

Der Einfluss der Chiralität von Omeprazol bei IgE-vermittelter Sensibilisierung mittels indirektem Basophilenaktivierungstest

Lara Reichenbach, BMA 23-26

Biomedizinische Analytik HF

ADR-AC GmbH

1. Zusammenfassung

Das ADR-AC spezialisiert sich besonders auf Medikamentenallergien. Medikamentenallergene wie das Racemat Omeprazol erschweren aufgrund ihrer geringen Molekurgösse die Diagnostik, weshalb hier mit dem indirekte Basophilenaktivierungstest (iBAT) gearbeitet wurde. In der Arbeit wurden Seren von zehn Patientinnen und Patienten mit nachgewiesener Omeprazol-Sensibilisierung untersucht, indem Donorbasophilen resensibilisiert und mit Omeprazol, R- und S-Omeprazol stimuliert wurden. Während Omeprazol und das R-Enantiomer einen mittleren Stimulationsindex von > 2 erreichten, zeigte das S-Enantiomer (Esomeprazol) im Durchschnitt keine signifikante Aktivierung. Diese Diskrepanz demonstriert den entscheidenden Einfluss der Chiralität des Racemats auf die IgE-vermittelte Sofortreaktion. Trotz erfolgreicher Anwendung und Reproduzierbarkeit stellen die methodischen Limitationen des iBAT noch eine Herausforderung für eine Standardisierung dar.

2. Einleitung

Das ADR-AC ist ein spezialisiertes Labor, welches Diagnostik und Consulting im Bereich der Allergologie und Immunologie anbietet. Zur Routinediagnostik gehört unter anderem der direkte BAT, dieser dient der Abklärung für Allergien Typ-I (Soforttypreaktionen) [1]. Beim BAT wird die Aktivierung der Basophilen mit den Markern CD63 und CD203c beobachtet und analysiert. CD63 wird als Degranulationsmarker verwendet, da dieser bei der Degranulation von Basophilen vermehrt auf der Zelloberfläche exprimiert wird [2]. CD203c wird in kleinen Mengen dauerhaft von Basophilen und Mastzellen exprimiert. Bei einer Aktivierung wird CD203c jedoch stark hochreguliert und dient dementsprechend als Aktivierungsmarker.

Die Experimente in dieser Arbeit wurden mittels indirektem BAT (iBAT oder passiv BAT) durchgeführt. Methodisch ähnelt der iBAT dem direkten BAT, nutzt jedoch die Basophilen charakterisierter Donoren statt patienteneigener Zellen. Aufgrund der konstanten IL-3-Anwesenheit entfällt CD203c als zuverlässiger Marker im iBAT-Protokoll.

In der BAT-Routine fielen oft Resultate mit einer Sensibilisierung gegenüber Omeprazol mit jedoch gleichzeitig negativer Reaktion auf Esomeprazol auf. Dies ist besonders, da die chemischen Strukturen der beiden Medikamente identisch sind. Omeprazol liegt chemisch als Racemat vor, was bedeutet, dass es aus den Enantiomeren R- und S-Omeprazol besteht, welche beide in gleicher Konzentration vorliegen (1:1). Das S-Omeprazol gilt als pharmakologisch aktiver Bestandteil und ist isoliert als Esomeprazol verfügbar. Da die Aktivierung meist auf das Racemat beschränkt ist, stellt sich die Frage, ob es sich dabei um ein in-vitro Artefakt handelt oder um sIgE, welche selektiv gegen das R-Enantiomer gerichtet sind. Hierbei spricht man von einer selektiven Kreuzreaktivität.

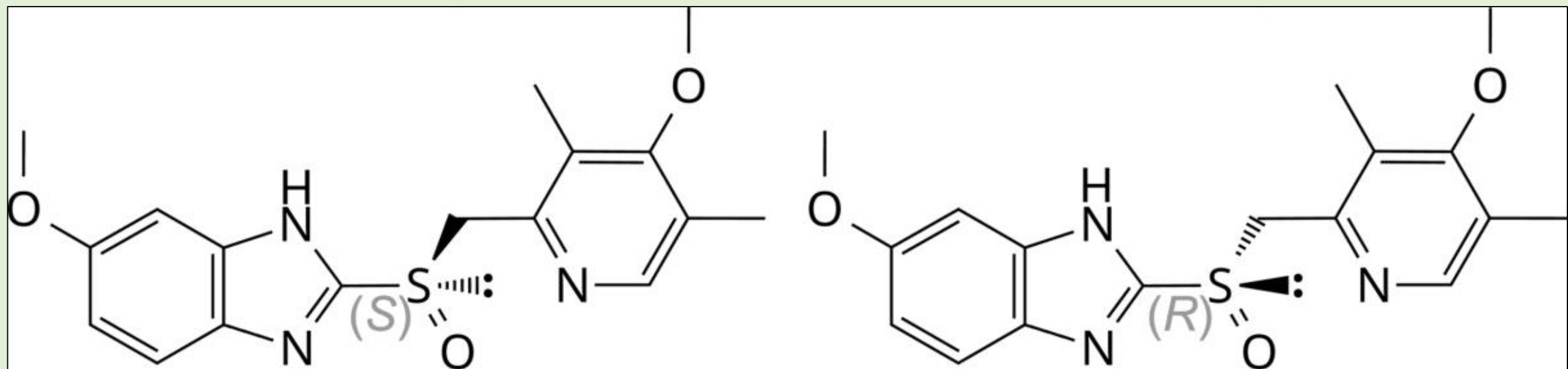


Abb. 1: Wikimedia: Chemische Struktur Omeprazol S-Form links und R-Form rechts (Fuse809, 2025)

Diese Diplomarbeit diente dem ADR-AC als Proof-of-Concept für den iBAT bei PPI-Allergien. Da der iBAT aufgrund inkonsistenter Ergebnisse noch nicht standardisiert ist, diente diese Arbeit zusätzlich dem Verständnis der Methode sowie der Überprüfung des Stimulationspotenzial beider Substanzen.

3. Ziele und Fragestellungen

Ziel dieser Arbeit ist es, mit dem iBAT die Diskrepanz im direkten BAT zwischen R- und S-Omeprazol darzustellen, um die selektive Sensibilisierung gegenüber dem R-Enantiomer aufzuzeigen.

Durch diese Ziele ergeben sich folgende Fragestellungen:

Beruht die positive basophile Aktivierung gegenüber Omeprazol bei gleichzeitig negativem Testergebnis gegenüber Esomeprazol auf einer IgE-vermittelten Sensibilisierung gegenüber dem R-Enantiomer?

Referenzen

- [1] (Fernandez, 2024)
- [2] (Santos et al., 2021)

Abbildungen

- Abb. 1: Fuse809 (2025). Wikimedia
- Abb. 2 & 3: Reichenbach, L. (2026). ADR-AC

4. Methodik

Nach der retrospektiven Selektion von zehn Omeprazol-positiven Patient:innen und der Etablierung des iBAT-Protokolls mit dem Übungsallegen Bet v 1, wurden die Hauptexperimente mit den PPI an zwei charakterisierten Donoren (Donor A und B) durchgeführt. Im iBAT wurden parallel zwei 96-Well-Platten für Aktivierung (Aktivationsplatte) und Kontrolle des IgE Strippings und der Resensibilisierung (IgE-Density platte) angesetzt. Am ersten Tag wurden die patienteneigene IgE auf den Donor-Basophilen mit Milchsäure (LA) bei 4°C für fünf Minuten entfernt, mit Pat.-serum und 1 ng/ml IL-3 resensibilisiert und über Nacht bei 37°C und 5% CO₂ inkubiert. Am Folgetag erfolgte die Stimulation mit Omeprazol, R- und S-Omeprazol in zwei Konzentrationen (100 µg/ml und 50 µg/ml) bei 37°C für 30 Minuten. Anschliessend wurden die Zellen der IgE-Density Platte mit PE anti-human CD193 (CCR3) und APC anti-human IgE gefärbt. Für die Antikörper-Färbung der Aktivationsplatte wurden auch PE anti-human CD193 (CCR3) und FITC anti-human CD63 verwendet. Die Messung folgte auf dem Durchflusszytometer NovoCyte (Agilent Technologies).

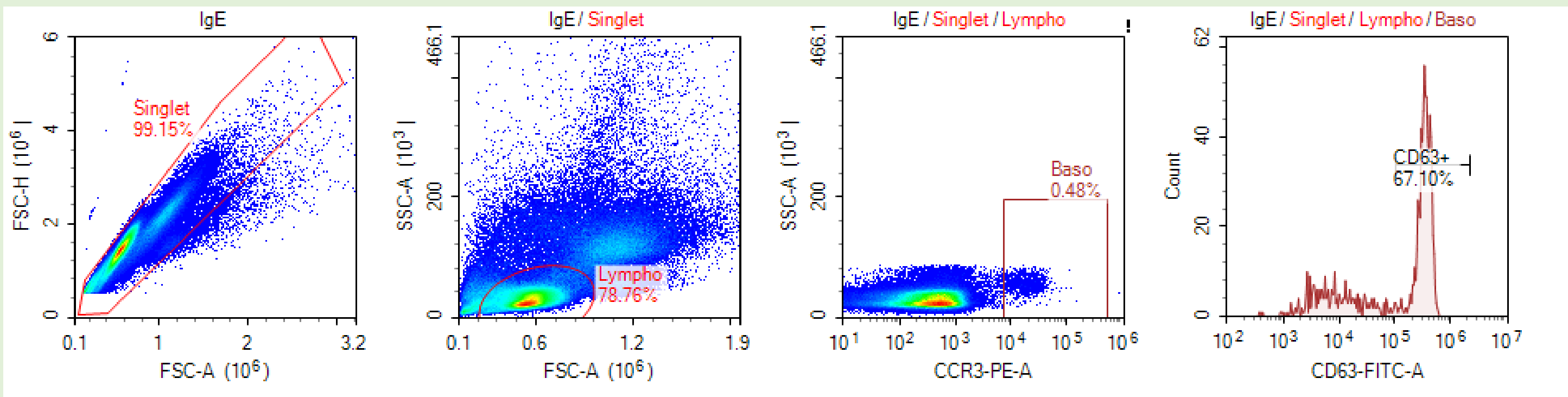


Abb. 2: Beispiel Messung der Aktivationsplatte anhand Anti-IgE Positivkontrolle (Reichenbach, 2026)

5. Ergebnisse/ Resultate

Die blaue Linie zeigt den Threshold für ein Positives Ergebnis bei einem SI von 2. Insgesamt wurde bei den Höchstkonzentrationen von Omeprazol und R-Omeprazol in beiden Donoren ein mittlerer SI von >2 erreicht. Im Gegensatz dazu konnte in S-Omeprazol durchschnittlich ein SI <2 beobachtet werden.

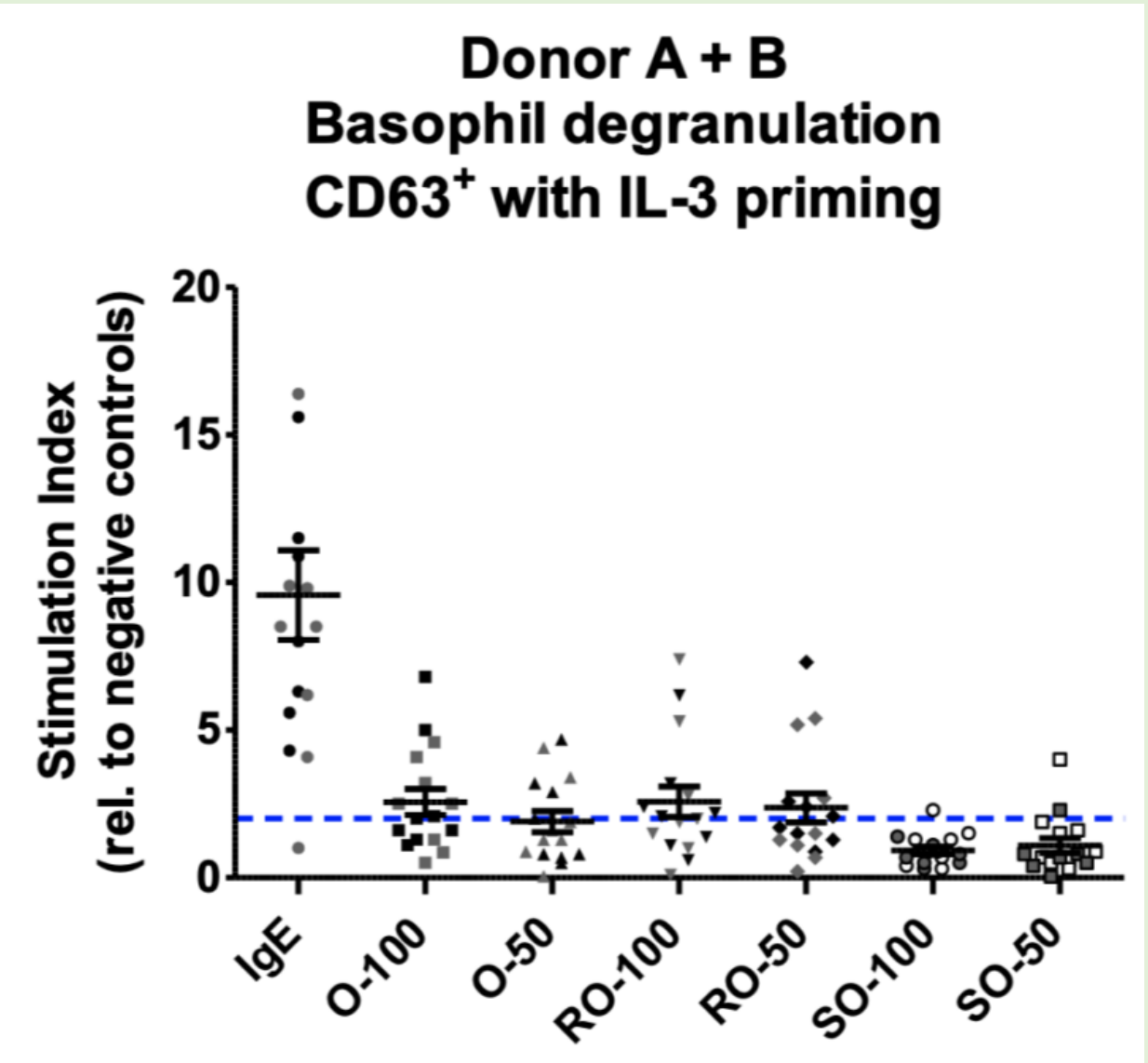


Abb. 3: SI der Seren 1-10 im Ansatz mit den PPI. Donor A in schwarz und Donor B in grau (Reichenbach, 2026)

6. Diskussion/ Schlussfolgerung

Mit dem iBAT konnte die im direkten BAT beobachtete Diskrepanz, unter Berücksichtigung von einigen Limitationen, erfolgreich reproduziert werden. In beiden Ansätzen zeigte das Anti-IgE Histogramm das Vorhandensein von patientenspezifischen IgE, was eine IgE-vermittelte Reaktion bestätigte. Bei der anschließenden CD63-Aktivierung konnte in Donor A und B mit Omeprazol und R-Omeprazol im Durchschnitt eine Sensibilisierung festgestellt werden. Im Gegensatz dazu wurde in S-Omeprazol durchschnittlich ein negatives Ergebnis nachgewiesen. Diese Resultate zeigen eine IgE-vermittelte selektive Sensibilisierung gegenüber dem R-Enantiomer von Omeprazol.

Für eine verlässliche Standardisierung zeigen die Resultate des iBAT noch eine zu grosse Inkonsistenz. Dennoch erweist sich durch diese Ergebnisse der iBAT als wertvolle Methode im Forschungsbereich der ADR-AC. Für folgende Studien würde sich ein Ansatz mit Amoxicillin empfehlen, da ein quantitativer Nachweis der sIgE möglich ist.