

Forschungsbericht FZKA-BWPLUS

Latex Typ I-Allergie: Risikoevaluierung unter besonderer Berücksichtigung der kreuzreagierenden Proteine in Nahrungsmitteln

von

M. Raulf-Heimsoth*, A. Posch*, F. Riedel[°]♦, J. Tücke*♦ und X. Baur*

*Berufsgenossenschaftliches Forschungsinstitut für Arbeitsmedizin (BGFA) Bochum;

♦Klinik für Kinder- und Jugendmedizin Bochum

°Altonaer Kinderkrankenhaus Hamburg

Förderkennzeichen: PUGP 96001

Die Arbeiten des Programms Umwelt und Gesundheit wurden mit Mitteln des Landes Baden-Württemberg gefördert

Juli 1999

Latex Typ I-Allergie: Risikoevaluierung unter besonderer Berücksichtigung der kreuzreagierenden Proteine in Nahrungsmitteln

M. Raulf-Heimsoth*, A. Posch*, F. Riedel^{°♦}, J. Tücke*[♦] und X. Baur*, *Berufsgenossenschaftliches Forschungsinstitut für Arbeitsmedizin (BGFA), Bürkle-de-la-Camp-Platz 1, D-44789 Bochum; [♦]Klinik für Kinder- und Jugendmedizin, St. Josef-Hospital; Universitätsklinik, Alexandrinenstr. 5, D-44791 Bochum; [°]Altonaer Kinderkrankenhaus, Bleikenallee 38, D-22763 Hamburg

Zusammenfassung:

Die Prävalenz einer Latex-assoziierten Nahrungsmittelsensibilisierung wurde in zwei Risikokollektiven untersucht. Unter 69 erwachsenen Latexallergikern und 163 Kontrollpersonen zeigte sich, daß die Zahl der positiven Hauttestbefunde auf Nahrungsmittel im latexsensibilisierten Kollektiv signifikant höher war als im Kontrollkollektiv (25,5 % versus 4,6 %; $p < 1 \times 10^{-9}$). Die häufigsten Sensibilisierungen lagen gegenüber Avocado (39,1 %) und Eßkastanie (38,8 %) vor. Unter Kindern mit atopischer Dermatitis ($n=74$) war in 16,2 % der Fälle eine Latexsensibilisierung (serologischer Nachweis von spezifischem IgE) zu verzeichnen. Die Prävalenz einer Latex-assoziierten Nahrungsmittelsensibilisierung betrug unter diesen Kindern 70 %, während sie im Kollektiv ohne Latexsensibilisierung nur bei 6,7 % lag ($p < 1 \times 10^{-9}$). Signifikante Unterschiede zwischen den beiden Kollektiven ergaben sich für Tomate, Avocado und Paprika, weniger stark ausgeprägt waren diese für Eßkastanie, Kartoffel und Kiwi. Eine Sensibilisierung gegenüber Avocado war unter Latex-negativen Kindern nicht nachweisbar. Doppel-blind Placebo-kontrollierte Nahrungsmittelstudien konnten z.T. die anamnestischen bzw. serologischen Ergebnisse oder/und Hauttestbefunde bestätigen. Durch die Etablierung einer Latexallergen-Datenbank konnte das Wissen über die IgE-bindenden Latexproteine deutlich erweitert werden und auch die Lokalisation der IgE-bindenden Proteine in den einzelnen kreuzreagierenden Nahrungsmitteln erlaubte die Identifizierung von Nahrungsmittelallergenen mit Homologien zu bekannten Latexallergenen. Kreuzinhibitionsexperimente mit Latex und den Nahrungsmitteln (insbesondere für Avocado und Banane) zeigten, daß das Latexhauptallergen Hevein eine zentrale Rolle beim Latex-Frucht-Syndrom spielt. Als kreuzreagierendes Protein aus der Avocado konnte ein Chitinbindendes Protein (CBPA) mit einer Hauptkomponenten von 31 kD isoliert und aufgrund der N-terminalen Sequenzanalyse als Endochitinase vom Typ I mit einer Hevein-Domäne am N-Terminus identifiziert werden. Auch als kreuzreagierendes Proteine in der Banane scheint eine Endochitinase der Klasse I mit Hevein-Domäne eine bedeutende Rolle zu spielen. Für die anderen Nahrungsmittel lag, verglichen mit den Latexproteinen, eine höhere Diversität vor. Inhibitionsexperimente zwischen Kiwi und Latex zeigten kaum gemeinsame Epitope, so daß die Sensibilisierung von Kiwi und Latex in den von uns betrachteten Fällen weitgehend unabhängig zu sein scheint. Darüber hinaus ergaben sich auch für weitere Nahrungsmittel individuelle Unterschiede hinsichtlich einer Kreuzreaktivität zum Latex, so daß es Latex-abhängige (Kreuzreaktionen) und -unabhängige Wege (Kosensibilisierung) der Sensibilisierung auch für die sogenannten Latex-assoziierten Nahrungsmittel gibt. Hinsichtlich der Kreuzreaktivität mit Kartoffel konnte Patatin isoliert und identifiziert werden. Gemeinsame Epitope zwischen dem Hev b 7 und Patatin scheinen die Ursache der Sensibilisierung von Latexallergikern gegenüber Kartoffeln zu sein. Das Kartoffelpatatin erwies sich aufgrund seiner Stabilität in *in vitro*-Verdauungsexperimenten als potentiell Lebensmittellergen.

Latex Type I Allergy: Risk evaluation under specific considerations of cross-reactive proteins in food

M. Raulf-Heimsoth*, A. Posch*, F. Riedel^{°♦}, J. Tücke*[♦] und X. Baur*, *Berufsgenossenschaftliches Forschungsinstitut für Arbeitsmedizin (BGFA), Bürkle-de-la-Camp-Platz 1, D-44789 Bochum; [♦]Klinik für Kinder- und Jugendmedizin, St. Josef-Hospital; Universitätsklinik, Alexandrinenstr. 5, D-44791 Bochum; [°]Altonaer Kinderkrankenhaus, Bleikenallee 38, D-22763 Hamburg

Summary

The prevalence of latex-associated food sensitization was studied in two risk groups. In a group of adult latex allergics (n=69), the number of positive skin prick tests (SPT) to one food type was significantly higher than in the control group (n=163) ($p < 1 \times 10^{-9}$; 25.5 % versus 4.6 %). Sensitization to avocado (39.1%) and chestnut (38.8%) was most pronounced. In children with atopic dermatitis (n=74), 16.2% had latex specific-IgE. 70 % of specific IgE tests with latex-associated food were positive in these latex-sensitized children. In contrast, in the control group without latex-specific IgE (n=62), only 6.7% of food specific-IgE determinations were positive. Significant differences between these two groups existed for tomato, avocado and sweet pepper. Differences in the prevalence of specific IgE to chestnut, potato and kiwi were smaller. Avocado-specific IgE was exclusively found in the latex-sensitized children group. Double-blind placebo-controlled food challenge tests in the adults and in the children group confirmed the anamnestic indication, serological and SPT results. In addition to the fact that avocado-specific IgE was only detected in sera of latex-IgE positive children, the high degree of cross-inhibition confirms the assumption that especially a lot of avocado and some latex proteins share similar IgE-binding epitopes. Immunological crossreactivity between hevein and avocado class I chitinase that contains a hevein domain at the N-terminus was the molecular explanation for this phenomenon. Comparable to avocado, class I chitinase seemed to be relevant as major crossreacting protein in banana. In case of the other foods, the diversity of IgE epitopes seems to be greater when compared to latex. Our data indicate that only few similarities of IgE epitopes exist between latex and kiwi; sensitization to latex and kiwi seems to be independent. Especially in case of potato, latex-dependent and -independent ways of sensitization seem to exist. The generation of a latex allergen database increased the detailed knowledge of the IgE-binding latex proteins. Additionally, the localisation of IgE-binding proteins in latex-associated foods allowed the identification of allergenic proteins with homology to described latex allergens. Patatin of potatoes with homology to the latex allergen Hev b 7 was isolated and identified as the major crossreacting protein in potato and latex sensitization. Based on its stability in *in vitro* ingestion experiments, patatin was a potential food allergen.

1. Einleitung und Aufgabenstellung

Die Proteine der Latexmilch sind Auslöser der IgE-vermittelten Latexallergie. Ein erhöhtes Risiko, an einer Allergie zu erkranken, haben Personen, die häufig und lang andauernd Kontakt zu Gegenständen aus Naturlatex haben, wie es bei den beruflich Exponierten des medizinisch-pflegerischen Bereichs, Spina-bifida-Patienten und Mehrfachoperierten der Fall ist. Bis zu 17 % der im Gesundheitswesen Beschäftigten weisen eine Typ I-Sensibilisierung gegenüber Naturlatex auf [1].

Fallbeschreibungen belegen, daß die Latexallergie mit einer Nahrungsmittelallergie assoziiert sein kann. Vor allem Früchte wie Kiwi, Avocado, Eßkastanie und Banane und Gemüse wie Paprika und Tomate, aber auch Grundnahrungsmittel wie die Kartoffel werden als kreuzreagierende Nahrungsmittel angeführt. Diese Pflanzen haben keine enge taxonomische Verwandtschaft zum Latexbaum (*Hevea brasiliensis*) (Abb. 1).

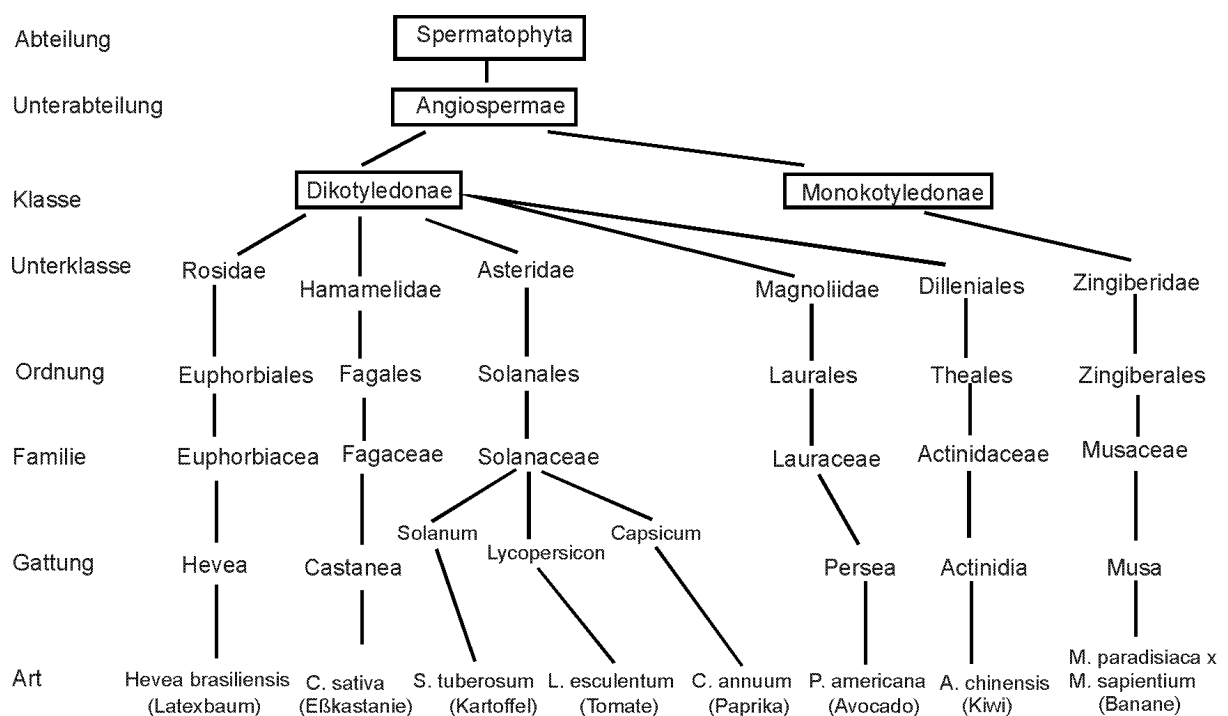


Abb. 1: Systematik der Pflanzen (Nahrungsmittel), deren kreuzreagierende Eigenschaften hier betrachtet werden.

Über die Assoziation einer Latex- mit einer Nahrungsmittelsensibilisierung sowie deren klinische Relevanz war zum Zeitpunkt der Antragstellung in definierten Kollektiven wenig bekannt. Ebenso lagen nur vereinzelte Berichte über die vermutlich kreuzreagierenden Allergene und deren gemeinsame Strukturmerkmale vor. Im Rahmen des Forschungsprojektes sollten anhand von zwei Kollektiven a) beruflich latexexponierte Personen und b) atopische Kinder mit Neurodermitis und Verdacht

auf Nahrungsmittelallergie die Frage nach der Höhe der Koinzidenz von Latex- und Nahrungsmittelallergie in den genannten Kollektiven beantwortet werden. Darüber hinaus sollten mit immun- und biochemischen Methoden die kreuzreagierenden Komponenten für die Latex- bzw. Nahrungsmittelallergie identifiziert werden. Zur Abklärung der klinischen Relevanz der Sensibilisierung waren nicht nur Hauttestuntersuchungen im Erwachsenenkollektiv und serologische Bestimmungen des spezifischen IgE ebenso wie detaillierte und standardisierte klinische Untersuchungen (Anamnese, Lungenfunktion usw.) vorgesehen, sondern insbesondere sollten Doppel-blind Placebo-kontrollierte Nahrungsmittelprovokationen durchgeführt und ausgewertet werden.

2. Ergebnisse und Diskussion

2.1. Untersuchungen im Erwachsenenkollektiv

232 erwachsene Probanden wurden in die Studie aufgenommen. 117 dieser Probanden konnten aufgrund der anamnestischen Angaben als beruflich latexexponiert eingestuft werden. Für das gesamte Kollektiv wurde eine allgemeine Allergieanamnese erhoben und eine Pricktestung mit 21 ubiquitären Umweltallergenen durchgeführt. Als Atopiker wurden diejenigen Patienten klassifiziert, die gegenüber mindestens zwei Umweltallergenen ohne Latex eine Sensibilisierung zeigten. Unter den 117 beruflich latexexponierten Probanden waren 54 Atopiker und 63 Nicht-Atopiker. Von den 115 beruflich nicht-latexexponierten Probanden waren 36 Atopiker und 79 Nicht-Atopiker, d.h. in der Gruppe der beruflich latexexponierten Personen gab es signifikant mehr Atopiker ($p < 0,05$) als im beruflich nicht-latexexponierten Kollektiv. Bei 60 der latexexponierten Personen ($60/117 = 51,35\%$) diagnostizierten wir eine Sensibilisierung gegenüber Naturlatex. Diese lag bei einer kutanen Sensibilisierung gegenüber Latex (Latex-positiver Hauttest, d.h. das Verhältnis der Test- zur Histaminquaddel $> 0,25$), positiver Anamnese oder einem positiven inhalativen Provokationstest mit gepuderten Latexhandschuhen vor. Im Kollektiv der latexexponierten Patienten gaben 85 von 101 Patienten anamnestisch eine Symptomatik auf Latex an. In 48 von 78 Fällen ($61,5\%$) fand sich eine Übereinstimmung zwischen Anamnese, Latex-spezifischem IgE und Hauttestbefunden und in $64,1\%$ ($59/92$) war eine Übereinstimmung zwischen Anamnese und Hautreaktion bezüglich Latex zu verzeichnen.

Unter den 115 beruflich nicht-latexexponierten Probanden zeigten neun eine positive Hautreaktion auf Latex ($9/115=7,8\%$). 163 Personen konnten als Latex-asymptomatisch eingestuft werden, wobei 54 als beruflich latexexponiert galten. Unter den insgesamt 69 Patienten mit positivem Latex-Hauttest waren 41 Atopiker (49,4%). Das Kontrollkollektiv umfaßte 163 Personen mit 49 Atopikern und 114 Nicht-Atopikern.

Zur Ermittlung der Nahrungsmittelsensibilisierung wurden Hautteste (insgesamt 1.561) mit selbst hergestellten Nahrungsmittlextrakten aus den frischen Früchten und Gemüse (Avocado, Kartoffel, Banane, Eßkastanie, Tomate, Kiwi und Paprika) durchgeführt [2]. 169 der Hauttestbefunde (10,8%) waren positiv. Von diesen fielen allein 70% (118/169) auf das Kollektiv der Patienten mit positivem Hauttest gegenüber Latex. Hier waren die häufigsten Sensibilisierungen gegenüber Avocado (39,1%) und Eßkastanie (38,8%) zu verzeichnen; geringer war sie für Paprika (29%), Banane (23,2%), Kiwi (21,7%), Tomate (11,6%) und Kartoffel (8,8%). Eine Differenzierung des Kollektivs in Atopiker und Nicht-Atopiker ergab keinen signifikanten Unterschied hinsichtlich der Sensibilisierungshäufigkeit gegenüber den o.g. Nahrungsmitteln. Dieses deutete darauf hin, daß der Atopiestatus nicht für das gehäufte Auftreten einer Sensibilisierung gegenüber den Nahrungsmitteln ursächlich verantwortlich war. Ein Vergleich mit dem Kontrollkollektiv zeigte hingegen deutliche Unterschiede bezüglich einer Sensibilisierung gegenüber Eßkastanie, Banane, Avocado, Paprika, Kiwi und Kartoffel (Abb. 2).

Insgesamt zeigten im Kontrollkollektiv nur 4,6% der Probanden einen positiven Hauttest gegenüber den Nahrungsmitteln. Für eine Sensibilisierung gegenüber Tomate war kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Kollektiven sichtbar. Ein positiver Hauttestbefund gegenüber Tomate schien somit unabhängig von einer Latexsensibilisierung zu sein. Ein Vergleich der beiden Atopikergruppen (Latexsensibilisierte $n=41$ versus Kontrollgruppe $n=49$) zeigte keinen Unterschied bezüglich der Sensibilisierung gegenüber Kartoffel. Auch ein positiver Hauttestbefund gegenüber Kartoffel erwies sich zumindest im Atopikerkollektiv als unabhängig von einer Latexsensibilisierung. Die Auswertung der Standardhautteste ergab Hinweise, daß eine Sensibilisierung gegenüber Latex und/oder Kartoffel mit einem positiven Hauttest gegenüber Birke, Erle und Hasel assoziiert war.

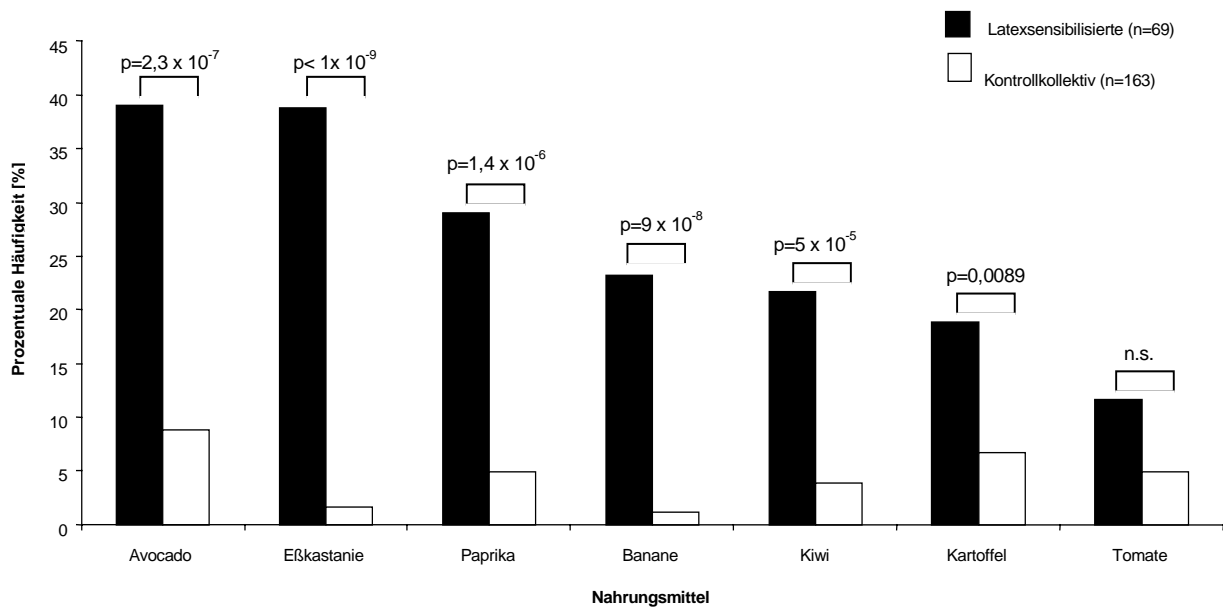


Abb. 2: Prozentuale Häufigkeit einer Nahrungsmittelsensibilisierung unter erwachsenen Latexsensibilisierten (Hauttest $>0,25$ gegenüber Latex) und einem Kontrollkollektiv (Auswertung von Hauttestbefunden, Fisher's Exact Test).

In insgesamt 121 Fällen wurde eine Überprüfung der Hauttestbefunde hinsichtlich der Latexsensibilisierung mit dem CAP-System (Pharmacia) durchgeführt. Dabei zeigte sich in 110 Fällen (91 %) eine Übereinstimmung zwischen den serologischen Befunden und den Hauttestergebnissen. Entsprechende Überprüfungen für die Nahrungsmittel ergaben für die Avocado in 32 Fällen eine Übereinstimmung (32/58; 55 %), für die Kartoffel in 20 von 40 (50 %), für die Tomate in 14 von 33 (42 %), für die Kiwi in 22 von 48 (46 %), für die Banane in 30 von 46 (65 %), für die Paprika in 10 von 45 (22 %) und für die Eßkastanie in 14 von 28 Fällen (50 %).

74 Patienten gaben an, bereits Symptome einer Allergie gegen eines der untersuchten Nahrungsmittel entwickelt zu haben. In fünf Fällen stimmten hierbei Anamnese-, CAP- und Hauttestresultate und in neun Fällen CAP und Anamnese überein. Für sieben Patienten ließ sich die Anamnese durch einen positiven Hauttest untermauern. Die größte Übereinstimmung konnte für Avocado und Banane erzielt werden. Auf das Kollektiv der beruflich nicht-latexexponierten Probanden entfielen 30 der 74 Angaben und nur bei einem Patienten zeigte sich eine Übereinstimmung zwischen CAP-Ergebnis und Anamnese.

Zur Prüfung der klinischen Relevanz anamnestisch beschriebener Reaktionen nach Genuß bestimmter Nahrungsmittel bzw. der in Hauttesten oder mittels spezifischer IgE-Bestimmung beobachteter Sensibilisierung führten wir Doppel-blind Placebo-

kontrollierte Nahrungsmittelprovokationen (DBPCFC) durch. Unter den Erwachsenen nahmen nur fünf Probanden an der Untersuchung teil. 14 Provokationen unter Beobachtung kutaner, subjektiv intestinaler, nasaler und pulmonaler Symptome während und innerhalb von 24 bzw. 48 Stunden nach Beendigung der Untersuchung wurden durchgeführt. Insgesamt konnten vier von neun (44,4 %) DBPCFC im Sinne eines Nachweises einer Nahrungsmittelallergie gewertet werden. Dabei boten in beiden Provokationen mit Banane und in zwei von drei Provokationen mit Avocado die Patienten typische allergische Reaktionen. In den drei Fällen mit Kartoffel oder nach dem Genuß von Paprika verliefen die Provokationen negativ. Trotz positivem Ergebnis in der DBPCFC für Avocado in zwei Fällen waren weder anamnestische Angaben des Patienten zur Avocado-Unverträglichkeit vorhanden noch zeigte sich ein positives Hauttestresultat, während in beiden Fällen IgE-Antikörper im CAP-System nachweisbar waren. Bei den beiden positiven DBPCFC-Fällen gegenüber Banane gaben die Patienten bereits anamnestische Hinweise einer Bananen-Unverträglichkeit an. In einem dieser Fälle war auch Bananen-spezifisches IgE zu vermitteln. Beide Fälle zeigten hingegen ein negatives Hauttestresultat. Insgesamt der Zusammenhang zwischen positiven DBPCFC-Befunden und der Bestimmung von Nahrungsmittel-spezifischem IgE deutlich (ausführliche Beschreibung siehe Zwischenbericht 1998, [3]).

2.2 Sensibilisierung gegenüber Latex und Latex-assoziierten Nahrungsmitteln im Kinderkollektiv [4]

In das Kinderkollektiv wurden 75 Patienten aufgenommen, darunter 74 mit einer atopischen Dermatitis und ein Kind mit einer Meningomyelocele und Asthma bronchiale. Bei allen Kindern bestanden anamnestische Hinweise bzw. der Nachweis und/oder serologische Hinweise einer Nahrungsmittelsensibilisierung/-allergie. Ausführliche Anamnesen und körperliche Untersuchungen unter Berücksichtigung des SCORAD-Index zur Neurodermitisgraduierung wurden vorgenommen. Im Anschluß daran erfolgte neben der Bestimmung des Gesamt-IgE die Bestimmung spezifischer IgEs gegenüber Latex und den genannten Nahrungsmitteln.

Innerhalb des Kollektives mit atopischer Dermatitis (n=74) ließ sich für zwölf Kinder mittels CAP-System eine Sensibilisierung gegenüber Latex nachweisen (16,2 %) [4]. Die Höhe der Latex-spezifischen IgE-Antikörper lag zwischen 0,38 und 17,1 kU/L (Median 3,25 kU/L). Das Kind mit der Meningomyelocele und dem Asthma bronchiale, welches in die Gesamtkollektivbetrachtung nicht aufgenommen wurde,

hatte den höchsten Latex-spezifischen IgE-Wert (41,5 kU/L). Entsprechend dem Fragebogen gaben sieben Kinder kutane Symptomatik nach Kontakt mit Naturlatexprodukten an; in drei dieser Kinderseren konnte Latex-spezifisches IgE detektiert werden. Peri- und enorale Symptomatik beschrieben ebenfalls fünf Kinder und in drei von diesen konnte ebenfalls Latex-spezifisches IgE nachgewiesen werden. Pulmonale Symptomatik konnte nicht gefunden werden. Einer Auswertung entsprechend der Krankengeschichte über die zugrundeliegenden chirurgischen Eingriffe zeigte, daß es keine signifikant höhere Anzahl chirurgischer Eingriffe in der Gruppe der Kinder mit erhöhtem Latex-spezifischem IgE gab. Die zwölf Kinder mit Latex-spezifischem IgE hatten ein signifikant höheres Gesamt-IgE ($n=12$; $980 \pm 1009,8$ kU/L, Median 965 kU/L) verglichen mit den atopischen Kinder ohne Sensibilisierung gegenüber Latex ($n=49$; $159 \pm 316,44$ kU/L; Median 1,95 kU/L) ($p<0,0027$). Auffällig war auch, daß die Kinder mit Latex-spezifischem IgE deutlich älter waren, als die nicht latexsensibilisierten Kinder (Durchschnittsalter 6 Jahre 10 Monate versus 1 Jahr 8 Monate). Gehäufte positive Hautreaktionen gegenüber den ubiquitären Inhalationsallergenen (Gräser- und Baumpollen) waren im latexsensibilisierten Kollektiv zu verzeichnen. 14 Kinder (19 %) beschrieben allergische Reaktionen nach dem Genuß der angegebenen Früchte und Gemüsen, insbesondere Tomate, Paprika und Kiwi. In dem Gesamtkollektiv von 74 Patienten wurden insgesamt 505 Nahrungsmittelspezifische IgE-Bestimmungen durchgeführt. Davon waren 93 positiv (18,4 %). Am häufigsten wurden positive IgE-Befunde gegenüber Kartoffel (31,9 %), Banane (20,8 %), Tomate (16,6 %), Paprika (18 %), Eßkastanie (14,1 %) und Avocado (13,7 %) beobachtet. In der gesamten Gruppe konnte für Kiwi nur eine Inzidenz von 7 % bzgl. positiver IgE-Befunde ermittelt werden. 65 der 93 positiven Befunde (70 %) konnten im Latex-positiven Kollektiv erhoben werden. Demgegenüber waren nur 6,7 % der serologisch spezifischen IgE-Bestimmungen im Latex-negativen Kollektiv zu finden. Die Häufigkeit positiver spezifischer IgE-Messungen gegenüber den Latex-assoziierten Nahrungsmitteln zeigt die Verteilung in Abb. 3. Signifikant mehr positive CAP-Ergebnisse für Tomate, Avocado und Paprika ergaben sich im Latex-positiven Kollektiv. Weniger stark ausgeprägt waren die Unterschiede für Eßkastanie, Kartoffel und am schwächsten für Kiwi. Elf der zwölf latexsensibilisierten Kinder hatten spezifisches IgE gegenüber Tomate und Kartoffel und nur vier der zwölf Kiwi-spezifisches IgE [4].

Die 62 Kinder ohne Latex-spezifisches IgE zeigten nur in 28 von 421 Testungen eine Nahrungsmittelsensibilisierung (6,7 %) und zwar mit einer Häufigkeit von 19,4 % gegenüber Kartoffel, 11,7 % gegenüber Banane und 8,5 % gegenüber Eßkastanie und mit weniger als 3 % gegenüber Tomate und Kiwi.

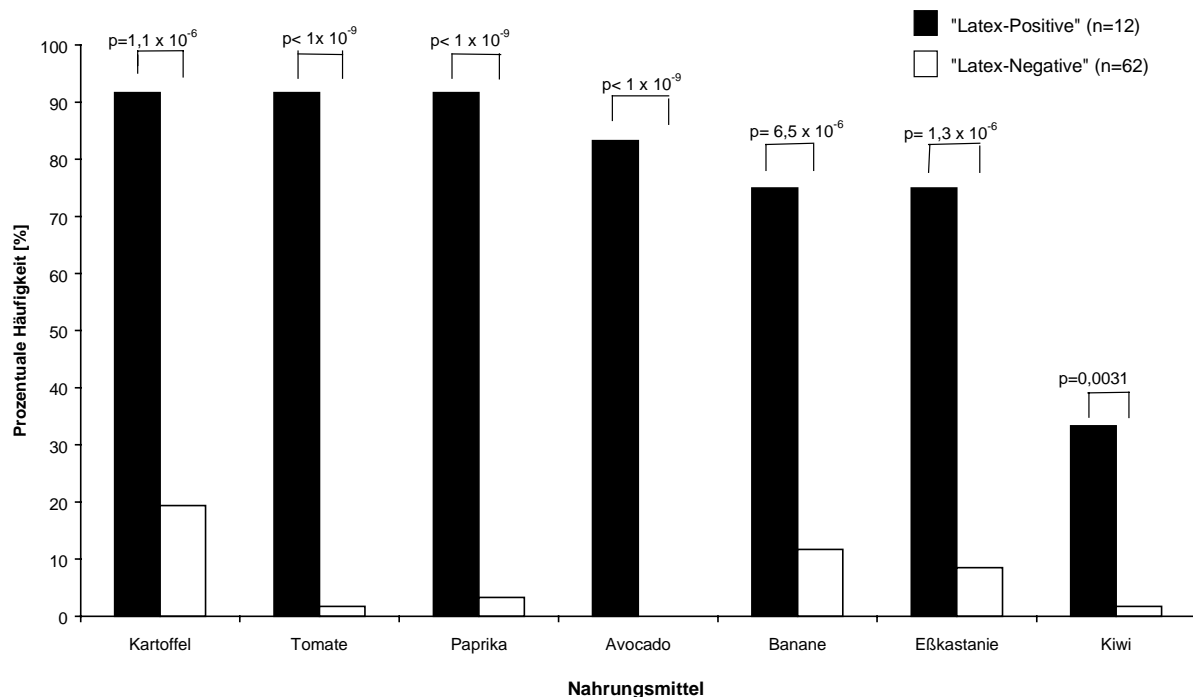


Abb. 3: Verteilung der positiven CAP-Ergebnisse gegenüber Nahrungsmitteln im „Latex-positiven“ und im „Latex-negativen“ Kinderkollektiv

Eine Sensibilisierung gegenüber Avocado konnte im „Latex-negativen“ Kinderkollektiv nicht nachgewiesen werden. Lediglich im Latex-positiven Kollektiv fanden sich Übereinstimmungen hinsichtlich anamnestischer Angaben einer Nahrungsmittelsensibilisierung und spezifischer IgE-Befunde (14,3 % der Fälle). In jeweils drei von zwölf Fällen ergaben sich für Tomate, Kartoffel, Paprika und Banane genannte Übereinstimmungen. Dieses gelang dagegen nicht für Avocado, Kiwi und Eßkastanie. Wir fanden für letztgenannte jedoch wiederholt erhöhtes spezifisches IgE. Bemerkenswert war, daß diese Nahrungsmittel noch nie als ein Nativ-Lebensmittel verzehrt worden waren.

Alle Patienten mit Latex-spezifischem IgE zeigten zusätzlich wenigstens gegenüber zwei, in neun Patienten sogar gegenüber fünf der sieben ausgetesteten Nahrungsmittel eine positive IgE-Reaktion. Ein isoliertes Latex-spezifisches IgE ohne IgE-Antikörper gegenüber weiteren Früchten konnte nicht beobachtet werden.

Sechs Kinder mit erhöhten IgE-Antikörpern gegen mindestens eins der ausgetesteten Nahrungsmittel und ein Kind mit einer relevanten Nahrungsmittel-spezifischen Anamnese nahmen an der DBPCFC teil. Drei der teilnehmenden Patienten hatten keine Latex-spezifischen IgE-Antikörper. Insgesamt wurden 18 Provokationen inklusive sieben Placebotestungen durchgeführt. In beiden Fällen mit Tomate und Banane und in vier von fünf mit Kartoffel ließ sich der klinische Nachweis einer Nahrungsmittelallergie führen. In allen Fällen konnte Nahrungsmittel-spezifisches IgE nachgewiesen werden. Dementsprechend liegt ein Anteil positiver DBPCFC von 72,7 % vor. Das jeweilige Reaktionsmuster entsprach hierbei sehr gut den anamnestischen Angaben hinsichtlich der Reaktionen nach Genuß bestimmter Nahrungsmittel. Manifestationsort war in allen Fällen die Haut.

Zur weiteren Abklärung des Zusammenhangs zwischen Latex-spezifischem IgE-Antikörpern und Nahrungsmittel-spezifischen Antikörpern wurden CAP-Inhibitionstests durchgeführt. Für diesen Zweck wurden Seren von Nahrungsmittel-positiven Patienten mit Latextrakt präinkubiert und anschließend die Bindung der IgE-Antikörper an den festphasengebundenen Nahrungsmitteln überprüft. Tabelle 1 zeigt, daß in fünf von acht Seren die Präinkubation mit Latextrakt zu einer kompletten Inhibition des Avocado-spezifischen IgE geführt hat.

Table 1: Zusammenfassung der Inhibitionsergebnisse Nahrungsmittel-spezifischer IgE-Bindungen durch Latextrakt

Anzahl der Seren	Festphasenallergen	Inhibition mit	Grad der Inhibition im Serum					Median der Inhibition [%]	Mittelwert der Inhibition \pm SD
			100%	75-95%	50-75%	25-50%	0-25%		
8	Avocado	Latex	5	1	0	1	1	100	79,5 \pm 33,8 %
9	Tomate	Latex	4	1	1	1	2	76	64,7 \pm 40,2 %
9	Kartoffel	Latex	4	0	1	1	3	58	59,2 \pm 42,5 %
9	Paprika	Latex	2	0	1	0	6	12	32,7 \pm 42,7 %
3	Kiwi	Latex	0	0	0	0	3	13	11,3 \pm 10,6 %
6	Eßkastanie	Latex	1	0	1	2	2	35,5	37,2 \pm 37,2 %

Nur in einem Fall war die Inhibition nicht positiv (Bereich 0-25 %). Tomaten-spezifisches IgE konnte komplett in vier von neun Seren inhibiert werden. In zwei Fällen war die Inhibition nicht signifikant (0-25 %). Eine Vorinkubation mit Latexextrakt führte zu einer kompletten Inhibition von Kartoffel-spezifischem IgE in vier von neun Proben. In drei Fällen lag die Inhibition unter 25 %. Die Inhibition von Paprika-spezifischem IgE durch Latexextrakt war in zwei von neun Fällen 100 %, während sie in sechs Fällen unter 25 % lag. Eßkastanien-spezifisches IgE konnte nur in einem Fall komplett durch Latex inhibiert werden (1/6), während in zwei Fällen keine Inhibition stattfand. Die Inhibition von Kiwi-spezifischem IgE in drei Fällen mit Latexextrakt gelang nicht. Neben dem Befund, daß Avocado-spezifisches IgE nur in den Seren der Kinder mit Latex-spezifischem IgE gefunden werden konnte, weist auch der hohe Grad der Inhibition darauf hin, daß insbesondere Avocadoproteine und einige Latexproteine gleiche IgE-bindende Epitope aufweisen (s. auch 2.3.4). Für die anderen Nahrungsmittel liegt, verglichen mit den Latexproteinen, eine höhere Diversität vor. Insbesondere die Inhibitionsergebnisse von Kiwi mit Latex zeigen kaum gemeinsame Epitope, so daß die Sensibilisierung von Kiwi und Latex in den von uns betrachteten Fällen weitgehend unabhängig zu sein scheint. Darüber hinaus ergaben sich für die anderen Nahrungsmittel individuelle Unterschiede hinsichtlich ihrer Ausprägung an Kreuzreaktivität zum Latex, so daß es Latex-abhängige und –unabhängige Wege der Nahrungsmittelsensibilisierung (insbesondere für die Kartoffel nachgewiesen) gibt.

2.3 Proteinchemische Untersuchungen

2.3.1 Identifizierung und Charakterisierung der Nahrungsmittelallergene des „Latex-Frucht-Syndroms“

Für die Identifizierung und Charakterisierung der Nahrungsmittelallergene des „Latex-Frucht-Syndroms“ wurden im wesentlichen zwei Strategien verfolgt. Zum einen wurde durch die Etablierung einer Latexallergendatenbank mittels 2D-Elektrophorese, Immunoblotting und Proteinsequenzierung das Wissen über die IgE-bindenden Latexproteine im Hinblick auf die bekannte Literatur deutlich erweitert [5, 6]. Mit Hilfe dieser Allergendatenbank war es einerseits sehr gut möglich, das kreuzreagierende Potential der einzelnen Latexallergen theoretisch vorherzusagen bzw. einzuschätzen und andererseits Strategien zur Überprüfung der aufgestellten Hypothesen zu planen. Weiterhin erfolgte parallel die zweidimensionale Auftrennung der

Proteine der wichtigsten mit Latex kreuzreagierenden Nahrungsmittel (Avocado, Banane, Kartoffel) sowie die Lokalisierung der IgE-bindenden Proteine durch Inkubation mit den entsprechenden Patientenserum. Durch Proteinsequenzierung wurde abschließend versucht, die Identität der Nahrungsmittelallergene zu entschlüsseln, Homologien zu den bekannten Latexallergenen nachzuweisen und ihre Bedeutung in den Latex-assoziierten Nahrungsmittelallergien abzuschätzen [7].

2.3.2 2D-Elektrophorese, IgE-Immunoblotting und N-terminale Proteinsequenzierung von Latexproteinen

Die Latexmilch des Gummibaumes *H. brasiliensis* enthält 1-2 % Proteine und lässt sich mittels Zentrifugation in drei Fraktionen trennen: auf der Oberfläche schwimmen die Latexpartikel, der Bodensatz besteht überwiegend aus Nicht-Kautschukbestandteilen wie Zellfragmenten und dazwischen befindet sich eine wässrige Phase, das sogenannte C-Serum. 25-30 % der Gesamtproteine sind an die Latexpartikel gebunden, der Hauptanteil ist im C-Serum und im Bodensatz enthalten [6]. Die Partikel-assoziierten Latexproteine sind das 14,6 kD Latexprotein (Rubber elongation factor (REF)), das gemäß der internationalen Allergenomenklatur als Hev b 1 bezeichnet wird [8, 9, 10] und das 24 kD Hev b 3 mit einer signifikanten Sequenzhomologie zu Hev b 1 [11].

Sowohl Hev b 1 als auch Hev b 3 sind offensichtlich sehr spezifische Latexproteine; Hev b 1 weist keinerlei Sequenzhomologien zu bekannten Nahrungsmittelproteinen auf und spielt vermutlich keine Rolle in der Latex-assoziierten Nahrungsmittelüberempfindlichkeit. Die Gesamtsequenz von Hev b 3 ist unbekannt; es zeigt aber deutliche Homologien zu Hev b 1 in den bekannten Teilsequenzen, so daß die gleichen Überlegungen für dieses Allergen gelten. Diese Hypothese wurde mit Hilfe von entsprechenden Inhibitionsversuchen mit Hev b 1 überprüft. Es zeigte sich, daß Nahrungsmittel-spezifisches IgE (Avocado, Banane, Kartoffel) von zehn erwachsenen Latexpatienten nicht gehemmt werden konnte und somit keine immunologische Kreuzreaktion zwischen den Nahrungsmitteln einerseits und den Latexpartikelallergenen andererseits besteht.

Latex C-Serum-Proteine

Im Gegensatz zu den Partikel-assoziierten Latexproteinen bestehen die C-Serum Proteine aus mehr als 200 Einzelkomponenten mit Molekulargewichten zwischen 5 und 100 kDa. Ungefähr 60 Polypeptide zeigen im zwei-dimensionalen Immunoblot

(Abb. 4) mit Seren von Latexallergikern aus dem Gesundheitswesen IgE-bindende Eigenschaften [5].

Prohevein (Hev b 6.01), Hevein (Hev b 6.02) und Prohevein C-Domäne (Hev b 6.03)

Prohevein (Spots 9, 10) ist ein 20 kDa Protein, das posttranslational in eine N-terminale 4,7 kDa und eine C-terminale 14 kDa Untereinheit (Spots 7, 8) gespalten wird. Das 4,7 kDa Hevein (Spots 3, 4) ist ein kleines Cystein- und Glycin-reiches Protein und ist in die Koagulation von Latex involviert [12]. Die Bedeutung von Prohevein als Latexhauptallergen für das Krankenhauspersonal wurde von Alenius et al. entdeckt [13]. Weitere Untersuchungen des BGFA [14] zeigten, daß die N-terminale Domäne Hevein für die Allergenität von Prohevein ausschlaggebend ist. Prohevein bzw. Hevein haben Chitin-bindende Eigenschaften. Die Hevein-Domäne ist eine konservierte Proteinstruktur, die Bestandteil von mehreren Proteinspezies ist, z.B. Endochitinasen der Klasse I, Lektinen und Streß-induzierten Proteinen. Die Hevein-Domäne ist einerseits ein Hauptallergen für Latexallergiker und andererseits in den pflanzlichen Proteinen weit verbreitet, so daß dieser Proteinstruktur wohl eine zentrale Rolle in der Latex-assoziierten Nahrungsmittelallergie zukommt.

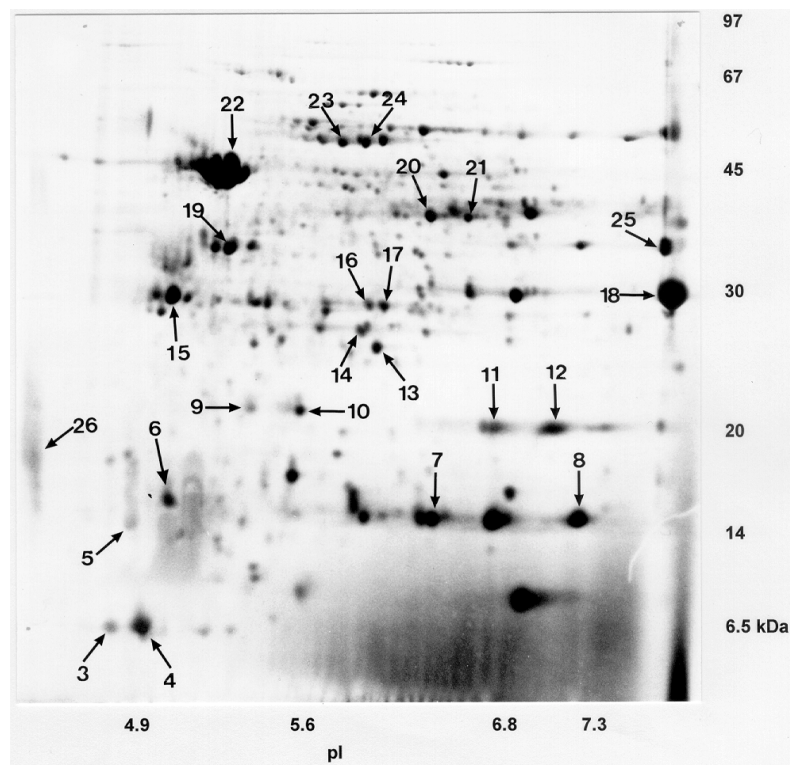


Abb. 4: Zwei-dimensionaler Immunoblot mit Seren von Latexallergikern aus dem Gesundheitswesen. Latex (*Hevea brasiliensis*) C-Serum Proteine (400 µg) wurden mittels IPG-Dalt aufgetrennt und auf eine PVDF-Membran transferiert. Charakterisierte und/oder identifizierte IgE-bindende Latexproteine sind durch Nummern gekennzeichnet (siehe Text) [5].

Hev b 2 (β -1,3-Glucanase) und Hev b 4

Hev b 2 (Spot 25) ist ein basisches 36 kDa Protein mit IgE-bindenden Eigenschaften und zeigt beim Primärsequenzvergleich hohe Übereinstimmung mit einer β -1,3-Glucanase aus Latex. Die IgE-Antikörper von sechs der insgesamt 29 untersuchten Latexallergiker reagierten im 1-D Immunoblot mit diesem Protein [15, 16]. β -1,3-Glucanasen gehören zu den sogenannten *Pathogenese-verwandten* (PR) Proteinen, die nachweislich wachstumshemmend gegenüber einer Vielzahl von Pilzen wirken [16]. β -1,3-Glucanasen verschiedener Pflanzenarten zeigen eine erhebliche immunologische Kreuzreaktivität, so daß Hev b 2 zu den potentiell kreuzreagierenden Allergenen gehört.

Im Gegensatz zu Hev b 2 ist Hev b 4 noch nicht umfassend charakterisiert. Hev b 4 ist ein saures Protein (pI 4,5) mit einem Molekulargewicht von 50-57 kDa [15]. Obwohl es spezifisch IgE von Latexallergikern bindet, ist seine Bedeutung als Allergen bzw. sein Kreuzreaktivitätsverhalten noch ungeklärt. Auf dem 2D-IgE-Blot konnte kein IgE-bindendes Protein mit den beschriebenen physiko-chemischen Eigenschaften detektiert werden.

Hev b 5

Hev b 5, ein saures (pI 3,5) 16 kDa Protein, wurde von zwei Arbeitsgruppen gleichzeitig entdeckt und umfassend charakterisiert. Gemäß Akasawa [17] sind ungefähr 50 % der erwachsenen Latexallergiker sensibilisiert, während Slater et al. [18] angibt, daß bei 92 % der Latexallergiker und 56 % der Spina-bifida-Patienten Hev b 5 spezifisches IgE nachweisbar ist. Die Primärstruktur von Hev b 5 ist vollständig bekannt und zeigt eine 46 %ige Übereinstimmung mit einem Fruchtprotein der Kiwi, genannt pKIWI501.

Hev b 5 konnte in den uns zur Verfügung stehenden Latexpräparationen nicht detektiert werden. Es existiert zwar ein 16 kDa Latexprotein (Spot 26); es zeigte aber keine IgE-bindenden Eigenschaften und die ermittelte N-terminale Teilsequenz hatte keine Übereinstimmung mit der bekannten Hev b 5 Sequenz. Da Hev b 5 eine signifikante Homologie zu einem Fruchtprotein der Kiwi aufweist, muß es zu den potentiell kreuzreagierenden Allergenen gezählt werden.

Hev b 7 („Latex-Patatin“) und weitere C-Serum-Allergene

Beezhold et al. [19] identifizierten ein 46 kDa Latexprotein (Spot 22), das im IgE-Immunoblot bei neun von 40 Latexpatienten positiv reagierte. Sie isolierten dieses Protein und identifizierten es als „Latex-Patatin“ [19]. Patatine sind Speicherproteine

der *Solanaceae* (Kartoffel, Tomate), die von einer „Multigenfamilie“ codiert werden. Weiterhin wird den Patatinen eine Rolle in der pflanzlichen Resistenzreaktion nachgesagt. Hev b 7 konnte eindeutig auf der Latex-2D-Karte lokalisiert werden und sein Einfluß als kreuzreagierendes Allergen im „Latex-Frucht-Syndrom“, insbesondere bei Kartoffel und Tomate, wurde deshalb in dieser Studie näher untersucht.

Das 29.5 kDa Hevamin (Spot 18), ein bifunktionelles Enzym mit Lysozym/Chitinase Aktivität, gehört zu den Pathogenese-verwandten Proteinen der Klasse 3 und wird nicht als wichtiges Latexallergen eingestuft. Gemäß Alenius et al. reagierte nur einer von 29 Latexallergikern im Immunoblot [20].

Triosephosphat-Isomerase (Spot 16, 19), Endochitinase der Klasse II (Spot 15), Malatdehydrogenase (Spot 20, 21), Enolase (Spot 23, 24) und Superoxid-Dismutase (Spot 13) wurden während der Studie als weitere IgE bindende Latexproteine identifiziert. Die Prävalenz der Sensibilisierung ist noch nicht genau erforscht; da es sich allerdings um ubiquitäre Pflanzenproteine handelt, sind sie als mögliche kreuzreagierende Kandidaten einzuordnen. Crameri et al. [21] konnten bereits den eindeutigen Nachweis führen, daß Enolasen und Mn-Superoxiddismutasen aus *Aspergillus fumigatus* bedeutende Allergene mit großer Sensibilisierungspotenz darstellen.

Die IgE-Bindungsfähigkeit der Klasse II-Latex-Chitinase, die im Gegensatz zu den Klasse I Chitinasen keine Hevein-Domäne am N-Terminus besitzt, wurden nach Separierung über eine Chitinsäule im IgE-Immunoblot untersucht (Abb. 5). Gleichzeitig mit der Klasse-II-Chitinase wurden Hevein und Prohevein isoliert. Es wurden die Seren von 14 Latexallergikern eingesetzt, aber die Reaktion auf die Chitinase war in 85 % sehr schwach bis grenzwertig ausgeprägt, so daß die Chitinasen der Klasse II ohne Hevein Domäne keine hohe Sensibilisierungspotenz aufweisen und nicht zu den bedeutenden Latexallergenen zu zählen sind. Das bedeutet weiterhin, daß Chitinasen der Klasse II für die Ausprägung der Kreuzreaktivität zwischen Latex und den genannten Nahrungsmitteln sehr wahrscheinlich nur eine untergeordnete Rolle zukommt.

Die ursprünglich geplante Strategie der Identifizierung von Proteinen unter Zuhilfenahme von monoklonalen Antikörpern erwies sich als wenig praktikabel, da nach Immunisierung von Mäusen mit einem Latexgesamtextrakt nur spezifische monoklonale Antikörper gegen Hev b 1, ein für die Kreuzreaktivität zwischen den Früchten und Latex nicht relevantes Allergen, entstanden. Erst nach gezielter Immunisierung der Mäuse mit dem Hevein konnten auch Hevein-spezifische Antikörper gewonnen werden. Diese wurden z.T. im Immunoblot eingesetzt.

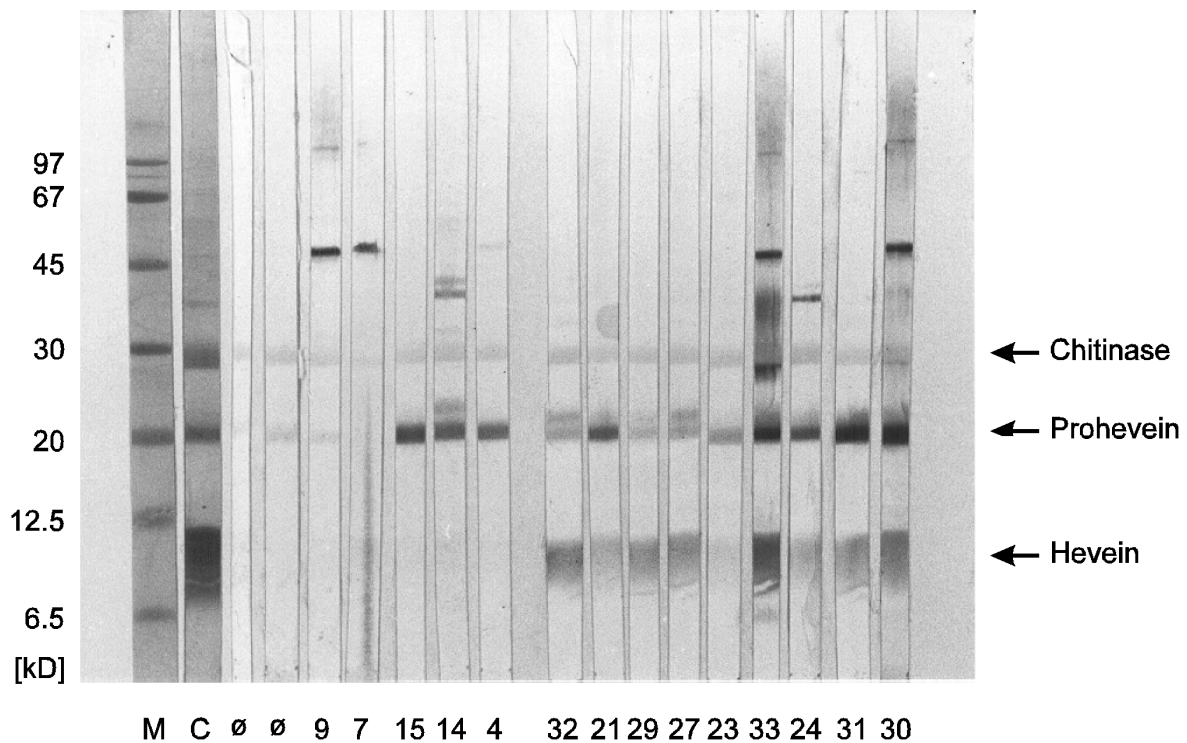


Abb. 5: IgE-Immunoblot zur Bestimmung der IgE-Bindungsfähigkeit der Klasse II-Latex-Chitinase nach Separierung über eine Chitinsäule

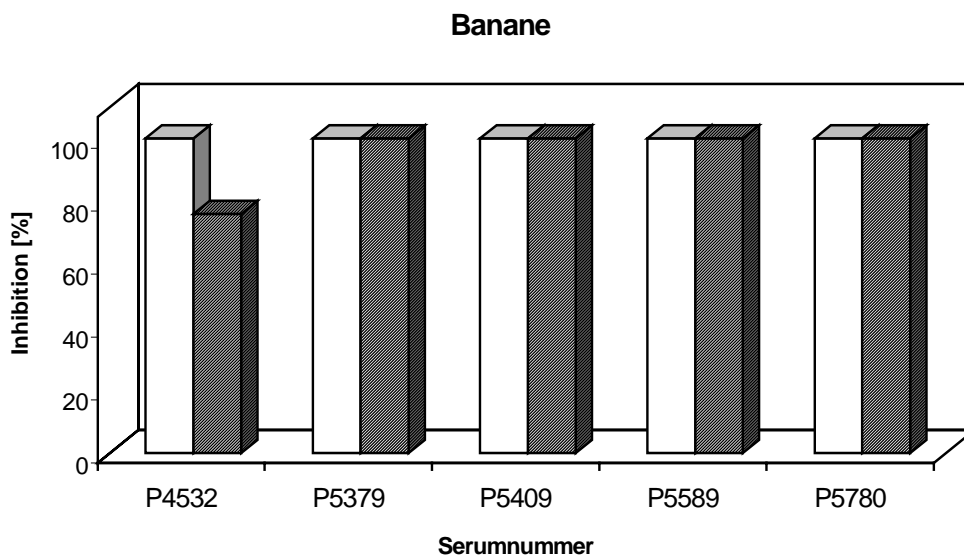
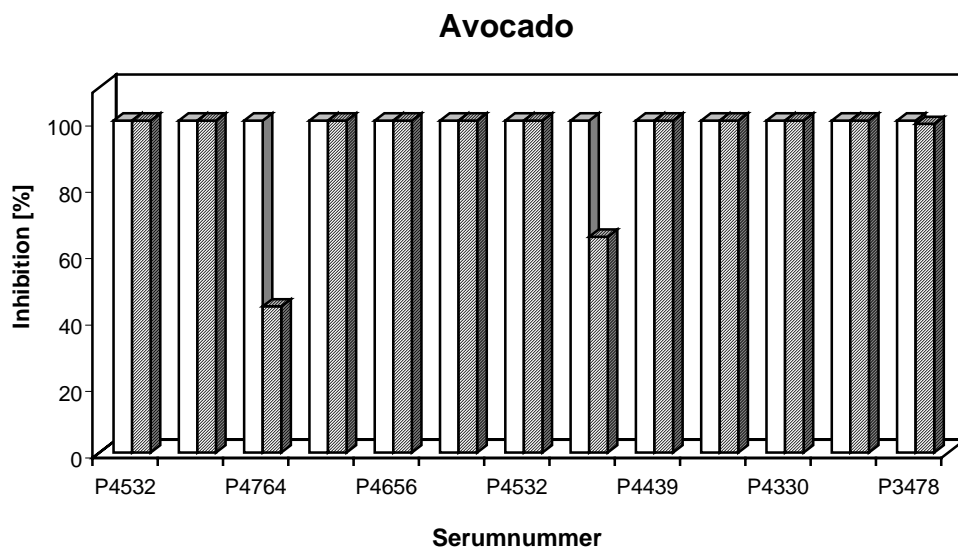
2.3.3 Charakterisierung der IgE-bindenden Nahrungsmittelallergene mittels SDS-PAGE und Immunoblotting

Um einen ersten Anhaltspunkt über die Anzahl und die Molekulargewichte der IgE-bindenden Nahrungsmittelproteine zu erhalten, wurden die Proteine der Kartoffel, Avocado, Tomate, Kiwi, Paprika und Eßkastanie mit SDS-PAGE aufgetrennt und nach dem Transfer auf eine immobilisierende Membran mit einem Poolserum von Latex-assoziierten Nahrungsmittelallergikern inkubiert. Als Kontrollen dienten Seren von Atopikern ohne nachgewiesener Latex- bzw. Nahrungsmittelsensibilisierung und asymptomatischen Personen bezüglich Latex, Nahrungsmittel und Pollen. Alle Nahrungsmittel zeigten nach Coomassie Brilliant Blau Färbung ein sehr komplexes Proteinmuster. Für Banane und Kiwi zeigten sich im IgE-Blot zwei dominante Banden von ca. 33 und 27 kDa. Die IgE-bindenden Avocadoproteine sind im Molekulargewichtsbereich von 30 bis 90 kDa zu finden. Eßkastanie, Tomate und Paprika weisen multiple IgE-bindende Proteine zwischen 20 und 100 kDa auf. Die Blots mit den Kontrollseren zeigten eine leichte Hintergrundfärbung, die aber deutlich schwächer als die spezifischen Reaktionen mit den Seren der symptomatischen Personen ausfiel.

2.3.4 Kreuzreaktivität zwischen löslichen Latexproteinen bzw. Hevein und Nahrungsmittelallergenen

Um die Kreuzreaktivität zwischen Latex C-Serum-Proteinen bzw. Hevein und den Nahrungsmittelallergenen zu bestimmen, wurden die Seren von Latexallergikern mit Nahrungsmittelsensibilisierung mit den entsprechenden Latexproteinlösungen inkubiert und anschließend das Nahrungsmittel-spezifische IgE im CAP-System gemessen. Die Ergebnisse sind in Abb. 6 (a+b) zusammengefaßt.

Die Inhibitionsversuche zeigten deutlich eine Kreuzreaktivität zwischen Latex C-Serum- und Nahrungsmittelproteinen. Besonders ausgeprägt war diese Kreuzreaktivität zwischen Latex und Avocado bzw. Banane (Abb. 6a). In nahezu allen Fällen konnte eine vollständige Inhibition der Nahrungsmittel-spezifischen IgE-Antikörper erreicht werden. Bei Tomate, Kartoffel und Paprika (Abb. 6b) war die Inhibition etwas schwächer ausgeprägt, bzw. bei einigen Patienten konnte keine signifikante Inhibition von mehr als 25 % erreicht werden. Vermutlich wurde die Nahrungsmittelsensibilisierung bei diesen Patienten nicht durch Latex sondern durch Pollen vermittelt oder es spielen zusätzlich spezifische Nahrungsmittelallergene eine Rolle. Aus diesen Daten wird weiterhin ersichtlich, daß das Latexhauptallergen Hevein eine zentrale Rolle beim „Latex-Frucht-Syndrom“ spielt. Im Falle von Avocado bzw. Banane konnten mit Hevein elf von 13 (85 %) bzw. vier von fünf (80 %) der Patientenserum zwischen 80 und 100 % inhibiert werden. Für Paprika, Kartoffel, Kiwi und Tomate war dieser Zusammenhang weniger ausgeprägt, dieses Prinzip war trotzdem für ca. 20-40 % der Patienten gültig.



Latex-C-Serum
 Hevein

Abb. 6a: Inhibition von Avocado- bzw. Bananen-spezifischem IgE durch Latex-C-Serum und Hevein

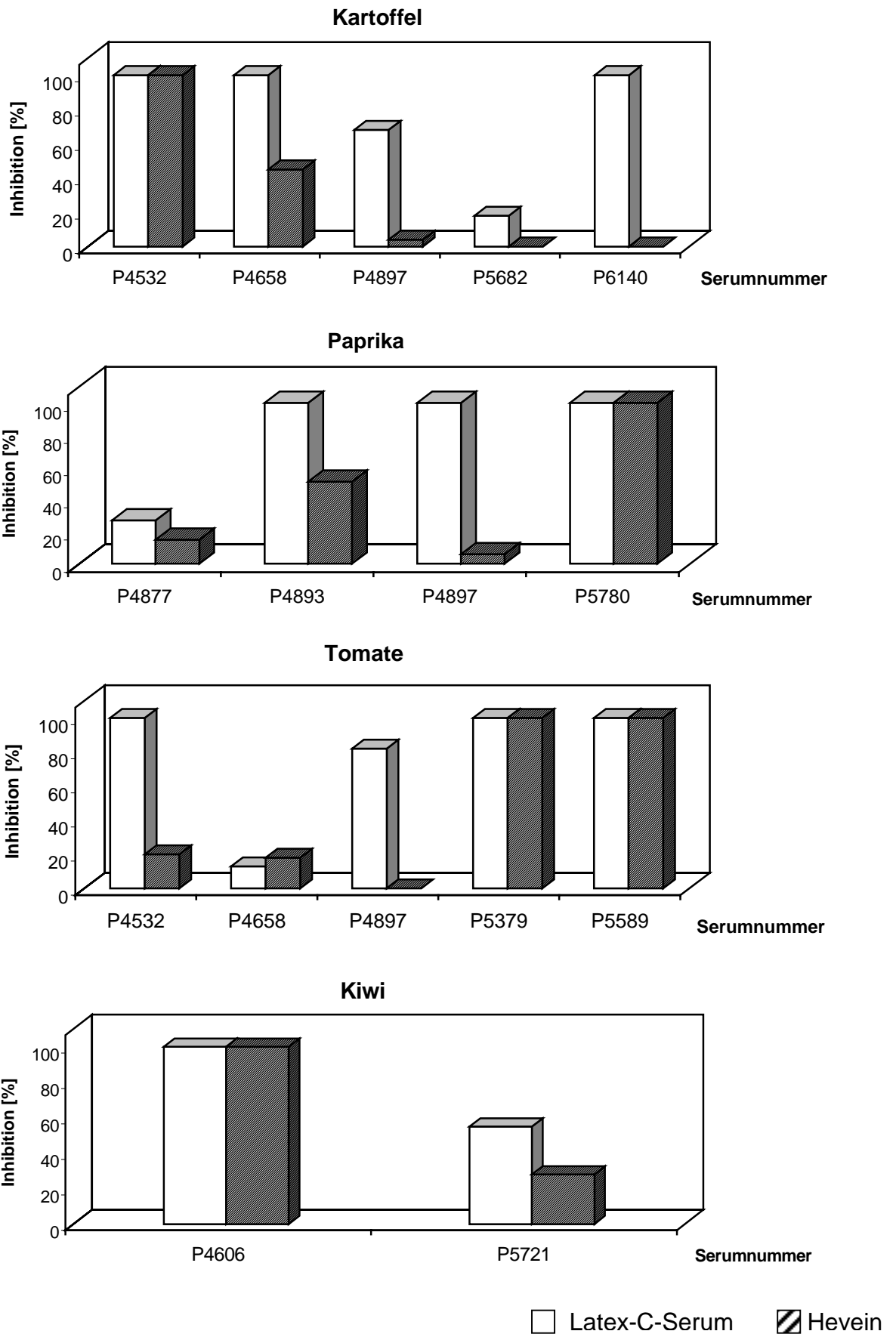


Abb. 6b: Inhibition von Kartoffel-, Paprika-, Tomaten- bzw. Kiwi-spezifischem IgE durch Latex-C-Serumproteinen und Hevein

2.3.5 Identifizierung der kreuzreagierenden Proteine aus Avocado [7]

Die bisherigen Ergebnisse zeigten, daß Avocado-spezifische IgE-Antikörper durch Hevein in der Mehrzahl der Fälle vollständig inhibiert werden konnten. Hevein mit seinen Chitin-bindenden Eigenschaften war somit als ein bedeutendes kreuzreagierendes Latexallergen hinsichtlich einer Avocado-Sensibilisierung einzustufen. Affinitätschromatographisch isolierte Chitin-bindende Proteine aus Avocado (CBPA) wurden elektrophoretisch mit SDS-Page aufgetrennt und deren IgE-Reaktivität im Immunoblot mit Seren von Avocado-sensibilisierten Latexallergikern untersucht. Die CBPAs bestehen aus einer 31 kD Hauptkomponente und mehreren schwachen Proteinbanden mit Molekulargewichten von ca. 50-100 kD. 15 Seren von Latexallergikern mit nachgewiesener Avocado-Sensibilisierung wurden für die Immunoblot-Experimente eingesetzt (Abb. 7).

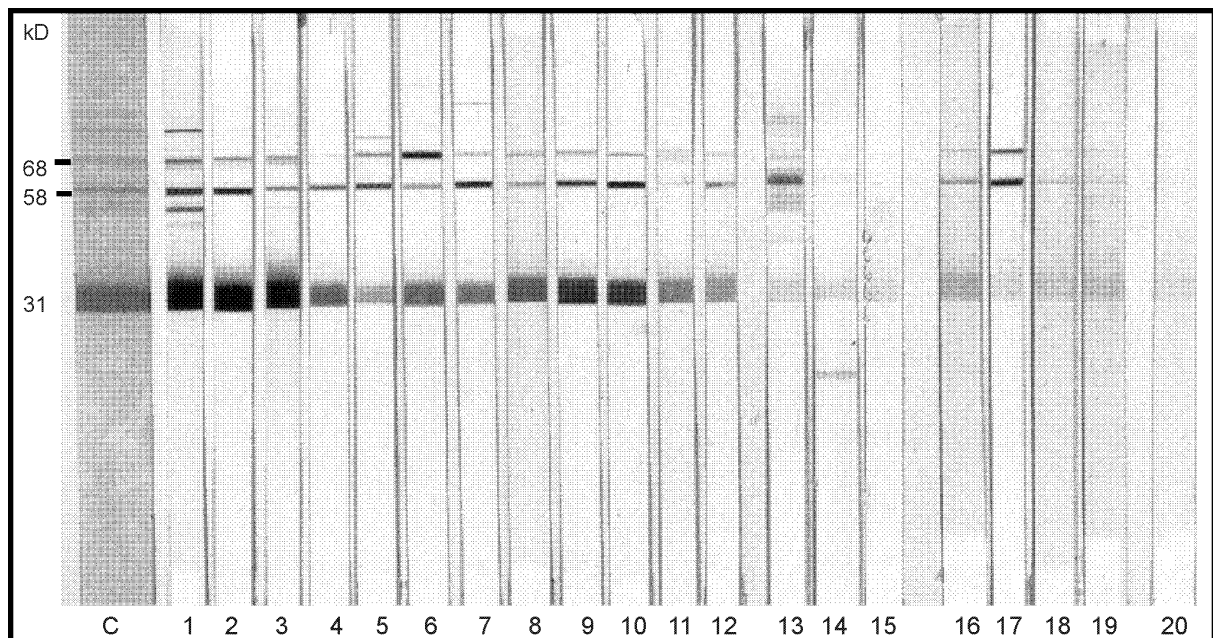


Abb. 7: IgE-Immunoblot des Chitin-bindenden Avocado-Proteins (CBPA) mit Seren von Latexallergikern (1-20). Die Streifen 1-15 zeigen Reaktionen von Patienten mit zusätzlicher Avocado-Sensibilisierung. Streifen C ist eine Coomassiefärbung des CBPAs, der auch als Proteinsequenzierung verwendet wurde [22].

Die sowohl Hevein- als auch Avocado-positiven Latexpatienten (1-12) zeigten eine starke Reaktion mit der 31 kD-Bande des Avocadoproteins. Diese Reaktion wurde begleitet von einer starken Reaktion auf zwei Proteine mit einem Molekulargewicht zwischen 58 und 68 kD. Die drei Seren (13-15) der Hevein-negativen aber Avocado-positiven Patienten zeigten eine unterschiedliche Reaktivität, d.h. sie reagierten auf das 31 kD-Protein deutlich schwächer. Ein deutlich anderes Muster ergab sich für die

Hevein-positiven aber Avocado-negativen Patienten (16-19), die nur eine sehr schwache Reaktion auf das 31 kD-Protein zeigten, aber eine deutlich sichtbare Reaktion auf das 58 und 68 kD-Protein. Patient 20 (Hevein- und Avocado-negativ) diente als Negativkontrolle für eine unspezifische Reaktion. Neun Seren dieser Avocado-positiven Patienten (Abb. 8) wurden ausgewählt und es zeigte sich nach Inkubation dieser Seren mit Hevein, daß die Avocado-spezifische IgE-Bindung in fünf Fällen komplett inhibiert wurde. D.h. es besteht somit eine starke Kreuzreaktivität zwischen Avocado CBPA, insbesondere der 31 kD Hauptkomponente, und dem Hevein.

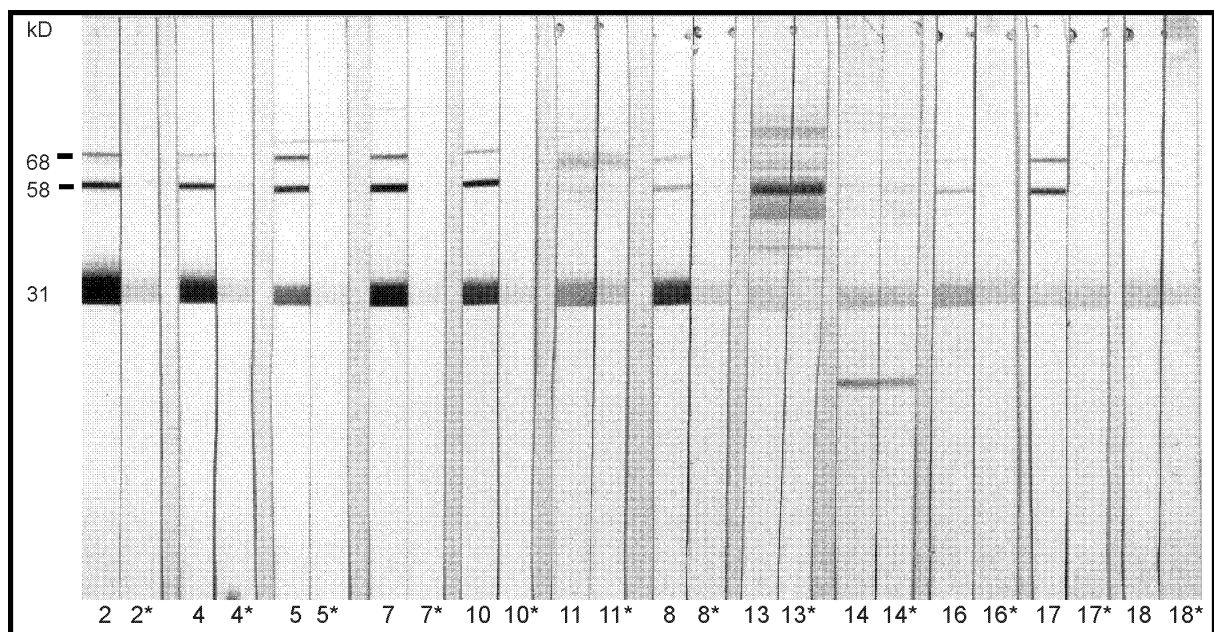


Abb. 8: IgE-Immunoblot des CBPA mit (*) und ohne Inkubation der zwölf Seren mit Hevein (Immunoblot mit Hevein-Inhibition) [20].

N-terminale Sequenzanalyse der CBPAs

Coomassie gefärbte PVDF-Membranen mit geblotteten CBPAs wurden für die N-terminale Sequenzanalyse vorbereitet. Während für das 31 kD Allergen Sequenzinformationen ermittelt werden konnten, waren die 58 und 68 kD Allergene N-terminal blockiert. Das 31 kD Hauptallergen der CBPAs wurde als Endochitinase Typ I, die eine Hevein-Domäne am N-Terminus besitzen, identifiziert (Abb. 9).

31 kDa Allergen:	1	EQCGRQAGGALCPGG 15 EQCGRQAGGALCPGG
Endochitinase (31,9 kD) Persea americana	1	EQCGRQAGGALCPGG 15 EQCGRQAGG LCP
Hevein (4,7 kD) Hevea brasiliensis	1	EQCGRQAGGKLCPPN 15

Abb. 9: Proteinsequenzvergleich zwischen dem 31 kD-Protein, der Endochitinase (31,9 kD) und Hevein aus dem Latexbaum

Der Proteinsequenzvergleich zwischen der Avocado-Chitinase und dem 31 kD Allergen bzw. Hevein über die ersten 15 Aminosäuren ergab eine Identität von 100 % (15/15) bzw. 80 % (12/15) (Genbank-Azessionsnummer: Z78202).

2D-Elektrophorese von Avocado und IgE-Immunoblotting

Die Avocadoproteine wurden in einem IPG-Gradienten von 4-8 aufgetrennt und silbergefärbt. Die Avocadofruchtproteine zeigten ein sehr komplexes 2D-Muster mit über 400 Proteinspots.

Zur Lokalisierung der IgE-bindenden Proteine wurden präparative 2D-Gele auf PVDF-Membranen geblottet und mit einem Poolserum von Avocado-sensibilisierten Latexallergikern inkubiert. Ca. 50 Proteine im Molekulargewichtsbereich von 30-90 kD zeigten IgE-Reaktivität. Diese Reaktion ließ sich jeweils durch Vorinkubation des Poolserums mit löslichen Latexproteinen hemmen. Mit 13 IgE-bindenden Proteinen wurde eine N-terminale Sequenzanalyse durchgeführt. Bisher erhielten wir für ein Allergen Sequenzinformationen. Es handelte sich bei diesem Spot (MW 51 kD, pI 5,3) um eine Endo-Glucanase (Endo-1,4-beta-glucanase; AC P05522). Die kreuzreagierenden Eigenschaften dieses Proteins sind noch nicht bekannt, aber Endoglucanasen (1,3) gehören zu den identifizierten Latexallergenen.

2.3.6 Identifizierung der kreuzreagierenden Allergene aus Kartoffel [23]

Etwa 19 % der gegenüber Latex sensibilisierten Personen hatten IgE-Antikörper, die gegen Kartoffelproteine gerichtet waren. Kreuzreagierende Strukturen aus der Kartoffel wies das Speicherprotein Patatin auf. Ein homologes Protein im Latex (Hev b 7) besitzt daher eine besondere Bedeutung für die Kreuzreaktivität. Dieses Glycoprotein machte etwa 25-40 % des Gesamtproteins der Kartoffel aus und kam in 10-15 verschiedenen Isoformen vor. Mittels 2D-Elektrophorese und anschließender Silberfärbung konnten etwa 300 verschiedene Kartoffelproteine identifiziert werden. Durch ein

IgE-Immunoblot mit Seren von latexsensibilisierten Personen wurde nachgewiesen, daß etwa 30 dieser Proteine IgE-bindende Eigenschaften besitzen. Mittels N-terminaler Sequenzierung wurden 15 davon als Patatine bestimmt. Außerdem konnte die IgE-Bindungsfähigkeit einer Glycerinaldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase, einer Formyl-Dehydrogenase und zweier unbekannter Proteine nachgewiesen werden. Im Rahmen dieser Untersuchungen wurden zwei Methoden entwickelt, um Patatin aus einem Proteinextrakt von Kartoffeln zu isolieren. Mit Hilfe der präparativen SDS-PAGE können etwa 10 % der theoretischen Ausbeute an denaturiertem Protein gewonnen werden. Natives Patatin konnte durch eine Kombination von Concanavalin A-Affinitäts-, Anionenaustausch- und Gelfiltrations-Chromatographie isoliert werden. Hier wurde eine Ausbeute von 13 % der theoretischen Maximalausbeute erreicht. Das so isolierte Protein wurde zum Nachweis Patatin-spezifischer IgE-Antikörper in Seren von Latexallergikern verwendet.

In einem Kollektiv von 20 erwachsenen Latexallergikern mit einer Sensibilisierung gegenüber Kartoffeln konnte gezeigt werden, daß 70 % dieser Personen Patatin-spezifisches IgE besitzen. Außerdem sind in 20 % der Seren dieses Kollektivs IgE-Antikörper vorhanden, die gegen das zu Patatin homologe Protein Hev b 7 aus Latex gerichtet sind und deren Reaktivität durch das aus Kartoffeln isolierte Protein inhibiert werden konnte. Damit sind gemeinsame Epitope in Hev b 7 und Patatin eine der Hauptursachen für die Sensibilisierung von Latexallergikern gegenüber Kartoffeln.

Ähnliche Untersuchungen in einem Kollektiv von 13 Kindern mit atopischer Dermatitis und einer Sensibilisierung gegenüber Latex und/oder Kartoffel zeigten, daß 75-80 % der Kinder Patatin-spezifisches IgE besitzen. Damit gehört das Protein auch bei dieser Patientengruppe zu den Hauptallergenen.

Abschließend wurde durch eine *in vitro* Verdauung mit Enzynorm Forte (also unter ähnlichen Bedingungen wie im menschlichen Magen) nachgewiesen, daß Patatin den Magen passieren kann, ohne dabei seine IgE-bindenden Eigenschaften zu verlieren. Damit konnte nachgewiesen werden, daß es sich bei Patatin um ein potentielles Lebensmittelallergen handelt.

2.3.7 Identifizierung der kreuzreagierenden Proteine der Banane

Wie aus den Inhibitionsversuchen von Bananen-spezifischen IgE's mit Hevein abgeleitet werden kann, wird die Bananen-Überempfindlichkeit bei Latex-Allergikern hauptsächlich durch Hevein bzw. Endochitinase vermittelt. Um diese Hypothese zu prüfen, wurden die Bananenproteine mittels 2D-Elektrophorese aufgetrennt und ein

IgE-Immunoblotting durchgeführt. Von ca. 30 IgE-bindenden Proteinen zeigten fünf Proteinspots eine sehr intensive Färbung. Der intensivste IgE-bindende Proteinspot konnte auf den Coomassie Brilliant Blau gefärbten Blots lokalisiert und ansequenziert werden. Die ermittelte N-terminale Sequenz zeigte eine eindeutige Homologie mit Endochitinase der Klasse I mit einer Hevein-Domäne am N-terminalen Ende. Für die Endochitinase aus Banane liegt zur Zeit noch kein Datenbankeintrag für die Gesamtsequenz vor.

3. Zusammenfassung

Am Ende unserer zweijährigen Untersuchungen können wir Folgendes feststellen:

1. Unter den 232 erwachsenen Probanden, die in die Studie aufgenommen wurden, gab es in der Gruppe der beruflich latexexponierten Personen (n=117) 60 Personen mit einer eindeutigen Sensibilisierung gegenüber Naturlatex (Prävalenz einer Naturlatexallergie liegt bei 51 %). Dem gegenüber konnten wir unter den 115 beruflich nicht latexexponierten Probanden eine Prävalenz von 7,8 % bezüglich einer Latexsensibilisierung nachweisen.
2. Zur Ermittlung der Nahrungsmittelsensibilisierung wurden Hautteste mit selbst hergestellten Nahrungsmittlextrakten aus den frischen Früchten und Gemüsen (Avocado, Kartoffel, Banane, Eßkastanie, Tomate, Kiwi und Paprika) vorgenommen. Die Prävalenz einer Latex-assoziierten Nahrungsmittelsensibilisierung wurde unter den 69 erwachsenen Latexallergikern und den 163 Kontrollpersonen untersucht. Die Zahl der positiven Hautteste gegenüber den Nahrungsmitteln lag im sensibilisierten Latexkollektiv bei 25,5 % und war damit deutlich höher als im Kontrollkollektiv (4,6 %). Die häufigsten Sensibilisierungen waren gegenüber Avocado (39,1 %) und Eßkastanie (38,8 %) zu verzeichnen. Geringer war die Sensibilisierungshäufigkeit gegenüber Banane (32,2 %), Paprika (29 %), Kiwi (21,7 %), Tomate (11,6 %) und Kartoffel (8,8 %) [2].
3. Eine Differenzierung des Kollektivs in Atopiker und Nicht-Atopiker ergab keinen signifikanten Unterschied hinsichtlich der Sensibilisierungshäufigkeit gegenüber den o.g. Nahrungsmitteln. Dieses deutet darauf hin, daß der Atopiestatus nicht für das gehäufte Auftreten einer Sensibilisierung gegenüber den Nahrungsmitteln ursächlich verantwortlich war. Ein Vergleich mit dem Kontrollkollektiv zeigte hingegen deutliche Unterschiede bezüglich einer Sensibilisierung gegenüber Avocado, Eßkastanie, Banane, Paprika und Kiwi. Keine Unterschiede in den

Sensibilisierungshäufigkeiten waren hingegen für Tomate und Kartoffel zwischen den beiden Kollektiven zu verzeichnen. Insbesondere für die Kartoffel ergab die Auswertung von Standard-Hauttesten Hinweise darauf, daß eine Sensibilisierung gegenüber Latex und/oder Kartoffel mit einem positiven Hauttest gegenüber Birke, Erle und Hasel assoziiert war [3].

4. Zur Prüfung der klinischen Relevanz anamnestisch beschriebener Reaktionen nach Genuß bestimmter Nahrungsmittel bzw. der in Hauttesten und mittels spezifischer IgE-Bestimmungen beobachteten Sensibilisierung führten wir Doppel-blind Placebo-kontrollierte Nahrungsmittelprovokationen durch. Insgesamt zeigte sich für das Erwachsenenkollektiv trotz der geringen Bereitschaft der Probanden, an diesen Provokationen teilzunehmen, ein klarer Zusammenhang zwischen positiven DBPCFC-Befunden und der Bestimmung der Nahrungsmittel-spezifischen IgE-Antikörper.
5. Eine Übereinstimmung von 91 % zwischen Hauttesten und serologischem IgE-Nachweis mittels CAP-System ergab sich hinsichtlich einer Latexsensibilisierung, während bei den Nahrungsmitteln die Übereinstimmung zwischen den Hauttestbefunden und den serologischen Bestimmungen je nach Nahrungsmittel zwischen 65 und 22 % lag.
6. Sensibilisierungen gegenüber Latex und Latex-assoziierten Nahrungsmitteln wurden in einem Kinderkollektiv, bestehend aus 74 Patienten mit atopischer Dermatitis, untersucht. Hier ließen sich bei zwölf Kindern mittels CAP-System eine Sensibilisierung gegenüber Latex nachweisen (16,2 %). Diese Kinder hatten ein signifikant höheres Gesamt-IgE als die Kinder ohne Latexsensibilisierung. Ebenso war das Alter der Kinder mit Latex-spezifischem IgE deutlich höher als das Alter der nicht latexsensibilisierten Kinder. Zusätzlich traten gehäuft positive Hautreaktionen gegenüber ubiquitären Inhalationsallergenen in der latexsensibilisierten Gruppe auf [4].
7. 70 % der durchgeführten spezifischen IgE-Bestimmungen gegenüber den Latex-assoziierten Nahrungsmitteln waren im Kinderkollektiv mit spezifischem IgE gegenüber Latex positiv. Demgegenüber konnte im Kontrollkollektiv (n=62) nur in 6,7 % der Fälle ein positiver CAP-Befund festgestellt werden. Signifikante Unterschiede zwischen den beiden Kollektiven ergaben sich für Tomate, Avocado und Paprika. Weniger stark ausgeprägt waren diese für Eßkastanie, Kartoffel und am schwächsten für Kiwi. Eine Sensibilisierung gegenüber Avocado konnte im Latex-negativen Kinderkollektiv nicht nachgewiesen werden. Ebenso konnte kein iso-

liertes Latex-spezifisches IgE ohne IgE-Antikörper gegen weitere Früchte im latexsensibilisierten Kollektiv festgestellt werden. Alle Patienten mit Latex-spezifischem IgE zeigten zusätzlich wenigstens gegenüber zwei in neun Patienten sogar gegenüber fünf der sieben ausgetesteten Nahrungsmitteln eine positive IgE-Reaktion.

8. Doppel-blind Placebo-kontrollierte Nahrungsmittelprovokationen im Kinderkollektiv konnten, ebenso wie im Erwachsenenkollektiv, positive serologische Ergebnisse bestätigen.
9. Zur weiteren Abklärung des Zusammenhangs zwischen Latex- und Nahrungsmittel-spezifischem IgE wurden CAP-Inhibitionstests mit Latex als Inhibitor durchgeführt. Neben dem Befund, daß Avocado-spezifisches IgE nur in den Seren der Kinder mit Latex-spezifischem IgE gefunden wurden, wies auch der hohe Grad der Inhibition zwischen Latex und Avocado (79,5%) darauf hin, daß insbesondere Avocadoproteine und einige Latexproteine gleiche IgE-bindende Epitope besitzen. Für die anderen Nahrungsmittel liegt, verglichen mit den Latexproteinen, eine höhere Diversität vor. Insbesondere die Inhibitionsexperimente von Kiwi mit Latex zeigten kaum gemeinsame Epitope, so daß die Sensibilisierung von Kiwi und Latex in den von uns betrachteten Fällen weitgehend unabhängig zu sein scheint. Darüber hinaus ergaben sich für die anderen Nahrungsmittel individuelle Unterschiede hinsichtlich ihrer Ausprägung an Kreuzreaktivität zum Latex, so daß es Latex-abhängige und –unabhängige Wege der Nahrungsmittelsensibilisierung gibt (deutlich wurde dieses insbesondere für die Kartoffel).
10. Für die Identifizierung und Charakterisierung der Nahrungsmittelallergene des „Latex-Frucht-Syndroms“ wurden im wesentlichen zwei Strategien verfolgt. Zum einen wurde durch die Etablierung einer Latex-Allergendatenbank mittels 2D-Gelelektrophorese, Immunoblotting und Proteinsequenzierung das Wissen über die IgE-bindenden Latexproteine im Hinblick auf die bekannte Literatur deutlich erweitert. Zum anderen erfolgte parallel die zweidimensionale Auftrennung der Proteine der wichtigsten mit Latex kreuzreagierenden Nahrungsmittel (Avocado, Banane und Kartoffel) sowie die Lokalisierung der IgE-bindenden Proteine durch Inkubation mit den entsprechenden Patientenseren. Durch Proteinsequenzierung wurde anschließend versucht, die Identität der Nahrungsmittelallergene zu entschlüsseln, Homologien zu den bekannten Latexallergenen nachzuweisen und ihre Bedeutung in den Latex-assoziierten Nahrungsmittelallergien abzuschätzen [5, 6].

11. Um einen ersten Anhaltspunkt für die Anzahl und die Molekulargewichte der IgE-bindenden Nahrungsmittelproteine zu erhalten, erfolgte eine Charakterisierung mittels SDS-Page und Immunoblotting der wichtigsten Nahrungsmittel wie Kartoffel, Avocado, Tomate, Kiwi, Paprika und Eßkastanie. Alle Nahrungsmittel zeigten nach Comassie Brilliant-Blaufärbung ein sehr komplexes Proteinmuster. Für Banane und Kiwi zeigten sich im IgE-Blot zwei dominante Banden von ca. 33 und 37 kD, für Avocado im Molekulargewichtsbereich von 30 bis 90 kD. Eßkastanie, Tomate und Paprika wiesen multiple IgE-bindende Proteine zwischen 20 und 100 kD auf.
12. Kreuzreaktivitäten zwischen Hevein und Nahrungsmitteln wurden mit Hilfe von Inhibitionsexperimenten untersucht. Die Daten zeigten deutlich, daß das Latexhauptallergen Hevein eine zentrale Rolle beim „Latex-Frucht-Syndrom“, insbesondere bei der Avocado bzw. Banane spielt. So ließen sich durch Hevein 85 % bzw. 80 % der Patienten mit Avocado- bzw. Bananen-IgE-Antikörper vollständig inhibieren. Für Paprika, Kartoffel, Kiwi und Tomate war dieser Zusammenhang weniger deutlich.
13. Hevein mit seinen Chitin-bindenden Eigenschaften konnte als kreuzreagierendes Latexallergen hinsichtlich einer Avocadosensibilisierung eingestuft werden. Affinitäts-chromatographisch konnte ein Chitin-bindendes Protein aus Avocado (CBPA) isoliert und hinsichtlich seiner IgE-Reaktivität im Immunoblot mit Serum von Avocadosensibilisierten untersucht werden. Durch Inhibitionsexperimente mit Hevein zeigte sich, daß eine starke Kreuzreaktivität zwischen Avocado-CBPA (insbesondere der 31 kD-Hauptkomponente) und dem Hevein bestehen. Das 31 kD-Hauptallergen der CBPAs konnte mittels N-terminaler Sequenzanalyse als Endochitinase Typ I, die eine Hevein-Domäne am N-Terminus besitzen, identifiziert werden. Die weiteren Allergene im Bereich 58 und 68 kD waren N-terminal blockiert [7, 22].
14. Klasse II-Latex-Chitinasen, die im Gegensatz zu den Klasse I Chitinasen keine Hevein-Domäne am N-Terminus besitzen, wiesen keine Sensibilisierungspotenz auf und zählen damit nicht zu den bedeutenden Latexallergenen. Sie spielen daher für Ausprägung der Kreuzreaktivität zwischen Latex und den genannten Nahrungsmitteln sehr wahrscheinlich nur eine untergeordnete Rolle.
15. Mittels 2D-Gelelektrophorese und anschließendem Immunoblotting einer Avocadoprotein-Präparation konnten weitere Avocado-IgE-bindende Proteine

identifiziert werden. Es handelt sich dabei um eine Endo-1,4- β -Glucanase, deren kreuzreagierenden Eigenschaften noch nicht bekannt sind.

16. Die Identifizierung der kreuzreagierenden Proteine der Banane gab bisher Hinweise darauf, daß auch hier eine Endochitinase der Klasse I mit einer Hevein-Domäne ein IgE-bindendes Protein darstellt, wobei eine genauere Charakterisierung noch aussteht.
17. Als wichtigstes kreuzreagierendes Allergen aus der Kartoffel konnte Patatin isoliert werden. Durch Inhibitionsexperimente mit isoliertem Kartoffelpatatin konnten gemeinsame Epitope mit dem Hev b 7 aus Latex identifiziert werden, so daß es Hinweise dafür gibt, daß gemeinsame Epitope des Hev b 7 und Patatin eine der Hauptursachen für die Sensibilisierung von Latexallergikern gegenüber Kartoffeln darstellen. Dieses ließ sich sowohl unter den Kindern mit atopischer Dermatitis als auch unter den erwachsenen Latexallergikern nachweisen. Durch die Stabilität des Patatins gegenüber einem in vitro-Verdau konnte gezeigt werden, daß die IgE-bindenden Eigenschaften durch diese Behandlung nicht verloren gehen und damit Patatin ein potentiellcs Lebensmittelallergen darstellt [23].

Literatur:

1. Baur X, Chen Z, Allmers H, Beckmann U, Walther JW: Relevance of latex aeroallergen for health care workers. *Allergology Int* 1996; 10, 105-111
2. Posch A, Tücke J, Riedel F, Chen Z, Papenfuß F, Baur X, Raulf-Heimsoth M: Immunological food sensitization in latex allergic patients investigated by skin prick testing. *Allergy* 1997; 52, 117
3. Raulf-Heimsoth M, Posch A, Tücke J, Riedel F, Baur X: Latex Typ I-Allergie: Risikoevaluierung unter besonderer Berücksichtigung der kreuzreagierenden Proteine in Nahrungsmitteln. Zwischenbericht 1998, <http://bwplus.fzk.de>
4. Tücke J, Posch A, Baur X, Rieger C, Raulf-Heimsoth M: Latex type I sensitization and allergy in children with atopic diseases. Evaluation of the risk with particular regard to the cross-reactivity to some foods. *Pediatric Allergy and Immunology* 1998, submitted
5. Posch A, Chen Z, Wheeler C, Dunn MJ, Raulf-Heimsoth M, Baur X: Characterization and identification of latex allergens by two-dimensional electrophoresis and protein microsequencing. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 99, 385-395
6. Posch A, Chen Z, Raulf-Heimsoth M, Baur X: Latexallergene: Übersicht zum gegenwärtigen Kenntnisstand. *Pneumologie* 1997; 51, 1058-1062
7. Posch A, Wheeler CH, Chen Z, Flagge A, Dunn MJ, Raulf-Heimsoth M, Baur X: Class I endochitinase containing a hevein domain is the causative allergen in latex associated avocado allergy. *Clin Exp Allergy* 1998, in press
8. Dennis M, Light D: Rubber elongation factor from *Hevea brasiliensis*. *J Biol Chem* 1989; 264: 18608-18617
9. Czuppon AB, Chen Z, Rennert S, Engelke T, Meyer HE, Heber M, Baur X: The rubber elongation factor of rubber trees (*Hevea brasiliensis*) is the major allergen in latex. *J Allergy Clin Immunol* 1993; 92: 690-697
10. Chen Z, Posch A, Raulf-Heimsoth M, Rihs HP, Baur X: Purification and characterization of Rubber Elongation Factor from *Hevea brasiliensis* (Hev b 1) that acts as a major allergen in latex allergic patients with spina bifida. *Allergy* 1997; 52: 79
11. Yeang HY, Cheong KF, Sunderasan E, Hamzah S, Chew NP, Hamid S, Hamilton RG, Cardoso MJ: The 14.6 kd rubber elongation factor (Hev b 1) and 24 kd (Hev b 3) rubber particle proteins are recognized by IgE from patients with spina bifida and latex allergy. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 98: 628-639
12. Gidrol X, Chrestin H, Tan HL, Kush A: Hevein, a lectin-like protein from *Hevea brasiliensis* (rubber tree) is involved in the coagulation of latex. *J Biol Chem* 1994; 269: 9278-9283
13. Alenius H, Kalkkinen N, Lukka M, Reunala T, Turjanmaa K, Mäkinen-Kiljunen S, Yip E, Palosuo T: Prohevein from rubber tree (*Hevea brasiliensis*) is a major latex allergen. *Clin Exp Allergy* 1995; 24: 659-665
14. Chen Z, Posch A, Raulf-Heimsoth M, Baur X: Isolation and identification of Hevein as a major IgE-binding polypeptide in latex from *Hevea brasiliensis*. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 97: 428

15. Sunderasan E, Samsidar H, Sharifah H, Ward MA, Yeang HY, Cardoso MJ: Latex B-serum β -1,3-glucanase (Hev b II) and a component of the microhelix (Hev b IV) are major latex allergens. *J Nat Rubb Res* 1995; 10: 82-99
16. Subroto T, van Koningsveld GA, Schreuder HA, Soedjanaatmadja UMS, Beintema JJ: Chitinase and β -1,3-glucanase in the lutoid-body fraction of *Hevea* latex. *Phytochemistry* 1996; 43: 29-37
17. Akasawa A, Hsieh LS, Martin BM, Liu T, Lin Y: A novel acidic allergen, Hev b 5, in latex. *J Biol Chem* 1996; 271: 25389-25393
18. Slater JE, Vedvick T, Arthur-Smith A, Trybul DE, Kekwick RGO: Identification, cloning, and sequence of a major allergen (Hev b 5) from natural rubber latex (*Hevea brasiliensis*). *J Biol Chem* 1996; 271: 25394-25399
19. Beezhold DH, Sussman GL, Kostyal DA, Chang N: Identification of a 46-kD latex protein allergen in health care workers. *Clin Exp Immunol* 1994; 98: 408-413
20. Alenius H, Kalkkinen N, Lukka M, Turjanmaa K, Reunala T, Mäkinen-Kiljunen S, Palosuo T: Purification and partial amino acid sequencing of a 27-kD natural rubber allergen recognized by latex-allergic children with spina bifida. *Int Arch Allergy Immunol* 1995; 106: 258-262
21. Cramer R, Faith A, Hemmann S, Jaussi R, Ismail C, Menz G, Blaser K: Humoral and cell-mediated autoimmunity in allergy to *Aspergillus fumigatus*. *J Exp Med* 1996; 184: 265-270
22. Posch A, Chen Z, Rozynek P, Papenfuß F, Allmers H, Baur X, Raulf-Heimsoth M: Chitinase is the major crossreacting allergen in avocado sensitized latex allergics. *Allergy* 1998; 53: P063
23. Schmidt M, Posch A, Düser M, Flagge A, Allmers H, Wirtz C, Papenfuß F, Baur X, Raulf-Heimsoth M: Kartoffelpatatin ist ein kreuzreagierendes Allergen bei Kartoffel-sensibilisierten Latexallergikern. *Allergo J* 1998; 7: V7

Forschungsberichtsblatt

Titel: „Latex Typ I-Allergie: Risikoevaluierung unter besonderer Berücksichtigung der kreuzreagierenden Proteine in Nahrungsmitteln“.
Zuwendungsnummer: P 96001

1 Kurzbeschreibung des Forschungsergebnisses

Die Prävalenz einer Latex-assoziierten Nahrungsmittelsensibilisierung wurde in zwei Risikokollektiven untersucht. Unter 69 erwachsenen Latexallergikern und 163 Kontrollpersonen zeigte sich, daß die Zahl der positiven Hauttestbefunde auf Nahrungsmittel unter Latexsensibilisierten signifikant höher war, als im Kontrollkollektiv (25,5 % versus 4,6 %; $p < 1 \times 10^{-9}$). Die häufigsten Sensibilisierungen ergaben sich für Avocado (39,1 %) und Eßkastanie (38,8 %). Unter Kindern mit atopischer Dermatitis (n=74) war in 16,2 % der Fälle eine Sensibilisierung gegenüber Latex (serologische spezifische IgE-Bestimmungen) zu verzeichnen. Die Prävalenz einer Latex-assoziierten Nahrungsmittelsensibilisierung betrug unter diesen Kindern 70 %, während sie im Kollektiv ohne Latexsensibilisierung nur bei 6,7 % lag ($p < 1 \times 10^{-9}$). Signifikante Unterschiede zwischen den beiden Kollektiven ergaben sich für Tomate, Avocado und Paprika, weniger stark ausgeprägt waren diese für Eßkastanie, Kartoffel und Kiwi. Eine Sensibilisierung gegenüber Avocado konnte im Latex-negativen Kinderkollektiv nicht nachgewiesen werden. Doppel-blind Placebo-kontrollierte Nahrungsmittelstudien konnten z.T. die anamnestischen bzw. serologischen Ergebnisse oder/und Hauttestbefunde bestätigen. Inhibitionsexperimente zwischen Latex und den Nahrungsmitteln (insbesondere für Avocado und Banane) zeigten, daß das Latexhauptallergen Hevein eine zentrale Rolle beim Latex-Frucht-Syndrom spielt. Als kreuzreagierendes Protein aus der Avocado konnte ein Chitinbindendes Protein (CBPA) mit einer Hauptkomponenten von 31 kD isoliert werden. Aufgrund der N-terminalen Sequenzanalyse konnte es als Endochitinase vom Typ I mit einer Hevein-Domäne am N-Terminus identifiziert werden. Auch für die kreuzreagierenden Proteine in der Banane scheint eine Endochitinase der Klasse I mit Hevein-Domäne eine bedeutende Rolle zu spielen. Für die anderen Nahrungsmittel lag, verglichen mit den Latexproteinen, eine höhere Diversität vor. Kreuzinhibitionsexperimente zwischen Kiwi und Latex zeigten kaum gemeinsame Epitope, so daß die Sensibilisierung von Kiwi und Latex in den von uns betrachteten Fällen weitgehend unabhängig zu sein scheint. Darüber hinaus ergaben sich auch für weitere Nahrungsmittel individuelle Unterschiede hinsichtlich einer Kreuzreaktivität zum

Latex, so daß es Latex-abhängige (Kreuzreaktionen) und –unabhängige Wege (Kosensibilisierung) der Sensibilisierung auch für die sogenannten Nahrungsmittel gibt. Durch die Etablierung einer Latexallergen-Datenbank konnte das Wissen über die IgE-bindenden Latexproteine deutlich erweitert werden und auch die Lokalisation der IgE-bindenden Proteine in den einzelnen kreuzreagierenden Nahrungsmitteln ermöglichte die Identifizierung von Nahrungsmittelallergenen mit Homologien zu bekannten Latexallergenen. Hinsichtlich der Kreuzreaktivität mit Kartoffel konnte Patatin isoliert und identifiziert werden. Gemeinsame Epitope zwischen dem Hev b 7 und Patatin scheinen die Ursache der Sensibilisierung von Latexallergikern gegenüber Kartoffeln zu sein. Das Kartoffelpatatin erwies sich aufgrund seiner Stabilität in *in vitro*-Verdauungsexperimenten als potentiell Lebensmittellergen.

2 Fortschritte, die sich durch die Forschungsergebnisse für Wissenschaft ergeben

Die vorliegenden Untersuchungsergebnisse haben das Wissen über die Ursachen des Latex-Frucht-Syndroms durch die Identifizierung und Charakterisierung von Nahrungsmittelallergenen im Hinblick auf die bereits vorliegende Literatur deutlich erweitert und sind bzw. werden in das nationale und internationale Schrifttum einfließen. Sie belegen, daß immunologische Kreuzreaktionen von ubiquitären, konservierten Proteinen mit nahezu identischen IgE-Bindeepitopen, die auch in taxonomisch entfernten Pflanzengruppen vorkommen, entscheidend für die Sensibilisierung hinsichtlich Naturlatex und Nahrungsmitteln sind.

Mittels Inhibitionsexperimenten konnte gezeigt werden, daß das Latexhauptallergen Hevein (Hev b 6.02) mit seinen Chitin-bindenden Eigenschaften eine zentrale Rolle für das Latex-Frucht-Syndrom, insbesondere für die Kreuzreaktionen zwischen Latex und Avocado bzw. Banane, spielt. Die 31 kD Hauptkomponente der Chitin-bindenden Proteine aus Avocado (CBPA) konnte durch N-terminale Sequenzanalyse als Endochitinase Typ I identifiziert werden. Es handelt sich damit um ein wichtiges Allergen der Avocado, das ursächlich für die Kreuzreaktion mit Latexproteinen verantwortlich ist. Vergleichbare Strukturen ergeben sich auch für die Kreuzreaktion zwischen Latex und Banane. Die Bedeutung von Patatin und seinem homologen Protein in Naturlatex (Hev b 7) konnte für die Sensibilisierung von Latexallergikern gegenüber Kartoffel nachgewiesen werden.

Auch für die sogenannten Latex-assoziierten Nahrungsmittel ergaben sich Hinweise, daß es Latex-abhängige (insbesondere für Avocado) und –unabhängige Formen

(u.a. für Kiwi und Kartoffel) der Sensibilisierung gibt. Unterschiedlich auslösende Proteine sind für das Auftreten der Sensibilisierung (Kosensibilisierung versus Kreuzreaktivität) verantwortlich.

Hinweise auf ein sogenanntes „Allergennetzwerk“, das nicht nur Naturlatex und die betrachteten Nahrungsmittel, sondern auch weitere pflanzliche Inhalationsallergene (u.a. Baumpollen) einschließt, konnten gewonnen werden.

3 Empfehlungen, die sich aus den Forschungsergebnissen für die Praxis ergeben

Unsere Ergebnisse erlauben die Abschätzung eines Risikos einer Latex- bzw. Latex-assoziierten Nahrungsmittelsensibilisierung in zwei unterschiedlichen Kollektiven. Basierend auf den positiven Hauttesten gegenüber den Nahrungsmitteln konnten wir feststellen, daß im latexsensibilisierten Erwachsenenkollektiv (etwa 90% beruflich Latexexponierte aus dem Gesundheitswesen) über 25 % hinsichtlich der Latex-assoziierten Nahrungsmittel einen positiven Hauttestbefund zeigten, während in einem Kontrollkollektiv ohne Latexsensibilisierung nur 4,6 % der Hautteste positiv waren. Bei latexsensibilisierten Personen ist insbesondere mit einer Sensibilisierung gegenüber Avocado, Eßkastanie, Banane und Paprika zu rechnen. Eine Differenzierung in Atopiker und Nicht-Atopiker ergab den Hinweis, daß der Atopiestatus der Erwachsenen nicht ursächlich für das gehäufte Auftreten einer Sensibilisierung gegenüber den Nahrungsmitteln verantwortlich zu sein scheint.

Für die Abklärung einer Latexsensibilisierung zeigten sich sehr gute Übereinstimmungen zwischen Hauttesten und serologischen Bestimmungen, wohingegen größere Diskrepanzen zwischen den Hauttestergebnissen mit Nahrungsmitteln (in unserem Fall Homogenate aus frischen Nahrungsmitteln) und den serologischen Bestimmungen bestanden. Hier sind sicherlich weitere Bewertungskriterien, insbesondere die anamnestischen Daten, für die Beurteilung einer Nahrungsmittelüberempfindlichkeit zusätzlich zu berücksichtigen. Doppel-blind Placobo-kontrollierte Nahrungsmittelprovokationen sind für eine Abklärung einer klinischen relevanten Nahrungsmittelallergie zu fordern, fanden aber nur wenig Akzeptanz unter den betroffenen Patienten, da es sich in der Regel um verzichtbare Nahrungsmittel handelt. Patienten mit einer Latexsensibilisierung sollten insbesondere vor dem Verzehr von Avocado, Eßkastanie und auch Banane gewarnt werden. Andere Früchte scheinen nicht ein entsprechend großes Risiko zu tragen. Dabei ist aufgrund der Latex-abhängigen und -unabhängigen Sensibilisierungen (Kreuzreaktion versus

Kosensibilisierung) eine differenzierte Betrachtung unter Berücksichtigung einer bereits bestehenden Sensibilisierung gegenüber pflanzlichen Inhalationsallergenen notwendig.

Im zweiten Kollektiv (Kinder mit atopischer Dermatitis) zeigten insbesondere ältere Kinder (>2 Jahre) mit einem deutlich erhöhten Gesamt-IgE eine Sensibilisierung gegenüber Latex. Die Prävalenz betrug hier 16,2 %; ein erhöhtes Risiko einer Latexsensibilisierung ist hier zu bedenken und sollte daher im Rahmen allergologischer Untersuchungen berücksichtigt werden. Eine Reduktion des Gebrauchs von latexhaltigen Materialien insbesondere unter diesen Kindern sollte daher empfohlen werden. Im latexsensibilisierten Kinderkollektiv traten insbesondere auch gehäuft positive Hautreaktionen gegenüber ubiquitären Inhalationsallergenen auf, so daß hier der Atopiestatus zu berücksichtigen ist. Atopische Kinder mit einer Latexsensibilisierung zeigten in allen Fällen eine Sensibilisierung gegenüber Früchten, wobei selbst ohne den früheren Genuß dieser Früchte, wie Avocado, Eßkastanie und Paprika, entsprechende IgE-Antikörper nachweisbar waren. Unter den Kinder mit Latexsensibilisierung konnten anamnestisch dokumentierte Symptome beim Genuß der Nahrungsmittel in der Mehrzahl der Fälle (elf von zwölf) durch positive serologische Befunde bestätigt werden. Eine Sensibilisierung gegenüber Avocado scheint insbesondere unter Kindern nur mit einer Latexsensibilisierung gekoppelt zu sein. Für die Kiwi und die Kartoffel sind auch Latex-unabhängige Wege der Sensibilisierung zu berücksichtigen.