

# Untersuchung der amidolytischen Aktivität von Plasma-Kallikrein zur Klärung von durch $\beta$ -lactam-Antibiotika induzierten pseudoallergischen Reaktionen.

Noah Squaratti, BMA 18-21a

Bildungsgang Biomedizinische Analytik HF

ADR-AC GmbH, Immunologie/Molekularbiologie

## 1. Zusammenfassung

In dieser Diplomarbeit wird die Involvierung vom Kontaktsystem auf durch  $\beta$ -lactam-Antibiotika induzierte pseudoallergische Reaktionen untersucht. Solche pseudoallergischen Reaktionen sind nur sehr schwer von allergischen Reaktionen zu unterscheiden, da die Symptomatik sehr ähnlich ist [1].

In unseren Experimenten entwickeln wir ein Testsystem zur Messung der Aktivierung des Kontakt-Systems. Wobei sich beim Screening der Kohorten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Testgruppen zeigen. Dennoch zeigt sich eine Erhöhung der amidolytischen Aktivität von Präkallikrein, im Plasma gewisser Patienten mit Verdacht auf eine pseudoallergische Reaktion nach Exposition mit  $\beta$ -lactam-Antibiotika.

Somit ist es zum jetzigen Zeitpunkt der Studie noch nicht möglich eine definitive Aussage über die Involvierung des Kontakt-Systems bei durch  $\beta$ -lactam-Antibiotika vermittelten pseudoallergischen Reaktionen zu machen.

Schlüsselbegriffe: Kontakt-System,  $\beta$ -lactam-Antibiotika, pseudoallergische Reaktionen, Präkallikrein

## 2. Einleitung

Zur In-vitro-Diagnostik von akuten Medikamenten-Reaktionen wird unter anderem der Basophilen Aktivierungstest verwendet. Oftmals ist der Basophilen Aktivierungstest bei Patienten welche klinisch eine anaphylaktoide Reaktion aufweisen negativ.

Anaphylaxie ist korreliert mit Degranulation der Basophilen Granulozyten, Vasodilatation und Blutdruckabfall. Nicht-allergische Anaphylaxie durch Aktivierung des Kontaktsystems würde durch Bradykinin eine ähnliche Reaktion im Körper auslösen. Das Kontaktsystem beschreibt eine Plasma-Protease-Kaskade, die durch Faktor XII (FXII) initiiert wird: aktiviertes Präkallikrein spaltet den nicht-enzymatischen Kofaktor hochmolekulares Kininogen (HK), um das Oligopeptid Bradykinin (BK) freizusetzen, das entzündliche Prozesse, Gefäßpermeabilität und Blutdruck reguliert. Agenten mit negativer Ionenoberfläche können FXII aktivieren, um das Kontaktsystem zu steuern [2].

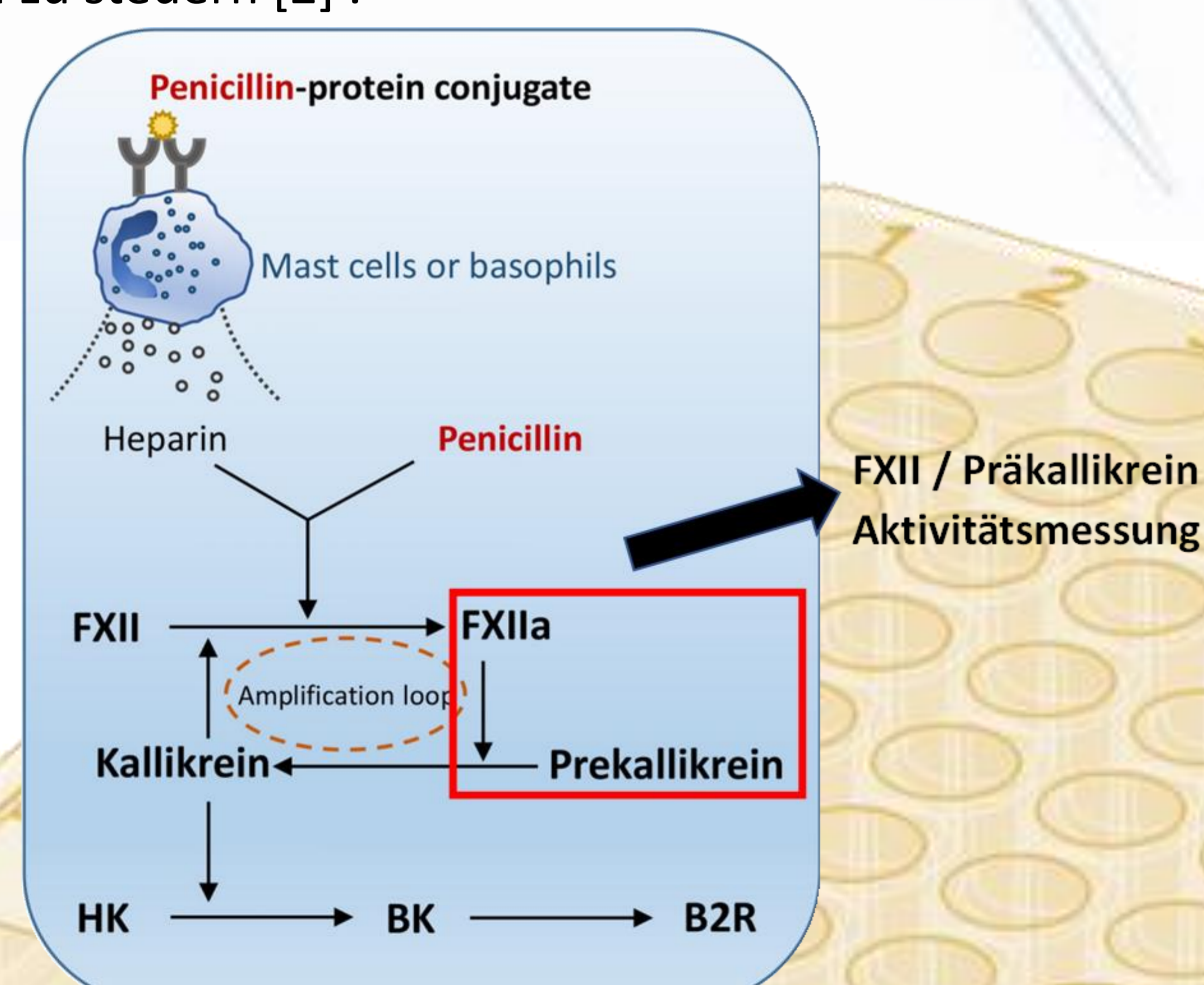


Abb. 1: Kontakt-System Kaskade. Rot eingezeichnet ist der Schritt welchen wir mit unserem Testsystem messen können. Bradykinin (BK) repräsentiert das Endprodukt der Kontakt-System Kaskade und ist für die Symptomatik verantwortlich ist. (Gao Y, 2020)

## 3. Ziele und Fragestellungen

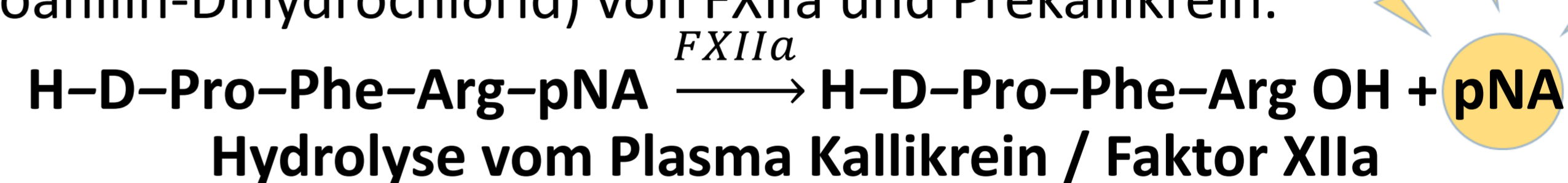
Das Ziel dieser Arbeit ist der Nachweis der Aktivierung des Kontakt-Systems bei Patienten mit akuter Medikamenten-Reaktion, welche im Basophilen Aktivierungstest keine positive Reaktion zeigen. Dies stellt die Grundlage der Entwicklung und Etablierung eines neuen Testsystems zur Diagnostik von einem Grossteil der durch Penicillin und anderen  $\beta$ -Lactam-Antibiotika vermittelten IHR dar, welche bisher nicht nachgewiesen werden konnten. Somit liesse sich eine alternative Ursache für pseudoallergische Reaktionen nachweisen und bestätigen.

Bei diesen Patienten liegt keine IgE-vermittelte Mastzelldegranulation vor, weshalb diese Reaktionen mit den bisher üblichen Testverfahren (Basophilen-Aktivierungstest und Serum IgE) nicht nachgewiesen werden können.

## 4. Material, Methodik, Vorgehen

Um unsere Forschungsfrage zu beantworten untersuchen wir die Aktivierung des Kontakt-Systems bei Basophilen Aktivierungstest und Hauttest negativen Individuen. Diese vergleichen wir mit Individuen ohne Vorgeschichte einer Reaktion gegen  $\beta$ -Lactam-Antibiotika.

Dabei testen wir die Funktion des Kontaktsystems durch Messung von FXIIa und Plasma-Kallikrein. Deren Nachweis gelingt uns durch Spaltung des chromogene Substrates S-2302 (H-D-Prolyl-L-phenylalanyl-L-Arginin-p-nitroanilin-Dihydrochlorid) von FXIIa und Prekallikrein.



Diese proteolytische Reaktion, die durch einen Farbumschlag angezeigt wird, kann spektrophotometrisch verfolgt werden und ist proportional zur proteolytischen Aktivität.

## 5. Ergebnisse / Resultate

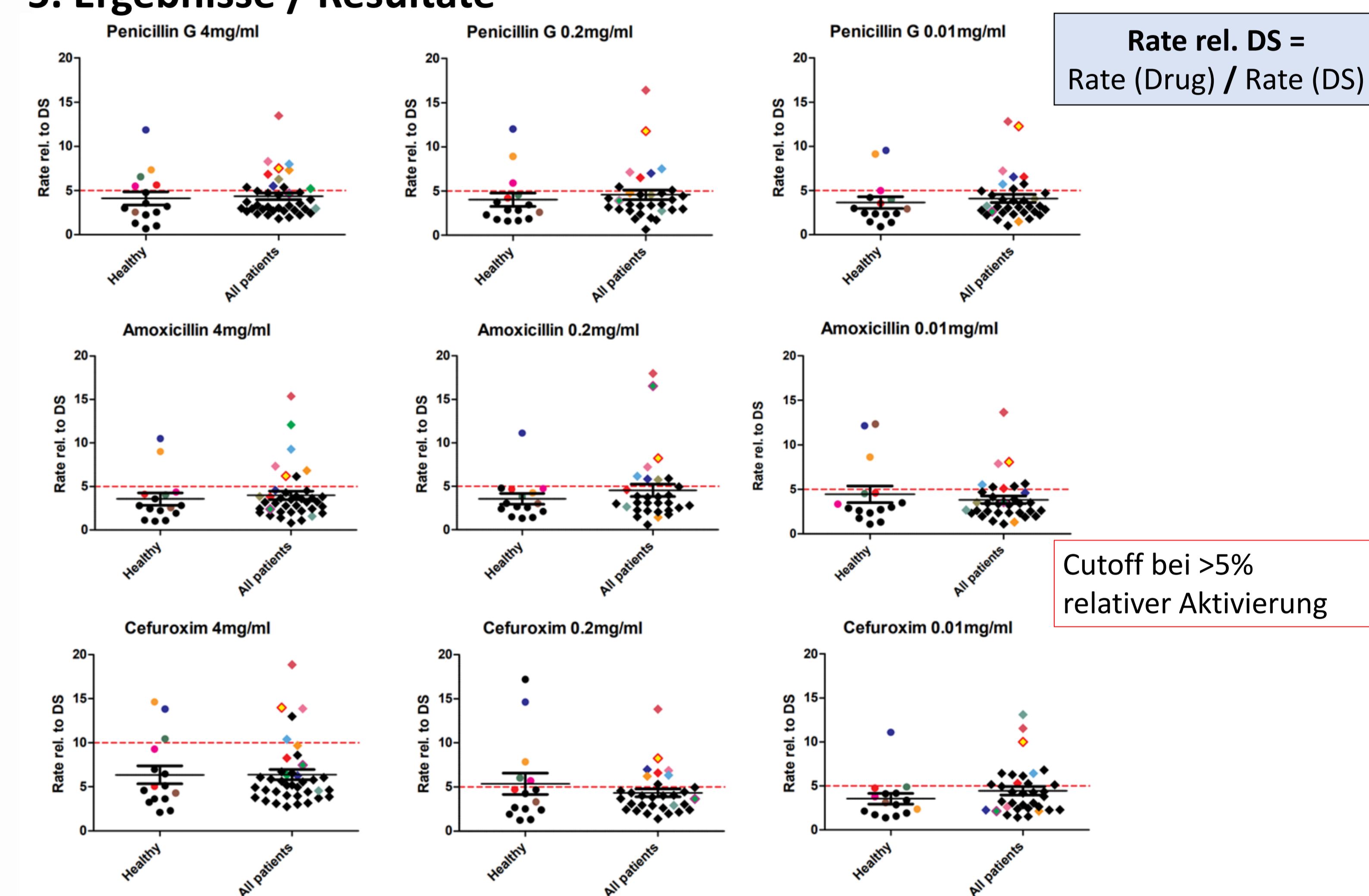


Abb. 2 Steigung im Vergleich zur positiven Testkontrolle (eigene Abbildung)

## 6. Diskussion

Das Testsystem kann die Aktivierung des Kontaktsystems mit einem stabilem und starkem Signal für die Positivkontrolle (Dextran-Sulfat) nachweisen. Die Aktivierung des Kontaktsystems durch  $\beta$ -Lactam-Antibiotika bleibt jedoch unsicher. Einige wenige Individuen zeigten eine Aktivierung durch  $\beta$ -Lactam-Antibiotika. Diese Beobachtung ist reproduzierbar.

Es stellt sich das Problem, das bei den gesunden Spendern, keine bestätigte  $\beta$ -Lactam-Toleranz vorliegt. Im weiteren ist die Klinik der getesteten Patienten mit Verdacht auf  $\beta$ -Lactam-Intoleranz, nicht vollständig bekannt. Somit lässt sich lediglich eine Aussage auf der Basis einer Grundlagenstudie treffen, welche noch klinische Bestätigung braucht. Hierfür empfiehlt sich die Aktivierung des Kontaktsystems in Individuen mit  $\beta$ -Lactam-toleranter Spezifität und mit  $\beta$ -Lactam-intoleranten Individuen, mit echtem Allergieausschluss zu testen.

## Referenzen

- [1] Patterson, R. A. (2020, Januar). Penicillin, Allergy. Retrieved 01 04, 2021, from StatPearls: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459320/>.  
 [2] Hubel, W., Holdenrieder, S., & Stieber, P. (2018). Kallikrein-Kinin-System. (S. R. Medizin, Ed.) Gressner A., Arndt T. (eds) Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik. doi:[https://doi.org/10.1007/978-3-662-49054-9\\_1652-1](https://doi.org/10.1007/978-3-662-49054-9_1652-1)

## Abbildungen

Abb. 1 Gao Y, H. Y. (2020, Aug 25). Penicillin causes non-allergic anaphylaxis by activating the contact system. Scientific reports, 10(14160). doi:10.1038/s41598-020-71083-x

Abb. 2 Squaratti, N. (2021) Steigung im Vergleich zur positiven Testkontrolle Bern: eigene Abbildung Hintergrund: Grabcad Community. (30. 08 2021). 96 Well Plate, Flat Bottom, Standard. Von <https://grabcad.com/library/96-well-plate-flat-bottom-standard-1> abgerufen Und Bento. (13. 09 2021). Supplies. Von <https://bento.bio/product/adjustable-pipette/> abgerufen

