoprostane herzustellen. Es können ebenfalls hoch reaktive γ -Ketoaldehyde (isolevuglandins) durch Umlagerung der Isoprostan-Endoperoxide entstehen. Ebenso können vielfach ungesättigte Fettsäuren von ROS angegriffen werden und Isoprostane produzieren. Im Gegensatz zu den vier Klassen von F_2 -Isoprostanen die aus der Arachidonsäure entstehen, werden bei der Peroxidation der Eicosapentaenonsäure sechs Klassen von F_3 -Isoprostanen generiert, bei der α -Linolensäure und γ -Linolensäure zwei Klassen von E_1 - und F_1 -Isoprostanen jeweils und bei der Docosahexaenonsäure acht Klassen von D_4 -Isoprostanen und acht Klassen von E_4 -Isoprostanen. Die Produkte der Docosahexaenonsäure, welche eine der am häufigst vorkommenden ungesättigten Fettsäuren im zentralen Nervensystem darstellt, werden deshalb auch Neuroprostane genannt und dienen als Marker für neuronalen oxidativen Stress. Diese unterliegen dem gleichen Weg wie dem der oben geschilderten Isoprostane und können so auch noch A_4 - und J_4 -Isoprostane (Neuroprostane) herstellen [41, 62]. Über die Stoffwechselwege der Isoprostane ist wenig bekannt außer bei dem 8-Isoprostaglandin $F_{2\alpha}$ oder 15- F_{2t} -Isoprostan (8-iso-PGF $_{2\alpha}$). Der Hauptmetabolit dessen im Urin ist das 2,3-Dinor-5,6-dihydro-15- F_{2t} -Isoprostan beim Menschen.

Neben der nicht-enzymatischen durch freie Radikale katalysierten Produktion der Isoprostane, ist auch eine enzymatische Synthese, beschränkt auf die 8-iso-PGF $_{2\alpha}$, durch die PGHS-1 und PGHS-2 möglich. Das Enzym PGHS enthält Häm, welches für dessen zwei katalytische Aktivitäten benötigt wird und zwar als eine Cyclooxygenase und eine Peroxidase. Es gibt zwei PGHS Isoenzyme PGHS-1 und PGHS-2, welche jedoch keineswegs in einer streng stereospezifischen Weise agieren. Beide produzieren geringe Mengen an ausschließlich 8-iso-PGF $_{2\alpha}$. Aktivierte menschliche Plättchen, welche PGHS-1 enthalten, und Monozyten, die PGHS-2 enthalten, produzieren einen geringen Gehalt von nur 0,005-0,1% an 8-iso-PGF $_{2\alpha}$. Somit trägt die enzymatische Bildung von 8-iso-PGF $_{2\alpha}$ nur zu einem geringen Anteil zur gesamten Biosynthese der 8-iso-PGF $_{2\alpha}$ bei. Daher kann der 8-iso-PGF $_{2\alpha}$

Gehalt unbedenklich als Index für oxidativen Stress genommen werden [73,79]. Wie schon in 1.1 geschildert gibt es mehrere Marker und Methoden zur Messung von oxidativem Stress.

Für die Messung der Lipidperoxidation, die zur Klärung der entscheidenden Rolle von oxidativem Stress bei der Pathogenese von menschlichen Erkrankungen beiträgt, gab es bisher nur unbefriedigende Messmethoden und Marker.

Das liegt vor allem daran, dass die Assays nicht spezifisch für das zu messende Produkt der Lipidperoxidation sind, das Produkt wiederum kein spezifisches Produkt der Lipidperoxidation ist, die Sensitivität des Assays, um eine ausreichende Menge des zu messenden Produktes, die in normalen Subjekten erwartet wird, zu detektieren, zu mangelhaft ist, der Gehalt der Marker durch externe Faktoren wie den Lipidgehalt einer Diät beeinflusst werden kann oder der Assay eine zu invasive Vorgehensweise fordert.

Die F_2 -Isoprostane hingegen werden als die best verfügbaren Biomarker des oxidativen Stress Status und der Lipidperoxidation *in vivo* angesehen. Dies rührt daher, dass sie auch im Gegensatz zu anderen Produkten des Isoprostanweges wie D_2 - oder E_2 -Isoprostane chemisch stabil sind. Außerdem sind sie spezifische Produkte der Lipidperoxidation, werden *in vivo* gebildet, sind nicht beeinflussbar durch den Lipidgehalt von Diäten, sind in jedem normalen Gewebe und allen biologischen Flüssigkeiten in einer messbaren Menge vorhanden und können so als sensitiver Parameter dienen, um die richtige Dosis bei einer Antioxidantiengabe zu finden [97].

Um die endogene Produktion der F_2 -Isoprostane zu messen, müssen die Messung der verestherten F_2 -Isoprostane in Biopsien und Plasma-Lipoproteinen, die Messung von freien unverestherten F_2 -Isoprostanen in biologischen Flüssigkeiten, wie Plasma und Urin und die Messung des Hauptmetaboliten des 8-iso-PGF $_{2\alpha}$ im Urin, das 2,3-dinor-5,6-dihydro-15- F_{2t} -Isoprostan, welches eine exakte Bestimmung der totalen endogenen Produktion der F_2 -isoprostane liefern kann, berücksichtigt werden .

Die Messung der Isoprostane im Urin ist der im Plasma häufig vorzuziehen, da keine invasiven Verfahren, wie Blutentnahmen, benötigt werden, keine Autooxidation der im Plasma befindlichen Arachidonsäure stattfindet, welche eine artifizielle Herstellung von Isoprostanen bewirkt und die Isoprostane sehr stabil sind im Urin.

Es besteht kaum eine signifikante tageszeitliche Schwankung der Isoprostankonzentrationen im Urin, aber diese variieren unter klinischen und

experimentellen Bedingungen, in welchen oxidativer Stress gemessen wird und verlaufen parallel zum Schweregrad der Erkrankung [41].

Messungen von oxidativem Stress und Entzündung bei Patienten mit Lungenerkrankungen erfolgten durch Detektion der F_2 -Isoprostane in ausgeatmetem Atemgas, was eine sehr schonendes Verfahren ist, aber die F_2 -Isoprostane können auch in der bronchoalveolären Lavage (BALF) detektiert werden [62].

Als Messtechniken stehen die Gas chromatographie/Mass spectrometry (GC/MS) und der ELISA zur Verfügung. Für die schon länger in Gebrauch stehende und als Referenzmethode dienende GC/MS spricht eine hohe Spezifität und Sensitivität, demgegenüber aber der hohe Kostenfaktor und ein großer Zeitaufwand stehen. Beim ELISA besteht dahingehend der Vorteil einer kostengünstigeren und einfacheren Durchführung mit neuerdings kommerziell erhältlichen ELISA – Kits, wobei hier aber auf eine so hohe Spezifität wie bei der GC/MS verzichtet werden muss, da es schwieriger ist nur ein Isomer also 8- epi-PGF_{2α} zu messen, weil noch andere sehr strukturähnliche Isomere und zwar 8-iso-(15*R*)-PGF_{2α} und 9β-PGF_{2α} an die Antikörper binden. Die große und stark variierende Zahl an Oxidationsprodukten und deren Ähnlichkeit in der Struktur erschwert es beiden Methoden genau zu differenzieren [87]

Isoprostane sind aber nicht nur Biomarker für oxidativen Stress, sondern haben auch zahlreiche biologische Effekte, die darauf hinweisen, dass sie auch als pathophysiologische Mediatoren des oxidativen Stresses fungieren können.

Diese Effekte sind limitiert auf 8-iso-PGF_{2α}, welches ein potenter Vasokonstriktor ist.

In der Ratte sind 8-iso-PGF_{2α} extrem potente Konstriktoren der afferenten renalen Arteriole, was die glomeruläre Filtrationsrate und den renalen Blutfluss um 40-45% in den niedrig nanomolaren Bereich reduziert [101]. In Tierversuchen zeigte sich, dass 8-iso-PGF_{2α} auch in anderen Gefäßsystemen als Konstriktoren fungieren und zwar in der Arteria pulmonalis [43], in Koronararterien [47], Zerebralarterien [37], Gefäßen der Retina [50] und der Portalvene der Leber [55]. Die Wirkungen von 8-iso-PGE₂ und 8-iso-PGF_{2α} sind beinahe gleich im Herzen des Meerschweinchens. Das ist interessant, da die Prostaglandine PGE und PGF normalerweise entgegengesetzte Wirkung als verwandte Liganden der PGE und PGF Rezeptoren an den glatten Muskelzellen der Gefäße haben, denn PGE₂ ist dort ein Vasodilatator und PGF_{2α} ist ein Vasokonstriktor.

Die erwähnten Effekte beider können beinahe komplett von Thromboxan A₂ Rezeptorantagonisten aufgehoben werden, was darauf hinweist, dass Isoprostane mittels eines gemeinsamen Thromboxanrezeptors ihre biologischen Effekte vermitteln könnten. Um jedoch die durch den Thromboxan A₂ Rezeptor vermittelte Plättchenaggregation *in vivo* hervorzurufen, sind, wie Bindungseigenschaften und funktionelle Studien aufzeigen, die physiologischen Plasmakonzentrationen der 8-iso-PGF_{2α} weit unter den mikromolaren Konzentrationen, die dafür erforderlich wären [5]. Dennoch sind die Rezeptor vermittelten Reaktionen und die Art der Rezeptoren der Isoprostane noch nicht ausreichend erklärt, auch ob ein spezieller Isoprostanrezeptor besteht.

Dahingegen rufen die genannten Isoprostane viel potenter eine Reaktion der glatten Muskelzellen hervor als die Thromboxan A₂ Rezeptoragonisten. In Retina- und Hirngefäßen von Ferkeln wurde gezeigt, dass die Vasokonstriktion ausgelöst wird durch die Induktion der Thromboxanbildung im Endothel [37, 50]. Außerdem verursachen 8-iso-PGF_{2α} die Kontraktion von menschlicher glatter Bronchialmuskulatur *in vitro* [45] und induzieren die Behinderung des Atemflusses und die Plasmaexsudation in Meerschweinchen *in vivo* [77, 45]. Auch der Hauptmetabolit des 8-iso-PGF_{2α} im Urin ist ein potentieller Vasokonstriktor von Mikrogefäßen der Retina und des Gehirns.

Weiterhin tragen die Wirkungen der Isoprostane *in vitro* entscheidend zur Pathophysiologie der Artherosklerose bei. Denn 8-iso-PGF_{2α} begünstigt die Plättchenaggregation [80] und induziert die Zellteilung in glatten Gefäßmuskelzellen [101]. Darüber hinaus werden F₂-Isoprostane in erhöhtem Maß gebildet während der LDL Oxidation *in vitro* [52] und sie tragen zu proadhesiven Effekten zu Neutrophilen bei, welche durch minimal oxidativ verändertes LDL induziert werden [29]. Isoprostane stimulieren die Fibroblastenproliferation [49], sind Ursache für die Hypertrophie von neonatalen Ventrikelmonozyten von Ratten [48], und können die Zellbiologie des Endothels verändern.

Nach der Darstellung der Synthesewege, der Messmethoden und Messmedien, der biologischen Wirkungen und Funktionen und der klar dargestellten Vorteile der Isoprostane als Marker für oxidativen Stress, wird die entscheidende Bedeutung dieser für klinisch relevante Erkrankungen klar. Diverse Quellen für die Produktion der Isoprostane, wurden schon in Kapitel 1.1 unter den Systemen für die Entstehung freier Radikale und ROS ausführlich abgehandelt.

Erhöhte Isoprostanwerte wurden im Plasma, Urin, BALF und Exhaled breath condensate (EBC) nach Vergiftungen und bei zahlreichen Syndromen und Erkrankungen gemessen, die mit einer exzessiven Herstellung freier Radikale assoziiert sind. Dazu zählen kardiovaskuläre, neurologische und pulmonale Erkrankungen sowie Nierenerkrankungen, Lebererkrankungen, diverse kardiologische Risikofaktoren und weitere, die alle in folgender Tabelle 1.2.1 aufgeführt werden [62].

Tabelle 1.2.1 : Erkrankungen und pathophysiologische Bedingungen bei denen die F₂-Isoprostanwerte erhöht sind aufgrund oxidativem Stresses

Kardiovaskuläre Erkrankungen	Lungenerkrankungen
<ul style="list-style-type: none"> – Artherosklerose [85] – Ischämie / Reperfusionsschaden [25, 88] – Erkrankung der Koronararterien [104] – Herzversagen [54, 76] – Renovaskuläre Erkrankung [57] 	<ul style="list-style-type: none"> – Asthma [66, 26] – Chronisch obstruktive Lungenerkrankung [65, 81] – Zystische Fibrose [64, 14] – Interstitielle Lungenerkrankung [63] – Akuter Lungenschaden / RDS [13]
Risikofaktoren für kardiovaskuläre Erkrankungen	Nierenerkrankungen
<ul style="list-style-type: none"> – Rauchen [90, 69] – Hypercholesterinämie [20, 89] – Diabetes [21] – Hyperhomocysteinämie [22] – Männliches Geschlecht [38] – Adipositas [46] 	<ul style="list-style-type: none"> – Hämodialyse [39] – Rhabdomyolyse durch Nierenschaden [36, 67]
	Lebererkrankungen
	<ul style="list-style-type: none"> – Alkoholinduzierte Lebererkrankung [56, 84] – Hepatorenales Syndrom [72] – Primär biliäre Zirrhose [1] – Lebertransplantation [11]
Neurologische Erkrankungen	Gemischte Erkrankungen
<ul style="list-style-type: none"> – Morbus Alzheimer [96, 61, 86, 58, 82, 60] – Morbus Huntington [59] – Multiple Sklerose [31] – Creutzfeld-Jakob Erkrankung [31] 	<ul style="list-style-type: none"> – Sklerodermie [19, 100] – Down Syndrom [83] – Morbus Crohn [18] – Osteoporose [8]

Erhöhte 8-iso-PGF_{2α} lassen sich auch bei Vergiftungen mit Paraquat [10, 73] und CCL₄ [68, 73] sowie bei Behandlung mit Halothan nachweisen [6, 73]. So wäre anzunehmen, dass auch erhöhte 8-Isoprostanwerte beim atopischen Ekzem oder der allergischen Rhinitis zu erwarten wären.

Im Mittelpunkt dieser Studie jedoch steht das Interesse an Untersuchungen über erhöhte 8-iso-PGF_{2α} bei Asthma und anderen atopischen Erkrankungen, als zuverlässiger Marker für oxidativen Stress und Entzündung.

Die F₂-Isoprostane wurden in BALF, sowie Urin und menschlichem Plasma gemessen. Insbesondere 8-Epi-PGF_{2α} konnte von Hazbun *et al.* [34] bei humanen Probanden nach Ozon-Exposition in erhöhter Konzentration in der BALF mittels ELISA nachgewiesen werden.

Weiterhin konnten F₂-Isoprostane beim Asthma nach Allergenstimulation auch im Urin gemessen werden [26].

Eine neue nicht-invasive Methode stellt die Messung der F₂-Isoprostane im EBC von Asthmatikern dar [66].

Um den Zusammenhang zwischen Asthma und oxidativem Stress besser zu verstehen und die Bedeutung von 8-iso-PGF_{2α} bei Asthma und eventuell weiteren atopischen Erkrankungen zu verdeutlichen, wird in den nächsten Kapiteln speziell auf die Krankheiten des atopischen Formenkreises eingegangen.

1.3 Asthma bronchiale und oxidativer Stress

Asthma, woran in Deutschland 4 Mio. leiden, gehört sowie die allergische Rhinokonjunktivitis mit einer Anzahl von 12 Mio. Erkrankten und wie das atopische Ekzem zu den Erkrankungen des atopischen Formenkreises (SRU). An letzt genanntem leiden etwa 1-3% der Erwachsenen und 5-20 % der Kinder in unserer Bevölkerung, und die Zahl ist in den letzten Jahrzehnten steigend.

Der Begriff Atopie wurde 1923 von dem Altphilologen Perry der Columbia Universität geprägt und zwar auf Wunsch von Coca und Cooke, die damit eine beim Menschen beobachtete, familiär auftretende, „abnormale“ Form von Überempfindlichkeit gegen Umweltallergene ohne vorausgehende Sensibilisierung (z.B Heuschnupfen, Asthma) von anderen Formen der Überempfindlichkeit (wie z.B Anaphylaxie) abgrenzen wollten [16]. Viele atopische Erkrankungen sind mit Allergien assoziiert. Allergien sind zwar schon seit Jahrhunderten bekannt, stellen heute jedoch, aufgrund ihrer dramatischen Zunahme in den letzten Jahrzehnten, eine noch größere Herausforderung für die Gesellschaft dar. Die Gründe für die weiterhin steigende Tendenz der Allergien sind noch nicht geklärt, wobei Hypothesen, wie die vermehrte Exposition gegenüber Umweltnoxen, bestehen. Allergisch vorbelastet sind in Deutschland schätzungsweise 24 bis 32 Mio. Menschen (SUR).

„Asthma zeichnet sich aus durch eine verstärkte Reaktivität der Luftwege auf verschiedenste Reize, mit Verlangsamung der forcierten Expiration, die in ihrer Intensität entweder spontan oder unter medikamentösem Einfluss schwankt.“(Definition des American College of Chest Physicians,1975).

Eine neuere Definition der Deutschen Atemwegliga charakterisiert die Erkrankung genauer: „Asthma ist eine entzündliche Erkrankung der Atemwege mit bronchialer Hyperreaktivität und variabler Atemwegsobstruktion. Typische Symptome sind Husten und anfallsartige Atemnot, insbesondere nachts und am frühen Morgen, Giemen und glasig-zähes Sputum.“ [94].

Die Definition enthält schon die entscheidenden Symptome des Asthmas.

In schweren Fällen kann auch eine Zyanose bestehen und bei erhöhter Pulsfrequenz besteht häufig ein Pulsus paradoxus. Überschreitet ein Asthmaanfall trotz Therapie mit Betaadrenergika und Xanthinderivaten die Dauer von 24 Stunden spricht man vom „Status asthmaticus“. Weitere Symptome wie Beschwerden der oberen Schleimhäute (z.B. behinderte Nasenatmung, Augenjucken oder Niesen) sowie

gastrointestinale Beschwerden, vermehrte Diurese und Abgeschlagenheit sind nicht selten mit dem Asthmaanfall einhergehend. Der Thoraxbefund ergibt nur bei schweren Zuständen das Bild eines vermehrten Luftgehalts mit ausgeprägter Inspirationsstellung des knöchernen Thorax. In der Lungenfunktionsprüfung zeigt sich eine obstruktive Ventilationsstörung mit Erhöhung des Atemwegswiderstands und Erniedrigung der Einsekundenkapazität (FEV1).

Es besteht eine etwas unscharfe Unterteilung und somit Definition von zwei Asthmaformen, dem „Intrinsic“ und „Extrinsic“-Asthma, welche gegenüber der Gliederung nach pathogenetischen Faktoren zu vernachlässigen ist. Zum „Intrinsic“-Asthma werden die pathogenetisch unklaren sowie die infektaerergischen, psychogenen und anstrengungsinduzierten Zustandsbilder gezählt. Beim „Extrinsic“-Asthma spielen vor allem äußere Provokationsfaktoren wie Inhalations- und Aeroallergene sowie Medikamente physikalisch-irritative, chemisch-toxische Noxen oder Analgetika die entscheidende Rolle bei der Pathogenese. Weiterhin zeichnet sich das Extrinsic-Asthma durch eine Erhöhung des Serum-IgE-Spiegels sowie durch Nachweise spezifischer Sensibilisierungen im Hauttest oder Radio-Allergo-Sorbent-Test (RAST) aus, typische Zeichen für die Atopie, welche beim Intrinsic-Asthma fehlen. Außerdem reagiert das Intrinsic-Asthma auch schlechter auf die übliche medikamentöse Therapie.

Diagnostisch spielen außer der IgE-Spiegel-Messung und der Testung mittels Hauttest und RAST, bronchiale Provokationstests mit vor allem Cholinergika eine große Rolle, wobei die Indikation hierzu streng gestellt werden muß.

Pathophysiologisch entwickelt sich die reversible obstruktive Ventilationsstörung auf der Grundlage eines hyperreagiblen Bronchialsystems. Dieses ist bedingt durch entzündliche Veränderungen, die durch Epithelschädigung verschiedener Genese oder durch andauernde Allergenbelastung verursacht werden. Hierbei kommt die Rolle der Isoprostane als Mediatoren der pulmonalen Pathophysiologie ins Spiel.

Beim Asthma herrscht eine begünstigende biochemische Umgebung für durch freie Radikale vermittelte Reaktionen in den asthmatischen Luftwegen: denn die Hauptentzündungszellen beim Asthma sind die Eosinophilen und Makrophagen, welche ROS produzieren, wenn sie von unterschiedlichsten Reizen aktiviert werden und noch dazu besitzen asthmatische Zellen eine erhöhte Fähigkeit freie Radikale zu produzieren im Vergleich zu normalen Zellen [26].

Oxidativer Stress kann Zellschäden verursachen wenn ROS die antioxidative Abwehr der Zellen an Stärke übertreffen. Das kann zu diversen Effekten auf das Atemsystem führen, wie die Kontraktion der glatten Atemwegsmuskulatur, die Induktion der Atemwegshyperreagibilität, die Schleimhauthypersekretion, die Gefäßexudation, die Bronchokonstriktion und die Veränderung der Membraneigenschaften (Atemwegsödem) , welche alle typische asthmatische Symptome hervorrufen.

Daher ist es notwendig die genaue Pathophysiologie, die schon im ersten Kapitel ausführlich dargestellt wurde, noch genauer im Bezug auf die asthmatischen Atemwege darzustellen. Diverse Allergene, Drogen, Viren, Bakterien, Abgase und Chemikalien induzieren eine Rekrutierung und Aktivierung von Entzündungszellen in den asthmatischen Atemwegen, wozu Eosinophile, Mastzellen, Neutrophile, Lymphozythen, Blutplättchen und Makrophagen zählen. Zwei entscheidende Wege führen zur Rekrutierung der Entzündungszellen. Allergische Reaktionen , bei denen das erworbene Immunsystem eine Rolle spielt, sind dadurch gekennzeichnet, dass sie Interleukin IL-5 produzieren und als Folge daraus zu einer verstärkten Bildung, Rekrutierung und Aktivierung von Eosinophilen führen, wohingegen Reizstoffe, die mittels des angeborenen Immunsystems agieren, IL-8 herstellen und dies die Rekrutierung und Aktivierung von Neutrophilen bewirkt. Ein so genannter „Respiratory burst“ ist die Antwort der aktivierten Entzündungszellen, welcher eine vermehrte Aufnahme von Sauerstoff in die umgebenden Zellen und eine daraus folgende vermehrte Freisetzung von ROS in diese hervorruft. Ein vermindertes Nikotinamid-Adenin-Dinucleotid phosphatabhängiges Superoxid generierendes System wird während dieses „respiratory burst“ aktiviert und setzt O_2^- in die Zelle frei. Daraufhin entsteht bei einer durch SOD katalysierten Reaktion H_2O_2 , welches in Gegenwart von Halogenionen (Cl^- , Br^-) zu einer Bildung von Hypochlorithen führt. In Neutrophilen wird diese Reaktion mittels der Myeloperoxidase und in den Eosinophilen mittels der Eosinophilen Peroxidase (EPO) katalysiert. Weiterhin können diese Hypochlorithe noch mit Superoxidionen oder Eisen-2-Ionen reagieren und somit ein weiteres starkes Oxidanz produzieren, $\cdot OH$. So hat auch O_2^- noch einen höheren Zellschädigungseffekt wenn es nicht mit H_2O_2 reagiert, sondern mit anderen ROS wie Stickstoffoxid ($\cdot NO$), was dann Peroxynitrit (ONOO)/ Peroxynitrious acid (ONOOH) ergibt. Dies ist ein ein starkes willkürliches Oxidanz und Stickstoff spendendes Agenz.

Erhöhte Mengen an $\text{NO}\cdot$ und $\text{O}_2\cdot^-$ wurden in den Atemwegen von Astmatikern gefunden.

Somit zeigt sich, dass Entzündungszellen beim Asthmatiker eine erhöhte Fähigkeit zur Erzeugung freier Radikale haben und außer ROS auch Reactive nitrogen species (RNS) exzessiv produzieren, welche das antioxidative System nicht mehr beherrschen kann.

So wurden beim Asthma bronchiale in mehreren Studien [26, 45, 77, 105, 417] die Rolle der 8-Iso-PGF_{2α}, welche nicht enzymatisch über freie Radikale katalysiert hergestellt werden, als Marker für oxidativen Streß und als Mediator dargestellt.

All diese Erkenntnisse über die Mechanismen und Wirkungen die zur Produktion von freien Radikalen und deren Wirkung führen, stellen die Frage ob ähnliche Mechanismen auch bei anderen atopischen Erkrankungen eine Rolle spielen.

Dies liegt nahe, da die Allergenstimulation, die immunologische Reaktion und die Entzündungszellen als Quelle für ROS bei den atopischen Erkrankungen sehr ähnlich sind.

So wäre anzunehmen, dass auch erhöhte 8-Isoprostanwerte beim atopischen Ekzem oder der allergischen Rhinitis zu erwarten wären.

Dies wurde jedenfalls schon beim atopischen Ekzem in Studien nachgewiesen jedoch mit anderen Markern für oxidativen Stress als dem 8-Iso-PGF_{2α}.

Daher wird im nächsten Abschnitt gesondert auf die Rolle des oxidativen Stresses beim atopischen Ekzem eingegangen.

1.4 Atopisches Ekzem und oxidativer Stress

Das atopische Ekzem (auch atopische Dermatitis genannt) ist eine nicht infektiöse, chronisch rezidivierende, entzündliche Hautkrankheit welche von starkem Juckreiz begleitet ist.

Zur Diagnostik des atopischen Ekzems bedient man sich gewisser Kriterien nach Ring, die 1982 publiziert wurden und von denen vier von den sechs erfüllt sein müssen. Dazu gehören ekzematöse Hautverletzungen, Pruritus, typische Lokalisation, Stigmata bei atopischer Konstitution, persönlich oder familiär bestehende Anamnese bezüglich atopischer Erkrankungen und IgE-vermittelte allergische Sensibilisierung [93].

In der Bevölkerung der westlichen Industrienationen liegt die Erkrankungshäufigkeit des atopischen Ekzems bei Kindern bei ungefähr 10-20% und bei Erwachsenen bei ungefähr 1-3%. Eine Erstmanifestation des atopischen Ekzems ist zu 60% im ersten Lebensjahr (meist nach dem ersten Lebensmonat) zu beobachten und in 30% erst in den vier folgenden Jahren. Am ausgeprägtesten ist das atopische Ekzem meist in der Kindheit, wobei ein Drittel der Patienten eine Remission danach erleben und bei den anderen zwei Drittel kommt es entweder zu einem Rezidiv während des Erwachsenenalters oder es persistiert durchgehend.

Ursachen für die klar erkenntliche Zunahme der Prävalenz des atopischen Ekzems auf das zwei bis dreifache in den letzten Dekaden bleiben unklar, jedoch werden ein größeres Bewusstsein für die Krankheit, geprüfte diagnostische Mittel, eine erhöhte genetische Anfälligkeit, psychosoziale Einflüsse, Allergenexposition, eine verminderte Stimulation des Immunsystems, eine ansteigende Prävalenz einer prädisponierenden Erkrankung, antiallergische Therapie und Umweltverschmutzung als Hypothesen diskutiert [95].

In Zukunft wird eine erhöhte Anzahl an erwachsenen Patienten eine Behandlung des atopischen Ekzems benötigen, da das atopische Ekzem bald in immer mehr Fällen bis ins Erwachsenenalter fortdauern wird.

Für verschiedene Altersgruppen sind bestimmte Aussagen zu Morphologie und Lokalisationen der Läsionen des atopischen Ekzems typisch.

Bei Kleinkindern und Säuglingen sind hauptsächlich die konvexen Körperbereiche (Stirn, Wangen, Kopfhaut und Extremitäten) befallen, wobei akut nässende, erythematöse, mit Bläschen besetzte und teils verkrustete Hautläsionen

vorherrschen. Dahingegen sind bei älteren Kleinkindern und Erwachsenen vornehmlich die konkaven Körperbereiche mit Betonung der großen Beugen der Extremitäten und die Haut an Händen, Füßen und dem Nacken betroffen. Bei älteren Kleinkindern liegt morphologisch das Bild einer trockenen und lichenifizierten Haut vor, die eine lederartige und verdickte Haut als Folge chronischen Kratzens aufweist. Das vorherrschende Hautbild beim Erwachsenen sind oft exkorierte Knoten, die stark jucken und den Betroffenen zu starkem Kratzen veranlassen.

All diese Hauterscheinungen kann man als Folge des bei allen Altersgruppen vorherrschenden Juckreizes sehen und des dadurch induzierten Kratzens [98].

Außer den schon am Anfang genannten diagnostischen Kriterien wurden die ersten 1980 von Hanifin und Rajka veröffentlicht, die vier Hautkriterien beinhalten und viele assoziierte Befunde. Diese sind Juckreiz, Gesichts- und Streckseiten-Ekzeme in der Kindheit und Beugenekzeme im Erwachsenenalter, chronische oder rezidivierende Dermatitis und eine positive Familienanamnese bezüglich Atopie. Weitere diagnostische Kriterien sind die „UK Refined Criteria“ und die „Millennium Criteria“.

Zur Beurteilung des Schweregrades des atopischen Ekzems dient der SCORAD Index (severity scoring of atopic dermatitis), welcher von der Task Force on Atopic Dermatitis entwickelt wurde [28].

Diagnostisch wichtig sind vor allem der Intrakutantest und der Atopie Patch Test, welcher ein zuverlässiges Mittel darstellt, um Allergene zu identifizieren, die bei betroffenen Atopikern eine ekzematöse Hautläsion hervorrufen [92].

Jedoch ist eine Sensibilisierung auf ein Aeroallergen nicht immer von klinischer Relevanz, so dass man diese mittels des Atopie Patch Testes zeigen kann.

Außerdem finden sich erhöhte gesamt IgE-Werte und erhöhte spezifische IgE-Werte gegen vor allem Nahrungsmitteln bei Kindern und Hausstaub sowie Katzenhaare (andere Tierhaare) und Pollen.

Diese IgE-Antikörper werden im Serum bestimmt. Zusätzlich zeigt der Atopie Patch Test die Bedeutung von IgE und IgE-Rezeptoren auf Langerhans Zellen in der Epidermis für die Pathogenese des atopischen Ekzems.

Somit wurden hier schon wichtige spezifische Provokationsfaktoren des atopischen Ekzems genannt, wobei auch unspezifische Triggerfaktoren wie emotionale Belastungen, Stress, Irritantien, Infektionen (mit Bakterien, Mykosen oder Viren), mikrobielle Besiedlung, Kontaktsensibilisierung und Intoleranzen das Hautbild verschlechtern können.

Nach den bereits genannten Faktoren, die bei der Pathogenese des atopischen Ekzems eine Rolle spielen, soll die Abbildung 1 noch einmal einen Überblick über die multifaktorielle Genese des atopischen Ekzems verschaffen.

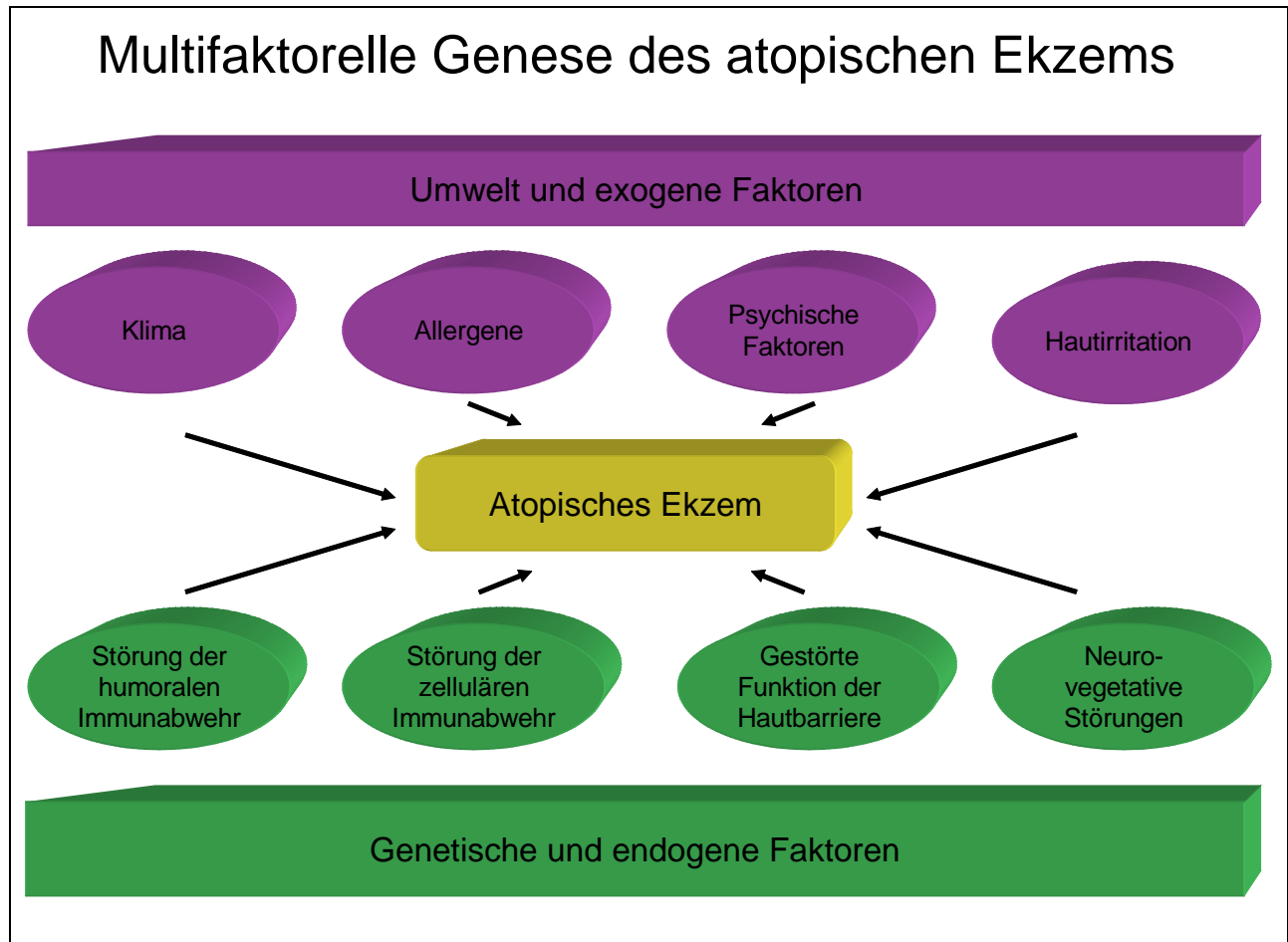


Abbildung 1: Multifaktorielle Genese des atopischen Ekzems

Genetische Faktoren spielen eine entscheidende Rolle, wobei bei 60% der Erkrankten eine positive Familienanamnese für Atopie zu erheben ist.

Komplexe Interaktionen zwischen einer Vielzahl an Genen ist nötig, um einen Atopie zu exprimieren. Es wurden Genloci identifiziert, die jedoch unabhängig von allergischen Mechanismen die Hautentzündung beeinflussen.

Aktivierte T-Zellen infiltrieren bei Patienten mit atopischem Ekzem die Haut und induzieren den Zelltod der Keratinozyten, was zu einer Spongiose und einem

interzellulären Ödem der Epidermis führt und zu einem für die Krankheit typischen histopathologischen Bild.

In der frühen Phase der entzündlichen Hautveränderung dominieren Th2 Zellen, welche vermehrt IL-4 und IL-13 freisetzen, wobei sich bei chronischeren Hautveränderungen eine Verlagerung zu Th1 Zellen vollzieht und ein verändertes Zytokinprofil vorherrscht, welches IL-5, IL-12, Interferon- γ und Granulozyten-Makrophagen-Colony stimulierenden Faktor (GM-CSF) umfasst.

Somit bestehen diese zwei Hypothesen für die Entwicklung des atopischen Ekzems und letztlich noch eine dritte, die auf einen autoimmunen Pathomechanismus für die Fortdauer schwerer Fälle hinweist, welche therapieresistent sind und bei denen eine Allergenkarenz keine Wirkung zeigt.

Grundlegend ist jedoch der verminderte Gehalt der Haut an Oberflächenlipiden und Ceramiden, sowie der transepidermale Wasserverlust, der auf einer gestörten Barrierefunktion der unbeeinträchtigten, aber noch stärker der ekzematösen Haut basiert.

Dies führt zu einem Circulus vitiosus, da die trockene Haut mit ihrer gestörten Schutzbarriere anfälliger wird für jegliche Allergene oder Irritantien und als Folge der entstehenden Entzündung starken Juckreiz auslöst. Dies führt zu vermehrtem Kratzen und daraus folgenden Hautläsionen, die die Haut wiederum vulnerabler für äußere Einflüsse macht.

Daher ist ein effektives Therapiekonzept notwendig, um die Funktionsstörung der Hautbarriere zu verbessern mittels antientzündlicher, antimikrobieller und antipruriginöser topischer und eventuell systemischer Therapeutika und wenn sinnvoll mit Phototherapie [91].

Ähnlich wie beim Asthma werden also durch T-Zell-Aktivierung bestimmte Zytokine freigesetzt, woraufhin Entzündungszellen wie Eosinophile, Makrophagen und PMNs angelockt werden, welche wiederum zur Produktion von ROS und RNS (Hypochloriten/Reactive halogen species) befähigt sind. Insbesondere Eosinophile können außerdem in höherem Maße Superoxidanione produzieren im Vergleich zu PMNs. Wie auch beim Asthma haben diverse Stickstoffoxide zytotoxische Wirkung. Ein zusätzlicher Effekt von $\cdot\text{NO}$ ist der suppressive Effekt auf die Th1 Reaktion, welche zu einer dominierenden Th2 Antwort führt.

Keratinozyten spielen beim atopischen Ekzem natürlich eine große Rolle als Quelle für die Produktion von ROS und RNS [30]. Außerdem aktivieren sie Adhäsionsmoleküle und chemotaktische Faktoren [78].

Somit wurde in mehreren Studien gezeigt, dass bei entzündlichen Hauterkrankungen die Produktion von ROS und freien Radikalen und eine im Vergleich dazu zu geringe antioxidative Abwehr zu Zelltod, also oxidativem Stress führt.

In der Studie von Antille *et al.* [4] wurde festgestellt, dass bei nicht ekzematöser Haut von Patienten mit atopischem Ekzem, genauer gesagt im Stratum corneum, ein verminderter oxidativer Stress und eine erhöhte antioxidative Abwehr (Konzentration von α -Tocopherol) vorherrschen. Dies, wird in der Studie vermutet, lässt sich auf eine Adaption der Haut an eine chronische Belastung der Haut durch oxidativen Stress erklären.

Jedoch gibt es Studien, die die mitunter systemische Ausprägung des oxidativen Stresses beim atopischen Ekzem mittels eines geeigneten Marker belegen.

Wie im ersten Kapitel ausführlich geschildert können freie Radikale diverse Strukturen, wie Lipide, Proteine und DNA angreifen und zerstören.

Hierbei entstehen Produkte, die als Marker für den entstandenen Zellschaden gesehen werden können.

So wurde beim atopischen Ekzem gezeigt, dass 8-OHdG im Urin als Produkt und relatives Maß für den gesamten DNA Schaden, welcher durch hoch reaktive Wasserstoffradikale verursacht wurde, als zuverlässiger Marker für oxidativen Stress angesehen werden kann. Dieser Marker wurde in zwei ähnlichen Studien bei Patienten mit atopischem Ekzem im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden in erhöhter Anzahl gemessen [103, 78].

Weiterhin zeigten die 8-OHdG-Werte im Urin eine positive Korrelation mit dem SCORAD, sodass dieser Marker auch als Index für den Schweregrad des atopischen Ekzems gewertet werden kann [103]. In der Studie von Omata *et al.* [78] konnte das bei den Kindern mit atopischem Ekzem nicht bestätigt werden.

Diese Studien zeigen somit, dass ein erhöhter oxidativer Stress in Patienten mit atopischem Ekzem nachgewiesen werden kann, so dass auch 8-iso-PGF_{2 α} als Produkt der Lipidperoxidation ein geeigneter Marker für das Ausmaß des Hautbefalls und des oxidativen Stresses *in vivo* bei dieser Erkrankung darstellen kann.

1.5 Allergische Rhinitis und oxidativer Stress

Eine weitere atopische Erkrankung ist die allergische Rhinitis (AR). „Rhinitis „ kann als Begriff für den klinischen Symptomenkomplex, der sich als Abwehrfunktion gegen Irritantien äußert, gesehen werden. Zu diesem gehören Sekretion, Niesen, Obstruktion usw., welche unter bestimmten normalen Bedingungen beim Menschen bestehen können, jedoch bei extremer Ausprägung Krankheitscharakter gewinnen können. Eine Entzündung ist jedoch hiermit nicht unbedingt nachweisbar, sodass der Begriff „Rhinopathie“ logischer wäre. Sobald die Bindehaut des Auges ebenfalls betroffen ist, spricht man von „Rhinokonjunktivitis“.

Die AR wird bei Pollen als Auslöser als Pollinosis (Heufieber, Heuasthma oder Heuschnupfen) bezeichnet, welche die häufigste atopische Erkrankung ist.

Es leiden ca. 10-20% der Bevölkerung in industrialisierten Ländern an Pollinosis [94]

Die Rhinitis kann anhand von diagnostischen Schritten, die den Ursprung der Symptome und die Beschaffenheit des Sekretes beurteilen können, eingeteilt werden. Ist das Sekret klar und wässrig, wird in „allergische“ und „nicht allergische“ (=vasomotorische) Rhinitis unterteilt. Wobei bei einer zum Beispiel infektiösen Rhinitis das Sekret oft hämorrhagisch ist und diese sehr schmerzhaft ist.

Weiterhin gibt es eine Untergliederung in „saisonale“ (=Heuschnupfen in den Frühjahrs- und Sommermonaten) und „perenniale“ (=ganzjährige) Rhinitis.

Diese Definition und Unterscheidung ist immer noch von Bedeutung, obwohl die WHO neuerdings in „intermittierende“ (Symptombdauer weniger als vier Wochen) und „persistierende“ (Symptombdauer länger als vier Wochen) Rhinitis einteilt.

Außerdem hat man die AR je nach Schweregrad in „mild“, „mäßig“ und „schwer“ eingeteilt und zu deren Beurteilung die Lebensqualität mit gewissen Kriterien beurteilt. Die saisonale AR kann durch Allergietestungen gut diagnostiziert werden, wobei die perenniale AR einmal durch allergische Provokation mittels z.B. Hausstaubmilben ausgelöst und unterhalten wird, jedoch auch nicht allergische Mechanismen eine Rolle spielen.

Die Hyperreaktivität der Nasenschleimhaut findet sich bei all diesen Rhinitisformen.

Bei den nicht allergischen vasomotorischen Mechanismen und Rhinitiden werden wiederum zwei Gruppen unterschieden [94]: eine entzündliche Form mit Vermehrung der eosinophilen Granulozyten und eine nicht entzündliche Form. Die nicht entzündliche Form spricht schlecht auf Medikamente wie Antihistaminika und

Glukokortikoide an und ist sehr therapieresistent, wohingegen die entzündliche Form mit ihrer Eosinophilie und ihrer Symptomatik mit stark geschwollenen Schleimhäuten und Polypenentwicklung, gut auf diese Medikamente anspricht.

Zu den Provokationsfaktoren die zur Auslösung von Rhinitissymptomen führen können, gehören Staub, Rauch, chemische Irritanzen, Temperaturwechsel (besonders Kälte), Luftzug, Lageänderung, Austrocknung und hormonale Einflüsse.

Weiterhin muss erwähnt werden, dass die AR auch eine systemische Entzündung ist und somit gehen oft Erkrankungen wie Asthma und/oder Sinusitis (und Otitis media) mit der AR einher.

Hierzu sollte vorerst der Pathomechanismus der AR dargestellt werden.

Die typischen Symptome der AR in der frühen Phase, wie Niesreiz, Juckreiz, Sekretion und teilweise Schwellung („Verstopfung“) die nach 30 min ihr Maximum erreicht, entstehen, wenn die Degranulation von sensibilisierten Mastzellen in den ersten Minuten nach Allergenkontakt ausgelöst wird, woraufhin schon vorhandene und neu synthetisierte Mediatoren, wie Histamin, Proteasen, Cysteinyl Leukotriene (CysLTs), Prostaglandine und Zytokine freigesetzt werden. Weiterhin können diese Mediatoren aber auch die Infiltration der nasalen Mukosa mit Entzündungszellen, wie Basophilen, Eosinophilen, Neutrophilen und neu synthetisierten Mastzellen und mononuklearen Zellen hervorrufen. Diese Infiltration mit Entzündungszellen und die daraus resultierende Freisetzung noch weiterer Mediatoren, wie CysLTs und Histamin, unterhält die Entzündungsreaktion und die andauernde Rekrutierung von Entzündungszellen und führt so zu den Symptomen der AR der späten Phase, welche vor allem durch die Schwellung („Verstopfung“) der Nasenschleimhaut charakterisiert ist.

Im Falle einer chronischen Allergenstimulation lassen die in der Mukosa vorhandenen Mastzellen vermehrt Histamin frei, das einen Anstieg an IgE-Rezeptoren und Oberflächen gebundenem IgE widerspiegelt. All diese Mastzellprozesse tragen zu dem sogenannten Phänomen des „priming“ bei, was bedeutet dass immer weniger Allergen notwendig ist, um eine Mastzelldegranulation zu induzieren.

Außer der Interaktion mit Mastzellen fungiert das Allergen als Antigen und wird somit wie jedes andere fremde Antigen von Antigen-präsentierenden Zellen aufgeschlossen und Th-Lymphozyten präsentiert. Eine Aktivierung dieser Antigen-präsentierenden Zellen, wozu mononukleare phagozytierende Zellen, B-

Lymphozyten und insbesondere dendritische Zellen zählen, stellt eine wichtige Quelle für Zytokine, insbesondere für die die mit dem angeborenen Immunsystem zu tun haben, dar, welche IL-1, IL-6 und TNF sind. Die aktivierten Th2-Lymphozyten setzen IL-4, IL-5, IL-9, IL-13 und GM-CSF frei. Diese Zytokine spielen eine große Rolle bei dem Entzündungsprozess der AR und führen zu der Rekrutierung, vermehrten Herstellung und Aktivierung von Eosinophilen, Mastzellen und Basophilen.

Daher geht das Fortschreiten der Rhinitis immer mehr mit diesen Mediatoren einher, die die Infiltration mit Zellen, wie Eosinophile, Basophile, Neutrophile, mononukleare Zellen und Th-Lymphozyten, sowie die ansteigende Anzahl an „primed“ Mastzellen, fördern. Eine entscheidende Rolle vor allem bei der ganzjährigen und chronischen AR spielen die Eosinophilen, welche eine Reihe an Entzündungsmediatoren freisetzen so wie Eosinophiles kationisches Protein (ECP), eosinophile Peroxidase, „major basic protein“, IL-3, IL-5, GM-CSF und Plättchen aktivierenden Faktor. Einen besonders bedeutenden Mediator stellen CysLTs dar, welche in der frühen sowie späten Phase der AR erhöht nachzuweisen sind und mit der Anzahl an ECP korrelieren sowie einige typische Symptome der AR hervorrufen. Weiterhin sind CysLTs chemische Lockstoffe für Eosinophile und zusätzlich fördern sie die Anheftung der Eosinophilen durch Expression von Adhäsionsmolekülen, wie Komplement-Rezeptor 3. Außerdem sind Patienten mit AR noch prädisponiert eine erhöhte Ansprechrate für CysLTs zu haben [9].

Bei der AR besteht vor allem eine Infiltration des Gewebes mit Eosinophilen und T-Lymphozyten. Eine Infiltration der nasalen Mukosa lässt sich eventuell durch lokale chemotaktische Stoffe erklären, die die Zellmigration von den Blutgefäßen in die Nasenschleimhaut steuern.

Hanazawa *et al.* [32] zeigt in seiner Studie, dass das Chemokin Eotaxin ein potenter chemotaktischer Stoff ist welcher Eosinophile rekrutiert, die sich dann in der nasalen Mukosa ansammeln und eine Isoform der Stickstoff-Synthase (NOS) freisetzen, welche dann NO herstellt. NO ist wie schon beim Asthma besprochen ein ROS welches zur Zellzerstörung und daher zum oxidativen Stress beiträgt.

Bei der AR ist im Rahmen des Entzündungsprozesses in der Studie von Hanazawa [32] NO signifikant erhöht. Außer den Entzündungszellen gibt es auch noch weitere Quellen für die Isoforme der NOS, welche einmal die Endothelzellen sind, in denen die NOS auch eine Vasodilatation verursacht und andererseits die Epithelzellen und auch Nervenzellen, wo die NOS NO als Mediator für Bronchodilatation freisetzt.

Weiterhin wurde in der Studie festgestellt, dass NO in den Zellen der Nasal-Lavage höher sind als in oral ausgeatmeter Luft ist. Jedoch wird vermutet, dass NO auch in der nasalen Mukosa durch dort exprimierte NOS hergestellt wird.

Andere Marker oder Parameter für oxidativen Stress wurden in Zusammenhang mit der AR noch nicht etabliert, so dass es jedoch nach gerade geschilderter Erhöhung von NO bei Patienten mit AR und daraus resultierendem Nachweis von oxidativen Stress, nahe liegt zu vermuten, dass auch 8-Isoprostane als Marker für oxidativen Stress bei Patienten mit AR erhöht nachzuweisen sind.

In dem Zusammenhang wären auch die Untersuchungen im Urin und Blut sinnvoll.

In der bestehenden Literatur wurde wie bei Hanazawa *et al.* [32] bisher nur NO als Marker für oxidativen Stress in der Nasenlavage oder aus der ausgeatmeten Luft bestimmt.

Wie schon erwähnt ist die AR oft begleitet von anderen entzündlichen Erkrankungen der Atemwege, wie dem Asthma und der Sinusitis. Dies rührt daher, dass Entzündungszellen sowohl aus dem nasalen lymphatischen Gewebe als auch aus dem Knochenmark als Folge einer intranasalen Allergenprovokation in die zirkulierende Blutbahn gelangen und empfängliche Gewebe, so wie die Nebenhöhlen oder die Lungen infiltrieren und dadurch eine Sinusitis und Asthma provozieren. Voraussetzung dafür sind Individuen mit vorbekanntem Asthma, bei welchen schon Adhensionsmoleküle und Chemokine existieren, da diese die Entzündungszellen anlocken und fixieren können [9].

Weitere Gründe für eine Mitbeteiligung der anderen Atemwege kann auch die vermehrte Reizung der tieferen Atemwege durch kalte und schlechter bereitete Luft sein bedingt durch die verstärkte Mundatmung bei „Verstopfung“ der Nase.

Somit werden hier noch einmal die gemeinsamen pathogenetischen Mechanismen der allergischen Atemwegserkrankungen, die letztlich zum oxidativen Stress führen, noch einmal verdeutlicht.

2 Zielsetzung

Experimentelle und epidemiologische Studien weisen auf verwandte Kaskaden der Entzündungsreaktion bei den Erkrankungen des atopischen Formenkreises hin, welche letztlich gleiche Entzündungszellen wie zum Beispiel Eosinophile aufweisen, welche freie Radikale produzieren und so oxidativen Stress verursachen. Hierbei ist auch die systemische Auswirkung des oxidativen Stresses bei diesen Erkrankungen von Bedeutung, was sich im Plasma und Urin besser als in der BALF bestimmen lässt, welche bei den allergischen Atemwegserkrankungen häufig verwendet wird, wobei Bestimmungen von 8-Isoprostanen bereits im Urin und Plasma erfolgt sind.

Von Interesse ist also in dieser Studie zu zeigen, ob 8-Isoprostane zuverlässige Marker für das Ausmaß an systemischem oxidativen Stress sind und ob die Höhe des Markers auch ein Anzeichen für das Ausmaß der Schwere der Erkrankung ist. Dies sollte mittels Korrelation des SCORAD oder der IgE-Werte, welche ebenfalls erhöht sind bei Atopikern, zu der Anzahl der zu bestimmenden 8-epi-PGF_{2α} bei den Patienten mit AE, erfolgen.

Zusätzlich sollte vor allem untersucht werden, ob 8-epi-PGF_{2α} auch als zuverlässiger Marker für oxidativen Stress beim AE und der AR etabliert werden kann, da bei diesen Erkrankungen bisher nur andere Marker verwendet wurden. Weiteres Ziel war ein praktikables und günstiges Verfahren zur Messung des oxidativen Status zu finden.

Daher wurde oxidativer Stress hierzu bei Erkrankungen des atopischen Formenkreises im Vergleich zu gesunden Kontrollen und in Korrelation zum Krankheitsausmaß gemessen, anhand von Bestimmung des Markers 8-epi-PGF_{2α} mittels ELISA im Urin und Plasma von Patienten mit AE, Asthma, saisonaler und ganzjähriger AR im Vergleich zu gesunden Kontrollen.

3 Material und Methoden

3.1 Material

3.1.1 Probanden und Einschlusskriterien sowie Einflussgrößen

3.1.1.1 Patienten und Kontrollen

Es wurden 118 Probanden in die Studie einbezogen.

Darunter befanden sich 88 Patienten (67 weiblich und 21 männlich) mit atopischem Ekzem, gesichert nach den Kriterien von Hanifin und Raika [33], und 30 gesunde Kontrollpersonen (23 weiblich und 7 männlich).

Da Rauchen einen erwiesenen Einfluss auf die Höhe des zu messenden 8-Isoprostanwertes hat, wurden die Patienten-, sowie die Kontrollgruppe in Raucher- und Nichtrauchergruppen unterteilt, um diese gesondert miteinander vergleichen zu können.

Zu den Patienten zählten 60 Nichtraucher und 28 Raucher, zu den Kontrollen 21 Nichtraucher und 9 Raucher.

3.1.1.2 Einschlusskriterien

Es wurden Patienten mit gesichertem atopischem Ekzem und gesunde Kontrollen mit negativer Atopieanamnese (s.3.2.1) jeglichen Alters in die Studie eingeschlossen.

3.1.1.3 Einflussgrößen

Um Faktoren berücksichtigen zu können, die eine Erhöhung des Isoprostanwertes zu Folge haben könnten, wurde eine gründliche Atopieanamnese und Anamnese folgender Einflussgrößen mit Hilfe eines speziellen Fragebogens (s. Appendix I) vorgenommen:

- Nikotinabusus
- Alter

- Geschlecht
- atopische Erkrankungen und Allergien
- andere Erkrankungen
- Alkoholkonsum
- UV-Exposition der letzten 2 Wochen
- Medikamente
- Dermatologische Therapie der letzten 4 Wochen

3.1.2 Serum-, Plasma- und Urinproben von Patienten (s.3.1.1) und gesunden Kontrollpersonen (s.3.1.1)

Zur Messung von 8-Epi-PGF_{2α} wurden den Patienten sowie den Kontrollpersonen jeweils zwei Röhrchen EDTA-Blut und zur Messung von Gesamt-IgE ein Röhrchen Serum-Blut abgenommen.

Außerdem gaben alle Probanden eine Probe Spontanurin ab, welcher auch zur Messung von 8-Epi-PGF_{2α} verwendet wurde.

Aus diesen Proben wurden von jedem Proband ungefähr 12 ml Plasma, ungefähr 8 ml Urin und ungefähr 3 ml Serum gewonnen.

Alle Proben wurden mit Einverständnis der Probanden entnommen.

3.1.3 Geräteliste

Zentrifugen	Zentrifuge, Universal 16 R; Fa.Hettich Zentrifuge, ZK 400; Fa.Hermle
Schüttler	Unitwist / Schuettler 3-D
Speed Vac	Univapo150 H; Uniequip GmbH
Vortex	Vortex-Genie 2; Scientific Industries, INC Bohemia,N.Y.,11716 USA.
Vertikaler Drehmischer erwärmbar	M 6/1 Ingenieurbüro CAT; M.Zipperer GmbH
pH-Meter	
Pipetten	Reference; Fa. Eppendorf, Hamburg
EMS-Reader	

3.1.4 Chemikalien und Materialien

BHT

Ethanol

5mM EDTA

Sigma ED 2SS

(Ethyldiamine(NA-Salz) Tetracetic
Acid)

10mM HTMP (4-Hydroxy-Tempo)

Sigma H-8258

H₂O

UltraPure water (deionisiertes Wasser)

1 M NaOH

Methanol 100%ig

KOH (Kaliumhydroxid Plätzchen)

Merck

1 M KH₂PO₄ (Kaliumhydrogenphosphat)

Merck

Eicosanoid Affinity Column Elution
Solution

Cayman Chemical/Michigan/USA;

Catalog No. 400230

Eicosanoid Affinity Column Buffer

Cayman Chemical/Michigan/USA;

Catalog No. 400220

8-Isoprostane Affinity Sorbent

Cayman Chemical/Michigan/USA;

Catalog No. 416359

8-Isoprostane EIA Kit

Cayman Chemical/Michigan/USA;

Catalog No. 516351

3.2 Methoden

3.2.1 Anamnese

Atopieanamnese

Zu Beginn der Studie wurde bei jedem Probanden anhand eines Fragebogens (s. Appendix I) eine gründliche Atopieanamnese erhoben.

Anamnese zur Erfassung möglicher Einflussfaktoren

Außerdem wurde in der zweiten Hälfte des Fragebogens (s. Appendix I) bei jedem Probanden eine Anamnese bezüglich Einflussgrößen, die den 8-Isoprostanwert erhöhen können, vorgenommen.

3.2.2 Hautbefunderhebung

Bei jedem Patienten wurde eine vollständige dermatologische Untersuchung durchgeführt und diese auf einem standardisierten Befundbogen (s. Appendix I) dokumentiert.

3.2.3 SCORAD

Anhand des SCORAD (s. Appendix I), welcher von der „European Task-Force on Atopic Dermatitis“ entwickelt wurde, ist es möglich den Schweregrad des atopischen Ekzems nach standardisierten Kriterien zu beurteilen. SCORAD bedeutet: „Scoring of atopic dermatitis“.

Der SCORAD beinhaltet subjektive und objektive Parameter, welche Auskunft über Ausmaß, Intensität und subjektive Symptome geben.

Im Abschnitt A (Ausmaß) des Score wird mit Hilfe der „Neuner-Regel“ für Verbrennungen der prozentuale Anteil der betroffenen Hautareale berechnet.

Die aktuelle Intensität (Teil B) von Erythem, Ödem/Papelbildung, Nässen/Krustenbildung, Exkoration, Lichenifikation und Trockenheit wird an einer üblicherweise typischen Stelle (z.B. Ellenbeuge) ermittelt.

Jede dieser Kriterien wird anhand einer kodierten Zahlenskala von 0-3 (0=keine, 1=leicht, 2=mäßig, 3=stark) bewertet und die Summe der Werte aller Intensitätskriterien ergibt den Wert B.

Um den Punktwert C zu ermitteln werden von den Patienten die Symptome Juckreiz und Schlaflosigkeit auf einer visuellen Analog-Skala mit den Endpunkten 0 (kein Juckreiz, keine Schlaflosigkeit) und 10 (maximaler Juckreiz, maximale Schlaflosigkeit) beurteilt. Diese Angaben beziehen sich durchschnittlich auf die letzten drei Tage oder Nächte.

Die Summe von Juckreizwert und dem Wert für Schlaflosigkeit ergeben C.

Der Gesamtwert des SCORAD errechnet sich folgendermaßen:

$$A/5+7B/2+C$$

3.2.4 Blut -und Urinproben

Blutproben

Unmittelbar nach der Blutentnahme wurden die Plasma- und Serumproben für wenige Minuten auf Eis gekühlt bis sie gleich darauf 10 min lang bei einer Temperatur von 4°C und 4000 Umdrehungen pro Minute (4000 U/min) zentrifugiert wurden.

Daraufhin wurden die Proben zu je 1ml aliquotiert.

6 von den 8 aliquotierten Plasmaproben wurden jeweils mit 5 µl einer 1 %igen Lösung BHT versetzt, um eventuell einer weiteren Erhöhung der 8-Isoprostane durch Autooxidation vorzubeugen.

Aus diesem Grund war es auch nötig die Plasmaproben so schnell wie möglich (innerhalb von ca. 20 min) bei -70°C einzufrieren, Dies erfolgte gleich im Anschluß an die Versetzung mit BHT.

Die Serumtubes wurden auch bei -70°C eingefroren und da sie zur Bestimmung weiterer Parameter (IgE-Ak) dienten, war ein Versetzen der Proben mit BHT nicht nötig.

Urinproben

Gleichzeitig mit der Blutabnahme erfolgte die Abgabe einer Spontanurinprobe (Mittelstrahl) von dem jeweiligen Probanden.

Die Lagerung, Zentrifugation und Aliquotierung der Urinproben erfolgte zeitgleich und gemäß den Blutproben.

Im Unterschied zu den Plasmaproben wurden je 1,5 ml abgefüllt und kein BHT zugefügt.

Dies war bei den Urinproben unnötig, da diese einen niedrigen Lipidgehalt besitzen und somit der Isoprostangehalt kaum durch Autooxidation beeinflusst wird.

3.2.5 Aufreinigung der Proben

3.2.5.1 Aufbereitung der Plasmaproben zur Bestimmung des gesamten (freien und veresterten) 8-Isoprostangehalts

Verwendete Substanzen:

15 % wt/vol KOH	1,5 g 1 M KOH ad 10 ml <i>Aqua bidest.</i>
0,01 %ige BHT – Lösung	2 mg BHT ad 20 ml Ethanol
1 M KH ₂ PO ₄	13,6 g 1 M KH ₂ PO ₄ ad 100 ml <i>Aqua bidest.</i>

Da die Isoprostane ursprünglich in Phospholipiden verestert sind, muß man diese durch einen Hydrolyseprozeß herauslösen, um außer dem freien Isoprostan auch das veresterte bestimmen zu können.

Hierfür wurden je 0,5 ml der ursprünglich zu 1ml aliquotierten Plasmaproben abgefüllt.

Zu diesen Plasmaproben wurde dann die gleiche Menge einer 15 %igen KOH-Lösung hinzugefügt.

Daraufhin wurden diese bei 40°C für 60 min inkubiert.

Um zu vermeiden, dass sich präzipitierte Proteine anstelle der Isoprostane an die Antikörper des Assays binden, wurden den Proben daraufhin eine 0,001%ige ethanolische BHT-Lösung hinzugemischt und diese dann gut vermischt.

Nach einer Inkubation von 5 min bei 4°C wurden die Tubes dann bei 10000 U/min für 10 min zentrifugiert, um die präzipitierten Proteine zu beseitigen und daraufhin den gereinigten Überstand in neue Tubes abzupipettieren.

Die Überstände wurden dann in der SpeedVac-Zentrifuge eingengt bis sich die ethanolische Lösung verflüchtigt hat.

Bis zur weiteren Aufreinigung der Proben wurden diese bei -40°C gelagert.

Durch Zugabe von 1 M KH_2PO_4 (~1060µl) wurden die Proben dann auf einen pH von 7,0-7,4 neutralisiert, um anschließend durch Deproteinieren oder durch Benutzung des Affinity Sorbent aufgereinigt zu werden.

3.2.5.2 Deproteinieren der Zellen, Zell-Homogenate oder Zell-Überstände

Sowohl die Plasma- als auch die Urinproben wurden in einem Testdurchlauf nach dieser Methode (von Fr. Dr. Beck-Speyer) aufgereinigt, die eventuell störende Proteine aus den Proben entfernen soll.

Im Vergleich dazu wurden die gleichen Proben parallel mit der im Anschluss beschriebenen Methode aufgereinigt (s. 3.2.5.3).

Verwendete Substanzen:

1. HTMP – Lösung (2-4 Wochen bei 4°C haltbar)

5 mM EDTA

10 mM HTMP

186,1 mg EDTA / 100 ml

172,2 mg HTMP / 100 ml

Zuerst wurden gerade genannte Mengen von EDTA und HTMP abgewogen.

Daraufhin wurden 186,1 mg EDTA zuerst in 80 ml *Aqua bidest.* gelöst und bei 70°C erhitzt.

Dazu wurden 172,2 mg HTMP gegeben und gelöst.

Im Anschluss daran wurde der pH-Wert auf 7,4 mit 1 m NaOH eingestellt.

Zum Abschluss wurde dann das Volumen auf 100 ml mit *Aqua bidest.* aufgefüllt.

⇒ 100 ml Lösung (gelb) von 5 mM EDTA und 10 mM HTMP-Lösung, pH 7,4

2. Lösung zum Deproteinieren (immer frisch herstellen)

(1:10) 1 Teil HTMP-Lösung (10 ml) + 9 Teile MeOH (Methanol 100%ige, 90 ml)
⇒ ergibt 90 % MeOH mit 0,5 mM EDTA und 1 mM HTMP

Deproteinieren

(1:9) 8 Teile Deproteinisierungslösung + 1 Teil Plasma- oder Urinprobe, oder
hydrolisierte Plasmaprobe

Menge der eingesetzten Probe:	Urin:	500 µl
	Plasma:	500 µl
	Hydrolisiertes Plasma:	1060 µl

Diese versetzten Probenlösungen wurden gut gemischt und bei -40°C aufbewahrt.
Nach mindestens 24 Std. erfolgte jeweils die 1. Zentrifugation bei 5°C mit 20000 U/min in der Hermle ZK 400-Zentrifuge für 30 min.

Die Proben wurden zur Zentrifugation in spezielle Polypropylengefäße umgefüllt.
Der entstandene Überstand wurde wieder in die alten Gefäße umgefüllt und bei -40°C nochmals 24 Std. gelagert.

Nach mind. 24 Std. erfolgte analog der 1. auch die 2. Zentrifugation.

Der Überstand der jeweiligen Proben wurde daraufhin in neue Röhrchen gefüllt und bei -40°C aufbewahrt.

3.2.5.3 Aufreinigung der Plasma- und Urinproben mit dem Affinity Sorbent

Der Affinity Sorbent wurde eingesetzt, um die in der Probe befindlichen 8-Isoprostane von anderen störenden Verunreinigungen (Isomere/Proteine), die an die Antikörper des ELISA binden könnten, zu isolieren.

1. Notwendige Substanzen

– Elution Solution (fertig hergestellt vorhanden/Cayman Chemicals)

- Column Buffer (1:5) 1 Teil Column Buffer (5 ml/fertiges Konzentrat/Cayman Chemicals) und 4 Teile Ultrapure Water (20 ml) mischen
- Affinity Sorbent

2. Vorbereitung der Proben

Die Proben wurden bei 2000 U/min und 4°C für 5 min zentrifugiert.

Der Überstand der Proben wurde in neue Gefäße aliquotiert.

Die Plasmaproben müssen vor ihrer Weiterverarbeitung im Verhältnis 1:5 mit Colum Buffer vermischt werden (1 Teil Plasma + 4 Teile Colum Buffer).

Da die hydrolysierten Plasmaproben durch das Neutralisieren mit 1 M KH_2PO_4 schon 1:2 verdünnt wurden, mussten die Proben (1060 μl) nur noch mit 1,4 ml aufgefüllt werden, um 2,5 ml zu ergeben (1:5 Verdünnung).

Menge der eingesetzten Proben:	Urin:	750 μl
	Plasma:	500 μl
	Hydrolysiertes Plasma:	500 μl

3. Aufreinigung

Der Affinity Sorbent wurde dann im Verhältnis 1:6 in die vorher festgelegte Menge der jeweiligen Probe pipettiert (1 Teil Affinity Sorbent + 5 Teile Probe).

Es wurde darauf geachtet, dass der Sorbent, sowie die Sorbent enthaltenden Proben, vor jedem Pipettieren gut gemischt wurden.

Weiterhin wurden die Proben für 30-60 min auf dem Schüttler gemischt, damit die in der Probe befindlichen 8-Isoprostane sich ideal an den Sorbent binden können.

Anschließend erfolgte die 1. Zentrifugation der Proben mit 4000 U/min bei 20°C für 10 min.

Der entstandene Überstand wurde bis zum Pellet abpipettiert und verworfen, da die 8-Isoprostane an den Sorbent im Pellet gebunden sind.

Daher wurde darauf geachtet nichts von dem Pellet mit abzupipettieren.

Die Sorbentpellets wurden dann jeweils mit der Menge an Colum Buffer gewaschen, die der zuvor eingesetzten Probenmenge entsprach und gründlich vermischt.

Im Anschluss daran erfolgte die 2. Zentrifugation mit 4000 U/min bei 20°C für 10 min.

Der Überstand wurde erneut verworfen.

Die Sorbentpellets wurden dann mit Elution Solution (Menge: $\frac{1}{2}$ der ursprünglich eingesetzten Probe) resuspendiert und gut gemischt, um die 8-Isoprostane aus dem Pellet herauszulösen.

Daraufhin erfolgte die 3. Zentrifugation mit 4000 U/min bei 20°C für 10 min.

Der hierbei entstandene Überstand, der jetzt die herausgelösten 8-Isoprostane enthält, wurde in neue Gefäße gefüllt.

Wiederum wurden die Sorbentpellets mit Elution Solution in der vorher genannten Menge resuspendiert, um die restlichen Isoprostane herauszuwaschen.

Nach gründlichem Mischen wurden die Proben wie bei den vorherigen Schritten zentrifugiert und die Überstände in die Gefäße mit den schon bestehenden Überständen gefüllt.

Die jetzt entstandenen ethanolischen Überstände (Elution Solution) entsprechen dem Volumen der Originalprobe, so dass der 8-Isoprostangehalt in der gleichen Konzentration, vorliegt wie in der Originalprobe, jedoch ohne störende Verunreinigungen.

Diese Überstände wurden anschließend bei -80°C eingefroren.

Regeneration des Sorbent

Um den benutzten Sorbent wiederverwenden zu können, muss er nach einem vorgegeben Schema des Herstellers (Cayman) regeneriert werden.

Dazu wurden die Affinity Sorbents jeder Probe mit der 5-fachen Menge an Ultrapure Water gemischt.

Im Anschluss daran wurden die Sorbentlösungen all dieser Proben in einem 15 ml Blue Cap vereint. Eventuelle Reste der Sorbentlösungen aus den einzelnen Tubes wurden mit Ultrapure Water ausgespült und in das Blue Cap hinzugefügt.

Die vereinigten Sorbentlösungen wurden dann mit 3000 U/min für 10 min zentrifugiert und der Überstand bis zum Pellet (Harz) abpipettiert und verworfen.

Danach erfolgte noch eine weitere Zentrifugation unter gleichen Bedingungen, nachdem das Harz mit der 5-fachen Menge Colum Buffer versetzt wurde.

Nach Verwerfen des Überstands wurde der Sorbent bis zur Wiederverwendung mit 2-fachem Volumen an Colum Buffer versetzt und bei 4°C gelagert.

3.2.5.4 Einengen der Proben

Die Urin- und Plasmaproben wurden nach der Aufreinigung mit der SpeedVac eingengt (ausgetrocknet), um dann für die ELISA-Messungen mit EIA-Buffer aufgefüllt zu werden.

Verwendete Mengen für das Einengen:

<u>Urin:</u>	Mit Sorbent aufgereinigt:	375 µl
	Deproteiniert:	1,8 ml
<u>Plasma:</u>	Hydrolysiert deproteiniert:	2 ml
	Deproteiniert:	1 ml
	Hydrolysiert und mit Sorbent gereinigt:	250 µl
	Mit Sorbent gereinigt:	250 µl

3.2.6 Enzymimmunoassay (ELISA)

8-Isoprostane EIA Kit-Monoclonal
Cayman/Catalog No. 516351

Die Durchführung des Enzymimmunoassay erstreckt sich über zwei Arbeitstage. Am ersten Tag findet die Plattenbeschichtung statt und am zweiten Tag die Farbentwicklung und die Auswertung.

1. EIA-Buffer (auftauen)

Vial 4 + 90 ml UltraPure Water

↓

Ein Gefäß enthält 10 ml Konzentrat. Vial 4 wurde in 100 ml Flasche mit Schraubverschluss überführt, mit Aliquots des 90 ml UltraPure Water mehrfach ausgespült, restliches UltraPure Water dazugegeben und gerührt bis alles gelöst ist (ca. 30 min).

2. Wash-Buffer

Vorschrift: Vial 5 in 2 l UltraPure Water + 1 ml Tween 20 (Vial 5a)

Es wurden geringere Mengen hergestellt:

Es wurden 625 µl aus Vial 5 in 250 ml UltraPure Water gegeben + 125 µl Tween 20 (Vial 5a)

Anmerkung: Zum Pipettieren von Tween 20 wurde die blaue Pipettenspitze abgeschnitten.

3. 8-Isoprostane-Standard

Mit einer in Ethanol equilibrierten Pipettenspitze wurden 50 µl aus Vial 3 in ein sauberes Test Tube (Eppendorf) pipettiert, welches 450 µl UltraPure Water enthielt. ⇒ 5 ng/ml (bei 4°C für 6 Wochen stabil)

Dann wurden die 8-IP-Standard-Lösungen mit EIA-Buffer verdünnt.

Standard Nr.	EIA-Buffer	8-IP-St. (5 ng/ml)	Mischen von Nr.	8-IP [pg/ml]
S1	450 µl	50 µl mischen		500
S2	250 µl		250 µl von 1	250
S3	250 µl		250 µl von 2	125
S4	250 µl		250 µl von 3	62,5
S5	250 µl		250 µl von 4	31,5
S6	250 µl		250 µl von 5	15,6
S7	250 µl		250 µl von 6	7,8
S8	250 µl		250 µl von 7	3,9

Beim Pipettieren wurde die Pipettenspitze für jede Reagenz 3 x mit der entsprechenden Standard-Lsg. equilibriert.

4. 8-Isoprostane Acetylcholinesterase Tracer

Vial 2 wurde mit 6 ml EIA-Buffer versetzt und gelöst (im Gläschen) und zum besseren Erkennen des Tracers beim Pipettieren auf den EIA-Kit mit einem auswaschbaren Farbstoff (rot) 60 µl versetzt. Nach dem Lösen bei 4°C für eine Woche stabil.

5. 8-Isoprostane Antiserum

Vial 1 wurde mit 6 ml EIA-Buffer versetzt und gelöst (im Gläschen) und wie beim Tracer mit 60µl Farbstoff (blau) versetzt. Nach dem Lösen bei 4° C für 4 Wochen stabil.

6. Platten-Protokoll erstellen

Jede Platte muss mindestens 2 Blanks (B), 2 Non-Specific Binding Wells (NSB) und 2 Maximum Binding Wells (B0) und eine 8 Punkt Standardkurve mit Doppelbestimmung enthalten.

Die Proben wurden mit A-Z und Aa-Mm (37 Proben) ins Protokoll eingetragen, jeweils mit Doppelbestimmung. Wenn die ideale Verdünnung nicht bekannt ist, muss eine Probe mit jeweils 2 Verdünnungen mit Doppelbestimmung getestet werden.

Verdünnungen der verwendeten Proben

Vorerst wurden die eingegangenen Proben mit EIA-Buffer aufgefüllt:

Urin:

Mit Sorbent gereinigte Proben: 375 µl EIA-Buffer

Deproteinierte Proben: 200 µl EIA-Buffer

Plasma:

Das mit Sorbent und das hydrolysierte mit Sorbent aufgereinigte Plasma wurde vor der Aufreinigung schon 1:5 verdünnt.

Nach dem Einengen wurden diese Proben mit 100 µl EIA-Buffer aufgefüllt.

⇒ 1:5 verdünnte Proben sind somit 2,5 fach konzentriert worden

⇒ Proben sind somit in EIA-Buffer 1:2 verdünnt.

Das deproteinierte Plasma wurde durch das Deproteinieren 1:9 verdünnt.

Die Proben wurden nach dem Einengen in 111 µl EIA-Buffer gelöst.

⇒ 9-fache Konzentration der Proben, was dann wiederum der Ausgangskonzentration der Originalprobe entspricht.

Das hydrolysierte und deproteinierte Plasma wurde durch die Hydrolyse 1:2 und durch das Enteiweißen 1:9 verdünnt ⇒ 1:18 Verdünnung

Dadurch wurde die doppelte Menge wie ohne Hydrolyse eingeengt und in 111 µl EIA-Buffer gelöst.

⇒ 18-fache Konzentration (entspricht der Ausgangskonzentration der Originalproben)

Testplatte:

Urin:

Mit Sorbent aufgereinigte und enteiweißte Proben:

1:10 = 20 µl Probe + 180 µl Buffer

1:40 = 10 µl Probe + 390 µl Buffer

Plasma:

Mit Sorbent und hydrolysiert Sorbent aufgereinigte Proben:

1:5 (⇒Originalplasma 1:10 verdünnt)= 22 µl Probe + 88 µl EIA-Buffer

1:1,5 (⇒ Originalplasma 1:3 verdünnt)= 74 µl Probe + 37 µl EIA-Buffer

Deproteinierte Proben und hydrolysiert deproteinierte Proben:

1:10=20 µl Probe + 180 µl EIA-Buffer

1:30=10 µl Probe + 290 µl EIA-Buffer

Entgültige Platten:

Urin:

1:10= 20 µl Probe + 180 µl EIA-Buffer

7. Durchführung der ELISA-Plattenbeschichtung

Prinzip des ACETM Competitive Enzyme Immunoassay von Cayman Chemicals

Der Assay beruht auf der Konkurrenz von 8-Isoprostanen und einem 8-Isoprostan-Acetylcholinesterase-Konjugat (AChE + 8-Isoprostan-Tracer) um eine festgelegte Menge von 8-Isoprostan spezifischen Kaninchen-Antiserum Bindungsstellen.

Da die Konzentration des 8-Isoprostan-Tracer konstant gehalten wird, während die Konzentration der 8-Isoprostane variiert, ist die Menge an 8-Isoprostan-Tracer, der an das Kaninchen-Antiserum binden kann, umgekehrt proportional zur Konzentration der 8-Isoprostane im Well. Dieser Antiserum-8-Isoprostan (freies oder Tracer) -Komplex bindet wiederum an den monoklonalen Maus-Antikörper, der schon zuvor an das Well gebunden wurde.

Die Platte wird gewaschen, um jegliche ungebundene Reagenzien zu entfernen und daraufhin wird Ellman's Reagent (welche das Substrat für Acetylcholinesterase enthält) dem Well beigefügt.

Das Produkt dieser enzymatischen Reaktion hat eine spezifisch gelbe Farbe und absorbiert am besten bei einer Wellenlänge von 412 nm.

Die Intensität dieser Farbe, welche spektrophotometrisch gemessen wird, ist proportional zur Menge des 8-Isoprostan-Tracers, welcher im Well gebunden ist und umgekehrt proportional zur Menge der freien 8-Isoprostane, die während der Inkubation im Well vorhanden sind:

$$\text{Absorption} \propto [\text{Gebundener 8-Isoprostan-Tracer}] \propto 1/[\text{8-Isoprostane}]$$

Pipettierschema

Well Nr.	Name	EIA Buffer[μ l]	Proben/Stand.[μ l]	8-IP Tracer[μ l]	8-IP Antis.[μ l]
A1	B	-	-	-	-
B1	B	-	-	-	-
C1	NSB	100	-	50	-
D1	NSB	100	-	50	-
E1	B ₀	50	-	50	50
F1	B ₀	50	-	50	50
G1	S8	-	50 S 8	50	50
H1	S8	-	50 S 8	50	50
A2	S7	-	50 S 7	50	0
B2	S7	-	50 S 7	50	50

Platte mit Plastikfilm abdecken

Inkubation bei Raumtemperatur für 18 Stunden

1. Ellman's Reagenz

Es wurden 2 Vial Nr.8 + 40 ml UltraPure Water in einem 50 ml Falcon-Röhrchen gelöst. Daraufhin wurde dies mit Alufolie umwickelt, da die Reagenz sehr lichtempfindlich ist. Daher muss diese sofort verwendet werden.

2. Platte waschen

Die Wells wurden entleert durch Ausschütten und Trockenklopfen.

Die Platten wurden 5x mit Wash Buffer (250 µl) gespült und auf saugfähigem Papier trockengeklopft.

3. Platte mit Ellman's Reagenz bestücken

Jedes Well wurde mit 200 µl Ellman's Reagenz gefüllt und Well 12 G+H zusätzlich mit 5µl Tracer gefüllt.

4. Farbentwicklung

Die Platte wurde für 1,5 h im EMS-Reader geschüttelt.

Auswertung

Nach dem Schütteln wurde die Farbreaktion der entsprechende Platte spektrophotometrisch im EMS Reader gemessen.

3.2.7 Kreatininbestimmung

Da die 8-Isoprostanwerte, die im Urin bestimmt wurden, auf Kreatinin bezogen werden sollten, wurde der Kreatininwert im Urin bestimmt.

Dies erfolgte im Rahmen der routinemäßigen Laboruntersuchung im Institut für Klinische Chemie des Klinikums Rechts der Isar anhand eines enzymatischen Testverfahrens.

Die Isoprostane werden mittels des ELISA in der Einheit pg/ml dargestellt und der Kreatininwert in mg/dl angegeben.

Der 8-Isoprostanwert soll jedoch in Isoprostanwert in ng/mmol Kreatinin angegeben werden.

Zur Berechnung dieses Isoprostanwertes dient folgende Formel:

8-Isoprostanwert (pg/ml)/Kreatininwert (mg/dl) x 1000/88,4
=8-Isoprostanwert in ng
mmol Kreatinin

3.2.8 IgE-Bestimmung

Die IgE-Bestimmung erfolgte im Allergielabor der Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie am Biederstein, Technische Universität München, anhand des CAPRAST (Pharmacia, Uppsala/Schweden).

3.2.9 Dokumentation

Die im Rahmen der Studie gewonnenen Daten sind in Appendix II (Datensammlung) aufgeführt. Die Anamnese und der Hautbefund sind auf standardisierten Frage- und Dokumentationsbögen festgehalten (s.Appendix I).

Der SCORAD wurde anhand eines vorgegebenen Dokumentationsbogens der „European Task-Force on Atopic Dermatitis“ ermittelt, welcher in Appendix I abgebildet ist.

3.2.10 Datenanalyse und Statistik

Zur Datenanalyse wurde Microsoft EXEL und das spezielle Statistikprogramm SPSS verwendet.

Es wurden Korrelationskoeffizienten (Pearson) verwendet. Mit Hilfe des t-Testes wurde gezeigt, ob dieser Korrelationskoeffizient von Null signifikant verschieden war. Ein Ergebnis wurde dann als signifikant bewertet, wenn die Irrtumswahrscheinlichkeit p kleiner als 0,05 war.

3.2.11 Studienablauf

Zu Beginn der Studie wurden die Probanden innerhalb eines Zeitraums von einem Jahr in den Ambulanzen und Stationen der Klinik (s.3.1.1) rekrutiert.

Den Probanden wurde nach einer ausführlichen Anamnese und Untersuchung Blut und Urin entnommen und diese unmittelbar danach eingefroren. (s.3.2.1-3.2.4).

Während dieser Sammlung der Patienten erfolgten bereits erste Messungen von 6 Urin- sowie Plasmaproben, darunter je 3 Proben von Patienten mit AE, welche einen besonders hohen SCORAD hatten und je 3 Proben von gesunden Kontrollen.

Dieser Testdurchlauf diente zur Etablierung der geeignetsten Aufreinigungsmethode (s.3.2.5), sowie zur Beurteilung der Eignung von Urin oder Plasma als zuverlässigere Substanz für die ELISA-Messungen.

Dabei stellte sich heraus, dass die Aufreinigung mittels Affinity Sorbent die besten Ergebnisse lieferte im Vergleich zu nicht purifizierten oder deproteinierten Proben und dass die Isoprostanwerte im Urin besser mit der Höhe des SCORAD korrelierten, als die im hydrolisierten (gesamten) oder freien Plasma bestimmten.

Außerdem ergaben sich bei den Messungen im Urin auch deutlichere Unterschiede zwischen Patientenwerten (die höher waren) und Werten von gesunden Kontrollpersonen als im Plasma.

Daher erfolgten nach abgeschlossener Rekrutierung der Probanden die Bestimmungen der Isoprostane nur im Urin mittels ELISA (s.3.2.6) nach vorheriger Aufreinigung mit dem Sorbent.

Weitere notwendige Untersuchungen und Auswertungen wurden wie in 3.2.7-3.2.10 geschildert durchgeführt.

4 Ergebnisse

4.1 Vergleich der verschiedenen Aufreinigungsmethoden der Proben und Vergleich des unterschiedlichen Materials zur Detektion der 8-Isoprostanwerte

Um möglichst exakt nur die F₂-Isoprostane im Plasma und Urin zu messen, wurden in Vorversuchen drei verschiedene Aufreinigungstechniken verglichen, die den F₂-Isoprostanen ähnliche Proteine herausfiltern sollten und somit falsche Bindungen mit dem ELISA vermeiden sollten.

Weiterhin wurde getestet, ob die Isoprostanwerte im Urin oder im Plasma aussagekräftiger sind.

Als Entscheidungskriterium hierbei diene die Feststellung, wie schon in anderen Studien [26, 41, 66, 105] gezeigt, dass bei an Asthma erkrankten Probanden höhere Isoprostanwerte gemessen wurden als bei gesunden Kontrollprobanden.

Daher wurden bei den Vorversuchen ähnliche Werteverhältnisse für die Patienten mit AE im Vergleich zu gesunden Probanden ohne atopische Erkrankungen erwartet.

Außerdem wurde auf eine Korrelation der ansteigenden Isoprostanwerte mit ansteigendem Schweregradscore des Hautzustandes (gemessen mit dem SCORAD) geachtet.

Somit wurden für die Vorversuche 6 Probanden ausgewählt, darunter 3 gesunde Kontrollprobanden ohne atopische Erkrankungen oder andere Einflußgrößen in der Anamnese und 3 Patienten mit AE und besonders hohem SCORAD-Wert (also besonders schwerem Krankheitsverlauf), um so sicher wie möglich Unterschiede zu gesunden Probanden bestimmen zu können.

Für die Isoprostanbestimmungen im Plasma sowie im Urin wurden folgende Proben ausgewählt, welche den verschiedenen Reinigungsverfahren unterzogen wurden und untereinander verglichen wurden: Bei den Patienten mit AE: P15, P25 und P78; bei den gesunden Kontrollen: K24, K64 und K 73.

Bei den Plasmaproben wurden Bestimmungen des freien (nicht veresthernten) und des gesamten (veresthernten und nicht veresthernten) Isoprostan gemacht.

Das freie als auch das gesamte Isoprostan wurde in, mit Affinity Sorbent aufgereinigten Proben, in deproteinierten Proben und in nicht aufgereinigtem puren Plasma mittels ELISA bestimmt.

Bei den Plasmamessungen wurden nur bei den deproteinierten und den hydrolysierten mit Affinity Sorbent aufgereinigten Proben verwertbare Ergebnisse, die jedoch keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen zeigten, erhoben.

Daraufhin wurden ebenfalls mittels ELISA die 8-Isoprostanwerte in den Urinproben der oben genannten Probanden gemessen.

Dies erfolgte in mit Affinity Sorbent aufgereinigten Proben, in deproteinierten Proben und in nicht gereinigten puren Urinproben (s. Tabelle 9.2.2).

Die Abbildungen 4.1-1 bis 4.1-6 zeigen die Korrelation von den 8-Isoprostanwerten in den jeweiligen Urinproben und dem SCORAD und den Vergleich der 8-Isoprostanwerte zwischen Patienten und gesunden Kontrollen in den jeweiligen Proben.

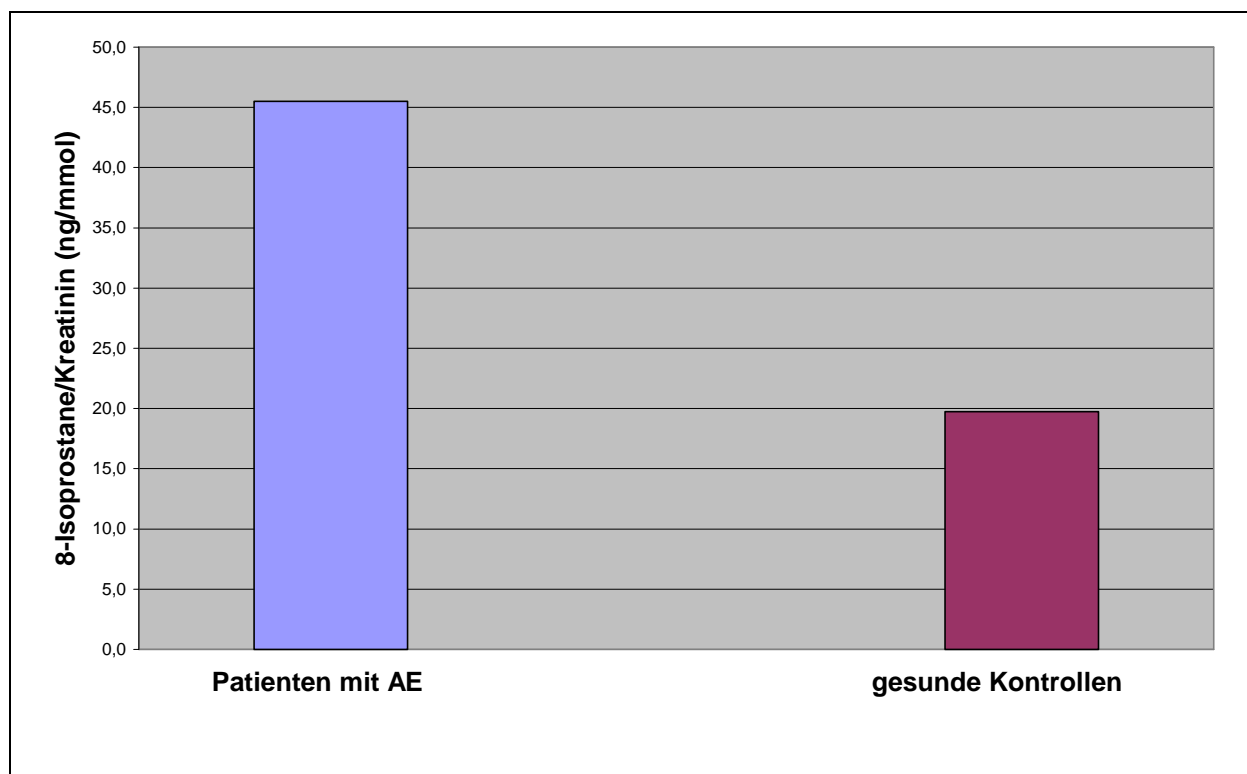


Abbildung 4.1-1: Vergleich der 8-Isoprostanwerte von den Patienten mit AE und den gesunden Kontrollen bei mit Affinity Sorbent gereinigten Urinproben

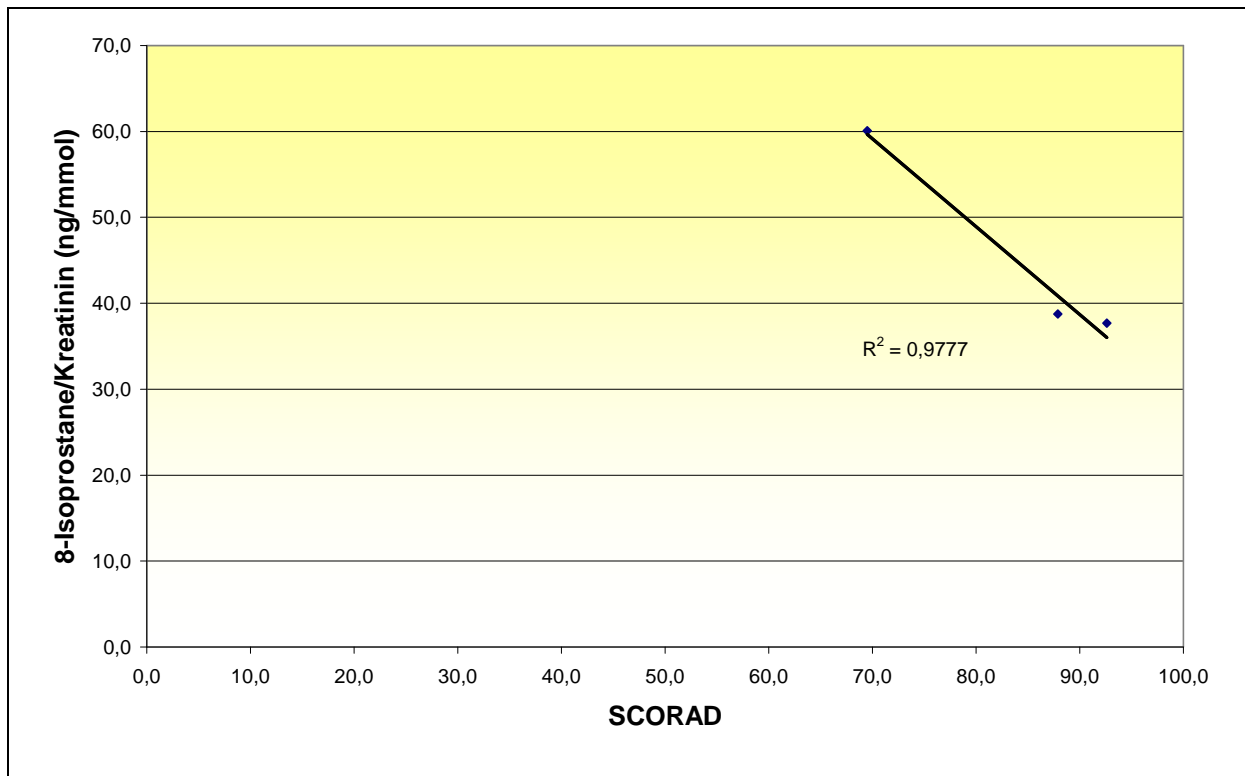


Abbildung 4.1-2: Korrelation von SCORAD und 8-Isoprostanwerten bei mit Affinity Sorbent gereinigten Urinproben der Patienten

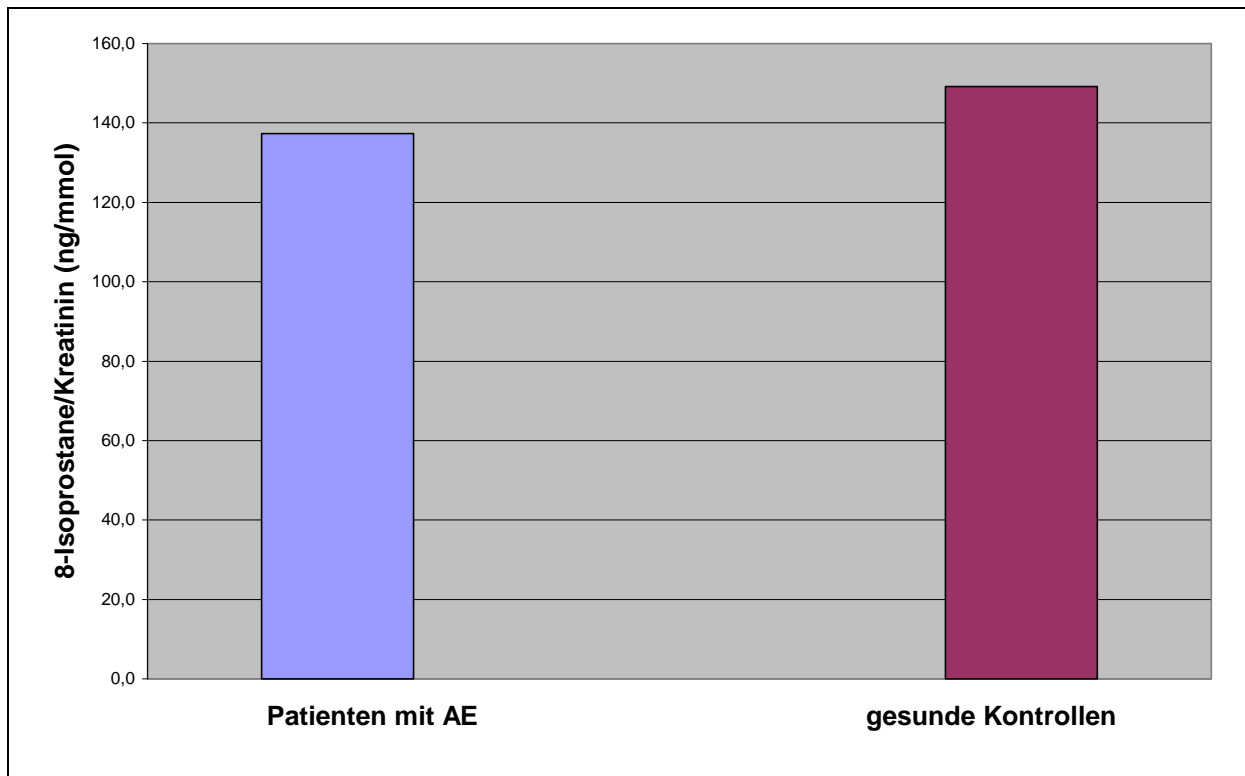


Abbildung 4.1-3: Vergleich der 8-Isoprostanwerte von den Patienten mit AE und den gesunden Kontrollen bei deproteinisierten Urinproben.

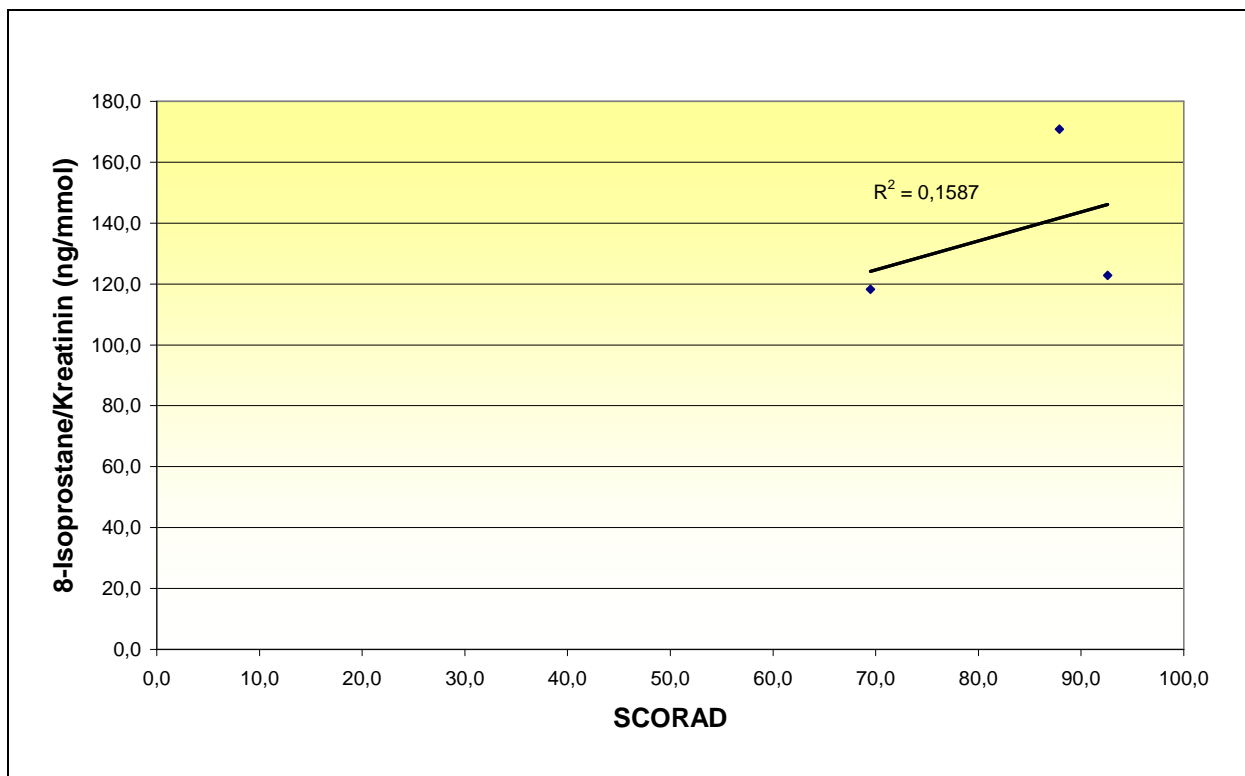


Abbildung 4.1-4: Korrelation von SCORAD und 8-Isoprostanwerten bei deproteinisierten Urinproben der Patienten

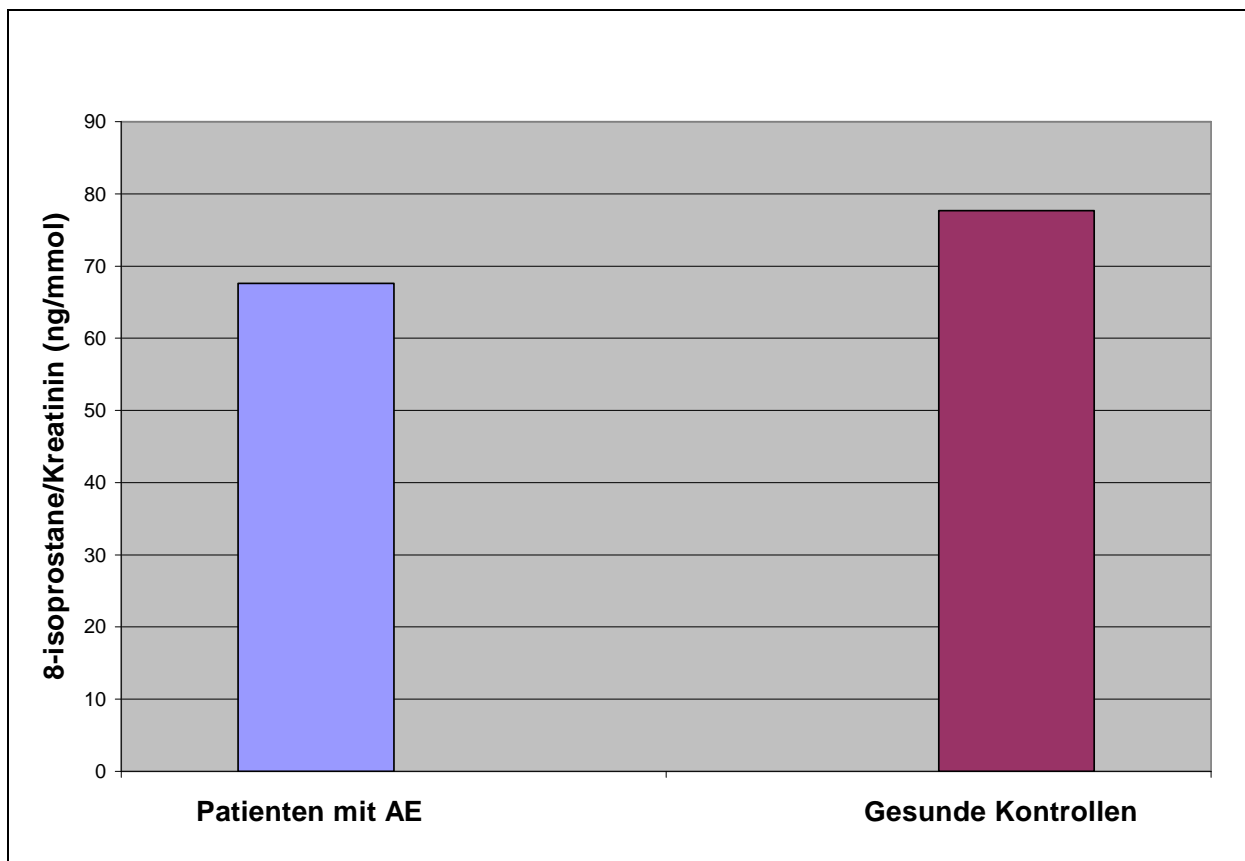


Abbildung 4.1-5: Vergleich der 8-Isoprostanwerte von den Patienten mit AE und den gesunden Kontrollen bei den nicht gereinigten Urinproben

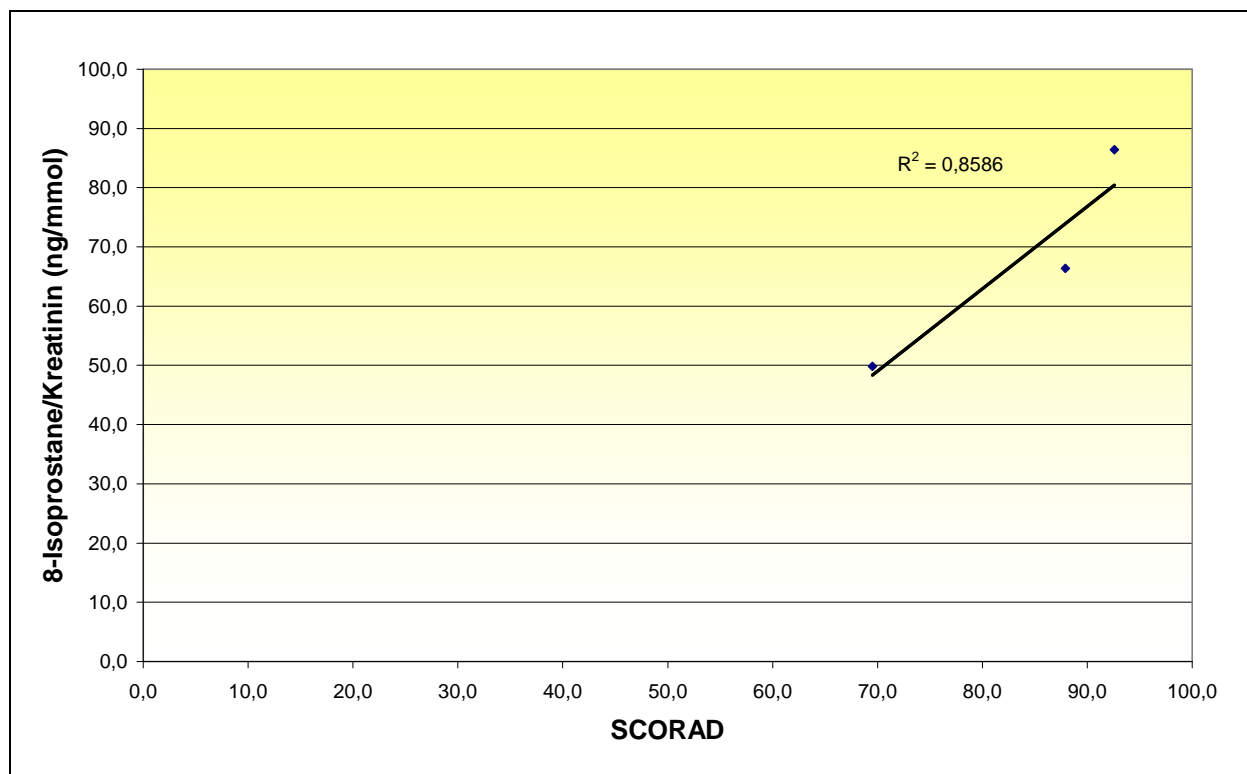


Abbildung 4.1-6: Korrelation von SCORAD und 8-Isoprostanen bei den nicht gereinigten Urinproben der Patienten

Der aussagekräftigste Unterschied zwischen den 8-Isoprostanwerten von den 3 Patienten und den 3 gesunden Kontrollen ergab sich für die mit dem Affinity Sorbent gereinigten Urinproben. Bei dieser Methode wurden im Gegensatz zu den anderen beiden Purifikationsmethoden erhöhte Isoprostanwerte bei Patienten mit AE im Vergleich zu gesunden Kontrollen gemessen.

Daher wurde diese Methode für die entgeltigen Messungen aller 118 Urinproben ausgewählt.

Bei den deproteinisierten Proben und den unbehandelten Urinproben zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen Patienten und Kontrollen. Dies mag daher rühren, dass bei nicht gereinigten Proben störende Isomere bestehen, welche beim Aufreinigen vom Sorbent herausfiltriert wurden. Ursachen wie zum Beispiel Störfaktoren konnten nicht für die nicht gleichwertigen Ergebnisse beim Deproteinieren gefunden werden.

Dahingegen ist bei diesen Proben eine tendenzielle Korrelation der ansteigenden Isoprostanwerte mit der Schwere des Hautbefundes (gemessen am SCORAD)

erkennbar, was bei den mit Affinity Sorbent gereinigten Proben nicht der Fall ist, jedoch bei einer so kleinen Anzahl an Probanden nicht ausreichend beurteilbar ist.

4.2 Auswertung der Messungen der Urinproben aller Probanden unter Berücksichtigung jeglicher Einflussfaktoren

Aufgrund der Ergebnisse der Vorversuche wurden daraufhin alle 118 Proben (darunter 88 Patienten mit AE und 30 gesunde Kontrollen) der Aufreinigung mit dem Affinity Sorbent unterzogen und mittels ELISA deren 8-Isoprostangehalt bestimmt.

Anhand eines Fragebogens (s. Appendix I) wurden die möglichen Einflussfaktoren dokumentiert und in einer gemeinsamen Tabelle (s. Appendix II) mit den erhobenen 8-Isoprostanwerten und den SCORAD-Werten vereinigt und statistisch ausgewertet.

In den folgenden Abbildungen wird der Einfluss dieser Störgrößen auf die 8-Isoprostanwerte und die Korrelation des SCORAD zu den ermittelten 8-Isoprostanwerten gezeigt.

In Appendix II sind die Daten zu den folgenden Diagrammen dokumentiert.

Allgemeine Hinweise zu den gesamten folgenden Diagrammen:

Die Höhe der Balken zeigt das geometrische Mittel der Werte.

Für die Bestimmung der Signifikanz (p) wurde der t-Test mit logarythmierten 8-Isoprostanwerten verwendet.

In den Diagrammen wurden jedoch zur besseren Darstellung die absoluten, nicht logarythmierten 8-Isoprostanwerte/Kreatinin (ng/mmol) benutzt.

Der Fehlerindikator zeigt das 95% Konfidenzintervall.

4.2.1 Natürliche Einflussfaktoren

Die Abbildung 4.2.1-1 zeigt den Einfluss des natürlichen Faktors Geschlecht auf die Isoprostanwerte.

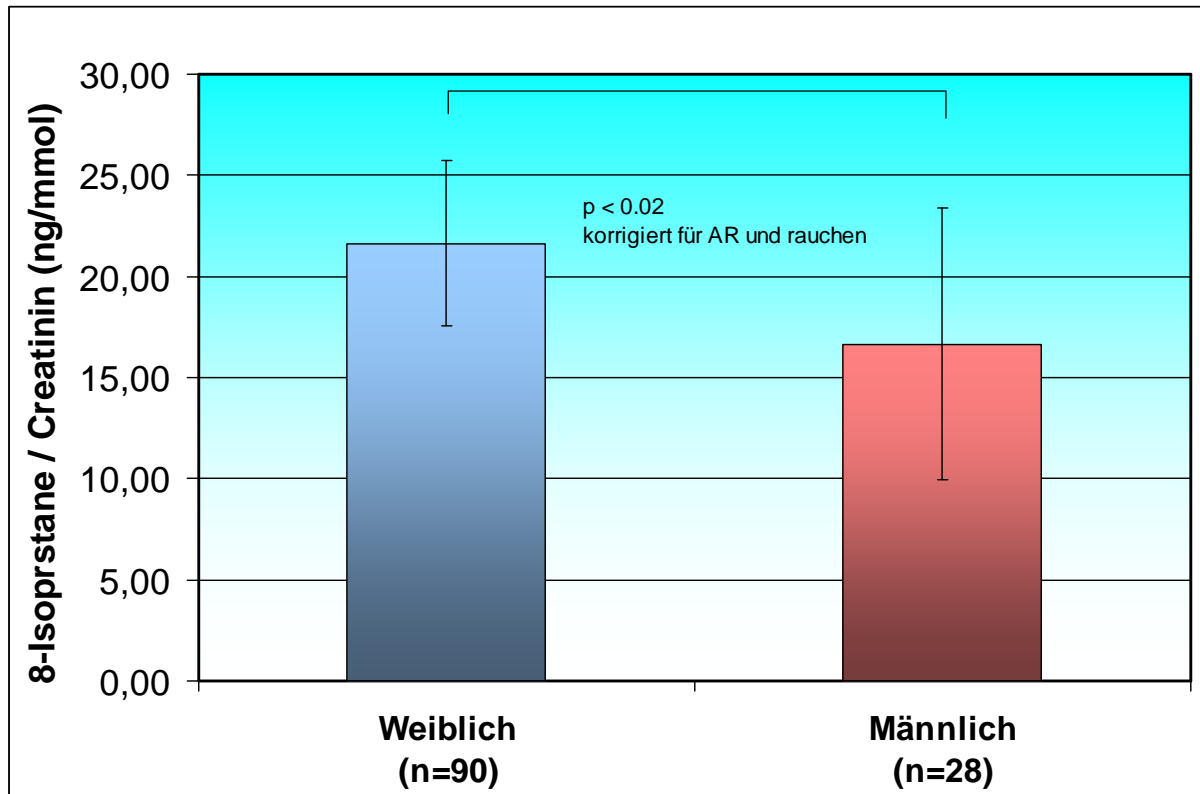


Abbildung 4.2.1-1: Vergleich der 8-Isoprostanwerte von Frauen und Männern

Das Diagramm zeigt alle Probanden (Atopiker und nicht Atopiker) und zeigt, dass der geometrische Mittelwert der 8-Isoprostanwerte ($21,64 \pm 4,07$ ng/mmol Kreatinin) bei Frauen ($n=90$), korrigiert für die anderen signifikanten Einflussgrößen, signifikant ($p < 0,02$) höher sind als der geometrische Mittelwert der 8-Isoprostanwerte ($16,65 \pm 6,73$ ng/mmol Kreatinin) bei Männern ($n=28$).

Der natürliche Faktor Alter hat hingegen keinen signifikanten Einfluss.

4.2.2 Externe Einflussfaktoren

Die Abbildung 4.2.2-1 zeigt den Einfluss des Tabakrauchens, dargestellt als die Korrelation der 8-Isoprostanwerte mit der Anzahl der pro Tag gerauchten Zigaretten.

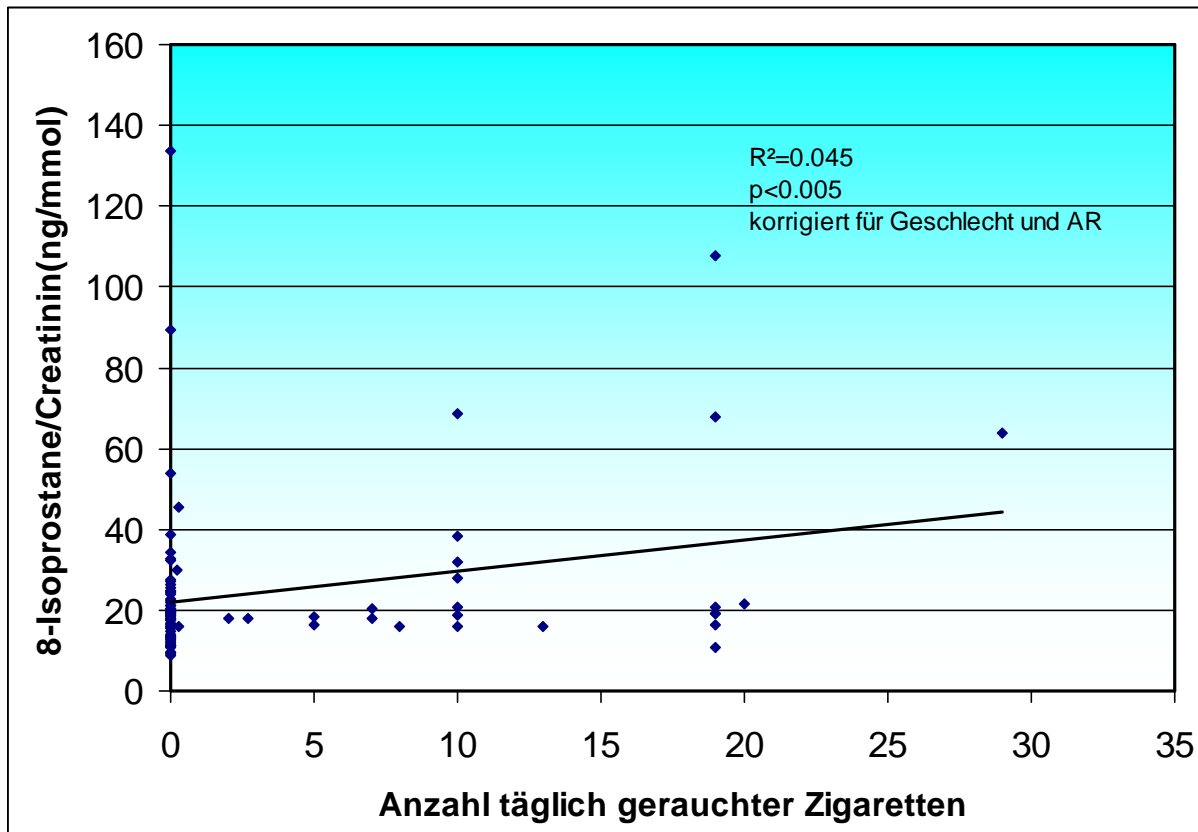


Abbildung 4.2.2-1: Korrelation von 8-Isoprostanwerten und der Anzahl an täglich gerauchten Zigaretten

Die Abbildung zeigt, dass mit ansteigendem Zigarettenkonsum die 8-Isoprostanwerte signifikant ($p<0,005$) steigen.

Genussgifte wie Alkohol haben keinen signifikanten Einfluss auf die Höhe der 8-Isoprostane.

Die Abbildungen 4.2.2-2 und 4.2.2-3 zeigen den Einfluss von Medikamenten, die nicht der Therapie des atopischen Ekzems dienen.

In Abbildung 4.2.2-2 werden Probanden, die Antioxydantien einnahmen, Probanden, die keine Antioxydantien einnahmen, gegenübergestellt.

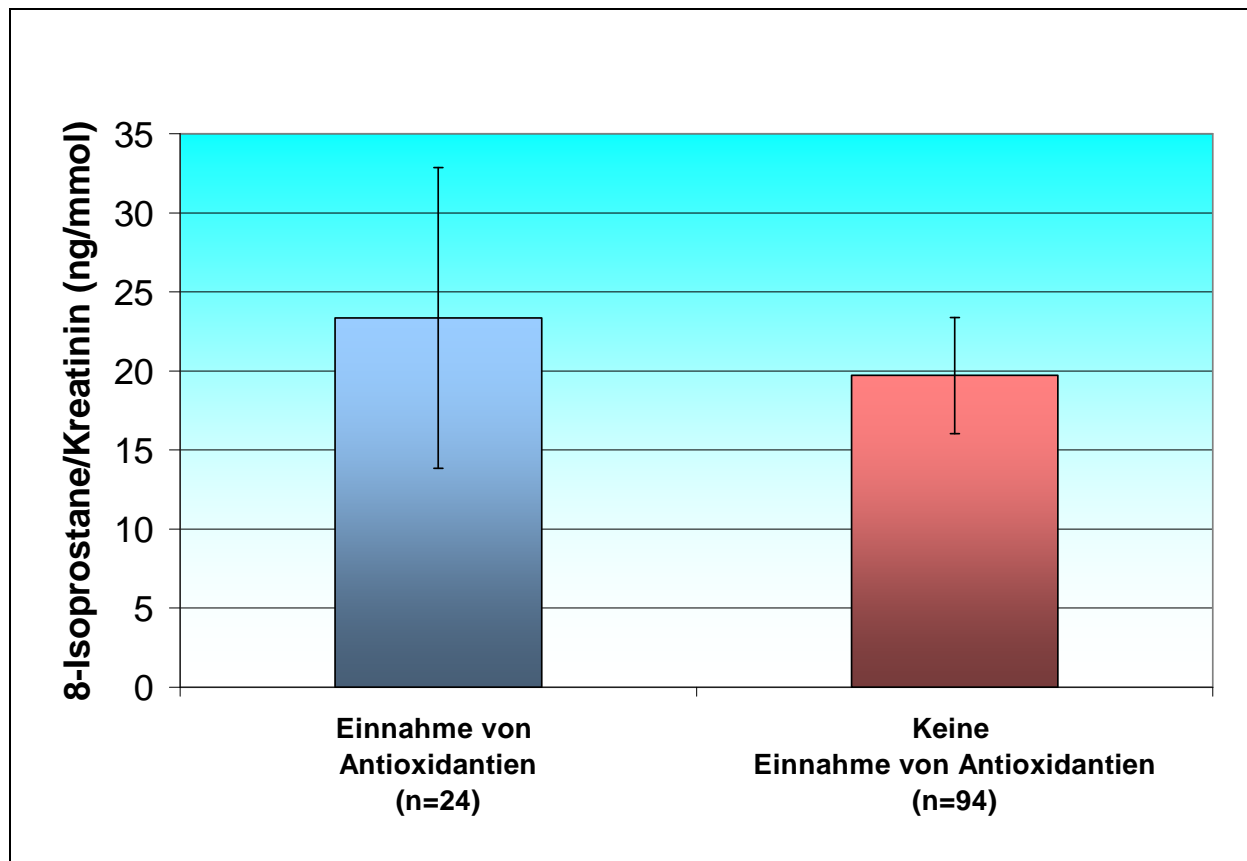


Abbildung 4.2.2-2: Vergleich der 8-isoprostanwerte der Probanden bei Einnahme von Antioxydantien und ohne Einnahme von Antioxydantien

Das Diagramm zeigt, dass bei Einnahme von Antioxydantien ($23,3 \pm 9,5$ ng/mmol Kreatinin) die Isoprostanwerte eher höher sind als ohne Einnahme ($19,7 \pm 3,7$ ng/mmol Kreatinin) von diesen.

Dies ist signifikant mit $p < 0,042$.

In Abbildung 4.2.2-3 werden die 8-Isoprostanmittelwerte bei Frauen mit Hormoneinnahme im Vergleich zu den Werten bei Frauen ohne Hormoneinnahme dargestellt.

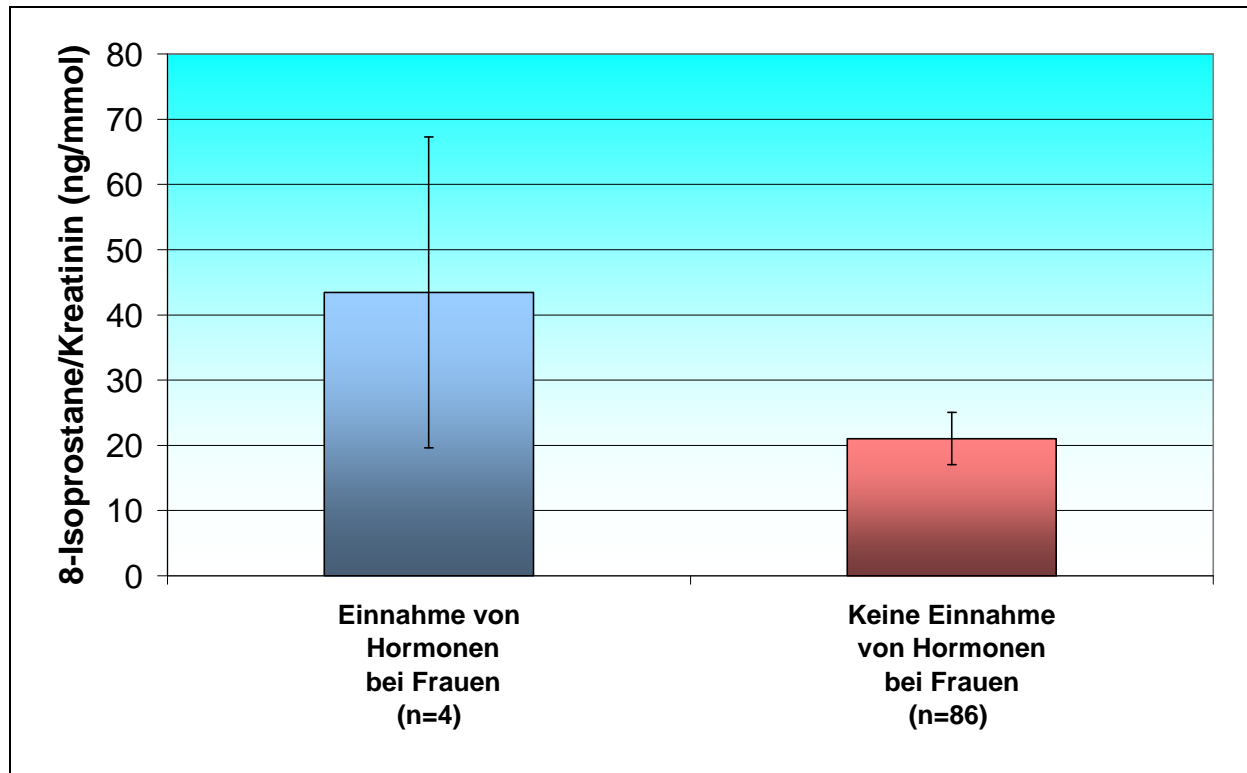


Abbildung 4.2.2-3: Vergleich der 8-isoprostanwerte von Frauen mit Hormoneinnahme und den Werten von Frauen ohne Hormoneinnahme

Bei den Frauen ist eine signifikante ($p < 0,003$) Isoprostanerhöhung unter Hormoneinnahme ($43,4 \pm 23,8$ ng/mmol Kreatinin), unabhängig vom Einfluss Geschlecht, gegenüber fehlender Hormoneinnahme (21 ± 4 ng/mmol Kreatinin) festzustellen.

Andere von den Probanden eingenommene Medikamente und spezielle Medikamente zur Therapie des atopischen Ekzems, dokumentiert in Appendix II, haben keinen signifikanten Einfluss auf die Isoprostanwerte.

4.2.3 Krankheiten als Einflussfaktoren

In den Abbildungen 4.2.3-1 bis 4.2.3-5 wird der Einfluss der Erkrankungen des atopischen Formenkreises auf die Höhe der 8-Isoprostanwerte dargestellt.

Abbildung 4.2.3-1 zeigt den Vergleich von den 8-Isoprostanwerten von Patienten mit AE und ganzjähriger AR und ohne ganzjährige AR

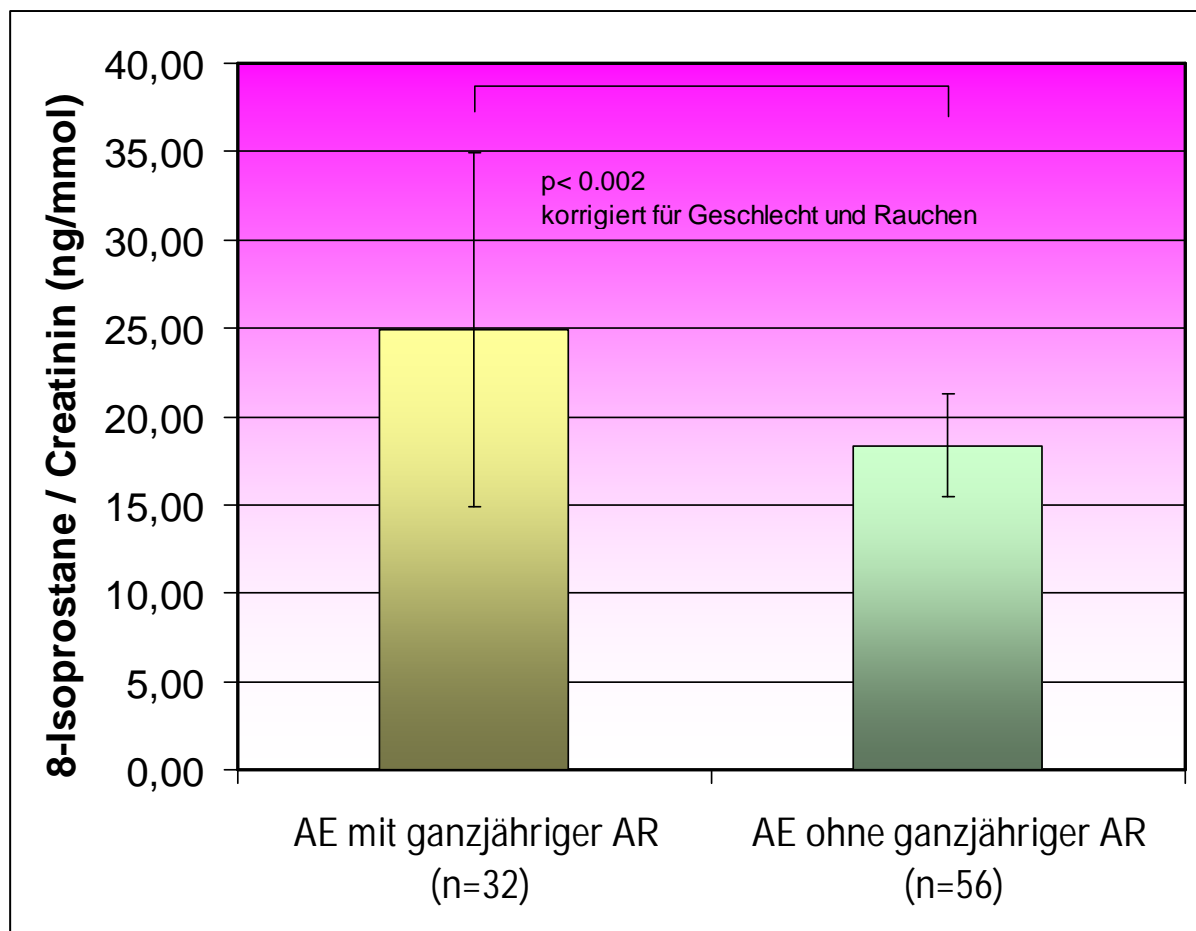


Abbildung 4.2.3-1: Vergleich der 8-Isoprostane von Patienten mit AE und ganzjähriger AR und mit AE ohne ganzjähriger AR

Es finden sich signifikant ($p < 0,002$) erhöhte 8-Isoprostanwerte im Urin von Patienten mit AE und zusätzlicher ganzjähriger AR ($24,9 \pm 10,0$ ng/mmol Kreatinin) im Vergleich zu Patienten mit AE ohne ganzjährige AR ($18,4 \pm 2,9$ ng/mmol Kreatinin).

Abbildung 4.2.3-2 zeigt den Unterschied des 8-Isoprostangehalts zwischen Patienten mit AE und gesunden Kontrollpersonen

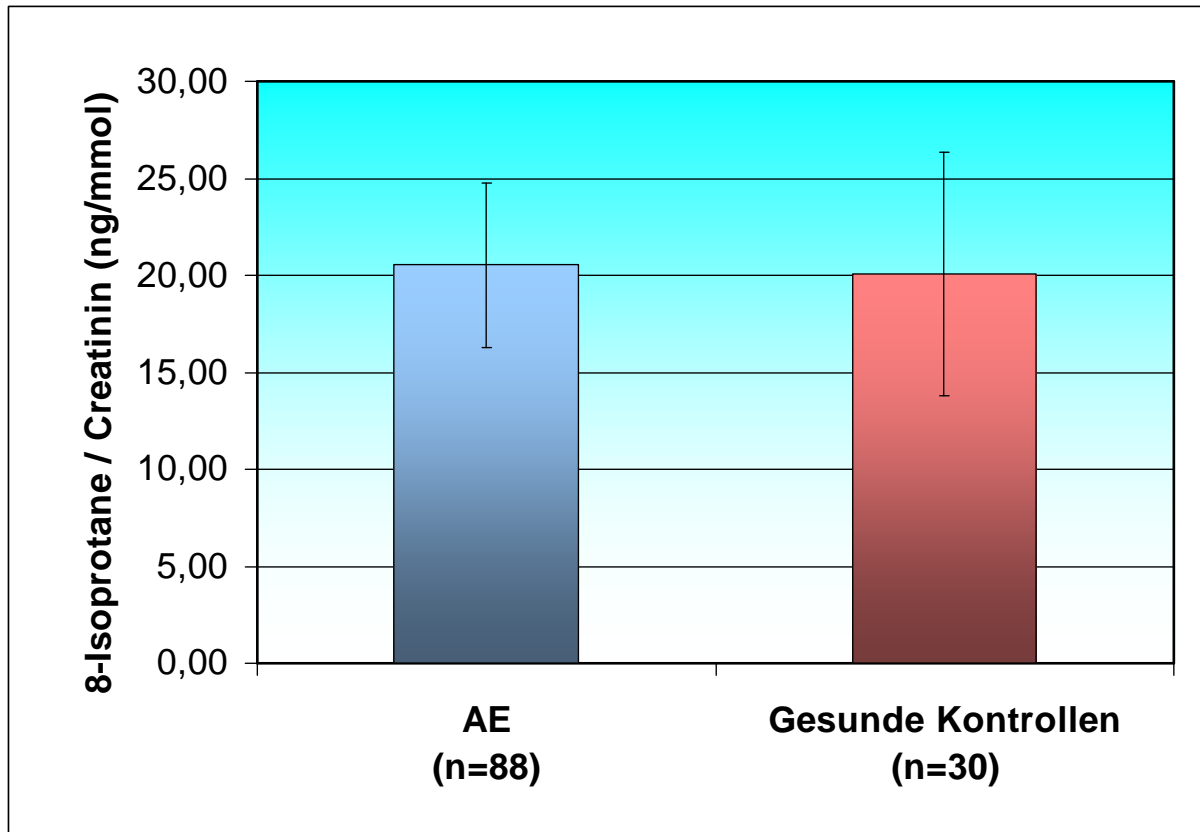


Abbildung 4.2.3-2: 8-Isoprostanwerte bei Patienten mit AE im Vergleich zu gesunden Kontrollen

Es ist kein signifikanter Unterschied ($p < 0,9$) zwischen Patienten mit AE ($20,5 \pm 4,2$ ng/mmol Kreatinin) und Gesunden ($20,0 \pm 6,3$ ng/mmol Kreatinin) festgestellt worden.

Abbildung 4.2.3-3: zeigt den Zusammenhang zwischen der Höhe der 8-Isoprostanwerte mit der Höhe der SCORAD-Werte.

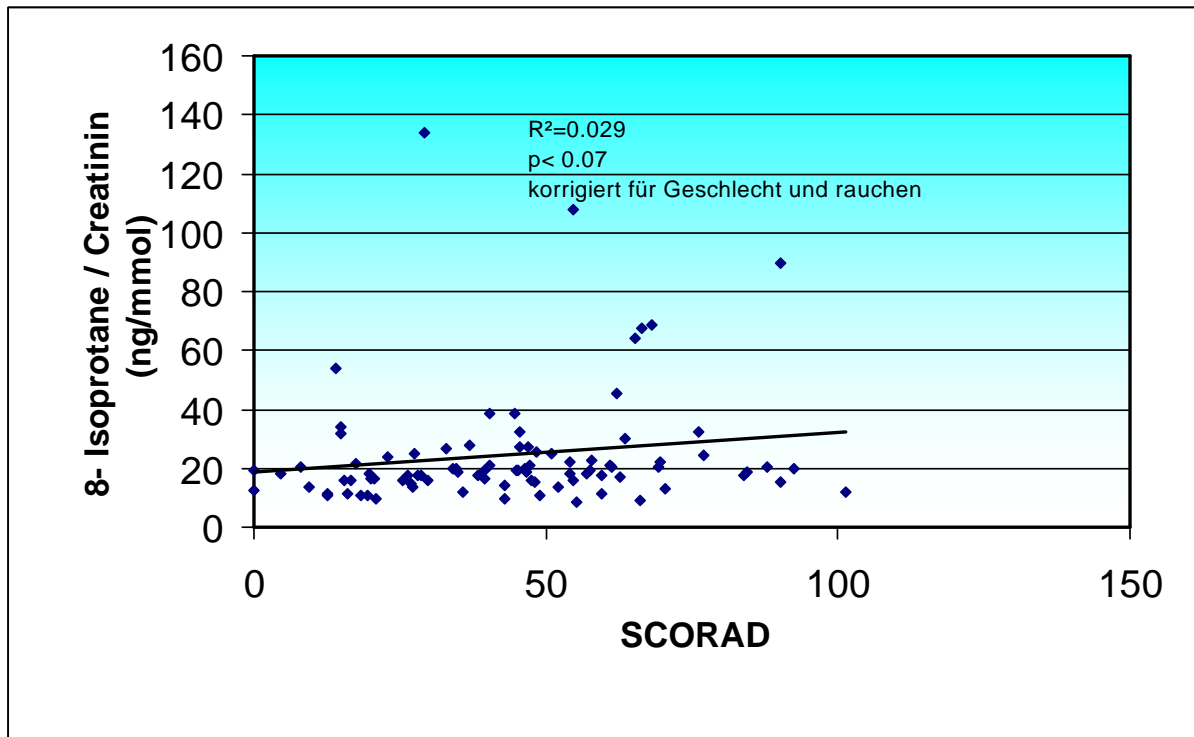


Abbildung 4.2.3-3: Korrelation der Höhe der 8-Isoprostanwerte mit der Höhe der SCORAD-Werte.

Es besteht keine signifikanter Zusammenhang ($p < 0,07$) zwischen dem Schweregrad des atopischen Ekzems, gemessen mit dem SCORAD und der Höhe der 8-Isoprostanwerte.

Aufgrund der Vermutung, dass eine Erhöhung der 8-Isoprostane, also des oxidativen Stresses, vor allem durch chronisch entzündliche Prozesse verursacht wird, wurde der Zusammenhang von speziellen Untereinheiten des SCORAD, die vor allem die Entzündung klassifizieren, also Erythem, Papeln/Ödem und Nässen und den 8-Isoprostanwerten statistisch untersucht.

Hierbei wurde festgestellt, dass Erythem im Gegensatz zu Papeln und Nässen noch am ehesten einen Einfluss auf die Erhöhung der 8-Isoprostane hat, jedoch auch nicht signifikant.

Zusammenfassend ist zu sagen, dass die deutlichste Korrelation beim gesamten SCORAD zu den Isoprostanwerten bei AE zu erkennen ist ($p < 0,07$).

In der Abbildung 4.2.3-4 werden die 8-Isoprostanwerte bei Patienten mit AE und Asthma im Vergleich zu den Werten von Patienten mit AE ohne Asthma gezeigt

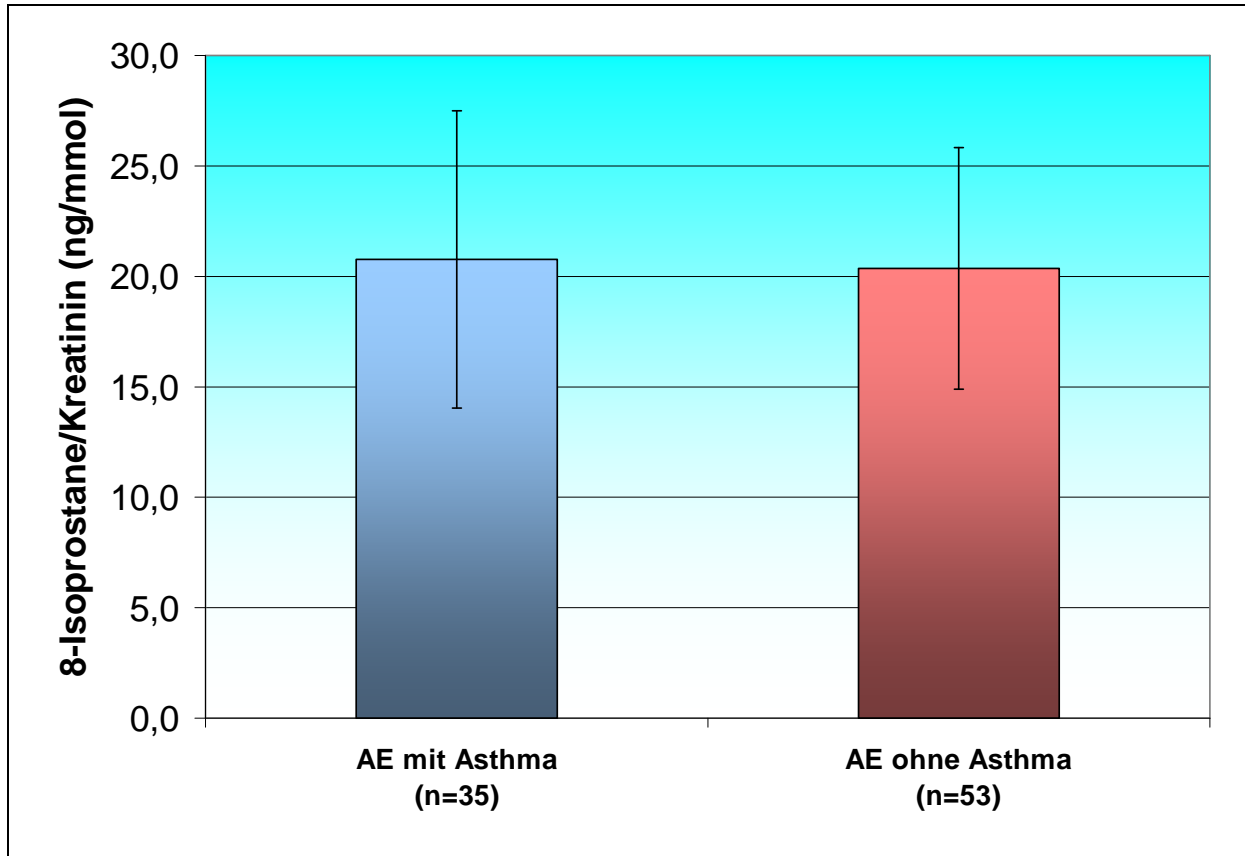


Abbildung 4.2.3-4: Vergleich der 8-Isoprostanwerte von Patienten mit AE und Asthma und von Patienten mit AE ohne Asthma

In der Grafik ist kein signifikanter Unterschied ($p < 0,6$) zwischen Patienten mit AE und Asthma ($20,8 \pm 6,7$ ng/mmol Kreatinin) und Patienten mit AE ohne zusätzliches Asthma ($20,4 \pm 5,5$ ng/mmol Kreatinin) ersichtlich.

Die Abbildung 4.2.3-5 zeigt den Vergleich der 8-Isoprostanwerte zwischen Patienten mit AE und saisonaler AR und Patienten mit AE ohne saisonaler Rhinitis.

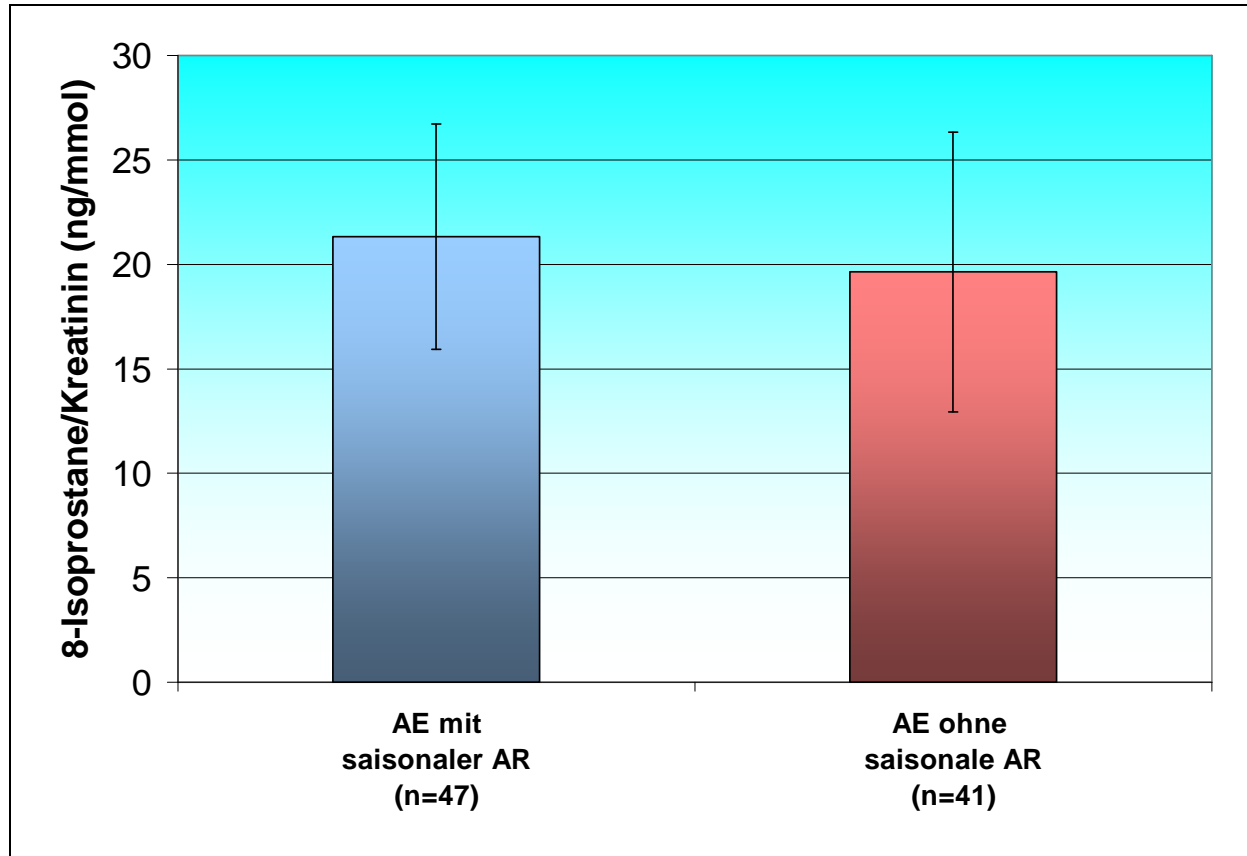


Abbildung 4.2.3-5: Vergleich der 8-Isoprostanwerte von Patienten mit AE und saisonaler AR und von Patienten mit AE ohne saisonaler AR

Auch bei Patienten mit AE, die zusätzlich unter saisonaler allergischer Rhinitis leiden, ist keine signifikante Erhöhung ($p < 0,4$) der 8-isoprostanwerte ($21,3 \pm 5,4$ ng/mmol Kreatinin) festzustellen im Gegensatz zu Patienten mit AE ohne saisonaler AR ($19,6 \pm 6,7$ ng/mmol Kreatinin).

Weitere in (Appendix II) dokumentierte allergische Krankheiten wie Urtikaria, Nahrungsmittelunverträglichkeiten, Kontaktallergien sowie Triggerfaktoren des atopischen Ekzems (Hausstaubmilbe, Katzenhaare, Graspollen, Birkenpollen, Eiweiß, Sellerie, Weizenmehl) haben keinen signifikanten Einfluss auf die Höhe der Isoprostanwerte.

Ebenfalls eine positive Familienanamnese bezüglich einer atopischen Erkrankung ist nicht mit einer Erhöhung der Isoprostane assoziiert.

Außerdem sind in (Appendix II) eine Reihe weiterer chronisch entzündlicher Erkrankungen aufgeführt und statistisch ausgewertet worden. Hierbei wurde kein Einfluss dieser auf die 8-Isoprostanwerte festgestellt.

4.3 Auswertungen der in den Blutproben aller Probanden gemessenen IgE -Werte

Als ergänzender Parameter wurde noch IgE herangezogen, der ebenfalls ein Maß für die Schwere der Erkrankung ist.

Es wurden die IgE - Werte in den Blutproben aller Probanden gemessen, da diese bei Atopikern einen Hinweis auf das Ausmaß der Erkrankung geben können.

Die Hypothese war, dass bei Patienten mit AE und erhöhten IgE-Werten ebenfalls die 8-Isoprostanwerte erhöht sind.

Daher wurde die Korrelation von 8-Isoprostanwerten und IgE-Werten, sowie der Zusammenhang von atopischen Erkrankungen oder dem SCORAD mit erhöhten IgE-Werten in den folgenden Abbildungen 4.3-1 bis 4.3-7 dargestellt.

Auch für diese Abbildungen gelten die allgemeinen Anmerkungen wie für die Abbildungen unter 4.2.

Abbildung 4.3-1 zeigt den Zusammenhang von IgE - Werten und Erkrankung an AE mit zusätzlichem Asthma oder ohne Asthma

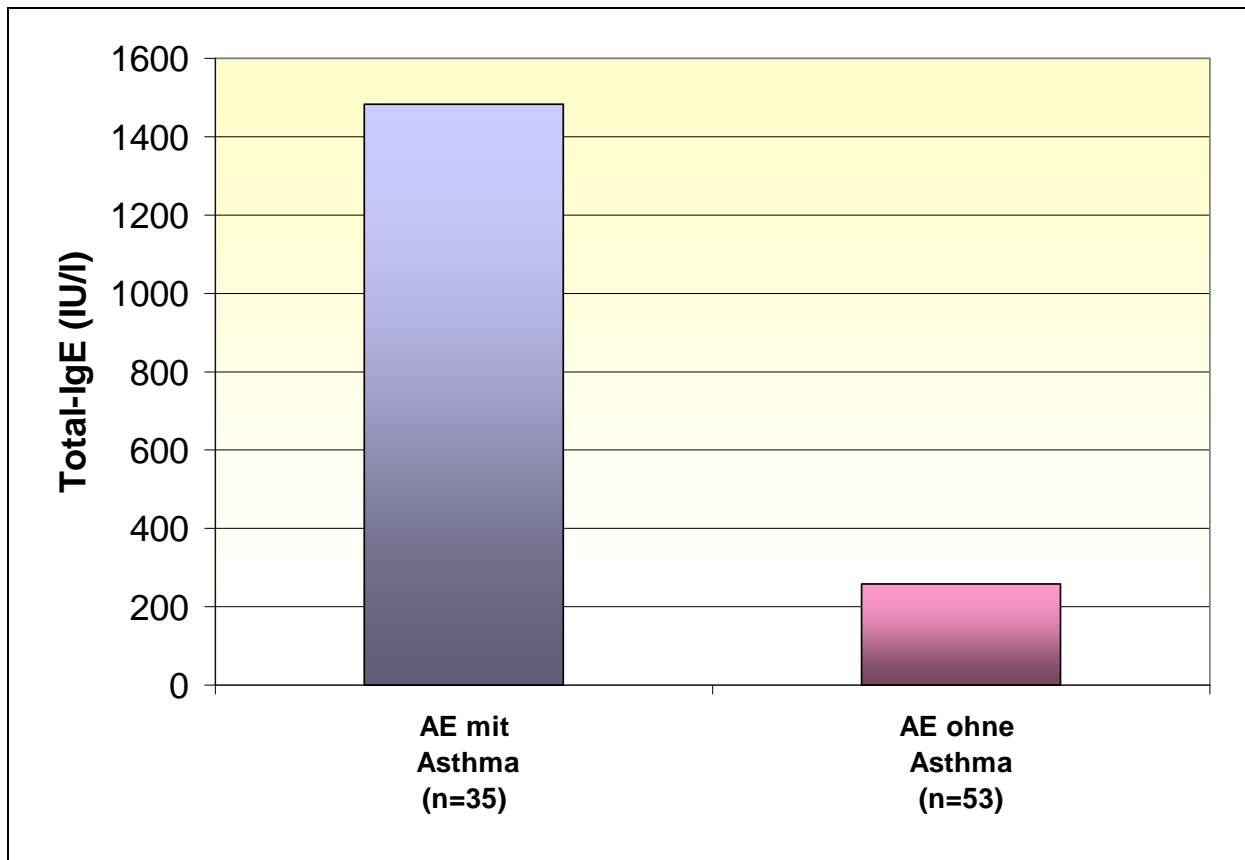


Abbildung 4.3-1. Vergleich der IgE – Werte von Patienten mit AE und Asthma und ohne Asthma

Hochsignifikant ($p=0$) ist der IgE-Mittelwert der Patienten mit AE und Asthma(1483IU/l) höher als der bei Patienten mit AE ohne Asthma (258 IU/l).

Abbildung 4.3-2 zeigt den Unterschied zwischen den IgE-Werten von Patienten mit AE und saisonaler AR und Patienten mit AE ohne saisonaler AR

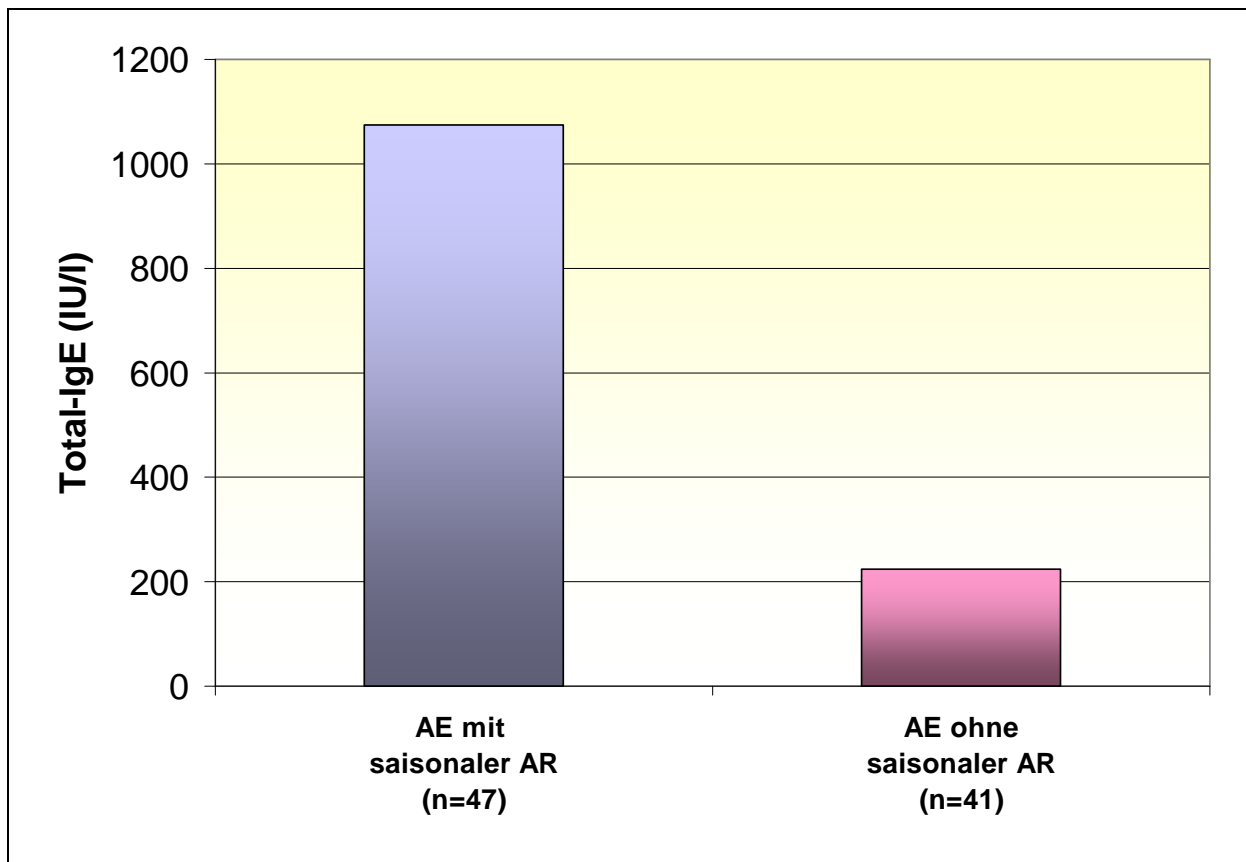


Abbildung 4.3-2: Vergleich der IgE-Werte von Patienten mit AE und saisonaler AR und ohne saisonaler AR

Die IgE- Werte der Patienten mit AE und saisonaler AR (1074 IU/l) sind signifikant ($p=0$) höher als diese bei Patienten mit AE ohne saisonaler AR (224 IU/l).

In Abbildung 4.3-3 wird der Vergleich von den IgE-Werten von Patienten mit AE und ganzjähriger AR und Patienten mit AE ohne ganzjähriger AR dargestellt

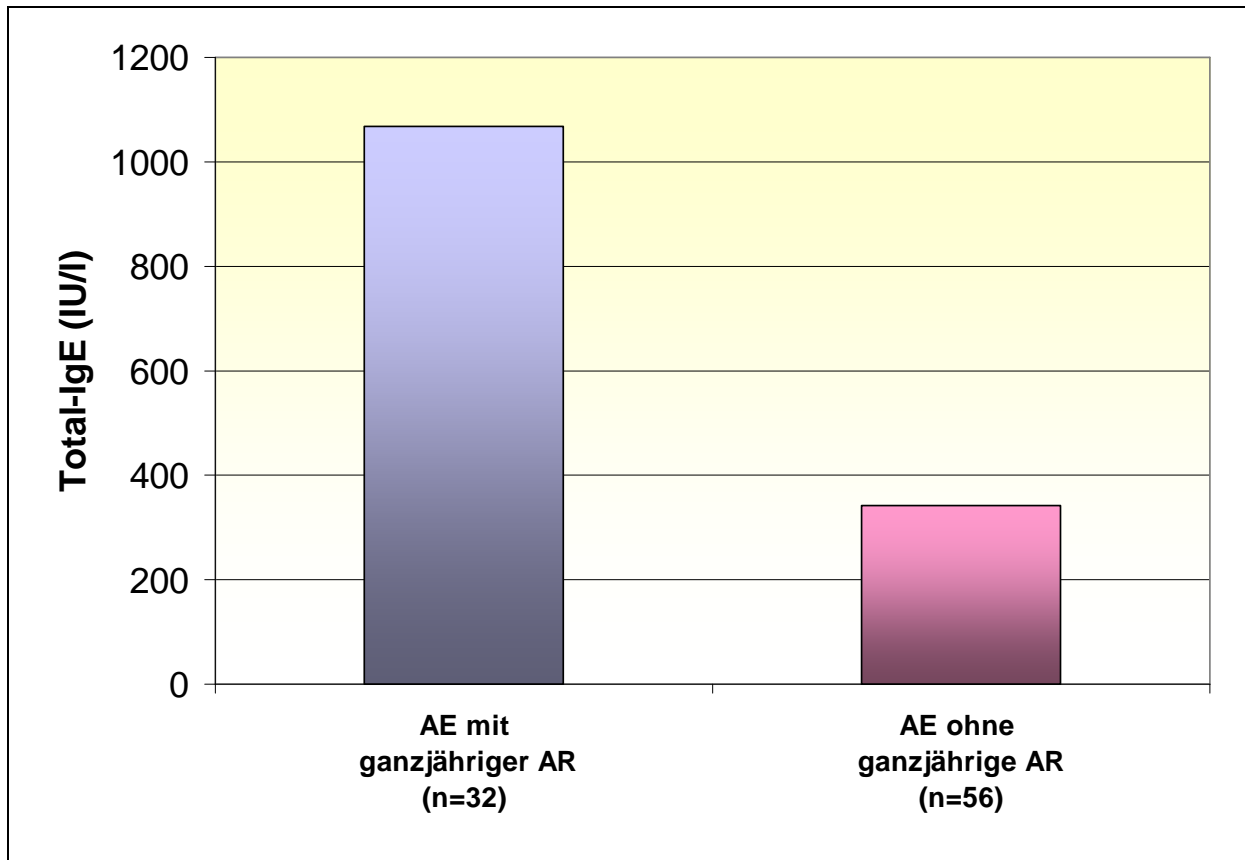


Abbildung 4.3-3: Vergleich der IgE-Werte von Patienten mit AE und ganzjähriger AR und ohne ganzjährige AR

Der Unterschied zwischen den IgE-Werten der Patienten mit AE und ganzjähriger AR (1068 IU/l) und der Patienten mit AE ohne ganzjähriger AR (342 IU/l) ist signifikant ($p < 0,14$).

Die Abbildung 4.3-4 zeigt den Einfluss von Antihistaminika auf die IgE-Werte

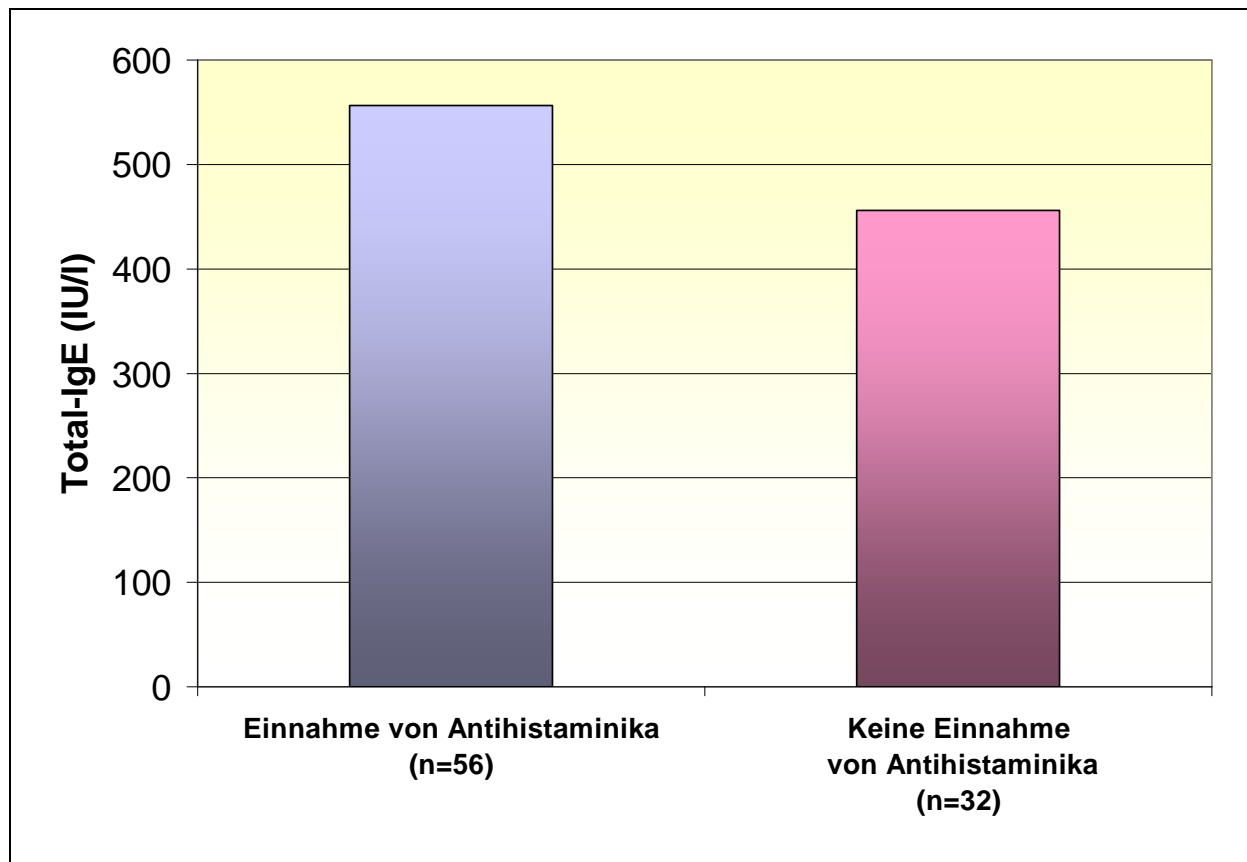


Abbildung 4.3-4: Vergleich der IgE-Werte der Patienten unter Einnahme von Antihistaminika und ohne Einnahme von Antihistaminika

Patienten mit AE, die keine Antihistaminika (456 IU/l) einnehmen, haben signifikant ($p < 0,026$) niedrigere IgE – Werte als Patienten mit AE, die Antihistaminika (556 IU/l) einnehmen.

Die Abbildung 4.3-5 stellt den Zusammenhang von den 8-Isoprostanwerten der Patienten mit AE mit den IgE-Werten dieser dar.

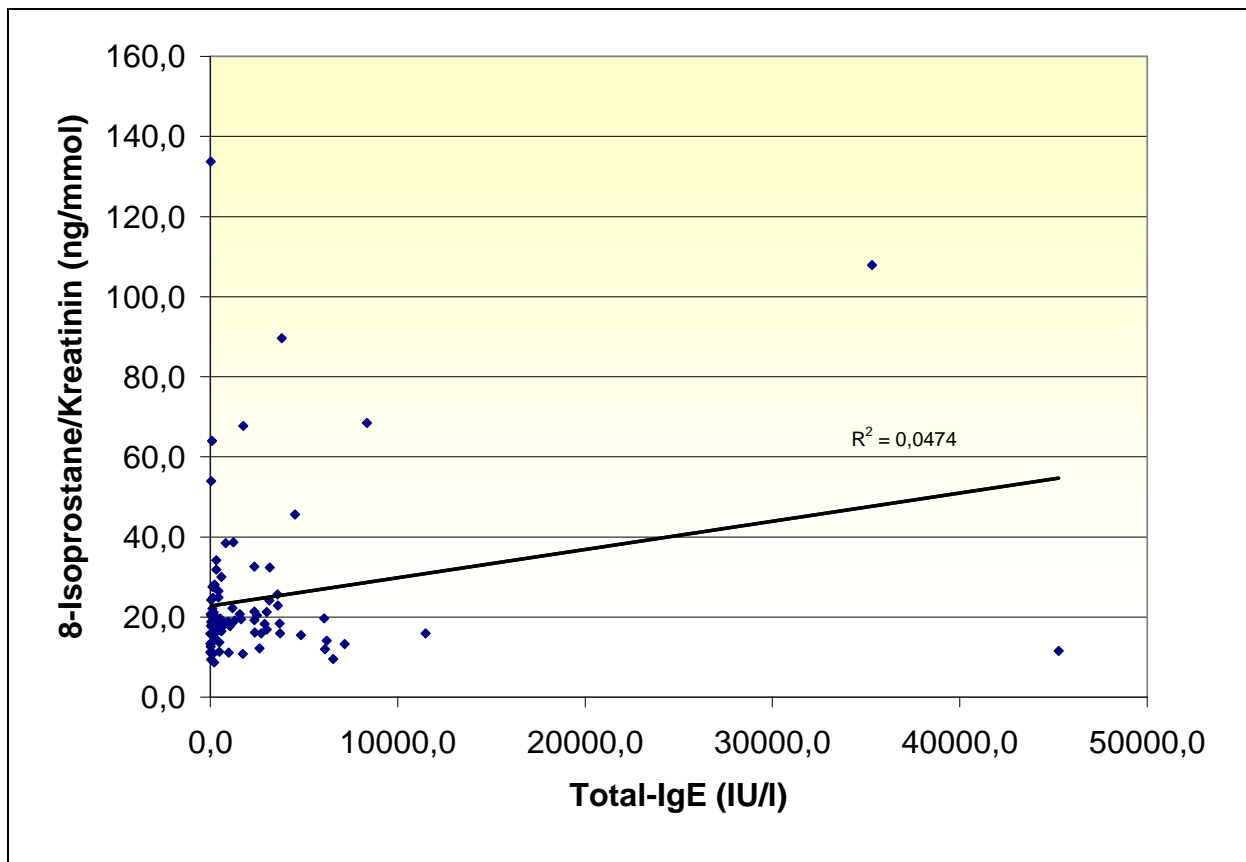


Abbildung 4.3-5: Korrelation der 8-Isoprostanwerte mit den IgE-Werten der Patienten

Es besteht keine signifikante Korrelation zwischen den 8-Isoprostanwerten und den IgE-Werten der Patienten mit AE.

In Abbildung 4.3-6 wird gezeigt inwiefern der SCORAD mit den IgE-Werten korrelierbar ist

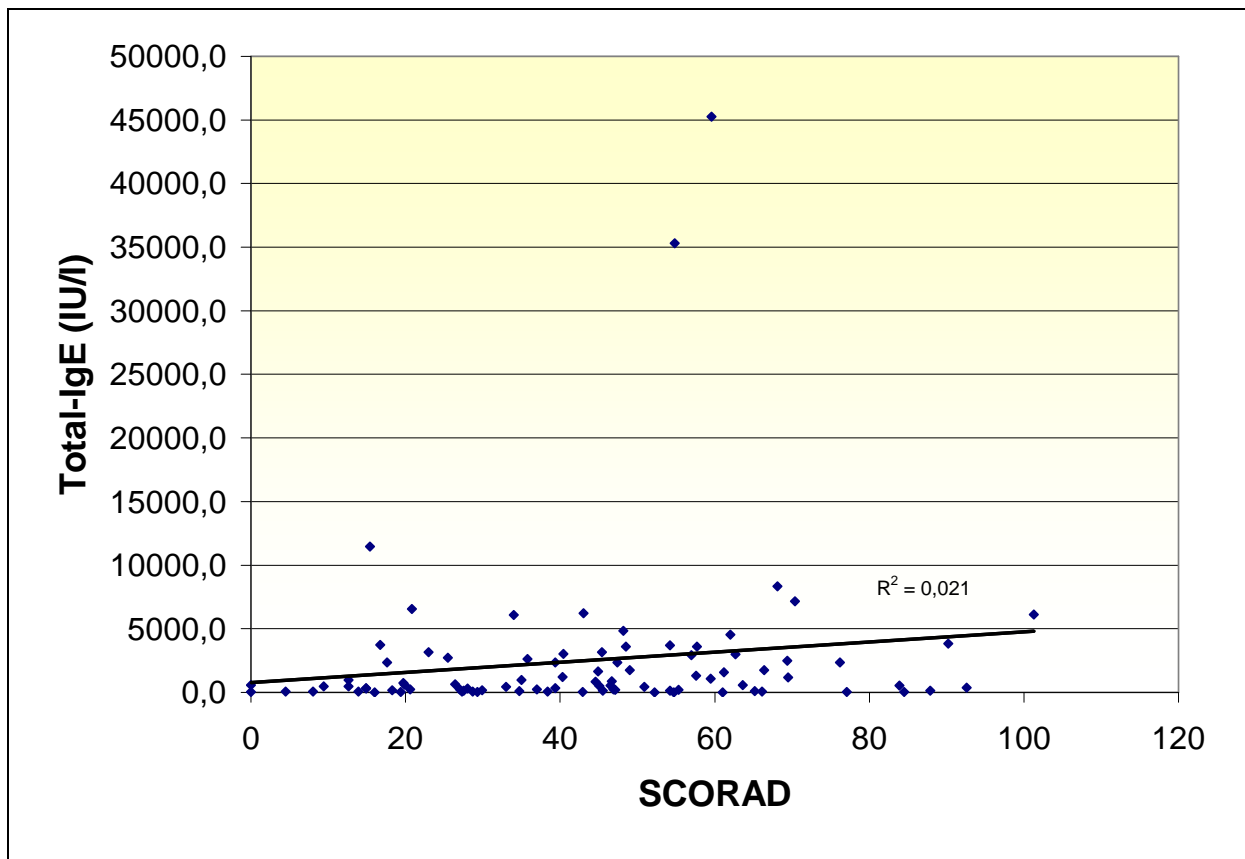


Abbildung 4.3-6: Korrelation des SCORAD des AE mit den IgE-Werten der Patienten mit AE

Auch hier ist kein signifikanter ($p < 0,05$) Zusammenhang zwischen SCORAD und den IgE-Werten der Patienten mit AE zu erkennen.

5 Diskussion

5.1 Einleitende Darstellung der wichtigsten Ergebnisse

Ziel der Arbeit war, die Rolle des oxidativen Stresses bei atopischen Erkrankungen mit besonderer Berücksichtigung des atopischen Ekzems zu untersuchen. Dazu sollte der schon etablierte Marker 8-epi-PGF_{2α} zum Einsatz kommen und insbesondere der Schweregrad der einzelnen Krankheitsbilder in Korrelation zur Höhe des oxidativen Stresses untersucht werden.

Außer den atopischen Erkrankungen wie Asthma, saisonaler und ganzjähriger allergischer Rhinitis und dem atopischen Ekzem wurden auch ausführlich erhobene Daten über natürliche sowie externe Einflußfaktoren in die Untersuchung mit einbezogen. Hierbei fiel vor allem die hoch signifikante Erhöhung der 8-Isoprostanwerte und somit des oxidativen Stresses durch Zigarettenrauchen und das weibliche Geschlecht auf. Weiterhin konnte unabhängig von der Tatsache des weiblichen Geschlechts auch eine Erhöhung des oxidativen Stresses bei Hormoneinnahme festgestellt werden.

Bei den Erkrankungen konnte nur bei den Patienten mit AE und perennialer AR im Vergleich zu Patienten mit AE ohne perenniale AR eine signifikante Erhöhung der 8-Isoprostane festgestellt werden. Dieser erhöhte oxidative Stress ist jedoch unter vorheriger Korrektur und Beachtung der Störgrößen Rauchen und Geschlecht festgestellt worden und ist mit $p < 0,002$ hoch signifikant für die perenniale AR.

5.2 Vorversuche

Vor Beginn der eigentlichen Studien-relevanten Messungen wurden Vorversuche durchgeführt. Hierzu wurden jeweils 3 Plasma- und Urinproben von gesunden Probanden und Patienten mit AE verwendet. Diese Proben waren jeweils unterschiedlich vorbereitet und aufgereinigt, um zu entscheiden, ob die Isoprostane veresthert oder nicht veresthert im Plasma, im Urin, gereinigt oder nicht gereinigt gemessen werden sollten. Dabei ergaben sich die signifikantesten Unterschiede zwischen Patienten mit AE und gesunden Probanden bei gereinigten Urinproben.

Bereits bei Roberts *et al.* [97] wurde darauf hingewiesen, dass die Gewinnung von Urin bei großen Fallzahlen praktikabler ist als die Gewinnung von Plasma und auch die aufwendige schnellstmögliche Lagerung des Plasmas bei -70° zur Vermeidung der Autooxidation und falsch hohen Produktion von Isoprostanen somit entfällt. Einziger Nachteil ist, dass bei der vorliegenden Arbeit keine Metabolite der F_2 -Isoprostane gemessen wurden, sondern die 8-epi-PGF_{2 α} , welche teilweise die lokale Produktion an Isprostanen in der Niere widerspiegeln und somit nicht ideal den systemischen Gehalt an Isoprostanen messen. Durch die Aufreinigung konnten bei den Messungen Kreuzreaktionen der Isomere der 8-epi-PGF_{2 α} mit dem ELISA vermieden werden, da diese vorher ausgewaschen wurden.

5.3 Natürliche Einflußfaktoren

Im Bezug auf das Alter der Probanden unabhängig von Krankheit oder anderen Einflußfaktoren konnten keine signifikanten Unterschiede in der Höhe des oxidativen Stresses nachgewiesen werden. Es liegen nicht viele Studien vor, in denen speziell auf die natürlichen Einflussfaktoren eingegangen wird. Jedoch zeigten Ho *et al.* [35] die den oxidativen Stress anhand von antioxidativer Enzymaktivität maßen, dass bei Rauchern eine Erhöhung des oxidativen Stresses mit dem Alter zunimmt, was bei Gesunden nicht feststellbar war. Außerdem konnten sie feststellen, dass Frauen geringeren oxidativen Stress hätten als Männer, was jedoch nicht signifikant nachweisbar war. In der Arbeit von Morrow *et al.* [69] wurde kein Zusammenhang zwischen den F₂-Isoprostanspiegeln und dem Alter oder Geschlecht der Raucher und Nicht-Raucher dieser Studie gefunden.

In der vorliegenden Arbeit konnten im Gegensatz dazu signifikant ($p < 0,02$) höhere 8-Isoprostanwerte bei Frauen als bei Männern gemessen werden. Dies ist ein kontroverses Ergebnis im Vergleich zur Studie von Ho *et al.* [35] und auch im Vergleich zur Arbeit von Katalinic *et al.* [44], welche bei weiblichen Ratten eine höhere antioxidative Abwehr im Gegensatz zu männlichen Ratten feststellen konnten. Ebenso stellten Ide *et al.* [38] fest, dass bei gesunden jungen Männern im Vergleich zu prämenopausalen Frauen erhöhter oxidativer Stress vorlag.

Dieser erhöhte oxidative Stress beim weiblichen Geschlecht ist wie alle Ergebnisse unabhängig von den anderen Einflußgrößen zu sehen.

Aufgrund der fehlenden weiteren Untersuchungen dieses Ergebnisses auch in anderen Studien ist noch keine eindeutige Ursache für diesen Sachverhalt aufgezeigt worden.

5.4 Externe Einflussfaktoren

5.4.1 Zigarettenkonsum

Einer der aussagekräftigsten äußeren Einflussfaktoren stellt der Zigarettenkonsum dar. Es zeigte sich eine signifikante ($p < 0.005$) direkt korrelierende Erhöhung der 8-Isoprostane zur ansteigenden Anzahl der pro Tag gerauchten Zigaretten. Das bedeutet, umso höher der Zigarettenkonsum pro Tag desto höher der oxidative Stress bei den rauchenden Individuen. Der oxidative Stress war auch im Mittel höher bei Rauchern im Vergleich zu Nichtrauchern. Diese Werte wurden auch vorher in Hinsicht auf andere, den oxidativen Stress beeinflussende Faktoren, korrigiert. Bereits Morrow *et al.* [69] konnten zeigen, dass Rauchen die oxidative Modulation und eventuelle Zerstörung von wichtigen biologischen Molekülen *in vivo* verursachen kann. Ebenso Wu und Monthuschi [62] schilderten in Ihren Grundlagenstudien über oxidativen Stress, dass Tabakrauch als Quelle für ROS fungiert und somit wie in Kapitel 1.1 beschrieben Lipide oxidieren und die 8-Isoprostan-Produktion steigern kann.

5.4.2 Einnahme von Antioxidantien

Ein von den Medien immer wieder propagierter Schutz gegen Hautalterung und unterstützendes Mittel für die Immunabwehr stellen die Antioxidantien dar, zu denen Vitamin E, Vitamin C, NADPH, GSH und enzymatische Mechanismen der Zellen wie SOD, Catalase und Gluthationperoxidase zählen.

In der hier geschilderten Studie spielten vor allem Vitaminpräparate, welche die gesunde Probanden und Patienten mit AE eingenommen hatten sowie ernährungsbedingte Vitaminzufuhr eine Rolle. Studienteilnehmer, die regelmäßig Vitamine einnahmen, hatten überraschender Weise signifikant ($p < 0.042$) höhere 8-Isoprostanwerte als solche, die keine konsumierten. Diese Ergebnisse sind unabhängig von atopischer Erkrankung und anderen Einflussfaktoren. Das bedeutet, dass in dieser Arbeit die Einnahme von Antioxidantien eher den oxidativen Stress erhöhte oder nicht senkte, im Vergleich zu fehlender Einnahme dieser. Die Wirkung von Antioxidantien wird immer wieder kontrovers diskutiert, so wie bei der Studie von Thompson *et al* [102] bei der eine Diät besonders reich an Gemüse und Obst

signifikant die 8-Isoprostanwerte reduzierte und somit den oxidativen Stress verminderte. In der Studie von Murr *et al* [74] hingegen zeigte sich eine Unterdrückung der Produktion von Th1- Zytokin Interferon γ durch die antioxidative Wirkung von grünem Tee und Wein. Im Bezug auf die bestehende gegenseitig bedingte Regulierung von Th1 und Th2-Typ Immunreaktionen, könnte also die Verminderung der Aktivität der Th1-Immunantwort eine Überproduktion der Th2-Zytokine fördern. Somit kann durch eine Ernährung reich an Antioxidantien und der Unterdrückung von Interferon- γ oder der fehlenden Stimulation der Th1-Immunantwort ein andauerndes Übergewicht der Th2-Immunantwort bestehen und eine erhöhte Anfälligkeit für die Entwicklung atopischer Erkrankungen. Eine andere mögliche Erklärung wäre, dass die Personen, die erhöhten oxidativen Stress haben häufiger Antioxidantien einnehmen als Personen mit niedrigem oxidativen Stress. Da bei der vorliegenden Arbeit jedoch nicht zwischen gesunden Probanden und Atopikern unterschieden wurde kann die gerade gezeigte Theorie nicht als Begründung für die gewonnenen Ergebnisse verwendet werden, sondern nur eine mögliche Ursache aufzeigen. Abschließend ist zu sagen, dass hier noch sehr wenig einheitliche Studien vorliegen.

5.4.3 Hormoneinnahme

Außerdem wurde die signifikante ($p < 0.003$) Erhöhung des oxidativen Stresses durch Hormoneinnahme unabhängig vom Geschlecht, das heißt unabhängig davon, dass Frauen allgemein in dieser Studie höhere 8-Isoprostanwerte aufweisen, gefunden. Jedoch ist die Fallzahl mit sechs Probandinnen nicht sehr groß und weitere Untersuchungen an einem größeren Kollektiv zur Befundbestätigung sind erforderlich. Vergleichbare Studien sind kaum zu finden, jedoch ist ersichtlich, dass zum Beispiel Antikonzeptiva auch Krebsarten induzieren können, was wiederum ein Zeichen für Zelltod und erhöhten oxidativen Stress darstellt.

5.5 Krankheiten als Einflussfaktoren

5.5.1 Zusammenhänge zwischen ganzjähriger allergischer Rhinitis atopischem Ekzem, saisonaler Rhinitis, allergischem Asthma und F2-Isoprostanen

Die bedeutendste und signifikanteste ($p < 0.002$) Erhöhung der 8-Isoprostanwerte in der vorliegenden Untersuchung war bei den Patienten mit atopischem Ekzem (AE) und ganzjähriger allergischer Rhinitis (AR) im Vergleich zu den Patienten mit AE ohne zusätzliche ganzjährige AR festzustellen. In vergleichbaren Studien in denen oxidativer Stress bei allergischer Rhinitis gemessen wurde, erfolgte dies mittels Messung von eNO (exhaled nitric oxide) und Arbeiten zu Isoprostanen liegen nicht vor. Im Gegensatz zur vorliegenden Studie zeigten Jouaville *et al.* [42] dass vor allem Atopie ausschlaggebend für den erhöhten oxidativen Stress ist. Dies ergaben die Messungen von erhöhtem eNO bei Asthmatikern mit Atopie im Vergleich zu Asthmatikern ohne Atopie und die erhöhten eNO-Werte bei Probanden mit Rhinitis und Atopie im Gegensatz zu denen ohne Atopie in der Gruppe der Nicht-Asthmatiker. Weiterhin fanden Jouaville *et al.* [42] heraus, dass Kinder mit Asthma und Rhinitis höheren oxidativen Stress haben als solche mit Asthma ohne Rhinitis unabhängig vom atopischen Status. In der vorliegenden Studie hingegen sind die erhöhten Isoprostan-Werte bei der ganzjährigen allergischen Rhinitis nicht nur unabhängig vom atopischen Ekzem und der saisonalen AR sondern auch vom Asthma, also jeglicher zusätzlicher atopischer Erkrankung. Diese Feststellung wird außerdem dadurch bestärkt, dass keine signifikant ($p < 0.9$) höheren Isoprostanwerte für Patienten mit AE im Vergleich zu völlig gesunden nicht atopischen Probanden gemessen wurden. In Vergleichsstudien wie bei Omata *et al.* [78] oder bei Tsuboi *et al.* [103] jedoch konnte mittels 8-OhdG einem Produkt der DNA-Oxidation durch freie Radikale ein erhöhter oxidativer Stress bei Kindern mit AE im Vergleich zu Gesunden determiniert werden.

Antille *et al.* [4] hingegen stellten fest, dass in nicht befallener Haut von Patienten mit chronischem AE erhöhte Werte von Vitamin E im Stratum corneum bestehen und erniedrigte Lipidperoxid-Werte. Dies wird als Ergebnis eines adaptiven Prozesses an die chronische Entzündung gewertet. Angenommen der systemische Gehalt an Lipidperoxiden ist daher ebenfalls vermindert, dann würde dies die nicht signifikant erhöhten 8-Isoprostanwerte als Produkt der Lipidperoxidation in der vorliegenden

Studie erklären. Denn in dieser wurden im Gegensatz zu Omata *et al.* [78] Produkte der Lipidperoxidation und nicht der DNA-Peroxidation im Urin gemessen. Natürlich befanden sich die Patienten mit AE in einem akuten Krankheitsschub mit unterschiedlicher Ausprägung und es wurde somit nicht nur der oxidative Status an gesunder atopischer Haut erfasst. Die Korrelation des oxidativen Stresses mit dem Grad des Hautbefalls und der Schwere des Krankheitsbildes, welche zuverlässig mit dem SCORAD ermittelt werden, war jedoch nur tendenziell signifikant ($p < 0.07$) in dieser Studie im Vergleich zu Tsuboi *et al.* [103], der 8-OhdG als Marker verwendete, was den erneuten Unterschied eventuell begründen kann. Zusammenfassend sind also eventuell die Lipidperoxide auch systemisch vermindert bei Patienten mit AE aufgrund der Adaption und der erhöhten antioxidativen Abwehr als Folge der chronischen Entzündung.

Im Weiteren wurden in der vorliegenden Arbeit auch bei Asthmatikern mit AE ($p < 0.6$) im Vergleich zu Gesunden mit AE keine signifikant erhöhten 8-Isoprostanwerte gemessen. Das gleiche gilt für die 8-Isoprostanwerte bei Patienten mit AE und saisonaler AR im Gegensatz zu den Werten bei Patienten mit AE ohne saisonale AR, welche ebenfalls keine signifikante ($p < 0.4$) Erhöhung zeigten.

Im Bezug auf die in dieser Studie geschilderten Ergebnisse beim Asthma, bestehen viele konträre Studien die eindeutig den erhöhten oxidativen Stress bei Asthmatikern nachweisen. Dworski *et al.* [26] zeigten einen signifikanten Anstieg der 8-Isoprostane 2h nach gezielter Allergenstimulation im Urin von Patienten mit allergischem Asthma. Diese Messung erfolgte mittels massenspektrometrischer Analyse nach Inhalation des Allergens, wobei der Anstieg der 8-Isoprostane nach 2h noch bis zu 8h (Studiendauer) nachgewiesen werden konnte. Von Okazawa *et al.* [77] hingegen wurden direkte Wirkmechanismen der 8-Isoprostane wie Atemwegobstruktion und Plasmaexsudation nachgewiesen. Ausführlich wurde auf die Pathophysiologie und die 8-Isoprostane als daher bedeutsame Marker bei Wood *et al.* [105] hingewiesen. Hierbei wird noch mal die gemeinsame Pathophysiologie der allergischen Atemwegserkrankungen dargestellt, welche im akuten Stadium auf der Rekrutierung von Entzündungszellen wie Mastzellen, Eosinophilen, Neutrophilen, Lymphozyten und Makrophagen beruht. Weiterhin wirkt das Allergen nicht nur Mastzellen degranulierend, sondern wirkt selbst als Antigen, welches Antigen-präsentierende Zellen aktiviert und diese wiederum wichtige Cytokine freisetzen. Die durch die Antigen präsentierende Zellen wie zum Beispiel dendritische Zellen aktivierten Th-

Lymphozyten wiederum aktivieren Cytokine, welche bedeutende Entzündungszellen wie Makrophagen, Basophile und vor allem Eosinophile anlocken. Bei der perennialen AR spielen vor allem Eosinophile die entscheidende Rolle, welche durch CysLTs vermehrt angelockt werden und deren Adhäsion durch CysLTs gefördert wird. Vor allem durch das schon erwähnte „Mastzell-priming“ ist immer weniger Allergen vor allem außerhalb einer Pollensaison notwendig, um eine Reaktion auszulösen.

In der hier vorgestellten Studie lässt sich der fehlende oxidative Stress bei den Asthmatikern so hingehend erklären, dass nicht wie bei Dworski und vielen anderen Studien eine Messung des oxidativen Stresses kurz nach akuter Allergenprovokation erfolgte, sondern in einem meist Beschwerde freien Intervall. Das gleiche gilt für die Probanden mit saisonaler AR, welche zum Zeitpunkt der Messung auch nicht exponiert waren.

Bei den hochsignifikanten Messungen und Ergebnissen der ganzjährigen AR spielen die schon in der Einleitung ausführlich dargestellten Pathomechanismen wie mitunter die chronische Infiltration mit den, die Entzündung hauptsächlich unterhaltenden Eosinophilen und das Mastzell-Priming eine entscheidende Rolle.

Die Tatsache, dass 8-Isoprostane bei der ganzjährigen AR nicht nur in der nasalen Mukosa, sondern in dieser Studie signifikant im Urin erhöht zu messen waren, zeigt schon das die PAR eine systemische Manifestation aufweist.

AR ist vergesellschaftet mit systemisch zirkulierenden T-Lymphozyten und mononuklear phagocytic cells. Diese Zellen setzen in Verbindung mit dem erworbenen Immunsystem Cytokine frei, welche für die akute Phase von entzündlichen und Immunerkrankungen eine große Rolle spielen. Diese akute Phase-Reaktionen sind bei der AR verbunden mit diversen zentralnervösen Symptomen, wie Müdigkeit, Lethargie, Konzentrationsschwäche usw.

Außerdem ist natürlich die Verbindung der PAR mit Atemwegserkrankungen wie Asthma durch ähnliche Pathomechanismen, die bereits geschildert wurden zu nennen. Vielleicht rühren in unserer Studie die teilweise ebenfalls bestehenden Asthmabeschwerden daher, dass durch die vermehrte systemische Rekrutierung von Entzündungszellen auch in den tieferen Atemwegen, die bei Asthmatikern schon mit Adhäsionsmolekülen ausgestattet sind, ein akuter Entzündungsschub erleichtert wird.

5.6 Zusammenhänge zwischen 8-Isoprostanen, Serum-IgE, ganzjähriger und saisonaler allergischer Rhinitis, allergischem Asthma und atopischem Ekzem sowie Antihistaminikatherapie und SCORAD

Um das Ausmaß einer Entzündung abzuschätzen und daher die Potenz Eosinophile zu rekrutieren, ist die Messung von IgE im Serum bei Atopikern schon länger etabliert. So liegt die Frage nahe, ob IgE an sich auch als Marker für oxidativen Stress angesehen werden könnte. In der vorliegenden Studie waren die IgE-Werte hochsignifikant ($p=0$) erhöht bei Patienten mit AE und Asthma im Vergleich zu Patienten mit AE ohne zusätzliches Asthma. Genauso verhielt es sich bei den Patienten mit AE und saisonaler AR im Vergleich zu denen ohne zusätzliche saisonale AR.

Bei den Patienten mit AE und ganzjähriger AR jedoch war der Unterschied zu den Patienten mit AE ohne zusätzliche ganzjährige AR weniger stark ausgeprägt, jedoch immer noch signifikant ($p<0,014$).

Weiterhin stellte sich heraus, dass keine signifikante ($p<0,88$) Korrelation zwischen der Höhe der IgE-Werte und der SCORAD-Werte als Grad für die Schwere des atopischen Ekzems, besteht.

Zusätzlich ergab sich auch keine signifikante ($p<0,91$) Korrelation zwischen der Höhe der 8-Isoprostanwerte als Marker für oxidativen Stress und der Höhe der IgE-Werte. Zuletzt wurde noch gezeigt, dass bei Antihistaminikaeinnahme die IgE-Werte signifikant ($p<0,026$) höher waren als bei Patienten die keine Antihistaminika einnahmen.

In der Studie von Cardinale *et al.* [12] wurde wie in der vorliegenden Arbeit versucht den Zusammenhang zwischen oxidativem Stress (bei Cardinale mittels dem Marker eNO) Gesamt-IgE im Serum und der Sensibilität gegenüber Allergenen aufzuzeigen. Bei Cardinale [12] zeigte sich, dass beim Asthma und der AR erhöhte eNO-Werte bestehen im Vergleich zum gesunden nicht atopischen Status. Weiterhin ergab sich eine stärkere Korrelation der eNO-Werte zu den IgE-Werten als zur Anzahl positiver Haut-Prick-Tests. Die Korrelationen ergaben sich für Asthma sowie AR, was wiederum den gemeinsamen pathophysiologischen Entzündungsprozess der Erkrankungen in verschiedenen teilen des Atemtrakts bestätigt. Im Vergleich dazu wurden in dieser Studie erhöhte IgE-Werte bei allergischer saisonaler, ganzjähriger

AR und beim allergischen Asthma im Vergleich zu den Kontrollgruppen mit AE ohne die jeweils zusätzliche Erkrankung gefunden, wobei nur bei der Gruppe mit AE und ganzjähriger AR auch erhöhte 8-Isoprostanwerte gemessen wurden. Weiterhin bestand auch keine signifikante Korrelation zwischen den 8-Isoprostanwerten bei Patienten mit AE und deren IgE-Werten. Bei Cardinale [12] wurde festgestellt, dass IgE-Werte unabhängig von der Stimulation durch Allergene bei Entzündungsprozessen in den Atemwegen vorhanden sind eventuell durch das veränderte Milieu mit vermehrt produzierten Mediatoren und Zytokinen. Die eNO-Werte korrelieren daher besser mit den IgE-Werten da diese nicht abhängig von der Allergenstimulation sind wie der Prick-Test.

Da aber vermutlich in dieser Studie die 8-Isoprostane eher abhängig sind von der Allergenlast wie auch die eNO-Werte bei Cardinale [12] und sich hierzu bereits sehr kontroverse Studienergebnisse ergaben, ist auch zu erklären, dass hier keine Korrelation der IgE-Werte mit den 8-Isoprostanwerten zu erkennen ist und dass die Erhöhung der IgE-Werte bei AE und Asthma und AE und saisonaler Rhinitis gegen die nicht atopische Kontrollgruppen wohl daher rührt, dass hier eher das Ausmaß der Sensibilisierung gegen Allergene als die akute Entzündung im Vordergrund steht.

Weiterhin konnte kein Zusammenhang zwischen dem Schweregrad des AE und den IgE-Werten festgestellt werden, was sich auch in der fehlenden Korrelation der 8-Isoprostanwerte und dem SCORAD widerspiegelte. Somit lässt sich vermuten, dass IgE-Werte sicher vermehrt und unabhängig von akuter Allergenstimulation eine entscheidende Rolle beim Entzündungsprozess allergisch respiratorischer Erkrankungen spielen, jedoch einen fraglichen prädiktiven Wert im Bezug auf oxidativen Stress haben.

Vermutlich ist bei der ganzjährigen AR die andauernde Allergenexposition im Vergleich zu den Patienten mit allergischem Asthma und saisonaler AR, welche zu dem Zeitpunkt der Messung keinen akuten Krankheitsschub hatten, der ursächliche Faktor für die 8-Isoprostanerhöhung.

Beim fehlenden Anstieg der 8-Isoprostanwerte bei Patienten mit AE ist eventuell eine Bestimmung lokal in der Haut geeigneter oder ein Marker wie 8-OHdG, welcher nicht aus der Lipidperoxidation entsteht.

Weiterhin konnte ein erhöhter oxidativer Stress bei Hormoneinnahme festgestellt werden, sowie bei der Einnahme von Antioxidantien.

Diese Erkenntnisse können in therapeutischer Hinsicht zukunftsweisend sein, da die Einnahme von Antioxidantien immer wieder als kontrovers diskutiert wird und daher nicht eindeutig immer nutzbringend zur Reduktion des oxidativen Stresses ist.

Das Gesamt-IgE im Serum konnte hingegen nicht als zuverlässiger Marker für oxidativen Stress etabliert werden, da keine Korrelation zum Schweregrad des AE oder zur Höhe der 8-Isoprostane festzustellen war.

Somit kann abschließend gesagt werden, dass oxidativer Stress eine entscheidende Rolle bei chronisch entzündlichen Erkrankungen wie der ganzjährigen AR spielt und 8-epi-PGF_{2α} ein zuverlässiger Marker für diesen Aspekt der Erkrankung darstellt.

6 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde die Rolle von 8-epi-PGF_{2α} als Marker für oxidativen Stress im Urin mittels ELISA bei Patienten mit AE und Patienten mit AE und zusätzlich allergischem Asthma oder saisonaler oder ganzjähriger AR und gesunden Probanden untersucht.

Weiterhin wurde als Marker für Atopie das Gesamt IgE im Serum bestimmt.

Es konnte in Vorversuchen zur Methodenetablierung gezeigt werden, dass sich zur Messung des systemischen oxidativen Stresses die Detektion der 8-epi-PGF_{2α} im Urin am besten eignet und dieser am besten mittels eines speziellen Sorbent vorher aufgereinigt wird. Als Messmethode hat sich hierbei der ELISA als einfachste und kostengünstigste Methode erwiesen.

Signifikante Erhöhungen der 8-Isoprostanwerte und somit des oxidativen Stresses ergaben sich bei Patienten mit AE und zusätzlicher ganzjähriger AR im Vergleich zu Patienten mit AE ohne zusätzliche AR.

Zusätzlich stellten sich weibliches Geschlecht und Zigarettenkonsum als entscheidende äußere Einflussfaktoren für die Erhöhung des oxidativen Stresses heraus.

Ein signifikanter Anstieg der 8-Isoprostane bei Patienten mit AE im Vergleich zu gesunden Probanden ergab sich nicht, genauso wenig eine Korrelation zwischen der Höhe der 8-Isoprostanwerte und dem Schweregrad des AE, welcher mittels SCORAD ermittelt wurde.

Auch Patienten mit AE und zusätzlichem allergischem Asthma und AE und zusätzlicher saisonaler AR hatten keine signifikanten 8-Isoprostanwerterhöhungen gegenüber Patienten mit AE ohne diese als zusätzlichen Faktor.

Abschließend zeigt sich, dass 8-epi-PGF_{2α} ein guter Marker für oxidativen Stress vor allem bei chronisch entzündlichen Erkrankungen ist.

7 Literaturverzeichnis

- 1 Aboutwerat, A., Pemberton, P. W., Smith, A., Burrows, P. C., McMahon, R. F., Jain, S. K., Warnes, T. W. Oxidant stress is a significant feature of primary biliary cirrhosis. *Biochim. Biophys. Acta* 1637 (2003) 142-150
- 2 Alvarez, J. C., De Mazancourt, P. Rapid and sensitive high – performance liquid chromatographic method for simultaneous determination of retinol, alpha – tocopherol, 25 – hydroxyvitamin D3 and 25 – hydroxyvitamin D2 in human plasma with photodiode – array ultraviolet detection. *J. Chromatogr. B. Biomed. Sci. Appl.* 755(1-2) (2001) 129-135
- 3 Anane, R., Creppy, E. E. Lipid peroxidation as pathway of aluminium cytotoxicity in human skin fibroblast cultures: prevention by superoxide dismutase+catalase and vitamins E and C. *Hum. Exp. Toxicol.* 20(9) (2001) 477-481
- 4 Antille, C., Sorg, O., Lübbe, J., Saurat, J.-H. Decreased oxidative state in non-lesional skin of atopic dermatitis. *Dermatology* 204 (2002) 69-71
- 5 Audoly, L. P., Rocca, B., Fabre, J. E., Koller, B. H., Thomas, D., Loeb, A. L., Coffmann, T. M., FitzGerald, G. A. Cardiovascular responses to the isoprostanes iPF_{2α}-III and iPE₂-III are mediated via the thromboxane A₂ receptor in vivo. *Circulation* 101 (2000) 2833-2840
- 6 Awad, J.A., Horn, J.L., Roberts, L.J., Franks, J. J. Demonstration of halothane-induced hepatic lipid peroxidation in rats by quantification of F₂-isoprostanes. *Anaesthesiology* 84 (1996) 910-916
- 7 Banerjee, M., Ho Kang, K., Morrow, J. D., Roberts, L.J., Newman, J. H. Effects of a novel prostaglandin, 8-epi-PGF_{2α}, in rabbit lung in situ. *Am. J. Physiol.* 263 (1992) (Heart Circ. Physiol. 32) H660-H663
- 8 Basu, S., Michaelsson, K., Olofsson, H., Johansson, S., Melhus, H. Association between oxidative stress and bone mineral density. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 288 (2001) 275-279

- 9 Borish, L., MD. Allergic rhinitis: Systemic inflammation and implications for management. *J. Allergy Clin. Immunol.* 112 (2003) 1021-1031
- 10 Burk, R. F., Hill, K. E., Awad, J. A., Morrow, J. D., Kato, T., Cockell, K. A., Lyons, P. R. Pathogenesis of diquat-induced liver necrosis in selenium-deficient rats: assessment of the roles of lipid peroxidation and selenoprotein P. *Hepatology* 21 (1995) 561-569
- 11 Burke, A., FitzGerald, G. A., Lucey, M. R. A prospective analysis of oxidative stress and liver transplantation. *Transplantation* 74 (2002) 217-221
- 12 Cardinale, F., de Benedictis, F. M., Muggeo, V., Giordano, P., Loffredo, M. S., Iacoviello, G., Armenio, L. Exhaled nitric oxide, total serum IgE and allergic sensitization in childhood asthma and allergic rhinitis. *Pediatr. Allergy Immunol.* 16 (2005) 236-242
- 13 Carpenter, C. T., Price, P. V., and Christman, B. W. Exhaled breath condensate isoprostanes are elevated in patients with acute lung injury or ARDS. *Chest* 114 (1998) 1653-1659
- 14 Ciabattini, G., Davi, G., Collura, M., Iapichino, L., Pardo, F., Ganci, A., Romagnoli, R., Maclouf, J., Patrono, C. In vivo lipid peroxidation and platelet activation in cystic fibrosis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 162 (2000) 1195-1201
- 15 *Circulation* 95 (1997) 2492-2499
- 16 Coca AF, Cooke RA On the classification of the phenomena of hypersensitiveness. *J Immunol* 8 (1923)163-182
- 17 *Comp Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol.*140 (2005) 47-52
- 18 Cracowski, J. L., Bonaz, B., Bessard, G., Bessard, J., Anglade, C., Fournet, J. Increases urinary F₂-isoprostanes in patients with Crohn's disease. *Am. J. Gastroenterol.* 97 (2002) 99-103
- 19 Cracowski, J. L., Marpeau, C., Carpentier, P. H., Imbert, B., Hunt, M., Stanke-Labesque, F., and Bessard, G. Enhanced in vivo lipid peroxidation in scleroderma spectrum disorders. *Arthritis Rheum.* 44 (2001) 1143-1148

- 20 Davi, G., Alessandrini, P., Mezzetti, A., Minotti, G., Bucciarelli, T., Constantini, F., Bon, G. B., Ciabattoni, G., and Patrono, C. In vivo formation of 8-epi-prostaglandin $F_{2\alpha}$ is increased in hypercholesterolemia. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 17 (1997) 3230-3235
- 21 Davi, G., Ciabattoni, G., Consoli, A., Mezzetti, A., Falco, A., Santarone, S., Pennese, E., Vitacolonna, E., Bucciarelli, T., Constantini, F., Capani, F., Patrono, C. In vivo formation of 8-iso-prostaglandin $F_{2\alpha}$ and platelet activation in diabetes mellitus: effects of improved metabolic control and vitamin E supplementation. *Circulation* 99 (1999) 224-229
- 22 Davi, G., DiMinno, G., Coppola, A., Andria, G., Cerbone, A. M., Madonna, P., Tufano, A., Falco, A., Marchesani, P., Ciabattoni, G., Patrono, C. Oxidative stress and platelet activation in homozygous homocystinuria. *Circulation* 104 (2001) 1124-1128
- 23 Davies, M. J. Protein oxidation: concepts, mechanisms and new insights. The Heart Research Institute Sydney
- 24 Defeng Wu, PH.D., Arthur I. Cederbaum, PH.D. Alcohol, oxidative stress, and free radical damage. *Alcohol Research & Health* 27 (2003) 277-284
- 25 Delanty, N., Reilly, M. P., Praticò, D, Lawson, J. A., McCarthy, F. J., Wood, A. E., Ohnishi, S. T., Fitzgerald, D. J., FitzGerald, G. A. 8-epi-PGF $_{2\alpha}$ generation during coronary reperfusion. A potential quantitative marker of oxidant stress in vivo. *Br. J. Clin. Pharmacol* 42 (1996) 15-19
- 26 Dworski, R., Murray, J. J., Roberts, L. J., II, Oates, J. A., Morrow, J. D., Fisher, L., Sheller, J. R. Allergen-induced synthesis of F $_2$ -isoprostanes in atopic asthmatics. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 160 (1999) 1947-1951
- 27 Erhola, M., Toyokuni, S., Okada, K., Tanaka, T., Hiai, H., Ochi, H., Uchida, K., Osawa, T., Nieminen, M. M., Alho, H., Kellokumpu-Lehtinen, P. Biomarker evidence of DNA oxidation in lung cancer patients: association of urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine excretion with radiotherapy, chemotherapy, and response to treatment. *FEBS Letters* 409 (1997) 287-291

- 28 European Task Force on Atopic Dermatitis : Severity scoring of atopic dermatitis : the SCORAD index. Consensus report of the European Task Force on Atopic Dermatitis. *Dermatology* 186 (1993) 23-31
- 29 Fontana, I., Giagulli, C., Cominacini, L., Pasini, A. F., Minuz, P., Lechi, A., Sala, A., Laudanna, C. β_2 Integrin-dependent neutrophil adhesion induced by minimally modified low-density lipoproteins is mainly mediated by F₂-isoprostanes. *Circulation* 106 (2002) 2434-2441
- 30 Fuchs, J., Zollner, T. M., Kaufmann, R., Podda, M. Redox-modulated pathways in inflammatory skin diseases. *Free Rad. Biol. Med.* 30 (2001) 337-353
- 31 Greco, A., Minghetti, L., Levi, G. Isoprostanes, novel markers of oxidative injury, help understanding the pathogenesis of neurodegenerative diseases. *Neurochem. Res.* 25 (2000) 1357-1364
- 32 Hanazawa, T., MD, PhD, Antuni, Julio, D., MD, Kharitonov, Sergei, A., MD, PhD, Barnes, Peter, J., DSc, FRCP. Intranasal administration of eotaxin increases nasal eosinophils and nitric oxide in patients with allergic rhinitis. *J. Allergy Clin. Immunol.* (1999) 58-64
- 33 Hanifin, J. M. , Rajka, G: Diagnostic features of atopic dermatitis. *Acta Dermatol Venereol* 92 (Suppl) (1980) 44-47
- 34 Hazbun, M. E., Hamilton, R., Holian, A., Eschenbacher, W. L. Ozone-induced increases in substance P and 8-epi-prostaglandin F_{2 α} in the airways of human subjects. *Am J Respir Cell Mol Biol* 9 (1993) 568-572
- 35 Ho, Siu P., Chan-Yeung, M., Chow, Kathy K. M., IP, Mary S. M., MAK, Judith C.W. Antioxidant enzyme activities in healthy Chinese adults: influence of age, gender and smoking. *Respirology* 10 (2005) 305-309
- 36 Holt, S., Reeder, B., Wilson, M., Harvey, S., Morrow, J. D., Roberts, L. J., II, Moore, K. Increased lipid peroxidation in patients with rhabdomyolysis. *Lancet* 353 (1999) 1241
- 37 Hou, X., Gobeil, F., Jr., Peri, K., Speranza, G., Mariache, A. M., Lachapelle, P., Roberts, L. J., II, Varma, D. R., and Chemtob, S. Augmented vasoconstriction and thromboxane formation by 15-F_{2 α} -isoprostane (8-iso-PGF_{2 α}) in immature pig periventricular brain microvessels. *Stroke* 31 (2000) 516-525

- 38 Ide, T., Tsutsui, H., Ohashi, N., Hayashidani, S., Suematsu, N., Tsuchihashi, M., Tamai, H., Takeshita, A. Greater oxidative stress in healthy young men compared with premenopausal women. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 22 (2002) 438-442
- 39 Ikizler, T. A., Morrow, J. D., Roberts, L. J., Evanson, J. A., Becker, B., Hakim, R. M., Shyr, Y., Himmelfarb, J. Plasma F₂-isoprostane levels are elevated in chronic hemodialysis patients. *Clin. Nephrol.* 58 (2002) 190-197
- 40 Ionescu, G., Merk, M., Bradford, R. Simple chemiluminescence assays for free radicals in venous blood and serum samples: results in atopic, psoriasis, mcs and cancer patients. *Forsch. Komplementärmed.* 6 (1999) 294-300
- 41 Janssen, L. J. Isoprostanes: an overview and putative roles in pulmonary pathophysiology. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 280 (2001) L1067-L1082
- 42 Jouaville, L.F., Annesi-Maesano, I., Nguyen, T., Bocage, A.S., Bedu, M., Caillaud, D. Interrelationships among asthma, rhinitis and exhaled nitric oxide in a population-based sample of children. *Clin. Exp. Allergy.* 33 (2003) 1506-1511
- 43 Kang, K. H., Morrow, J. D., Roberts, L. J., Newman, J. H., Banerjee, M. Airway and vascular effects of 8-epi-prostaglandin F_{2α} in isolated perfused rat lung. *J. Appl. Physiol.* 74 (1993) 460-465
- 44 Katalinic, V., Modun, D., Music, I., Boban, M. Gender differences in antioxidant capacity of rat tissues determined by 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline 6-sulfonate; ABTS) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays. *Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol.* 140 (1) (2005) 47-52
- 45 Kawikowa, I., Barnes, P. J., Takahashi, T., Tadjkarimi, S., Yacoub, M. H., and Belvisi, M. G. 8-Epi-PGF_{2α}, a novel noncyclooxygenase-derived prostaglandin, constricts airways in vitro. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 153 (1996) 590-596

- 46 Keaney, J. F., Larson, M. G., Vasan, R. S., Wilson, P. W., Lipinska, I., Corey, D., Massaro, J. M., Sutherland, P., Vita, J. A., Benjamin, E. J. Framingham Study. Obesity and systemic oxidative stress: clinical correlates of oxidative stress in the Framingham study. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 23 (2003) 434-439
- 47 Kromer, B. M., and Tippins, J. R. Coronary artery constriction by the isoprostane 8-epi prostaglandin $F_{2\alpha}$. *Br. J. Pharmacol.* 119 (1996) 1276-1280
- 48 Kunapuli, P., Lawson, J. A., Rokach, J. A., Meinkoth, J. L., FitzGerald, G. A. Prostaglandin $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) and the isoprostane, 8,12-isoprostane- $F_{2\alpha}$ -III, induce cardiomyocyte hypertrophy. Differential activation of downstream signaling pathways. *J. Biol. Chem.* 273 (1998) 22442-22452
- 49 Kunapuli, P., Lawson, J. A., Rokach, J., FitzGerald, G. A. Functional characterization of the ocular prostaglandin $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) receptor. Activation by the isoprostane, 12-iso- $PGF_{2\alpha}$. *J. Biol. Chem.* 272 (1997) 27147-27154
- 50 Lahaie, I., Hardy, P., Hou, X., Hassessian, H., Asselin, P., Lachapelle, P., Almazan, G., Varma, D. R., Morrow, J. D., Roberts, L. J., II, Chemtob, S. A novel mechanism for vasoconstrictor action of 8-isoprostaglandin $F_{2\alpha}$ on retinal vessels. *Am. J. Physiol.* 274 (1998) R1406-R1416
- 51 Leinonen, J., Lehtimäki, T., Toyokuni, S., Okada, K., Tanaka, T., Hiai, H., Ochi, H., Laippala, P., Rantalaiho, V., Wirta, O., Pasternack, A., Alho, H. New biomarker evidence of oxidative DNA damage in patients with non – insulin – dependent diabetes mellitus. *FEBS Letters* 417 (1997) 150-152
- 52 Lynch, S. M., Morrow, J. D., Roberts, L. J., II, and Frei, B. Formation of non-cyclooxygenase-derived prostanoids (F_2 -isoprostanes) in plasma and low density lipoprotein exposed to oxidative stress in vitro. *J. Clin. Invest.* 93 (1994) 998-1004
- 53 Madon, P. S. An improved photochemical method for the rapid spectrophotometric detection of superoxide dismutase. *Redox. Rep.* 6(2) (2001) 123-127

- 54 Mallat, Z., Philip, I., Lebret, M., Chatel, D., Maclouf, J., and Tedgui, A. Elevated levels of 8-iso-prostaglandin $F_{2\alpha}$ in pericardial fluid of patients with heart failure: a potential role for in vivo oxidant stress in ventricular dilatation and progression to heart failure. *Circulation* 97 (1998) 1536-1539
- 55 Marley, R., Harry, D., Anand, R., Fernando, B., Davies, S., and Moore, K. 8-Iso-prostaglandin $F_{2\alpha}$, a product of lipid peroxidation, increases portal pressure in normal and cirrhotic rats. *Gastroenterology* 112 (1997) 208-213
- 56 Meagher, E. A., Barry, O. P., Burke, A., Lucey, M. R., Lawson, J. A., Rokach, J., and FitzGerald, G. A. Alcohol-induced generation of lipid peroxidation products in humans. *J. Clin. Invest.* 104 (1999) 805-813
- 57 Minuz, P., Patrignani, P., Gaino, S., Degan, M., Menapace, L., Tommasoli, R., Seta, F., Capone, M. L., Tacconelli, S., Palatresi, S., Bencini, C., Del Vecchio, C., Mansueto, G., Arosio, E., Santonastaso, C. L., Lechi, A., Moranti, A., Patrono, C. Increased oxidative stress and platelet activation in patients with hypertension and renovascular disease. *Circulation* 106 (2002) 2800-2805
- 58 Montine, T. J., Beal, M. F., CudKowicz, M. E., O'Donnell, H., Margolin, R. A., McFarland, L., Cachrach, A. F., Zacker, W. E., Roberts, L. J., II, and Morrow, J. D. Increased CSF F_2 -isoprostane concentration in probable AD. *Neurology* 52 (1999) 562-565
- 59 Montine, T. J., Beal, M. F., Robertson, D., Cudkowicz, M. E., Biaggioni, I., O'Donnell, H., Zackert, W. E., Roberts, L. J., Morrow, J. D. Cerebrospinal fluid F_2 -isoprostanes are elevated in Huntington's disease. *Neurology* 52 (1999) 1104-1105
- 60 Montine, T. J., Markesbery, W. R., Zackert, W., Sanchez, S. C., Roberts, L. J., II, and Morrow, J. D. The magnitude of brain lipid peroxidation correlates with the extent of degeneration but not with density of neuritic plaques or neurofibrillary tangles or with APOE genotype in Alzheimer's disease patients. *Am. J. Pathol.* 155 (1999) 863-868

- 61 Montine, T. J., Neely, M. D., Quinn, J. F., Beal, M. F., Markesbery, W. R., Roberts, L. J., II, and Morrow, J. D. Lipid peroxidation in aging brain and Alzheimer's disease. *Free Radic. Biol. Med.* 33 (2002) 620-626
- 62 Montuschi, P., Barnes, P. J., Roberts, L. J., II. Isoprostanes: markers and mediators of oxidative stress. *FASEB J.* 18 (2004) 1791-1800
- 63 Montuschi, P., Ciabattoni, G., Paredi, P., Pantelidis, P., du Bois, R. A., Kharitonov, S. A., Barnes, P. J. 8-Isoprostane as a biomarker of oxidative stress in interstitial lung diseases. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 158 (1998) 1524-1527
- 64 Montuschi, P., Kharitonov, S. A., J.- V., Ciabattoni, G., Corradi, M., van Rensen, L., Geddes, D. M., Hodson M. E., and Barnes, P. J. Exhaled 8-isoprostane as a new non-invasive biomarker of oxidative stress in cystic fibrosis. *Thorax* 55 (2000) 205-209
- 65 Montuschi, P., Collins, J. V., Ciabattoni, Lazzeri, N., G., Corradi, M., Kharitonov, S. A., and Barnes, P. J. Exhaled 8-isoprostane as an in vivo biomarker of lung oxidative stress in patients with COPD and healthy smokers. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 162 (2000) 1175-1177
- 66 Montuschi, P., Corradi, M., Ciabattoni, G., Nightingale, J., Kharitonov, S. A., and Barnes, P. J. Increased 8-isoprostane, a marker of oxidative stress, in exhaled condensate of asthma patients. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 160 (1999) 216-220
- 67 Moore, K. P., Holt, S.G., Patel, R. P., Svistunenko, D. A., Zackert, W, Goodier, D., Reeder, B. J., Clozel, M., Anand, R., Cooper, C. E., Morrow, J. D., Wilson, M. T., Darley-Usmar, V., Roberts, L. J. II. A causative role for redox cycling of myoglobin and its inhibition by alkalinization in the pathogenesis and treatment of rhabdomyolysis-induced renal failure. *J. Biol. Chem.* 273 (1998) 31731-31737
- 68 Morrow, J. D., Awad, J. A., Kato, T., Takahashi, K., Badr, K. F., Roberts, L. J. II., Burk, R. F. Formation of novel non-cyclooxygenase-derived prostanoids (F₂-isoprostanes) in carbon tetrachloride hepatotoxicity. An animal model of lipid peroxidation. *J. Clin. Invest.* 90 (1992) 2502-2507

- 69 Morrow, J. D., Frei, B., Longmire, A. W., Gaziano, J. M., Lynch, S. M., Oates, J. A., and Roberts, L. J., II. Increase in circulating products of lipid peroxidation (F₂-isoprostanes) in smokers. Smoking as a cause of oxidative damage. *N. Engl. J. Med.* 332 (1995) 1198-1203
- 70 Morrow, J. D., Hill, K. E., Burk, R. F., Nammour, T. M., Badr, K. F., Roberts, L.J., II. A series of prostaglandin F₂-like compounds are produced in vivo in humans by a non-cyclooxygenase, free radical catalyzed mechanism. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87 (1990) 9383-9387
- 71 Morrow, J. D., M. D., Frei, B., Ph. D., Longmire, A. W., M. D., Gaziano, J. M., M. D., Lynch, S. M., Ph. D., Shyr, Y., Ph. D., Strauss, W. E., M. D., Oates, J. A., M. D., Roberts, L. J., M. D. Increase in circulating products of lipid peroxidation (F₂-Isoprostanes) in smokers-smoking as a cause of oxidative damage. *N. Engl. J. Med.* 332 (1995)1198-1203
- 72 Morrow, J. D., Moore, K. P., Awad, J. A., Ravenscraft, M. D., Marini, G., Badr, K. F., Williams, R., Roberts, L. J., II. Marked overproduction of non-cyclooxygenase derived prostanoids (F₂- isoprostanes) in the hepatorenal syndrome. *J. Lipid Mediat.* 6 (1993) 417-420
- 73 Mueller, M. J. Radically novel prostaglandins in animals and plants: the isoprostanes. *Chemistry & Biology* 5 (1998) R323-R333
- 74 Murr, C., Schroecksnadel, K., Winkler, C., Ledochowski, M., Fuchs, D. Antioxidants may increase the propability of developing allergic diseases and asthma. *Medical Hypotheses* 64 (2005) 973-977
- 75 Niwa, Y. Oxidative injury and its defense system in vivo. *Rinsho Byori* 47(3) (1999) 189-209
- 76 Nonaka-Sarukawa, M., Yamamoto, K., Aoki, H. Takano, H., Katsuki, T., Shimada, K. Increased urinary 15-F_{2t}-isoprostane concentrations in patients with non-ischaemic congestive heart failure: a marker of oxidative stress. *Heart* 89 (2003) 871-874
- 77 Okazawa, A., Kawikowa, I., Cui, Z. H., Skoogh, B. E., Lotvall, J. 8-Epi-PGF_{2α} induces airflow obstruction and airway plasma exudation in vivo. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 155 (1997) 436-441

- 78 Omata, M., Tsukahara, H., Ito, S., Oshima, Y., Yasutomi, M., Yamada, A., Jiang, M., Hiraoka, M., Nambu, M., Deguchi, Y., Mayumi, M. Increased oxidative stress in childhood atopic dermatitis. *Life Sciences* 69 (2001) 223-228
- 79 Patrignani, P., Santini, G., Panara, M. R., Sciulli, M. G., Greco, A., Rotondo M. T., di Giamberardino, M., +Maclouf, J., Ciabattoni, G., Patrono, C. Induction of prostaglandin endoperoxide synthase-2 in human monocytes associated with cyclo-oxygenase-dependent F₂-isoprostane formation. *Br. J. Pharmacol.* 118 (1996) 1285-1293
- 80 Patrono, C., FitzGerald, G. A. Isoprostanes: potential markers of oxidant stress in atherothrombotic disease. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 17 (1997) 2309-2315
- 81 Praticò, D., Basili, S., Vieri, M., Cordova, C., Violi, F., FitzGerald, G. A. Chronic obstructive pulmonary disease is associated with an increase in urinary levels of isoprostane F₂ α -III, an index of oxidant stress. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 158 (1998) 1709-1714
- 82 Praticò, D., Clark, C. M., Lee, V. M., Trojanowski, J. Q., Rokach, J., and FitzGerald, G. A. Increased 8,12-iso-iPF₂ α -IV in Alzheimer's disease: correlation of a noninvasive index of lipid peroxidation with disease severity. *An. Neurol.* 48 (2000) 809-812
- 83 Praticò, D., Iuliano, L., Amerio, G., Tang, L. X., Rokach, J., Sabatino, G., and Violi, F. Down's syndrome is associated with increased 8,12-iso-iPF₂ α -IV levels: evidence for enhanced lipid peroxidation in vivo. *Ann. Neurol.* 48 (2000) 795-798
- 84 Praticò, D., Iuliano, L., Basili, S., Ferro, D., Camastra, C., FitzGerald, G. A., and Violi, F. Enhanced lipid peroxidation in hepatic cirrhosis. *J. Invest. Med.* 46 (1998) 51-57
- 85 Praticò, D., Iuliano, I., Mauriello, A., Spagnoli, L., Lawson, J. A., Rokach, J., Maclouf, J., Violi, F., FitzGerald G. A. Localization of distinct F₂-isoprostanes in human atherosclerotic lesions. *J. Clin. Invest.* 100 (1997) 2028-2034
- 86 Praticò, D., Lee, V., Trojanowski, J. Q., Rokach, J., and FitzGerald, G. A. Increased F₂-isoprostanes in Alzheimer's disease: evidence for enhanced lipid peroxidation in vivo. *FASEB J.* 12 (1998) 1777-1783

- 87 Proudfoot, J., Barden, A., Mori, T. A., Burke, V., Croft, K. D., Beilin, L. J., Puddey I. B. Measurement of urinary F₂-isoprostanes as markers of *in vivo* lipid peroxidation – a comparison of enzyme immunoassay with gas chromatography/mass spectrometry. *Anal. Biochem.* 272 (1999) 209-215
- 88 Reilly, M. P., Delanty, N., Roy, L., Rokach, J., Callaghan, P. O., Crean, P., Lawson, J. A., FitzGerald, G. A. Increased formation of the isoprostanes IPF_{2α}-I and 8-epi-prostaglandin F_{2α} in acute coronary angioplasty: evidence for oxidant stress during coronary reperfusion in humans. *Circulation* 96 (1997) 3314-3320
- 89 Reilly, M. P., Praticò, D., Delanty, N., Di Minno, G., Tremoli, E., Rader, D., Kapoor, S., Rokach, J., Lawson, J., FitzGerald, G. A. Increased formation of distinct F₂ isoprostanes in hypercholesterolemia. *Circulation* 98 (1998) 2822-2828
- 90 Reilly, M., Delanty, N., Lawson, J. A., FitzGerald, G. A. Modulation of oxidant stress *in vivo* in chronic cigarette smokers. *Circulation* 94 (1996) 19-25
- 91 Ring, J., Brockow, K., Abeck, D. The therapeutic concept of “patient management” in atopic eczema. *Allergy* 51 (1996) 206-215
- 92 Ring, J., Darsow, U., Behrent, H. Role of aeroallergens in atopic ekzema: proof of concept with the atopy patch test. *J Am Acad Dermatol* 45 (2001) S49-S52
- 93 Ring, J., Huss-Marp, J. Atopic eczema. *Karger Gazette*, No. 67(2004) 7-9
- 94 Ring, J. *Angewandte Allergologie 3.) neu bearbeitete Auflage. Medizin und Wissen.* 109-126
- 95 Ring, J., Krämer, U., Schäfer, T., Behrendt, H. Why are allergies increasing? *Curr Opin Immunol* 13 (2001) 701-708
- 96 Roberts, L. J., II, Montine, T. J., Markesbery, W. R., Tapper, A. R., Hardy, P., Chemtob, S., Detbarn, W. D., and Morrow, J. D. Formation of isoprostane-like compounds (neuroprostanes) *in vivo* from docosahexaenoic acid. *J. Biol. Chem.* 273 (1998) 13605-13612
- 97 Roberts, L. J., II, Morrow, J. D. Measurement of F₂-Isoprostanes as an index of oxidative stress *in vivo*. *Free Rad. Biol. Med.* 28 (2000) 505-513

- 98 Ruzicka, T., Ring, J., Pryzbilla, B. (eds) Handbook of Atopic Ekzema. Springer, Berlin, 1991
- 99 Slaughter, M. R., O'Brien, P. J. Fully-automated spectrophotometric method for measurement of antioxidant activity of catalase. Clin. Biochem. 33(7) (2000) 525-534
- 100 Stein, C. M., Tanner, S. B., Awad, J. A., Roberts, L. J., II, and Morrow, J. D. Evidence of free radical-mediated injury (isoprostane overproduction) in scleroderma. Arthritis Rheum. 39 (1996) 1146-1150
- 101 Takahashi, K., Nammour, T. M., Fukunaga, M., Ebert, J., Morrow, J. D., Roberts, L. J., II, and Badr, K. F. Glomerular actions of a free radical-generated novel prostaglandin, 8-epi-prostaglandin F_{2α}, in the rat. Evidence for interaction with thromboxane A₂ receptors. J. Clin. Invest. 90 (1992) 136-141
- 102 Thompson, H. J., Heimendinger, J., Sedlacek, S., Haegele, A., Diker, A., O'Neill, C., Meinecke, B., Wolfe, P., Zhu, Z., Jiang, W. 8-Isoprostane F_{2α} excretion is reduced in women by increased vegetable and fruit intake. Am. J. Clin. Nutr. 82 (2005) 768-776
- 103 Tsuboi, H., Kouda, K., Takeuchi, H., Takigawa, M., Masamoto, Y., Takeuchi, M., Ochi, H. 8-Hydroxydeguanosine in urine as an index of oxidative damage to DNA in the evaluation of atopic dermatitis. British Journal of Dermatology 138 (1998) 1033-1035
- 104 Vassalle, C., Botto, N., Andreassi, M. G., Berti, S., Biagini, A. Evidence for enhanced 8-isoprostane plasma levels, as index of oxidative stress in vivo, in patients with coronary artery disease. Coron. Artery Dis. 14 (2003) 213-218
- 105 Wood, L.G., Gibson, P. G., Garg, M. L. Biomarkers of lipid peroxidation, airway inflammation and asthma. Eur. Respir. J. 21 (2003) 177-186
- 106 Yasui, H., Sakurai, H. Chemiluminescent detection and imaging of reactive oxygen species in live mouse skin exposed to UVA. Biochem. Biophys. Res. Commun. 269(1) (2000) 131-136

8 Danksagung

Danken möchte ich

Prof. Dr. med. Heidrun Behrendt
vom Zentrum Allergie und Umwelt an der Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie am Biederstein der Technischen Universität München
für die Überlassung des interessanten Themas sowie die wissenschaftliche Betreuung und Unterstützung während der Anfertigung der vorliegenden Arbeit

Prof. Dr. med. Dr. phil. Johannes Ring
für die Möglichkeit der Patientenrekrutierung dieser Studie in der Frauenambulanz der Klinik für Dermatologie und Allergologie am Biederstein der Technischen Universität München

Dr. med. Johannes Huss-Marp und Dr. med. Knut Brockow
für die herausragende und kompetente Betreuung bei der Planung der Studie und der Einführung in experimentelle Techniken

Dr. med. Ingrid Beck-Speier
von der GSF
für die außergewöhnlich engagierte und kompetente Betreuung und Einführung in die experimentellen Techniken und für viele wissenschaftliche Anregungen und die Betreuung auf dem „First European Workshop on Isoprostan Research“

Dr. Ursula Krämer
Für die Einführung in die Arbeit mit statistischen Programmen

Allen Helferinnen und Helfern
im Labor am Zentrum Allergie und Umwelt an der Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie am Biederstein der Technischen Universität München und im Labor der GSF

Meinen Eltern,
denen diese Arbeit gewidmet ist,
für Ihre dauerhaft engagierte und zweifelsfreie Unterstützung in allen Belangen.

Mein besonderer Dank gilt
allen Patientinnen und Patienten
die zahlreich teilgenommen haben und geduldig und hilfsbereit bei den umfangreichen Untersuchungen mitgearbeitet haben und die damit diese Arbeit erst ermöglicht haben.

9 Appendices

9.1 Appendix I – Dokumentationsbögen

9.1.1 Anamnesebogen

Nummer _____

Datum: _____

Name: _____

Geschlecht _____

Geburtsdatum: ____ . ____ . ____

Poliklinik/Station _____

Besteht/Bestanden bei Ihnen folgende Krankheitserscheinungen?

- Atopisches Ekzem (Neurodermitis) nein 0, ja 0

- Heuschnupfen nein 0, ja 0 ->

seit wann besteht der Heuschnupfen? ____ (Jahr), in welchen Monaten?: _____

- allergischer Dauerschnupfen nein 0, ja 0 -

seit wann besteht der Dauerschnupfen? ____ (Jahr), in welchen Monaten?: _____

wodurch werden die Beschwerden verstärkt? durch Staub (Saugen, Wischen) 0,

Umgang mit Tieren 0, welche? _____, den Beruf 0, beim Sport 0, anders 0

- allergisches Asthma bronchiale nein 0, ja 0 ->

seit wann besteht das Asthma? ____ (Jahr), ganzjährig 0, nur in bestimmten Monaten 0: _____

wodurch werden die Beschwerden verstärkt? durch Staub (Saugen, Wischen) 0,

Umgang mit Tieren 0, welche? _____, den Beruf 0, beim Sport 0, andere 0

- Nesselsucht/Urtikaria. nein 0, ja 0 ->

Wann _____ (Jahr), wodurch? _____

- Nahrungsmittelunverträglichkeit nein 0, ja 0 ->

auf Zitrusfrüchte? nein 0, ja 0 --> Orangen 0, Zitronen 0, Grapefruit 0, Mandarine 0, Kiwi 0,

Kirschen 0, Tomaten 0, alle sauren Sachen 0, Zitronensäure 0

auf andere Nahrungsmittel? welche? _____

- Triggerfaktoren für das atopische Ekzem

wie Hausstaubmilbe? nein 0, ja 0-> _____

Katzenhaare? nein 0, ja 0-> _____

Graspollen? nein 0, ja 0-> _____

Birkenpollen? nein 0, ja 0-> _____

und Nahrungsmittel:

Eiweiß? nein 0, ja 0-> _____

Sellerie? nein 0, ja 0-> _____

Weizenmehl? nein 0, ja 0-> _____

Sind in der Familie bekannt?

Heuschnupfen 0, allergisches Asthma 0, atopisches Ekzem 0, andere Allergien 0 _____

Kommt es nach Kontakt mit bestimmten Stoffen zum Auftreten von Kontaktallergien, d.h. zum Auftreten von

Hautjucken, Ekzemen, Rötungen, Quaddeln? nein 0, ja 0 ->

Um welche Stoffe handelt es sich? _____

Ausschlusskriterien:

Sonstige Erkrankungen bekannt :

-Tumoren (z.B.

Krebs.): _____

-Chronisch entzündliche Erkrankungen (rheumatoide Arthritis, M Crohn, Colitis ulcerosa, usw.):

-Systemerkrankungen(betreffend alle Organe z.B. Niere, Leber, Magen-Darm- Trakt, Knochen, Lunge usw., system. Lupus erythemathodes, Lyme borreliose, Sklerodermie):

-UV-Exposition in den letzten 2 Wochen ? nein 0, ja 0->

Wie häufig und wie lange? _____

-RRA (Koronare Herzerkrankung, Arteriosklerose, Hypertonie, Apoplex, andere Gefäßerkrankungen oder Durchblutungsstörungen): _____

-Alkoholkonsum? nein 0, ja 0-> wie viel? _____

Alkoholbedingte Erkrankungen / Schäden (Leberzirrhose usw.): _____

-Raucher ? nein 0, ja 0 -> wie viel und was (Zigaretten, Zigarren, Pfeiffenkonsum ect.) am

Tag? _____

-Erkrankungen wie (Diabetes mellitus, Hypercholesterinämie, Fettstoffwechselstörungen, Stoffwechselstörungen..) _____

-Sonstige Hauterkrankungen (Psoriasis, usw.): _____

-Neurologische Erkrankungen (Alzheimer Demenz, M. Parkinson): _____

-Medikamenteneinnahme (Antioxidantien, Vitamine, ua.)

-Therapie in den letzten 4 Wochen:

Systemische Steroide: nein, 0, ja 0-> welche? _____ wie viel? _____

Topische Steroide (Cremes, ect.): nein 0, ja 0-> welche? _____ wie viel? _____

Oder topische Immunmodulanzen : nein 0, ja 0->.welche? _____ wie viel? _____

Antihistaminika o. a. systemische Medikamente: nein 0, ja 0-> welche? _____

wie viel? _____

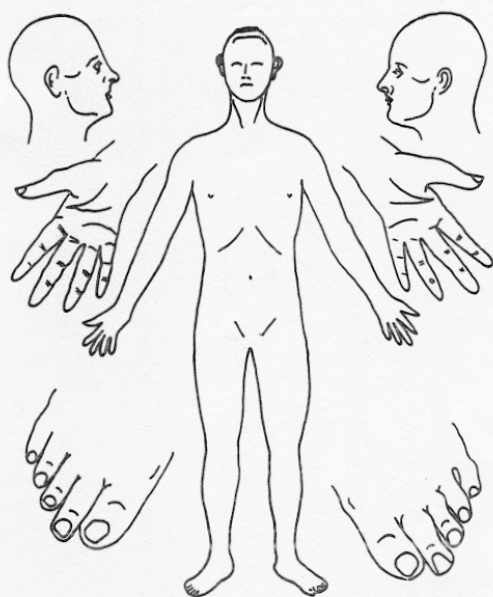
9.1.2 Hautbefundbogen

Hautbefund:

(Primär- und Sekundäreffloreszenzen)

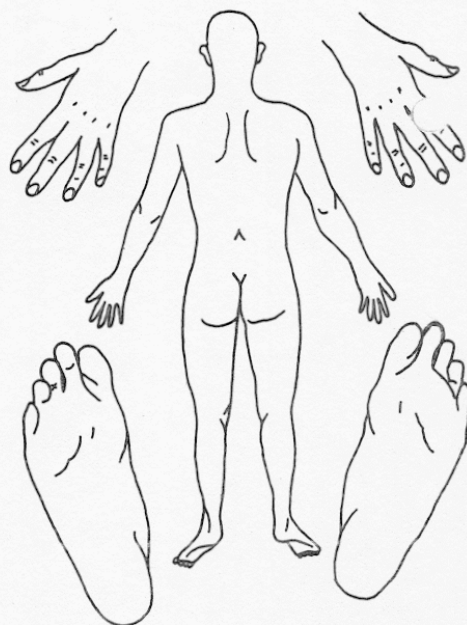
Nebenbefunde:

Atopie-Stigmata:



a)

b)

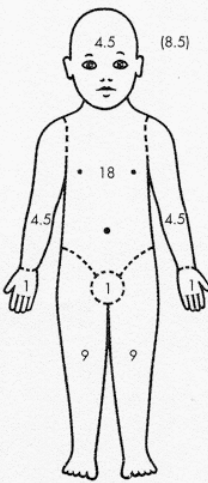


Unterschrift des Arztes

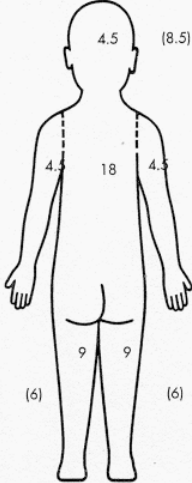
9.1.3 SCORAD-Bogen

SCORAD Europäische Experten-Gruppe für Atopische Dermatitis

Patient: Name/Vorname Eingesetztes topisches Steroid Wirkstoff (Handelsname, Konzentration)	Geburtsdatum Menge/Monat	Besuchsdatum (g) Anzahl der Erytheme/Monat
---	-----------------------------	--



Ziffern in Klammern
für Kinder unter 2 Jahren



A: Ausmaß
 Bitte geben Sie die Summe der betroffenen Hautareale an.

B: Intensität

Bemessungswerte
 Angaben zur Intensität (üblicherweise typische Stellen)

Kriterien	Intensität	Kriterien	Intensität
Erythem	0 = keine 1 = leicht 2 = mäßig 3 = stark	Exkoriation	
Ödem/Papelbildung		Lichenifikation	
Nässen/Krustenbildung		Trockenheit	Die Hauttrockenheit wird an nicht betroffenen Stellen bewertet

C: Subjektive Symptome

Pruritus und Schlaflosigkeit **SCORAD A/5+7B/2+C**

Visuelle Analog-Skala (Durchschnitt für die letzten drei Tage oder Nächte)

Pruritus (0-10) 0 ||| 10

Schlaflosigkeit (0-10) 0 ||| 10

Behandlung Anmerkungen

6. Patienten Teil 2.2

	Patienten/Kontrollen		Nesselsucht/Urlikaria		Nahrungsmittelunverträglichkeit		Triggerfaktoren für atopisches Ekzem										Familienanamnese		Kontaktallergien		Ausschlusskriterien										Medikamenteneinnahme										Therapie in den letzten 4 Wochen									
	ja/nein	ja/nein	Zitrusfrüchte	Andere Nahrungsmittel	Hausstaubmilbe	Katzenhaare	Graspollen	Birkenpollen	Eiweiß	Sellerie	Weizenmehl	Heuschnupfen	Allergisches Asthma	Atopisches Ekzem	Andere allergien	ja/nein	Tumoren	Chronisch	Systemerkrankungen	RRA	Endokrinologische	Sonstige	Neurologische	UV-Expositionen in	Alkoholkonsum	Ja/nein	Antikonzeptivum	Antioxydantien	Antidiabetikum	Antihypertensiva	Schilddrüsenmedikam	Homöopathie und	Asthmamedikamente	Homone	Immunsuppressiva	Gichtmittel(Allopurinol)	Antibiotika/Virustatika	Antiphlogistika	Sedativa(Benzodiazepi	ASS und Marcumar	Systemische Steroide	Topische Steroide	Topische	Antihistamina	Pflegecremes					
P38	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1
P39	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	
P40	1	1	1	1	1	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1		
P41	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0		
P42	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0		
P43	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1		
P44	0	1	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1		
P45	0	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0		
P47	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1		
P48	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1			
P49	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1		
P50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1			
P51	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1			
P52	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1			
P53	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1		
P54	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0		
P55	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
P56	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
P57	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	
P58	0	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1		
P59	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	
P61	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	
P62	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1		
P63	0	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1		
P65	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	
P66	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	
P67	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	
P68	0	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1		
P69	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	
P71	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0		
P74	1	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1		
P75	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	
P76	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	

7. Patienten Teil 3.1

Patienten/Kontrollen	Patienten/Kontrollen										Patienten/Kontrollen										Patienten/Kontrollen										Patienten/Kontrollen									
	8-Isoprosan-wert (pg/ml)	Kreatininwert (mg/dl)	8-Isos/Krea	8-Isos/Krea x 1000/88,4 (ng/nmol)	8-Isos/Krea x 10 (ng/mg)	Tot-IgE	SCORAD	Zigaretten/Tag	Alter(Jahrgang'9...)	Geschlecht	Erythem	Ödem/Papellbildung	Nässen/Krustenbildung	ja/nein	ja/nein	Dauer in Jahren	In welchen Monaten	ja/nein	Dauer in Jahren	In welchen Monaten	Staub	Umgang mit Tieren	Beruf	Sport	andere	ja/nein	Dauer in Jahren	ganzjährig (ja/nein)	In welchen Monaten	Staub	Umgang mit Tieren	Beruf	Sport	andere						
P77	123,29	88,10	1,4	15,8	0,1	1,0	54,7	8	73	1	3	3	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0				
P78	159,24	91,6	1,7	19,7	0,2	355,0	92,6	0	39	1	2	3	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0				
P79	66,97	30,4	2,2	24,9	0,2	439,0	50,9	0	37	1	1	2	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	61	1	0	0	1	0	0	1	0				
P81	480,48	224,6	2,1	24,2	0,2	47,8	77,1	0	91	1	3	1	1	1	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0				
P82	151,27	62,2	2,4	27,5	0,2	121,0	45,5	0	70	1	1	0	1	1	0	0	0	1	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0				
P83	56,22	19,5	2,9	32,6	0,3	2362,0	76,2	0	79	1	3	2	2	1	1	20	0	1	0	0	1	1	0	0	0	1	16	1	0	1	1	0	1	0	0	1				
P85	62,57	61,2	1,0	11,6	0,1	45268,0	59,6	0	61	0	3	2	1	1	1	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0				
P86	41,75	30,5	1,4	15,5	0,1	4846,0	48,2	0	71	1	1	2	2	1	1	22	0	1	20	0	1	0	0	0	0	1	26	1	0	1	1	0	1	0	1	0				
P88	1664,98	210,3	7,9	89,6	0,8	3823,0	90,2	0	78	1	3	3	2	1	1	5	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	4	0	0	1	0	0	1	0	0	0				
P89	156,34	163,4	1,0	10,8	0,1	1747,0	49	0	69	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0				
P90	106,601	60	1,8	20,1	0,2	90,5	34,7	0	69	1	2	0	1	1	1	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0				
P92	48,56	41,6	1,2	13,2	0,1	7178,0	70,4	0	67	1	2	3	1	1	1	30	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	23	0	0	0	1	0	1	0	1	0				
P93	1029,94	172,00	6,0	67,7	0,6	1749,0	66,4	19	44	1	2	3	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0				
P94	493,125	144,4	3,4	38,6	0,3	1227,0	40,3	0	87	1	2	1	0	1	1	12	0	1	12	0	1	12	0	1	1	0	0	1	12	1	0	1	1	0	1	1				
P95	48,02	16,8	2,9	32,3	0,3	3167,0	45,4	0	67	0	3	3	0	1	1	25	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1			
P96	146,33	151,20	1,0	10,9	0,1	165,0	18,3	19	85	0	1	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
P97	12,264	14,7	0,8	9,4	0,1	34,8	42,9	0	67	1	2	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
P99	1350,69	114,3	11,8	133,7	1,2	26,7	29,3	0	62	1	2	0	1	1	0	0	0	1	40	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
P100	52,23	32,2	1,6	18,3	0,2	3691,0	54,2	0	66	1	2	3	2	1	1	26	0	1	26	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1			
P101	75,85	31,4	2,4	27,3	0,2	232,0	46,9	0	72	1	3	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
P111	310,24	165,1	1,9	21,3	0,2	3012,0	40,4	0	78	1	1	2	0	1	1	24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			

8. Patienten Teil 3.2

	Patienten/Kontrollen		Nesselsucht/Urtikaria		Nahrungsmittelunverträglichkeit		Triggerfaktoren für atopisches Ekzem										Familienanamnese		Kontaktallergien	Ausschlusskriterien										Medikamenteneinnahme										Therapie in den letzten 4 Wochen								
	ja/nein	ja/nein	Zitrusfrüchte	Andere Nahrungsmittel	Hausstaubmilbe	Katzenhaare	Graspollen	Birkenpollen	Eiweiß	Sellerie	Weizenmehl	Heuschnupfen	Allergisches Asthma	Atopisches Ekzem	Andere allergien	ja/nein	Tumoren	Chronisch	Systemerkrankungen	RRA	Endokrinologische	Sonstige	Neurologische	UV-Expositionen in	Alkoholkonsum	Ja/nein	Antikonzeptivum	Antioxydantien	Antidiabetikum	Antihypertensiva	Schilddrüsenmedikam	Homöopathie und	Asthmamedikamente	Homone	Immunsuppressiva	Gichtmittel(Allopurinol)	Antibiotika/Virustatika	Antiphlogistika	Sedativa(Benzodiazepi	ASS und Marcumar	Systemische Steroide	Topische Steroide	Topische	Antihistamina	Pflegcremes			
P77	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0		
P78	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1		
P79	1	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1			
P81	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1			
P82	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	
P83	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	
P85	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1		
P86	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1		
P88	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	
P89	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	
P90	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	1	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	
P92	0	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	
P93	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	
P94	0	1	1	1	1	0	1	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
P95	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1
P96	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
P97	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
P99	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
P100	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
P101	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
P111	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	

9.2.2 Daten zu Abbildungen

	8-Isoprostanwert (pg/ml)	Kreatininwert (mg/dl)	8-Isos/Krea	8-Isos/Krea x 1000/88,4 (ng/mmol)	8-Isos/Krea x 10 (ng/mg)	SCORAD
K 64u	775	121,1	6,4	72,4	0,6	0,0
K 24u	870	93,2	9,3	105,6	0,9	0,0
K 73u	895	183,6	4,9	55,1	0,5	0,0
P 15u	78	17,7	4,4	49,9	0,4	69,5
P 25u	375	63,9	5,9	66,4	0,6	87,9
P 78u	700	91,6	7,6	86,4	0,8	92,6
K 64s	230	121,1	1,9	21,5	0,2	0,0
K 24s	194	93,2	2,1	23,5	0,2	0,0
K 73s	230	183,6	1,3	14,2	0,1	0,0
P 15s	94	17,7	5,3	60,1	0,5	69,5
P 25s	219	63,9	3,4	38,8	0,3	87,9
P 78s	305	91,6	3,3	37,7	0,3	92,6
K 64e	1630	121,1	13,5	152,3	1,3	0,0
K 24e	1710	93,2	18,3	207,6	1,8	0,0
K 73e	1425	183,6	7,8	87,8	0,8	0,0
P 15e	185	17,7	10,5	118,2	1,0	69,5
P 25e	965	63,9	15,1	170,8	1,5	87,9
P 78e	995	91,6	10,9	122,9	1,1	92,6

Daten zu Abbildung 4.1-1 bis 4.1-6

Abbildung 4.2.1-1	Female (n=90)	Male (n=28)											
Geomittel	21,64	16,65											
Stabw	19,70	18,16											
Konfidenz	4,07	6,73											
Umfang	90,00	28,00											
Female	19,4	16,8	17,3	27,0	25,2	15,3	18,1	17,5	13,3	25,2	12,9	24,4	
Male	14,1	16,8	12,9	11,7	9,6	14,6	22,0	16,1	11,0	15,9	21,4	11,2	
	18,7	15,3	41,3	103,3	35,1	31,7	11,5	37,3	27,3	19,4	20,3	54,0	
	17,5	10,9	22,1	8,7	24,8	11,3	22,2	11,6	107,8	18,0	18,3	19,2	
	20,2	15,7	11,1	38,4	13,4	64,0	20,8	18,8	21,1	14,1	25,6	13,4	
	16,0	9,5	24,1	32,3									
	17,8	16,3	20,7	15,8	19,7	18,8	27,5	10,8	67,7	9,4	133,7	12,2	
	19,3	11,9	24,9	19,7	21,3	17,6	17,9	17,6	12,6	28,1	17,8	68,5	
	14,9	19,2	31,8	19,7	30,0	24,2	20,1	41,9	16,7	13,0	22,8	18,3	
	18,7	20,4	16,4	34,2	45,6	13,7	26,5	16,3	17,8	16,9	19,1	15,9	
	32,6	15,5	89,6	15,1	9,3	13,2	38,6						

Abbildung 4.2.1-1: Vergleich der 8-Isoprostanwerte von Frauen und Männern

Abbildung 4.2.2-1												
8-Iso	12,2	22,1	8,7	24,8	19,3	11,9	24,9	22,8	18,3	18,7	107,8	20,4
Number of daily smoked cigarettes	16,1	54,0	15,9	27,5	67,7	133,7	12,2	24,9	12,6	31,8	19,7	30,0
	18,0	16,4	18,3	19,2	34,2	16,0	9,5	45,6	13,7	26,5	16,3	17,8
	18,3	18,7	107,8	20,4	18,0	18,3	19,2	9,5	13,7	26,5	16,3	17,8
	24,1	16,9	19,1	15,9	32,6	15,5	89,6	15,1	9,3	13,2	38,6	32,3
	24,1	19,1	15,9	32,6	15,5	89,6		38,6	32,3			

Abbildung 4.2.2-1: Korrelation von 8-Isoprostanwerten und der Anzahl an täglich gerauchten Zigaretten

Abbildung 4.2.2-2	Einnahme von Antioxydantien (n=24)	Keine Einnahme von Antioxydantien (n=94)											
	Mittelwert	23,35	19,71										
	Stabw	23,78	18,21										
	Kofidenz	9,51	3,68										
	Umfang	24,00	94,00										
Einnahme	41,3	31,7	27,5	25,6	16,7	18,7	18,1	17,8	107,8	12,6	28,1	24,8	
Keine Einnahme	133,7	103,3	67,7	64,0	54,0	38,4	37,3	35,1	27,3	27,0	25,2	25,2	
	15,9	15,7	16,0	45,6	14,1	14,1	12,9	12,9	11,6	89,6	38,6	32,3	
	24,4	22,0	21,4	21,1	41,9	20,8	20,7	20,3	20,2	19,7	13,0	19,4	
	19,4	22,8	19,7	18,3	18,8	11,3	21,3	18,8	22,2	18,7	17,6	17,9	
	17,5	12,2	20,4	17,6	17,5	18,0	22,1	16,4	17,3	16,8	16,8	8,7	
	16,3	18,3	17,8	16,1	19,2	15,8	34,2	15,3	68,5	15,3	9,5	14,6	
	13,4	13,4	13,3	13,7	14,9	19,2	26,5	31,8	19,7	16,3	30,0	19,3	
	11,9	17,8	24,1	16,9	19,1	15,9	11,7	11,5	24,9	11,2	24,2	11,1	
	32,6	15,5	11,0	9,3	20,1	13,2	10,9	10,8	9,6	9,4			

Abbildung 4.2.2-2: Vergleich der 8-isoprostanwerte der Probanden bei Einnahme von Antioxydantien und ohne Einnahme von Antioxydantien

Abbildung 4.2.2-3	Einnahme von Hormonen (n=4)	Keine Einnahme von Hormonen (n=114)											
	Mittelwert	43,44	19,87										
Stabw	24,33	18,82											
Kofidenz	23,84	3,45											
Umfang	4,00	114,00											
Einnahme	67,7	16,8	68,5	45,6									
Keine Einnahme	133,7	103,3	64,0	54,0	41,3	38,4	37,3	35,1	31,7	27,5	27,3	27,0	
	25,6	25,2	25,2	24,4	22,0	21,4	21,1	41,9	20,8	20,7	20,3	20,2	
	16,7	19,7	13,0	19,4	19,4	22,8	19,7	18,3	18,8	11,3	21,3	18,8	
	18,7	18,1	22,2	18,7	17,6	17,8	17,9	107,8	17,5	12,2	20,4	17,6	
	17,5	18,0	22,1	16,4	17,3	12,6	16,8	8,7	28,1	16,3	18,3	17,8	
	16,1	19,2	24,8	15,9	15,8	15,7	34,2	15,3	15,3	16,0	9,5	14,6	
	14,1	14,1	13,4	13,4	13,3	13,7	14,9	19,2	26,5	31,8	19,7	16,3	
	30,0	19,3	11,9	17,8	12,9	24,1	12,9	16,9	19,1	15,9	11,7	11,5	
	24,9	11,2	24,2	11,1	32,6	11,6	15,5	89,6	11,0	9,3	20,1	13,2	
	10,9	38,6	32,3	10,8	9,6	9,4							

Abbildung 4.2.2-3: Vergleich der 8-isoprostanwerte von Frauen mit Hormoneinnahme und den Werten von Frauen ohne Hormoneinnahme

Abbildung 4.2.3-1	AE with perennial AR (n=32)	AE without perennial AR (n=56)												
	Geomittel	24,92	18,37											
	Stabw	28,87	11,27											
	Konfidenz	10,00	2,95											
	Umfang	32,00	56,00											
without perennial AR	27,3	19,4	20,3	11,0	20,2	15,7	11,1	38,4	13,4	64,0	21,4	20,8		
with perennial AR	16,1	54,0	15,9	27,5	67,7	133,7	12,2	24,9	12,6	31,8	19,7	30,0		
	18,8	21,1	14,1	25,6	13,4	11,2	17,8	17,5	16,3	20,7	15,8	19,7		
	18,3	18,7	107,8	20,4	18,0	18,3	19,2	9,5	13,7	26,5	16,3	17,8		
	18,8	10,8	10,9	9,4	22,1	8,7	24,8	19,3	11,9	19,7	11,3	21,3		
	24,1	19,1	15,9	32,6	15,5	89,6		38,6	32,3					
	22,2	17,6	17,9	17,6	28,1	17,8	68,5	14,9	19,2	24,2	11,6	20,1		
	22,8	16,4	34,2	16,0	45,6	16,9	9,3	13,2						

Abbildung 4.2.3-1: Vergleich der 8-Isoprostane von Patienten mit AE und ganzjähriger AR und mit AE ohne ganzjähriger AR

Abbildung 4.2.3-2	AE (n=88)	Healthy Volunteers (n=30)											
	Geomittel	20,52	20,04										
	Stabw	20,20	17,55										
	Konfidenz	4,22	6,28										
	Umfang	88,00	30,00										
AE	22,8	19,7	18,3	27,3	11,3	21,3	19,4	20,3	16,1	22,2	18,7	17,6	
Healthy Volunteers	19,4	16,8	17,3	27,0	25,2	15,3	18,1	17,5	13,3	25,2	12,9	24,4	
	54,0	17,9	107,8	11,0	12,2	20,4	17,6	20,2	18,0	22,1	16,4	15,7	
	18,7	15,3	41,3	103,3	35,1	31,7	14,1	11,5	41,9	16,8	12,9	11,7	
	12,6	11,1	38,4	8,7	28,1	15,9	18,3	17,8	13,4	19,2	24,8	64,0	
	9,6	16,7	37,3	13,0	14,6	22,0							
	21,4	20,8	34,2	18,8	68,5	21,1	16,0	9,5	14,1	45,6	25,6	13,4	
	11,2	17,8	17,5	13,7	14,9	19,2	26,5	31,8	19,7	16,3	30,0	19,3	
	11,9	17,8	16,3	24,1	20,7	16,9	19,1	15,9	15,8	19,7	24,9	18,8	
	24,2	27,5	32,6	11,6	15,5	89,6	10,8	9,3	20,1	13,2	67,7	38,6	
	32,3	10,9	9,4	133,7									

Abbildung 4.2.3-2: 8-Isoprostanwerte bei Patienten mit AE im Vergleich zu gesunden Kontrollen

Abbildung 4.2.1-1													
8-Iso	22,8	19,7	18,3	27,3	11,3	21,3	19,4	20,3	16,1	22,2	18,7	17,6	
scorad	57,7	34,0	54,2	46,9	12,6	40,4	44,9	8,0	47,4	69,5	46,7	26,4	
	54,0	17,9	107,8	11,0	12,2	20,4	17,6	20,2	18,0	22,1	16,4	15,7	
	13,9	4,5	54,8	19,4	35,8	69,4	38,4	87,9	19,7	54,2	19,9	29,9	
	12,6	11,1	38,4	8,7	28,1	15,9	18,3	17,8	13,4	19,2	24,8	64,0	
	0,0	12,6	44,6	55,3	37,0	25,5	57,0	28,0	27,3	0,0	27,5	65,2	
	21,4	20,8	34,2	18,8	68,5	21,1	16,0	9,5	14,1	45,6	25,6	13,4	
	17,6	61,0	14,9	84,5	68,1	47,1	16,7	20,8	43,0	62,0	48,5	52,2	
	11,2	17,8	17,5	13,7	14,9	19,2	26,5	31,8	19,7	16,3	30,0	19,3	
	16,0	28,7	83,9	9,4	27,0	45,1	33,0	14,9	46,5	39,4	63,6	39,4	
	11,9	17,8	16,3	24,1	20,7	16,9	19,1	15,9	15,8	19,7	24,9	18,8	
	101,3	59,5	20,6	23,0	61,2	62,7	57,6	15,4	54,7	92,6	50,9	35,0	
	24,2	27,5	32,6	11,6	15,5	89,6	10,8	9,3	20,1	13,2	67,7	38,6	
	77,1	45,5	76,2	59,6	48,2	90,2	49,0	66,1	34,7	70,4	66,4	40,3	
	32,3	10,9	9,4	133,7									
	45,4	18,3	42,9	29,3									

Abbildung 4.2.3-3: Korrelation der Höhe der 8-Isoprostanwerte mit der Höhe der SCORAD-Werte.

Abbildung 4.2.3-4	AE mit Asthma (n=35)	AE ohne Asthma (n=53)										
Mittelwert	20,76	20,37										
Stabw	20,31	20,32										
Kofidenz	6,73	5,47										
Umfang	35,00	53,00										
AE mit Asthma	22,8	18,3	18,7	107,8	12,2	20,4	18,0	22,1	16,4	8,7	18,3	19,2
AE ohne Asthma	19,7	27,3	11,3	21,3	19,4	20,3	16,1	22,2	17,6	54,0	17,9	11,0
	24,8	34,2	16,0	9,5	45,6	13,7	26,5	16,3	19,3	11,9	17,8	24,1
	17,6	20,2	15,7	12,6	11,1	38,4	28,1	15,9	17,8	13,4	64,0	21,4
	16,9	19,1	15,9	24,9	32,6	15,5	89,6	9,3	13,2	38,6	32,3	
	20,8	18,8	68,5	21,1	14,1	25,6	13,4	11,2	17,8	17,5	14,9	19,2
	31,8	19,7	30,0	16,3	20,7	15,8	19,7	18,8	24,2	27,5	11,6	10,8
	20,1	67,7	10,9	9,4	133,7							

Abbildung 4.2.3-4: Vergleich der 8-isoprostanwerte von Patienten mit AE und Asthma und von Patienten mit AE ohne Asthma

Abbildung 4.2.3-5	AE mit saisonaler AR (n=47)	AE ohne saisonaler AR (n=41)												
	Mittelwert	21,33	19,64											
	Stabw	18,84	21,89											
	Kofidenz	5,39	6,70											
	Umfang	47,00	41,00											
AE mit saisonaler AR	22,8	19,7	18,3	11,3	21,3	22,2	18,7	17,6	17,9	107,8	20,4	17,6		
AE ohne saisonaler AR	133,7	67,7	64,0	54,0	38,4	27,5	27,3	25,6	21,4	21,1	20,8	20,7		
	18,0	16,4	12,6	28,1	18,3	17,8	19,2	34,2	68,5	16,0	9,5	45,6		
	20,3	20,2	19,7	19,4	18,8	18,8	17,8	17,5	12,2	22,1	8,7	16,3		
	13,7	14,9	19,2	26,5	31,8	19,7	16,3	30,0	17,8	24,1	16,9	19,1		
	16,1	24,8	15,9	15,8	15,7	14,1	13,4	13,4	19,3	11,9	24,9	11,2		
	15,9	24,2	32,6	11,6	15,5	89,6	9,3	20,1	13,2	38,6	32,3			
	11,1	11,0	10,9	10,8	9,4									

Abbildung 4.2.3-5: Vergleich der 8-isoprostanwerte von Patienten mit AE und saisonaler AR und von Patienten mit AE ohne saisonaler AR

Abbildung 4.3-1	IgE Werte bei AE mit Asthma (n=35)	IgE Werte bei AE ohne Asthma (n=53)												
	Mittelwert	1483,39	258,26											
	Stabw	6075,56	6315,00											
	Kofidenz	2012,80	1700,14											
	Umfang	35,00	53,00											
IgE Werte bei AE mit Asthma	3603,0	3691,0	887,0	35316,0	2628,0	2494,0	732,0	119,0	600,0	201,0	2909,0	561,0		
IgE Werte bei AE ohne Asthma	26,7	1749,0	90,8	51,1	832,0	121,0	232,0	3594,0	2358,0	191,0	12,8	1567,0		
	126,0	309,0	3732,0	6563,0	4526,0	472,0	444,0	340,0	2360,0	6120,0	1061,0	3163,0		
	58,9	149,0	355,0	1647,0	6075,0	49,6	480,0	3012,0	990,0	1182,0	643,0	54,3		
	3004,0	1303,0	11480,0	439,0	2362,0	4846,0	3823,0	58,7	7178,0	1227,0	3167,0			
	83,6	527,0	73,5	27,9	234,0	234,0	298,0	2366,0	2727,0	1,0	152,0	8350,0		
	6207,0	56,9	1,0	230,0	500,0	325,0	523,0	584,0	1,0	47,8	981,0	45268,0		
	49,0	90,5	165,0	1747,0	34,8									

Abbildung 4.3-1. Vergleich der IgE – Werte von Patienten mit AE und Asthma und ohne Asthma

Abbildung 4.3-2	IgE Werte bei AE mit saisonaler AR (n=47)	ohne saisonaler AR (n=41)											
	Mittelwert	1074,47	224,08										
	Stabw	8240,83	1525,30										
	Kofidenz	2355,97	466,89										
	Umfang	47,00	41,00										
IgE Werte bei AE mit saisonaler AR	3603,0	6075,0	3691,0	480,0	3012,0	1182,0	887,0	643,0	83,6	35316,0	2494,0	73,5	
IgE Werte bei AE ohne saisonaler AR	26,7	1749,0	90,8	51,1	832,0	121,0	232,0	3594,0	2358,0	191,0	12,8	1567,0	
	732,0	600,0	27,9	234,0	2909,0	298,0	561,0	309,0	8350,0	3732,0	6563,0	4526,0	
	58,9	149,0	355,0	1647,0	49,6	990,0	54,3	527,0	2628,0	119,0	201,0	234,0	
	230,0	500,0	444,0	325,0	523,0	340,0	584,0	1061,0	3163,0	3004,0	1303,0	11480,0	
	126,0	2727,0	1,0	152,0	6207,0	56,9	1,0	2360,0	6120,0	439,0	1,0	981,0	
	47,8	2362,0	45268,0	4846,0	3823,0	58,7	90,5	7178,0	1227,0	3167,0			
	49,0	165,0	1747,0	34,8									

Abbildung 4.3-2: Vergleich der IgE-Werte von Patienten mit AE und saisonaler AR und ohne saisonaler AR

Abbildung 4.3-3	mit ganzjähriger AR (n=32)	ohne ganzjährige AR (n=56)											
	Mittelwert	1067,90	342,20										
	Stabw	6329,40	6218,21										
	Kofidenz	2192,99	1628,62										
	Umfang	32,00	56,00										
IgE Werte bei AE mit ganzjähriger AR	26,7	1749,0	51,1	121,0	3691,0	887,0	35316,0	2628,0	2494,0	732,0	27,9	2909,0	
IgE Werte bei AE ohne ganzjähriger AR	90,8	832,0	232,0	3594,0	2358,0	191,0	12,8	1567,0	58,9	149,0	355,0	1647,0	
	2366,0	561,0	2727,0	6563,0	472,0	444,0	325,0	523,0	340,0	584,0	1061,0	3163,0	
	3603,0	6075,0	49,6	480,0	3012,0	990,0	1182,0	643,0	54,3	83,6	527,0	73,5	
	1303,0	11480,0	439,0	2362,0	4846,0	3823,0	1227,0	3167,0					
	119,0	600,0	201,0	234,0	234,0	298,0	126,0	1,0	152,0	309,0	8350,0	3732,0	
	4526,0	6207,0	56,9	1,0	230,0	500,0	2360,0	6120,0	3004,0	1,0	47,8	981,0	
	45268,0	49,0	58,7	90,5	7178,0	165,0	1747,0	34,8					

Abbildung 4.3-3: Vergleich der IgE – Werte von Patienten mit AE und ganzjähriger AR und ohne ganzjährige AR

Abbildung 4.3-4	IgE Werte bei Einnahme von Antihistaminika (n=56)	Einnahme von Antihistaminika (n=32)											
	Mittelwert	556,33	456,23										
	Stabw	7628,87	2208,06										
	Kofidenz	1998,09	765,04										
	Umfang	56,00	32,00										
IgE Werte bei Einnahme von Antihistaminika	1749,0	90,8	51,1	832,0	121,0	232,0	3594,0	2358,0	12,8	1567,0	355,0	3603,0	
IgE Werte bei keiner Einnahme von Antihistaminika	26,7											191,0	
	49,6	480,0	3012,0	1182,0	887,0	83,6	35316,0	2494,0	73,5	119,0	600,0	27,9	
		58,9	149,0			1647,0		6075,0	3691,0	990,0			
	201,0	234,0	234,0	2909,0	298,0	2366,0	126,0	1,0	8350,0	3732,0	6563,0	4526,0	
	643,0	54,3	527,0	2628,0		732,0				561,0	2727,0	152,0	
	472,0	230,0	500,0	325,0	523,0	340,0	584,0	2360,0	1061,0	3163,0	3004,0	1303,0	
	309,0				6207,0		56,9	1,0		444,0	6120,0		
	11480,0	1,0	981,0	2362,0	45268,0	49,0	58,7	3167,0					
				439,0	47,8	4846,0	3823,0	90,5	7178,0	165,0	1227,0	1747,0	
		34,8											

Abbildung 4.3-4: Vergleich der IgE – Werte der Patienten unter Einnahme von Antihistaminika und ohne Einnahme von Antihistaminika

Abbildung 4.3-5												
8-Isos/Krea x 1000/88,4 (ng/mmol)	133,7	64,0	54,0	38,4	27,5	27,3	25,6	21,1	20,8	20,7	20,3	20,2
Total IGE	26,7	90,8	51,1	832,0	121,0	232,0	3594,0	191,0	12,8	1567,0	58,9	149,0
	19,7	19,4	22,8	19,7	18,3	18,8	21,3	18,8	18,7	17,6	17,8	17,9
	355,0	1647,0	3603,0	6075,0	3691,0	49,6	3012,0	990,0	887,0	643,0	54,3	83,6
	12,2	20,4	17,6	16,4	28,1	16,3	17,8	15,8	15,7	34,2	14,1	13,4
	2628,0	2494,0	73,5	600,0	234,0	234,0	298,0	1,0	152,0	309,0	6207,0	56,9
	13,4	13,7	14,9	19,2	26,5	31,8	19,7	16,3	30,0	19,3	11,9	17,8
	1,0	472,0	230,0	500,0	444,0	325,0	523,0	340,0	584,0	2360,0	6120,0	1061,0
	16,9	19,1	15,9	24,9	24,2	11,1	32,6	15,5	89,6	9,3	20,1	13,2
	3004,0	1303,0	11480,0	439,0	47,8	981,0	2362,0	4846,0	3823,0	58,7	90,5	7178,0
	38,6	10,8	9,4									
	1227,0	1747,0	34,8									

Abbildung 4.3-5: Korrelation der 8-Isoprostanwerte mit den IgE – Werten der Patienten

Abbildung 4.3-6												
SCORAD	29,3	65,2	13,9	44,6	45,5	46,9	48,5	47,1	61,0	61,2	8,0	87,9
Total-IgE	26,7	90,8	51,1	832,0	121,0	232,0	3594,0	191,0	12,8	1567,0	58,9	149,0
	92,6	44,9	57,7	34,0	54,2	84,5	40,4	35,0	46,7	26,4	28,7	4,5
	355,0	1647,0	3603,0	6075,0	3691,0	49,6	3012,0	990,0	887,0	643,0	54,3	83,6
	35,8	69,4	38,4	19,9	37,0	20,6	28,0	54,7	29,9	14,9	43,0	27,3
	2628,0	2494,0	73,5	600,0	234,0	234,0	298,0	1,0	152,0	309,0	6207,0	56,9
	52,2	9,4	27,0	45,1	33,0	14,9	46,5	39,4	63,6	39,4	101,3	59,5
	1,0	472,0	230,0	500,0	444,0	325,0	523,0	340,0	584,0	2360,0	6120,0	1061,0
	62,7	57,6	15,4	50,9	77,1	12,6	76,2	48,2	90,2	66,1	34,7	70,4
	3004,0	1303,0	11480,0	439,0	47,8	981,0	2362,0	4846,0	3823,0	58,7	90,5	7178,0
	40,3	49,0	42,9									
	1227,0	1747,0	34,8									

Abbildung 4.3-6: Korrelation des SCORAD des AE mit den IgE – Werten der Patienten mit AE