

Aus dem Universitätsklinikum Münster
Klinik und Poliklinik für Hautkrankheiten
- Allgemeine Dermatologie und Venerologie –
Direktor: Univ. Prof. Dr. med. Th. A. Luger

**Postmortale Tryptasewertbestimmung –
klinische Zusammenhänge und diagnostische
Aspekte**

**Inaugural – Dissertation
zur
Erlangung des doctor medicinae**

der Medizinischen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms - Universität Münster

vorgelegt von Kirstin Cornelia Förster
aus Münster
2008

Gedruckt mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Volker Arolt

1. Berichterstatter: PD Dr. med. Randolph Brehler

2. Berichterstatter: PD Dr. med. Andreas Schmeling

Tag der mündlichen Prüfung: 09.09.2008

Aus dem Universitätsklinikum Münster
Klinik und Poliklinik für Hautkrankheiten
- Allgemeine Dermatologie und Venerologie –
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Th. A. Luger
Referent: PD Dr. med. Randolph Brehler
Koreferent: PD Dr. med. Andreas Schmeling

Zusammenfassung

Postmortale Tryptasewertbestimmung – klinische Zusammenhänge und
diagnostische Aspekte
Kirstin Cornelia Förster

In dieser klinisch- retrospektiven Studie wurden die potentiellen Zusammenhänge zwischen postmortalen Tryptasewerterhöhungen und den jeweiligen klinischen Befunden untersucht. Besonderes Interesse galt der Fragestellung, ob eine Aussage zu einem möglicherweise anaphylaktischen Geschehen getroffen werden kann. Daten von 70 Verstorbenen gingen in die Studie ein. Bei jedem wurde im Rahmen der Studie Blut aus der Vena femoralis entnommen und auf ihren Tryptasegehalt hin untersucht. Das Aktenstudium lieferte detaillierte Daten über Auffälligkeiten und spezielle postmortale Befunde. Ein Fragebogen gab Auskunft über die Frage des Abstandes zwischen Todeseintritt und Serumgewinnung. Die Analyse ergab bei über 50% der Proben erhöhte Tryptasewerte über den Grenzwert von 11,4µg/l. Zudem identifizierten wir im zeitlichen Abstand von Todeseintritt und Serumgewinnung einen wesentlichen verantwortlichen Faktor für postmortale Tryptasewerterhöhungen. Als weitere signifikante Einflußgrößen auf die Höhe der Tryptasespiegel bei Verstorbenen ermittelten wir das Vorhandensein von Frakturen, ein Herzgewicht von >500g sowie den prämortalen Konsum von Heroin und Kokain. Wir kommen zu dem Schluss, dass erhöhte Tryptasewerte nicht als spezifischer Marker für ein anaphylaktisches Geschehen heranzuziehen sind, da sie insbesondere von der Zeit zwischen Todeseintritt und femoraler Blutgewinnung und von anderen Befunden beeinflusst werden.

Tag der mündlichen Prüfung: 09.09.2008

Inhaltsverzeichnis:

TABELLEN- UND GRAFIKENVERZEICHNIS	- 3 -
Tabellen	- 3 -
Grafiken	- 4 -
1 EINLEITUNG	- 6 -
1.1 Fragestellung und Zielsetzung	- 6 -
1.2 Grundlagen	- 7 -
1.2.1 Mastzellen	- 7 -
1.2.2 Tryptase	- 8 -
2 MATERIAL UND METHODEN	- 15 -
2.1 Patientenkollektiv	- 15 -
2.1.1 Auswahl und Gruppierung des Patientenkollektivs	- 15 -
2.1.2 Epidemiologische und klinische Parameter der untersuchten Personen	- 16 -
2.2 Datenerhebung	- 17 -
2.2.1 Fragebogen zur Obduktion	- 17 -
2.2.2 Aktenstudium	- 18 -
2.3 Tryptasewertermittlung	- 19 -
2.4 Statistische Verfahren	- 19 -
3 ERGEBNISSE	- 21 -
3.1 Epidemiologische und allgemeine Patientendaten	- 21 -
3.2 Statistische Auswertung der ermittelten Tryptasewerte	- 21 -
3.3 Zusammenhang zwischen Tryptasewerten und epidemiologischen sowie klinischen Befunden	- 23 -
3.3.1 Geschlecht	- 23 -
3.3.2 Alter	- 24 -
3.3.3 BMI	- 25 -
3.3.4 Zeitlicher Abstand zwischen Todeseintritt und Serumgewinnung	- 26 -
3.3.5 Todesursache	- 29 -
3.3.5.1 Kardiologisch/Hämodynamisch	- 29 -
3.3.5.2 Intoxikation	- 29 -
3.3.6 Prämortaler Drogenkonsum	- 30 -
3.3.7 Prämortale Alkoholeinnahme	- 31 -
3.3.8 Blutungen	- 31 -
3.3.9 Hämatome	- 32 -
3.3.10 Frakturen	- 32 -
3.3.11 Herzgewicht	- 33 -
3.3.12 Koronarsklerose	- 35 -
3.3.12.1 Koronarsklerose Grad I	- 35 -
3.3.12.2 Koronarsklerose Grad II	- 35 -
3.3.12.3 Koronarsklerose Grad III	- 36 -
3.3.13 Arteriosklerose	- 37 -
3.3.13.1 Arteriosklerose Grad I	- 37 -
3.3.13.2 Arteriosklerose Grad II	- 38 -
3.3.13.3 Arteriosklerose Grad III	- 38 -
3.3.14 Veränderungen der Leber	- 39 -
3.3.15 Prämortale intensivmedizinische Betreuung	- 39 -
3.3.16 Reanimation	- 40 -
3.4 Zusammenhang zwischen erhöhten Tryptasewerten und epidemiologischen sowie klinischen Merkmalen	- 41 -
3.5 Logistische Regressionsanalyse	- 45 -
4 DISKUSSION	- 49 -
4.1 Serumtryptasespiegel	- 49 -
4.2 Tryptasewerte im Zusammenhang mit epidemiologischen und klinischen Befunden	- 50 -
4.2.1 Geschlecht	- 50 -
4.2.2 Alter	- 51 -

4.2.3	BMI.....	- 51 -
4.2.4	Zeitlicher Abstand zwischen Todeseintritt und Serumgewinnung.....	- 52 -
4.2.5	Todesursache.....	- 53 -
4.2.5.1	Kardiologisch/Hämodynamisch.....	- 53 -
4.2.5.2	Intoxikation.....	- 54 -
4.2.6	Prämortaler Drogenkonsum.....	- 54 -
4.2.7	Prämortaler Alkoholkonsum.....	- 55 -
4.2.8	Prämortale Blutungen, Hämatome, Frakturen.....	- 55 -
4.2.9	Herzgewicht.....	- 57 -
4.2.10	Koronarsklerose und allgemeine Arteriosklerose.....	- 58 -
4.2.11	Leber.....	- 61 -
4.2.12	Prämortale intensivmedizinische Betreuung und Reanimation.....	- 61 -
4.3	Schlussfolgerung.....	- 61 -
4.4	Ausblick.....	- 63 -
	LITERATURVERZEICHNIS.....	- 64 -
	DANKSAGUNG.....	- 71 -
	CURRICULUM VITAE.....	- 72 -

TABELLEN- UND GRAFIKENVERZEICHNIS

Tabellen

Tabelle 1	Einteilung des BMI (kg/m ²) in Gewichtsklassen
Tabelle 2	Einteilung der Gefäßstenosen (%) in Schweregrade
Tabelle 3	Statistische Auswertung der Tryptasewerte
Tabelle 4	Deskriptive Auswertung der postmortal erhöhten Tryptasewerte
Tabelle 5	Deskriptive Auswertung der postmortal nicht erhöhten Tryptasewerte
Tabelle 6	Statistik der Tryptasewerte in Bezug auf das Geschlecht
Tabelle 7	Statistische Darstellung der Zeitabstände zwischen Tod und Serumgewinnung in Bezug auf die ermittelten Tryptasewerte
Tabelle 8	Statistik zum nichtparametrischen Vergleich der zwei unabhängigen Stichproben prämort. Drogenkonsum/ erhöhte Tryptase (µg/l)
Tabelle 9	Statistik zum nichtparametrischen Vergleich der zwei unabhängigen Stichproben Frakturen/ erhöhte Tryptase (µg/l)
Tabelle 10	Statistik zum nichtparametrischen Vergleich der zwei unabhängigen Stichproben Herzgewicht ≥ 500g/ erhöhte Tryptase (µg/l)
Tabelle 11	Epidemiologische und klinische Parameter der untersuchten Patienten stratifiziert nach Tryptase < 11,4µg/l und Tryptase ≥ 11,4µg/l
Tabelle 12	Statistik zum nichtparametrischen Vergleich der zwei unabhängigen Stichproben Tod-Serumgewinnung (h)/ Tryptase ≥ 11,4 µg/l

- Tabelle 13 In die Gleichung (binär logistische Regressionsanalyse, Einschluß aller Variablen) eingegebene Variablen: BMI, zeitl Abstand Tod- Serumgewinnung, Todesursache: kardiologisch/hämodynamisch, Todesursache: Intoxikation, Alkoholkonsum, Drogenkonsum, Hämatome, Koronarsklerose, Arteriosklerose, Blutungen, Z.n.intensivmedizinischer Betreuung, Z.n.Reanimation, Herzgewicht >500g, Lebergewicht >1500g, Frakturen, Alter
- Tabelle 14 Variablen in der Gleichung (binär logistische Regressionsanalyse, Einschluß schrittweise vorwärts)
a In Schritt 1 eingegebene Variablen: zeitl. Abstand Tod- Serumgewinnung
b In Schritt 2 eingegebene Variablen: Frakturen
- Tabelle 15 Nicht in die Gleichung aufgenommene Variablen (binär logistische Regressionsanalyse, Einschluss schrittweise vorwärts)

Grafiken

- Grafik 1: Boxplot der postmortal ermittelten Tryptasewerte ($\mu\text{g/l}$)
- Grafik 2: Balkendiagramm der Altersklassen und ihrer medianen Tryptasewerte ($\mu\text{g/l}$)
- Grafik 3: Balkendiagramm der BMI-Klassen und ihrer medianen Tryptasewerte ($\mu\text{g/l}$)
- Grafik 4: Balkendiagramm der Zeitabstände zwischen Tod und Serumgewinnung (h) mit den zugehörigen medianen Tryptasewerten ($\mu\text{g/l}$)
- Grafik 5: Boxplot der Tryptase ($\mu\text{g/l}$) in Bezug auf prämortalen Drogenkonsum

- Grafik 6: Boxplot der Tryptase ($\mu\text{g/l}$) in Bezug auf prämortale Frakturen
- Grafik 7: Boxplot der Tryptase ($\mu\text{g/l}$) in Bezug auf ein Herzgewicht $\geq 500\text{g}$
- Grafik 8: Balkendiagramm der medianen Tryptasewerte ($\mu\text{g/l}$) in Bezug auf die Schweregrade der Koronarsklerose
- Grafik 9: Balkendiagramm der medianen Tryptasewerte ($\mu\text{g/l}$) in Bezug auf die Schweregrade der Arteriosklerose
- Grafik 10: Balkendiagramm der Mittelwerte des zeitl. Abstands von Todeszeitpunkt und Serumgewinnung (h) in Bezug auf Tryptasewerte $\geq 11,4\mu\text{g/l}$
- Grafik 11: Streudiagramm mit Regressionsgrade zur Darstellung des Zusammenhangs von Tryptasewerten ($\mu\text{g/l}$) zum zeitl. Abstand zwischen Tod und Serumgewinnung (h)

1 EINLEITUNG

1.1 Fragestellung und Zielsetzung

In den vergangenen Jahren beschäftigten sich mehrere Studien mit dem Nachweis von Tryptase in den unterschiedlichsten Zusammenhängen. Dies sowohl bei lebenden Personen als auch postmortem bei Verstorbenen.

So ist ihre Bedeutung im Rahmen von allergischen Reaktionen vor allem der Anaphylaxie sowie der Mastozytose hinlänglich bekannt. Auch die Tatsache, dass Traumata zu gesteigerten Serumtryptasespiegeln führen können, wurde inzwischen durch Studien nachgewiesen.

In den Fällen der postmortalen Studien lag das Augenmerk in der Vergangenheit meistens nur auf ein oder zwei speziellen Aspekten, wohingegen die Differenzierung der verschiedenen Begleitumstände zum Todeszeitpunkt nicht berücksichtigt wurde. So gilt die postmortal bestimmte Tryptase heute vielfach als Marker für ein anaphylaktisches Geschehen, wobei es sich jedoch als schwierig gestaltet hierfür Referenzwerte festzusetzen, da es in diesem Zusammenhang öfter zu artifiziellen Erhöhungen unklarer Ursache kommt. Es stellt sich daher oft die Frage, ob nicht auch andere Umstände als die direkt analysierten einen Einfluss auf die Tryptasefreisetzung gehabt haben könnten.

Unsere Studie stellte sich die Aufgabe ein erweitertes Spektrum des diagnostischen Aussagewertes in Bezug auf die Tryptasebestimmung bei Verstorbenen zu schaffen. Besonderes Interesse galt der Fragestellung, ob eine Aussage zu einem möglicherweise anaphylaktischen Geschehen getroffen werden kann.

Dazu erfassten wir die Daten von 82 Personen, die zur Obduktion in das Rechtsmedizinische Institut der Westfälischen Wilhelms- Universität Münster gebracht wurden. Bei 70 von ihnen wurden systematisch allgemeine Merkmale

sowie Auffälligkeiten erfasst und auf ihren Zusammenhang mit den ermittelten Tryptasewerten hin analysiert.

1.2 Grundlagen

1.2.1 Mastzellen

Erstmals beschrieben wurden so genannten gemästete Zellen 1877 in einer Studie über Bindegewebe von Paul Ehrlich (24). Die Terminologie leitete er aus seiner Vermutung ab, bei den entdeckten Zellen handele es sich um überernährte, gemästete Bindegewebszellen. Fast zur selben Zeit wurden die gleichen Zellen auch bei Patienten mit Urticaria pigmentosa in betroffenen Hautarealen nachgewiesen (93). Die Infiltration von anderen Organen mit Mastzellen zeigte sich 1949 erstmals (25).

Mastzellen stammen von pluripotenten hämatopoetischen Stammzellen des Knochenmarks ab (36). Dabei entstehen erst so genannte Mastzellvorläuferzellen, welche im Blut zirkulieren und schließlich in verschiedene Gewebe einwandern. Dort findet, unter dem Einfluss von verschiedenen lokalen Wachstumsfaktoren, die endgültige Zellreifung statt.

Inzwischen ist hinlänglich bekannt, dass Mastzellen eine entscheidende Rolle bei akuten Überempfindlichkeitsreaktionen spielen (29; 57). Hierzu zählen sowohl einfache allergische als auch schwere anaphylaktische Zustände (26). Autoimmunerkrankungen wie Arthritis, Multiple Sklerose und das Bullöse Pemphigoid lassen ebenfalls Zusammenhänge mit Mastzellreaktionen erkennen (4). Viele der bisherigen Erkenntnisse basieren auf den Beobachtungen anhand von Tierversuchen mit Mäusen. Die Übertragbarkeit auf den Menschen ist allerdings begrenzt, da die Mäuse eine Mutation im Bereich eines Rezeptors auf dem W/W[~] Strang aufweisen, welcher beim Menschen nicht zu finden ist (45).

Mastzelldegranulation kann durch mehrere Mechanismen erfolgen. Der am besten bekannte ist der Antigen vermittelte. Hierbei wird das spezifische Antigen IgE dazu gebracht sich mit hoher Affinität an den speziellen IgE-Rezeptor FcεRI der Mastzellen zu binden, wodurch es daraufhin zur Degranulation kommt (7). Zu den hierbei freigesetzten Substanzen zählen Histamin (44), Prostaglandin D2 (68) sowie Chymase und Tryptase (38; 79). Sie liegen gespeichert in sekretorischen Granula vor. Hinzu kommt eine große Anzahl von anderen Zytokinen, Interleukinen und hämatopoetischen Wachstumsfaktoren, welche potentiell ebenfalls einen Einfluß auf die klinischen Symptome bei Mastzelldegranulation haben könnten (91; 98). Die klassische Stimulation findet sich bei allergischen und anaphylaktischen Reaktionen und führt zu sehr hohen Serumtryptasespiegeln, mit einem Anstieg der Werte ca. 15 Minuten nach Einsetzen der Allergiesymptome und einem kompletten Rückgang zum Ausgangswert 12- 14 Stunden nach dem Verschwinden der Symptome (84; 86). Auch nicht IgE- vermittelte Degranulationen kommen als Antwort auf verschiedene Stimuli vor (63). So kommt es durch die Anwesenheit der Anaphylatoxine C5a, C3a und Substanz P ebenfalls zur Freisetzung mastzellspezifischer Substanzen (29).

Die Aktivität von Mastzellen kann in vivo durch die Messung des Histaminspiegels erfolgen, welcher jedoch schnell wieder absinkt (42). Es hat sich gezeigt, dass die Tryptase wesentlich stabiler ist und eine längere Halbwertszeit besitzt, daher ist sie, insbesondere für die postmortale Bestimmung, eher geeignet (104). Es gibt zwei Hauptformen der Tryptase, die inaktive α - Form und die aktive freie β - Form (85).

1.2.2 Tryptase

Bei der Tryptase handelt es sich um eine neutrale Serinprotease welche selektiv konzentriert in den sekretorischen Granulas aller menschlicher Mastzellen gespeichert vorliegt und nach deren Aktivierung sie freigesetzt wird (72; 79; 82). Basophile Zellen enthalten ebenfalls nachweisbare Tryptase,

hierbei handelt es sich allerdings um mehr als hundertfach niedrigere Spiegel als bei den Mastzellen womit man dies als Nebensächlich betrachtet (9). Das Enzym kann daher als klinischer Marker für die Mastzellaktivität verwendet werden. Hierzu wird der jeweilige Serumspiegel der betreffenden biologischen Flüssigkeit bestimmt (8; 73; 84; 97).

Erstmals nachgewiesen wurde eine Trypsin ähnliche Wirkung in menschlichen Mastzellen bei histochemischen Versuchen mit Hautmastzellen (30). Auch in Mastzellen, welche aus dem menschlichen Zahnfleisch entnommen wurden, zeigte sich eine solche Aktivität (13). Das reichliche Vorhandensein dieses Enzyms konnte ebenfalls 1981 bei Versuchen, in welchen mit Hilfe von IgE die Freisetzung dieses Enzyms aus menschlichen Lungenmastzellen provoziert wurde, nachgewiesen werden (82). Anhand von diesen gelang es schließlich durch Aufreinigung und biochemische Analyseverfahren die Aktivität des Enzyms zu spezifizieren und als Tryptase zu klassifizieren. Hierbei zeigte sich zudem, dass die Speicherform in den Mastzellgranula als Komplex mit Heparin (PG1) vorliegt (81; 82). Der Tryptaseanteil in Mastzellen ist hoch, so macht dieses Enzym fast 25 % der zellulären Proteine aus (81; 87). Die chemische Grundstruktur entspricht einem Tetramer mit Mr 134000 (14; 74; 87), welches vier verschiedene Untereinheiten mit je einem aktiven Zentrum besitzt (81; 87). Erstmals nachgewiesen wurde dies 1998 anhand von β - Tryptase. Hierbei zeigte sich, dass sich die Tetramerstruktur aus Monomeruntereinheiten zusammensetzt, welche die Ecken eines flachen rechtwinkligen Rahmens bilden. Die aktive Seite jedes Monomers zeigt dabei in die Mitte des Tetramers (64). Das aktive Tryptasetetramer wird von Heparin und anderen Polymeren mit hoher anionischer Ladungsdichte stabilisiert (2; 52; 74). Die Enzymstruktur besitzt dabei die Eigenschaft bei neutralem pH-Wert in physiologischer Kochsalzlösung spontan und irreversibel in inaktive Monomere zu zerfallen, wenn kein Heparin oder Dextransulfat zur Stabilisierung vorhanden ist (2; 74). Obwohl lange Zeit davon ausgegangen wurde, dass ausschließlich das Tetramer die aktive Form der Tryptase darstellt, wurde auch eine eigene Aktivität der einzelnen Monomere in Betracht gezogen (1). Hierdurch ließe sich unter anderem die Beobachtung erklären, warum Tryptase in der Lage ist

Substrate, wie zum Beispiel Fibronectin (41; 54), zu spalten, obwohl diese eigentlich nicht ins aktive Zentrum des Tetramers passen.

Die Sekretion der Tryptase erfolgt als aktives heparin gebundenes Oligomer, welches sich nicht durch Plasmaantiproteasen inaktiviert lässt (11). Extrazelluläre Angriffspunkte sind Neuropeptide, prokoagulatorische Proteine, Urokinasen, Stromelysin und der proteinaseaktivierende Rezeptor- 2 (15; 31; 77; 89; 90). Über die in vivo Wirkung ist außerdem bekannt, dass es C3 in C3a umwandelt (80) und gegen hochmolekulares Kininogen (56) und Fibrinogen (76) wirkt. Keine Effekte übt es dagegen in vitro auf niedermolekulares Kininogen (83), Plasmaprekallikrein (77) und Plasminogen (75) aus. Die Funktion von Tryptase ist bis jetzt noch nicht komplett bekannt. Sie wird zusammen mit Histamin aus den Mastzellgranula freigesetzt und spielt wahrscheinlich eine Rolle bei akuten Entzündungsreaktionen. Verschiedene Experimente haben gezeigt, dass Tryptase die Lyse von Fibrinogen und Kininogen induziert und somit zur Koagulationshemmung beiträgt (71). Hauptvarianten der Tryptase stellen zum einen die inaktive α - Form und zum anderen die aktive freie β - Form dar. Tryptase kann postmortal bei der Frage nach Anaphylaxie eingesetzt werden (104). Hierbei ist allerdings darauf zu achten, dass es schwierig ist Referenzwerte festzusetzen (22), da in diesem Zusammenhang auch öfter artifizielle Erhöhungen unklarer Ursache beobachtet werden (67). Erhöhte Serumtryptasespiegel werden häufig auch beim plötzlichen Kindstod (SIDS) gefunden (20; 35; 65).

Aufgereinigte Tryptase zeigt Größeunterschiede bei der SDS-polyacrylamide Gelelektrophorese und lässt sich mittels der Gaschromatographie in verschiedene Isoformen aufteilen (53).

Durch die Abweichungen in Bezug auf die Immunreaktivität und die Aminosäuresequenzen von geklonter cDNA wurde die Tryptase zuerst in zwei Gruppen unterteilt, zum einen die α - und zum anderen die β - Form mit jeweils verschiedenen Unterformen (58; 59; 95). Jede von ihnen besitzt eine 30 Aminosäuren lange Startsequenz und eine 245 Aminosäuren umfassende

katalytische Sequenz. Die Ähnlichkeit der Sequenzen zwischen α - und β -Tryptase beträgt ~90% (58).

In späteren Studien konnte schließlich die Existenz von zwei weiteren Tryptaseformen nachgewiesen werden. Zum einen die γ -Tryptase mit ihren zwei verschiedenen Unterformen γI und γII (12) und zum anderen die δ -Tryptase, ebenfalls mit zwei Untereinheiten, δI sowie δII (96).

Die Freisetzungskinetik der Tryptase unterscheidet sich beispielsweise bei allergischen Reaktionen wesentlich von der des Histamins. Eine Studie wies bereits 15 Minuten nach Provokation durch einen Bienenstich signifikant erhöhte Tryptasespiegel nach, während ein signifikanter Histaminanstieg erst nach ca. einer Stunde zu finden war (51). Dieses Ergebnis steht in Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Schwartz et al., welche die gleichen Beobachtungen bei Bienenstichprovokation machten (85). Insgesamt scheint es jedoch keinen einheitlichen Verlauf des Tryptaseanstiegs zu geben. So können neben einer schlagartigen Freisetzung die Höchstspiegel auch erst nach einer Stunde, in manchen Fällen auch noch später auftreten (55). Auch die Rückkehr zu den Normalwerten vollzieht sich im Falle des Histamins deutlich schneller. Eine Studiengruppe beobachtete im Falle einer Stichprovokation nach 10 bis 15 Minuten die Maximalwerte der Histaminfreisetzung mit anschließender Normalisierung. Dies zeigt die Bedeutung des Histamins als akuter Mediator der allergischen Reaktion beziehungsweise Anaphylaxie (85). Die Tryptase hingegen ist in der Lage über einen längeren Zeitraum als das Histamin eine vermehrte Durchlässigkeit der Kapillaren hervorzurufen (86).

α -Tryptase

Man unterscheidet bei der α -Tryptase zwei verschiedene Unterformen. Zum einen die αI - (59) und zum anderen die αII - (61) Tryptase. Die frühere Annahme, α -Tryptase könne nicht in die reife, aktive Form gebracht werden (69), wurde widerlegt als rekombinante α -Tryptase in ein aktives Tetramer überführt wurde. Dessen Aktivität stellte sich allerdings im Vergleich mit β -

Tryptase als sehr gering dar. Der Grund für diesen Unterschied liegt dabei wahrscheinlich lediglich im Austausch einer einzelnen Aminosäure (37). Die Untersuchung anhand von monoklonalen Antikörpern speziell für α - und β -Tryptase ergab, auch in der Abwesenheit von Mastzelldegranulation, geringe Werte an α -Tryptase im zirkulierenden Blut. Dies lässt darauf schließen, dass die Freisetzung der α -Tryptase, anders als die der β -Tryptase, welche bei der Degranulation der Mastzelle aus ihren Speichergranula ausgeschüttet wird, konstitutuell unterschiedlich bedingt ist (85). Heute ist allerdings bekannt, dass Vorläuferformen beider Enzyme in geringen Mengen spontan freigesetzt werden (12). Hierbei stellt die menschliche α -Tryptase im Normalfall die am meisten im Blut zirkulierende Form dar und wird wahrscheinlich hauptsächlich von basophilen Zellen exprimiert (85; 101).

β -Tryptase

Die β -Tryptase scheint der Haupttyp in den sekretorischen Granula von Mastzellen wie den Lungen- und Hautmastzellen (34; 101) zu sein. Sie wird normalerweise ohne stattgehabte Mastzelldegranulation nicht in die Blutzirkulation abgegeben. Erhöhte Spiegel sind unter anderem im Rahmen von schweren entzündlichen Allgemeinreaktionen wie zum Beispiel der Anaphylaxie zu finden (85). Bis heute wurden drei verschiedene Formen der β -Tryptase identifiziert. Die β -Tryptasen, β -I, β -II und β -III sind zu 98-99% in ihren Aminosäuresequenzen identisch, wobei es sich möglicherweise um so genannte Allelvarianten handelt (95).

γ -Tryptase

Dieses Enzym wird sowohl bei mastzellähnlichen Zellen (HMC-1) als auch in Mastzellen des Atemtrakts nachgewiesen. Es handelt sich dabei um zwei verschiedene Unterformen, γ I und γ II (12). Anders als die α - und die β -Tryptase besteht die γ -Tryptase aus einer großen hydrophoben C-terminalen Domäne und einem kleinen cytoplasmatischen Anteil. Auf Grund dieser

Beobachtung ist es möglich, dass es sich um so genannte Transmembranproteine handelt, welche entweder in der Plasmamembran oder den Membranen der sekretorischen Granula verankert sind. Eine weitere Transmembrantrypcase (TMT), zu 98-99% ähnlich der γ -Trypcase, konnte anhand von Studien identifiziert werden (100). Interessant ist die Tatsache, dass es im Rahmen der Mastzelldegranulation zu einer Migration der TMT zur Plasmamembran kommt (99). Möglicherweise befindet sich die TMT/ γ -Trypcase mit der aktiven Seite nach innen gerichtet in der Membran der ruhenden sekretorischen Granula. Durch die Degranulation kommt es dann zur Verschmelzung der Granulamembran mit der Plasmamembran und der aktive Teil der Trypcase wird nach außen exponiert. Der wirkliche Grund für die Membraninsertion der TMT/ γ -Trypcase ist jedoch in vielen Teilen noch vollkommen unklar (32).

δ -Trypcase

Die δ -Trypcase wird hauptsächlich von den Mastzellen des Colons, der Lunge und des Herzens exprimiert. Aber auch HMC-1 Zellen enthalten geringe Mengen des Enzyms (96). Als Unterformen wurden bis jetzt zwei fast identische δ -Trypsasen gefunden, δ I und δ II. Sie unterscheiden sich lediglich in einer Aminosäure (96). Die Vorläuferform der δ -Trypcase umfasst ein Stoppcodon, woraus ein wesentlich kürzeres Endprotein resultiert. Wahrscheinlich beeinflusst gerade diese spezifische Modifikation die δ -Trypcase signifikant (96).

Die Gensequenzen, welche die menschliche Trypcase kodieren, liegen zusammen mit anderen Serinproteasen in der Nähe des Endes des kurzen Arms von Chromosom 16 (58; 59; 61; 95). Als erstes beschrieben wurde die Struktur der β -Trypcase (95). Genau wie sie bestehen alle menschlichen Mastzellgene aus sechs Exons und fünf Introns. Die α - und β -Trypcasegene sind dabei, bis auf eine Deletion der α -Trypcase im Intron 4, fast identisch (61). Die Allele der β I- und β II-Trypcase liegen zusammen auf einem Genlocus. Zwar auch zusammen, jedoch auf einem anderen, separaten Genlocus sind die Allele

der β III- und α - Tryptase zu finden (10; 61). Auch die beiden γ - Tryptaseformen, I und II, stellen Allelvarianten auf dem selben Locus dar (12). Ihre genetische Struktur ist eng verbunden mit der des menschlichen Prostasin (103). Dabei handelt es sich um eine Serinprotease, welche in verschiedenen Geweben, unter anderem der Prostata, der Leber, der Niere, der Lunge und dem Pankreas zu finden ist (102). Die Organisation der Gene der δ - Tryptase stellt sich ähnlich der α - und β -Tryptasen dar. So befinden sich die zwei Unterformen, I und II, ebenfalls in enger Nachbarschaft (96).

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 Patientenkollektiv

2.1.1 Auswahl und Gruppierung des Patientenkollektivs

Für die Studie wurden 82 Personen erfasst, die auf Grund einer ungeklärten Todesursache im Institut für Rechtsmedizin der Universität Münster in der Zeit vom 16.09.2002 bis zum 04.01.2003 obduziert wurden. Dabei handelte es sich um Personen beiderlei Geschlechts, jeder Nationalität und jeden Alters. Es wurden epidemiologische und klinische Parameter erfasst und jedem Studienteilnehmer eine eindeutige Identifizierungsnummer zugeteilt. Besonderer Wert wurde auf die Erfassung von etwaigen Besonderheiten in der Vorgeschichte sowie Auffälligkeiten bei der Sektion gelegt. Zusätzlich wurde bei jedem der zeitliche Abstand zwischen Todeseintritt und Blutentnahme/Analyse schriftlich dokumentiert.

Ausgeschlossen wurden Verstorbene < 18 Jahren, Personen mit unvollständigen Datenangaben sowie Nichteuropäer. Drei Fälle wurden aus der Studie herausgenommen, da bei ihnen postmortal keine Tryptasewerte bestimmt wurden. Nach Anwendung dieser Kriterien gingen letztlich von den anfänglich 82 Fällen insgesamt 70 in die statistische Auswertung ein.

2.1.2 Epidemiologische und klinische Parameter der untersuchten Personen

Zur Beschreibung des Patientenkollektivs wurden bei jedem Verstorbenen Geschlecht, Körpergewicht, Körpergröße und Nationalität erfasst.

Der Body Mass Index (BMI) wurde nach folgender Formel berechnet:

$$\text{BMI} = \text{Körpergewicht in kg} / (\text{Körpergröße in m})^2$$

Bei der Beurteilung des BMI wurde die in Europa und den USA gebräuchliche Einteilung verwendet.

Tabelle 1: Einteilung des BMI (kg/m²) in Gewichtsklassen

Gewichtsklassifikation (Europa, USA)	BMI (kg/m ²)
Normalgewicht	18,5-24,9
Übergewicht (Präadipositas)	25,0-29,9
Adipositas Grad I	30,0-34,9
Adipositas Grad II	35,0-39,9
Adipositas Grad III	40 oder mehr

Anhand des Geburtsdatums und des Sterbezeitpunktes konnte das jeweilige Alter bestimmt werden. Dieses wurde anschließend für die Analyse in eine von insgesamt sechs Altersgruppen eingeteilt.

Während der Obduktion wurde Blut aus der Vena femoralis entnommen und dieses dem Labor der Hautklinik der Westfälischen Wilhelms- Universität Münster zur Tryptasewertbestimmung zugeführt. Die Zeitspanne zwischen Todeseintritt und Serumentnahme konnte dem patientenbezogenen Fragebogen entnommen werden.

Mit Hilfe des abschließenden, vollständigen Sektionsberichtes wurden die Todesursache sowie besondere Auffälligkeiten erfasst. Das Augenmerk lag hierbei auf Befunden wie prämortalen Knochenbrüchen, Blutungen und Hämatomen. Während der Obduktion wurde sowohl das Herz als auch die Leber gewogen und das jeweilige Gewicht notiert. Diese Parameter, sowie die Aussagen über sonstige Besonderheiten von Herz oder Leber, gingen ebenfalls in unsere Auswertung mit ein. Um den Gefäßstatus zu bestimmen, wurden

sowohl die Koronargefäße als auch die übrigen großen Arterien auf ihre Lumenveränderungen hin untersucht. Anhand dieser Stenosegrade (in %) ließen sich Koronarsklerose und Arteriosklerose in drei Schweregrade einteilen.

Tabelle 2: Einteilung der Gefäßstenosen (%) in Schweregrade

Schweregrad	Stenose (%)
Grad I	25 - 49
Grad II	50 - 74
Grad III	75 - 99

Durch zusätzliche Blutuntersuchungen konnte bestimmt werden in wie weit ein prämortaler Alkoholkonsum mit Blutalkoholspiegeln $> 0,00\%$ stattfand. Auch der prämortale Gebrauch von Heroin und Kokain konnte anhand von Blutproben nachgewiesen werden. Zusätzliche Informationen über prämortale Maßnahmen wie intensivmedizinische Betreuung oder Reanimation mit kardiopulmonaler Kompression und Defibrillation konnten den Akten entnommen werden und flossen ebenfalls in die Studie ein.

2.2 Datenerhebung

2.2.1 Fragebogen zur Obduktion

Im Rahmen der Vorbereitungen der Studie wurde, in Absprache mit dem Institut für Rechtsmedizin der Westfälischen Willhelms- Universität Münster, ein Fragebogen entworfen, welcher im Rahmen der Obduktion vom jeweiligen Arzt ausgefüllt wurde. Hierbei handelte es sich um eine DIN A4 Seite mit insgesamt neun Unterpunkten.

Die ersten vier Fragen dienten der Erfassung der Identifikationsnummer des Falls sowie persönlicher Daten wie Geburtsdatum, Geschlecht und Nationalität. Diesem schloss sich die Evaluation von Anzeichen möglicher Vorerkrankungen sowie chronischer Erkrankungen an. Insbesondere fielen hierunter Fragen nach

Anzeichen für allergische Reaktionen beziehungsweise Anaphylaxie, sowie nach Anhaltspunkten für eine systemische oder kutane Mastozytose. Da im Rahmen dieser Erkrankungen schon mit einem erhöhten Tryptasespiegel gerechnet werden muss, wurden hierauf speziell eingegangen.

Bei den Antwortmöglichkeiten konnte jeweils zwischen „ja“ „nein“ und „keine Angabe“ gewählt werden. Im Laufe der Auswertung zeigte sich allerdings, dass bei diesen Parametern in allen Fällen die Antwort „nein“ beziehungsweise „keine Angaben“ angekreuzt wurde. Dementsprechend wurden diese Fragen nicht in die Auswertung aufgenommen.

Im letzten Teil des Fragebogens ging es um die zeitliche Erfassung des Abstands zwischen dem Todeszeitpunkt und der Serumgewinnung zur Tryptasewertbestimmung im Rahmen der Sektion. Angegeben wurde dieser in Stunden.

2.2.2 Aktenstudium

Zur Erstellung eines möglichst vollständigen Datenbilds wurden die abschließenden Obduktionsberichte des Instituts für Rechtsmedizin der Westfälischen Wilhelms- Universität Münster sowie die beiliegenden Unterlagen über Vorgeschichte und Todesumstände herangezogen.

Diese lieferten wichtige Informationen vor allem in Bezug auf etwaige Auffälligkeiten wie Knochenbrüche, Blutungen und Hämatome. Das Sektionsprotokoll beinhaltet zudem Aussagen zum spezifischen Herz- und Lebergewicht. Zusätzlich wurden Auffälligkeiten oder Anomalien erfasst, welche jedoch nicht differenziert in die Analyse miteinbezogen wurden. Die Obduktion umfasste ebenfalls die genaue Betrachtung des Gefäßstatus von Koronarien und der übrigen großen Gefäßen. Dabei wurden vor allem die jeweiligen Stenosegrade bestimmt und diese vermerkt. Auch die Evaluation von prämortalem Alkohol- beziehungsweise Drogenkonsum war durch das Aktenstudium möglich. Anhand der Blutanalysen konnte dabei zwischen den verschiedenen Rauschmitteln wie Heroin und Kokain unterschieden werden.

In wie weit eine Person vor ihrem Tod reanimiert wurde oder ob eine prämortale intensivmedizinische Betreuung erfolgte, konnte ebenfalls den jeweiligen Akten entnommen werden.

2.3 Tryptasewertermittlung

Die Tryptase stellt einen im Blut nachweisbaren Parameter dar. Nach ihrer Einlieferung in das Institut für Rechtsmedizin der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster wurde jedem Verstorbenen im Rahmen der Obduktion eine Blutprobe aus der Vena femoralis entnommen. Diese wurde anschließend in das Labor der allergologischen Abteilung der Klinik und Poliklinik für Hautkrankheiten der Universitätsklinik Münster gebracht und dort der Analyse zugeführt. Die Analyse erfolgte mittels des ImmunoCAP™ Tryptase der Firma Phadia. Hierbei liegt die obere Bestimmungsgrenze bei 200µg/l, so dass alle höheren Werte als > 200 µg/l angegeben wurden. Für die statistischen Berechnungen wurde jeweils der Wert 200 µg/l verwendet. Die so ermittelten Tryptasewerte konnten dann anhand ihrer jeweiligen Identifizierungsnummer wieder zugeordnet werden. Da bisher kein gängiges Verfahren zur Differenzierung der verschiedenen Tryptaseunterformen zur Verfügung steht, bestimmten wir die jeweilige Gesamtryptase im gewonnenen Serum.

2.4 Statistische Verfahren

Die statistische Auswertung wurde computergestützt mit dem Programm SPSS Version 11.0 aus dem Jahr 2001 für Microsoft WINDOWS durchgeführt. Für die deskriptive Statistik wurden arithmetisches Mittel, Standardabweichung des Mittelwertes, Median, Minimal- und Maximalwert, Spannweite sowie die Häufigkeiten ermittelt.

Die demographischen Patientendaten wurden als Mittelwerte, die Ergebnisse der Tryptasewerte als Median ausgedrückt. Beim Vergleich zweier Stichproben hinsichtlich zentraler Tendenz wurde der parametrische t-Test für unabhängige Stichproben verwendet. Analog wurde bei nicht parametrischen unabhängigen Stichproben der Mann-Whitney-U-Test zur Prüfung auf Signifikanz ($p < 0,05$) herangezogen. Eine vorherig durchgeführte Prüfung auf Normalverteilung erfolgte mittels des Kolmogorof-Smirnov Testverfahrens. Zur Analyse der Gruppenvariablen verwendeten wir den Chi-Quadrat-Test. Zur Ermittlung etwaiger Abhängigkeiten zwischen den verschiedenen überprüften Faktoren welche auf die Tryptasewerte einen signifikanten Einfluss haben, verwendeten wir die Logistische Regressionsanalyse.

3 ERGEBNISSE

3.1 Epidemiologische und allgemeine Patientendaten

In die Studie eingeschlossen wurden 24 Frauen und 46 Männer mit einem Durchschnittsalter von $49,1 \pm 18,9$ Jahren. Die Frauen waren im Mittel $56,3 \pm 19,4$ Jahre alt, die Männer $45,3 \pm 17,7$ Jahre. Es besteht kein statistisch signifikanter Unterschied in Bezug auf das Alter.

Der aus Körpergröße und Gewicht berechnete BMI betrug zwischen $13,06 \text{ kg/m}^2$ und $41,55 \text{ kg/m}^2$. Der Durchschnitt ergab sich bei $26,5 \pm 5,6 \text{ kg/m}^2$ und lag damit im Bereich des Übergewichts (Präadipositas). Ein statistisch signifikanter Unterschied des BMI zwischen Frauen und Männern ($25,3 \pm 6,3 \text{ kg/m}^2$ gegenüber $26,4 \pm 5,2 \text{ kg/m}^2$) ließ sich nicht feststellen.

3.2 Statistische Auswertung der ermittelten Tryptasewerte

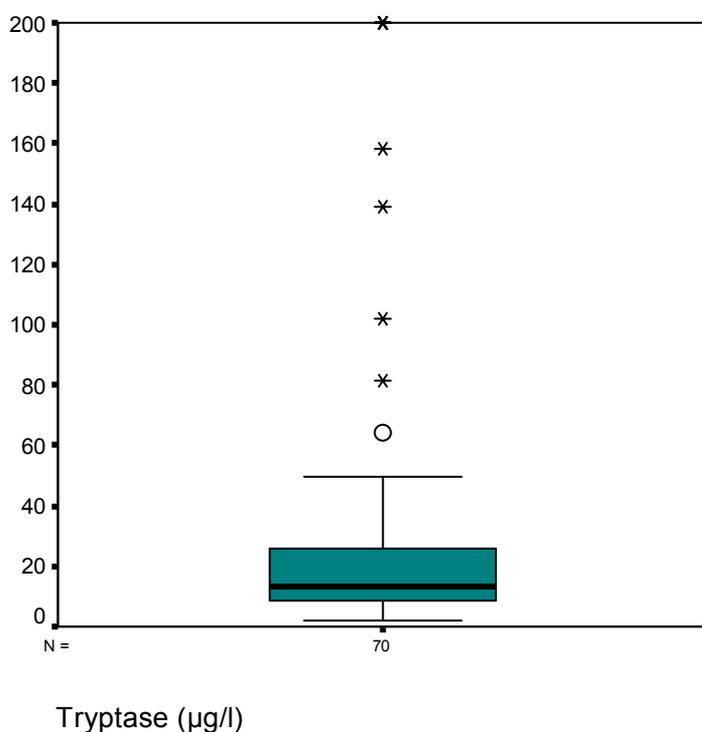
Die im Institut für Rechtsmedizin der Westfälischen Wilhelms- Universität Münster im Rahmen der Obduktion entnommenen 70 Serumproben wurden im Anschluss im Labor der Allergologischen Abteilung der Klinik und Poliklinik für Hautkrankheiten der Universitätsklinik Münster auf ihre Tryptasekonzentration hin untersucht.

Wie aus Tabelle 3 ersichtlich, fanden wir bei der Analyse Tryptasekonzentrationen zwischen $1,85 \text{ } \mu\text{g/l}$ und $\geq 200 \text{ } \mu\text{g/l}$, wobei der Median bei $13,10 \text{ } \mu\text{g/l}$ lag. Grafik 1 zeigt den Boxplot der postmortal ermittelten Tryptasewerte ($\mu\text{g/l}$).

Tabelle 3: Statistische Auswertung der Tryptasewerte

N=70		Tryptase (µg/l)	Standardfehler
Mittelwert		32,46	5,97
95% Konfidenzintervall des Mittelwertes	Untergrenze	20,55	
	Obergrenze	44,37	
5% getrimmtes Mittel		24,80	
Median		13,10	
Varianz		2494,70	
Standardabweichung		49,95	
Minimum		1,85	
Maximum		≥ 200,00	
Spannweite		198,15	

Grafik 1: Boxplot der postmortal ermittelten Tryptasewerte (µg/l)



Als erhöht gelten alle Tryptasewerte $\geq 11,4$ µg/l. Dies traf bei 41 der insgesamt 70 Fälle zu. Ihr medianer Tryptasewert lag bei 23,60 µg/l (Tabelle 4). Die übrigen 29 Personen zeigten einem Median von 8,06 µg/l (Tabelle 5).

Tabelle 4: Deskriptive Auswertung der postmortal erhöhten Tryptasewerte

N=41		Tryptase ($\mu\text{g/l}$)	Standardfehler
Mittelwert		49,90	9,29
95% Konfidenzintervall des Mittelwertes	Untergrenze	31,11	
	Obergrenze	68,70	
5% getrimmtes Mittel		43,68	
Median		23,60	
Varianz		3545,95	
Standardabweichung		59,54	
Minimum		11,7	
Maximum		$\geq 200,00$	
Spannweite		188,3	

Tabelle 5: Deskriptive Auswertung der postmortal nicht erhöhten Tryptasewerte

N=29		Tryptase ($\mu\text{g/l}$)	Standardfehler
Mittelwert		7,79	,45
95% Konfidenzintervall	Untergrenze	6,85	
	Obergrenze	8,73	
5% getrimmtes Mittel		7,93	
Median		8,06	
Varianz		6,08	
Standardabweichung		2,46	
Minimum		1,85	
Maximum		11,1	
Spannweite		9,3	

3.3 Zusammenhang zwischen Tryptasewerten und epidemiologischen sowie klinischen Befunden

3.3.1 Geschlecht

Bei den 70 in die Studie aufgenommenen Personen handelt es sich in 46 Fällen um Männer und in 24 um Frauen. Bezogen auf die zugehörigen Tryptasewerte ergab sich für das männliche Geschlecht ein Median von 14,60 $\mu\text{g/l}$ und für das weibliche einer von 11,05 $\mu\text{g/l}$. Ein signifikanter statistischer Unterschied konnte nicht nachgewiesen werden. Tabelle 6 zeigt die statistische Auswertung der Tryptasewerte ($\mu\text{g/l}$) in Bezug auf das Geschlecht.

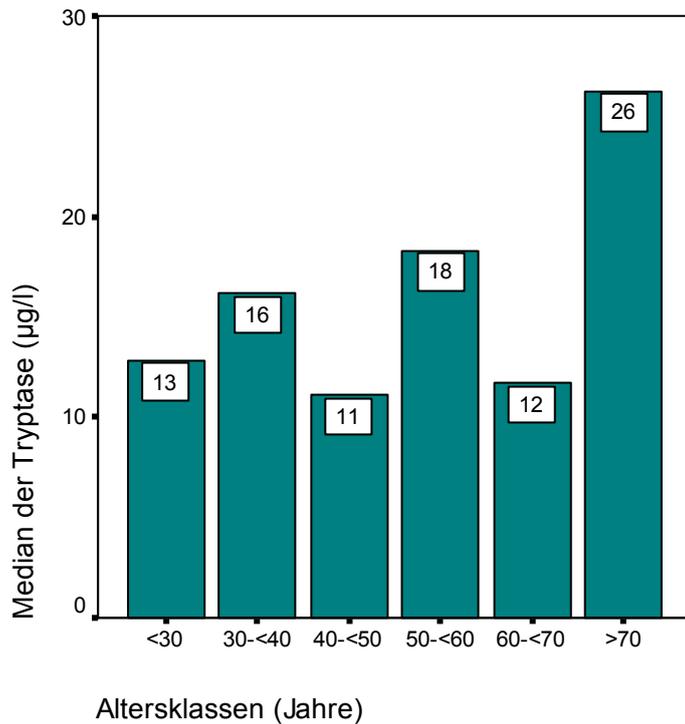
Tabelle 6: Statistik der Tryptasewerte ($\mu\text{g/l}$) in Bezug auf das Geschlecht

<i>Geschlecht</i>			<i>Tryptase ($\mu\text{g/l}$)</i>	<i>Standardfehler</i>
Männlich (N=46)	Mittelwert		34,4578	7,81575
	95% Konfidenzintervall des Mittelwertes	Untergrenze	18,7161	
		Obergrenze	50,1996	
	5% getrimmtes Mittel		27,0008	
	Median		14,6000	
	Varianz		2809,955	
	Standardabweichung		53,00901	
	Minimum		2,28	
	Maximum		$\geq 200,00$	
	Spannweite		197,72	
	Weiblich (N=24)	Mittelwert		28,6308
95% Konfidenzintervall des Mittelwertes		Untergrenze	9,9218	
		Obergrenze	47,3399	
5% getrimmtes Mittel			21,4738	
Median			11,0500	
Varianz			1963,080	
Standardabweichung			44,30666	
Minimum			1,85	
Maximum			$\geq 200,00$	
Spannweite			198,15	

3.3.2 Alter

Das Alter der in die Studie aufgenommenen Personen wurde anhand der Geburtsdaten ermittelt und dann zur besseren Differenzierung in sechs verschiedene Altersklassen aufgeteilt. Die erste und zweite Gruppe umfassen jeweils 12 (17,1%) Patienten im Alter von <30 sowie $30-<40$ - Jahren. In die Altersklasse der $40-<50$ - Jährigen fielen 15 (21,4%), in die der $50-<60$ - Jährigen 8 (11,4%) und in die Gruppe der $60-<70$ - Jährigen 15 (21,4%) Personen. Der letzten Altersklasse gehören 8 (11,4%) Personen mit einem Alter ≥ 70 Jahre an. Die Analyse im Zusammenhang mit den gemessenen Tryptasewerten gibt die Grafik 2 wieder. Dabei wurden die höchsten Werte bei den Personen über 70 Jahren gefunden. Ihr Median zeigte sich bei $26,25 \mu\text{g/l}$. In den übrigen Altersklassen fielen ebenfalls Tryptaseerhöhungen über den Grenzwert auf. So lag der Median für die Gruppe der <30 - Jährigen bei $12,80 \mu\text{g/l}$ und für die der $30-<40$ - Jährigen bei $16,15 \mu\text{g/l}$. In der Klasse der $50-<60$ - Jährigen und der Personen mit einem Alter von mehr als $60-<70$ Jahren, ergaben sich mediane Tryptasewerte von $18,30 \mu\text{g/l}$ sowie $11,70 \mu\text{g/l}$. Den geringsten Medianwert erzielte die Gruppe der $40-<50$ - Jährigen mit $11,10 \mu\text{g/l}$ (Grafik 2).

Grafik 2: Balkendiagramm der Altersklassen und ihrer medianen Tryptasewerte ($\mu\text{g/l}$)



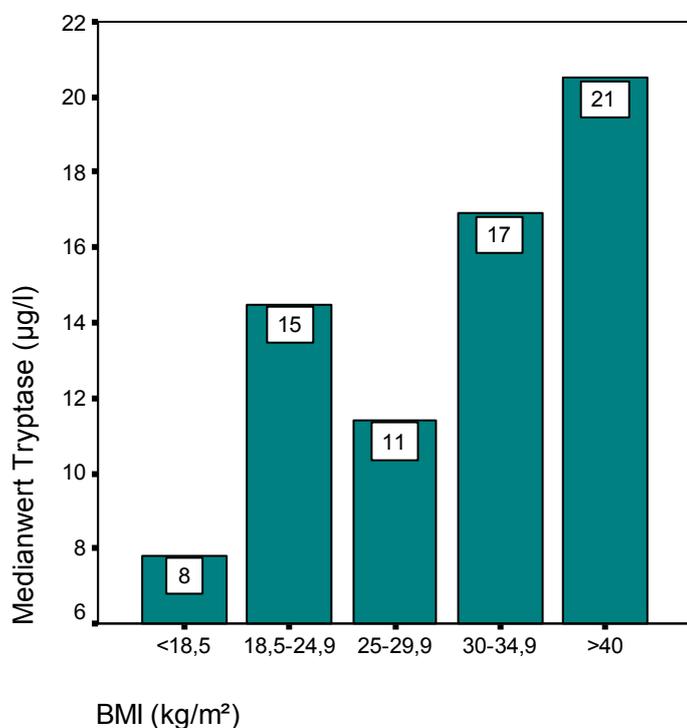
3.3.3 BMI

Bei allen 70 Personen der Studie konnte anhand der Körpergröße und des Gewichts der BMI berechnet werden. Anhand der allgemein verwendeten Einteilung wurde dieser in verschiedene BMI- Klassen untergegliedert.

Untergewicht, mit einem BMI von weniger als $18,5 \text{ kg/m}^2$, wurde bei 5 (7,0%) Personen festgestellt. Als normalgewichtig, BMI zwischen $18,5 \text{ kg/m}^2$ und $24,9 \text{ kg/m}^2$, wurden 25 (35,6%) Personen eingestuft. Die 24 (34,3%) Personen mit einem BMI zwischen $25,0 \text{ kg/m}^2$ und $29,9 \text{ kg/m}^2$ fielen in die Grenzen des Übergewichts (Präadipositas). Eine Adipositas Grad I mit BMI- Werten von $30,0-34,9 \text{ kg/m}^2$, zeigte sich in 13 (18,6%) Fällen. Im Bereich von $35,0-39,9 \text{ kg/m}^2$ liegenden BMI-Werte wurden bei 1 (1,3%) Person ermittelt und laut Einteilung als Adipositas Grad II bezeichnet. Der BMI von $40,0 \text{ kg/m}^2$, die Grenze zur Adipositas Grad III, wurde von 2 (2,8%) Personen überschritten.

Wie aus der Grafik 3 entnommen werden kann wiesen die höchsten Tryptasewerte, mit einem medianen Tryptasewert von 20,5 µg/l, die Personen mit Adipositas Grad III auf. Die geringsten Werte wurden bei den Untergewichtigen gefunden. Hier lag der Medianwert bei 7,8 µg/l. Die Tryptase der Personen mit einer Präadipositas ergaben einen medianen Wert von 11,4 µg/l. In der Gruppe der Leute mit Adipositas Grad I lagen diese bei 16,9 µg/l. Da nur eine Person eine Adipositas Grad II aufwies, konnte in dieser Gruppe kein Median bestimmt werden. Für die Fälle in welchen Normalgewicht nachgewiesen wurde, zeigte sich der Median bei 14,5 µg/l (Grafik 3).

Grafik 3: Balkendiagramm der BMI-Klassen und ihrer medianen Tryptasewerte (µg/l)



3.3.4 Zeitlicher Abstand zwischen Todeseintritt und Serumgewinnung

Anhand des bei der Obduktion erhobenen Fragebogens wurde der zeitliche Abstand von Todeseintritt bis zur Serumgewinnung und Analyse ermittelt. Die Auswertung zeigte eine kürzeste Zeitspanne von 7 Stunden und eine längste von 196 Stunden. Der Durchschnitt betrug $40,9 \pm 31,8$ Stunden.

Um eine bessere Übersicht zu erreichen, wurden die einzelnen Zeiten in verschiedenen Gruppen zusammengefasst und auf ihre Tryptasewerte hin untersucht. Wie der Grafik 4 und der Tabelle 7 zu entnehmen ist, stiegen mit zunehmendem zeitlichem Abstand zwischen Tod, Serumgewinnung und Analyse auch die Serumtryptasespiegel an. So wurden mit 9,42 µg/l die niedrigsten Medianwerte bei den 25 Seren ermittelt, die in einem Zeitraum von 0 bis 24 Stunden untersucht wurden. Für den Bereich von 25 bis 48 Stunden lag der aus 24 Proben bestimmte Median bei 12,80 µg/l. Nach 49 bis 72 Stunden betrug dieser für die 12 Fälle dieser Gruppe 18,25 µg/l. Lag der zeitliche Abstand von Todeseintritt und Serumgewinnung bei 73 bis 96 Stunden wurden mediane Tryptasewerte von 45,15 µg/l gefunden. Hierunter fielen 6 Seren. Die höchsten Werte wurden bei jenen Proben gemessen, welche mehr als 96 Stunden nach dem Todeseintritt entnommen und analysiert wurden. Ihr Median ergab sich bei 200,00 µg/l (Grafik 4, Tabelle 7).

Grafik 4: Balkendiagramm der Zeitabstände zwischen Tod und Serumgewinnung (h) mit den zugehörigen medianen Tryptasewerten (µg/l)

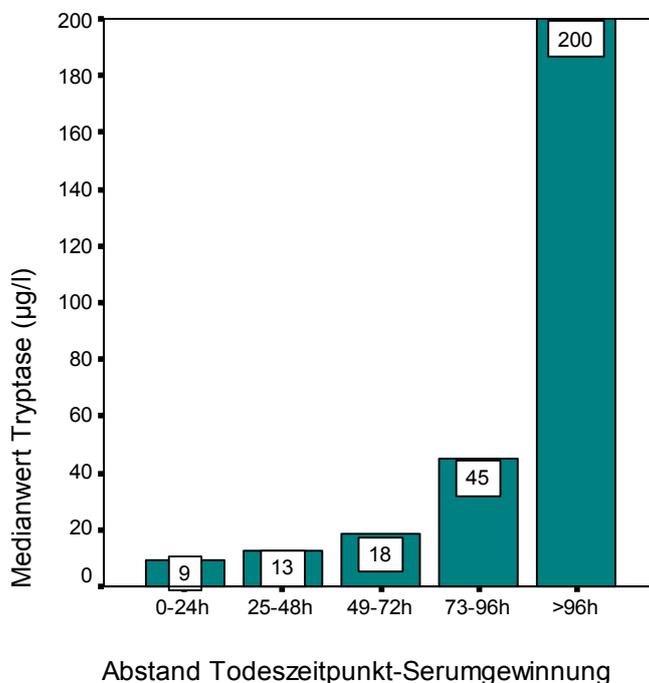


Tabelle 7: Statistische Darstellung der Zeitabstände zwischen Tod und Serumgewinnung (h) in Bezug auf die ermittelten Trypsasewerte ($\mu\text{g/l}$)

Abstand Todeszeitpunkt-Serumgewinnung (h)			Trypsase ($\mu\text{g/l}$)	Standardfehler
0-24h (N= 25)	Mittelwert		12,23	1,54
	95% Konfidenzintervall des Mittelwertes	Untergrenze	9,04	
		Obergrenze	15,42	
	5% getrimmtes Mittel		11,53	
	Median		9,42	
	Varianz		59,71	
	Standardabweichung		7,72	
	Minimum		3,5	
	Maximum		34,0	
Spannweite		30,5		
25-48h (N= 24)	Mittelwert		17,59	2,66
	95% Konfidenzintervall des Mittelwertes	Untergrenze	12,09	
		Obergrenze	23,10	
	5% getrimmtes Mittel		16,74	
	Median		12,80	
	Varianz		169,81	
	Standardabweichung		13,03	
	Minimum		1,9	
	Maximum		49,5	
Spannweite		47,7		
49-72h (N= 12)	Mittelwert		52,33	20,71
	95% Konfidenzintervall des Mittelwertes	Untergrenze	6,73	
		Obergrenze	97,92	
	5% getrimmtes Mittel		46,90	
	Median		18,25	
	Varianz		5149,68	
	Standardabweichung		71,76	
	Minimum		2,3	
	Maximum		> 200,0	
Spannweite		197,7		
73-96h (N=6)	Mittelwert		62,85	23,69
	95% Konfidenzintervall des Mittelwertes	Untergrenze	1,93	
		Obergrenze	123,76	
	5% getrimmtes Mittel		60,43	
	Median		45,15	
	Varianz		3369,49	
	Standardabweichung		58,04	
	Minimum		11,1	
	Maximum		158,0	
Spannweite		146,9		
>96h (N= 3)	Mittelwert		179,66	20,33
	95% Konfidenzintervall des Mittelwertes	Untergrenze	92,17	
		Obergrenze	267,15	
	5% getrimmtes Mittel			
	Median		200,00	
	Varianz		1240,33	
	Standardabweichung		35,21	
	Minimum		139,0	
	Maximum		> 200,0	
Spannweite		61,0		

3.3.5 Todesursache

Mit Hilfe der ausführlichen Obduktionsunterlagen wurde die jeweils zum Tode führende Ursache erfasst. Dies war mit Ausnahme von 5 (7,1%) Personen bei allen Fällen möglich.

Die ermittelten Todesursachen waren in 21 Fällen (30,0%) kardiologisch/hämodynamisch, in 15 Fällen (21,4%) durch Intoxikation, in 8 Fällen (11,4%) durch Hirnversagen, in 7 Fällen (10,0%) durch Verbluten, in 5 Fällen (7,1%) durch Strangulation/Ersticken, in 5 Fällen (7,1%) durch Polytrauma, in 2 Fällen (2,9%) durch Infektionen/Sepsis, in 1 Fall (1,4%) durch Ertrinken und in 1 Fall (1,4%) durch eine Stoffwechselerkrankung bedingt.

Eine Analyse der Tryptasewerte wurde nur in den Fällen mit kardiologisch/hämodynamischer Ursache sowie bei Tod durch Intoxikationen durchgeführt. In den restlichen Fällen wurde auf eine Untersuchung verzichtet, da es sich um zu geringe Fallzahlen handelt.

3.3.5.1 Kardiologisch/Hämodynamisch

Unter diesen Punkt fielen zwei verschiedene Todesumstände. Zum einen 15 Fälle von Myokardinfarkt, zum anderen 6 Fälle von akutem Herz-Kreislaufversagen ohne erkennbare Ursache.

Bei den insgesamt 21 Fällen in denen kardiologische bzw. hämodynamische Ursachen zum Tod führten, lag der mediane Tryptasewert bei 11,80 µg/l. Im Gegensatz dazu ergab sich bei den übrigen 49 Proben ein medianer Wert von 14,70 µg/l. Ein statistisch signifikanter Unterschied zeigte sich nicht.

3.3.5.2 Intoxikation

Die Serumproben der 15 Todesfälle in denen als Ursache eine Intoxikation mit verschiedensten Stoffen, unter anderem Kohlenmonoxid, Alkohol und Heroin nachgewiesen wurde, ergaben einen Tryptasemedian von 12,90 µg/l. Der

Medianwert der übrigen Proben lag bei 13,30 µg/l. Ein statistisch signifikanter Unterschied konnte nicht nachgewiesen werden.

3.3.6 Prämortaler Drogenkonsum

Anhand des Aktenstudiums sowie durch die Analyse von postmortal entnommenen Blutproben konnte bei 10 (14,3%) der obduzierten Personen der prämortale Konsum von Drogen eruiert werden. Hierbei handelte es sich sowohl um Heroin als auch um Kokain. Die Tryptasespiegel zeigten hierbei einen Median von 41,50 µg/l. Bei den 60 (85,7%) drogenfreien Seren lag der Median bei 12,35 µg/l.

Der U- Test nach Mann und Whitney zum nichtparametrischen Vergleich zweier unabhängiger Stichproben zeigte hierbei einen signifikanten Unterschied in der Höhe der gemessenen Tryptasewerte bei Personen mit prämortalem Drogenkonsum und solchen ohne (Tabelle 8, Grafik 5).

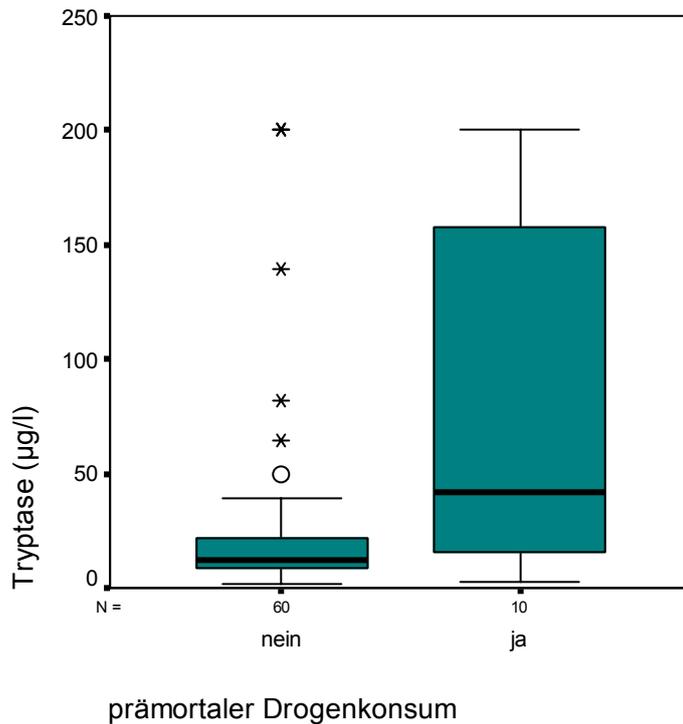
Tabelle 8: Statistik zum nichtparametrischen Vergleich der zwei unabhängigen Stichproben prämort. Drogenkonsum/ erhöhte Tryptase (µg/l)

<i>Tryptase (µg/l)</i>	<i>Drogenkonsum</i>	<i>N</i>	<i>Mittlerer Rang</i>	<i>Rangsumme</i>
	nein	60	32,98	1979,00
	ja	10	50,60	506,00
	Total	70		
Mann-Whitney U		149,000		
Wilcoxon W		1979,000		
Z		-2,535		
Asymp.Sig. (2-tailed)		,011		

a Gruppenvariable: prämort. Drogenkonsum

Signifikanzniveau $p < 0,05$

Grafik 5: Boxplot der Tryptase ($\mu\text{g/l}$) in Bezug auf prämortalen Drogenkonsum



3.3.7 Prämortale Alkoholeinnahme

Allen untersuchten Personen wurde nach ihrem Tod Blut aus der Femoralvene entnommen und auf seinen Alkoholspiegel hin untersucht. Bei 15 (21,4%) der für die Studie erfassten Verstorbenen war das Ergebnis positiv. In diesen Fällen wurde eine mediane Tryptase von 9,79 $\mu\text{g/l}$ bestimmt.

Bei den 55 (78,6%) Personen ohne prämortalen Alkoholkonsum zeigte sich ein Median von 14,50 $\mu\text{g/l}$. Ein signifikanter statistischer Unterschied ergab sich nicht.

3.3.8 Blutungen

Durch das Studium der jeweiligen Akten sowie des zugehörigen Obduktionsprotokolls wurde erfasst, ob es vor oder nach Eintritt des Todes zu

etwaigen Blutverlusten kam. Dies konnte in 33 (47,1%) Fällen nachgewiesen werden. In Bezug auf die gemessenen zugehörigen Tryptasewerte ergab sich ein Median von 14,70 µg/l. Bei den übrigen 37 (52,9%) Personen der Studie ohne Anzeichen für Blutungen, zeigte sich der Medianwert der Tryptase bei 11,10 µg/l. Ein statistisch signifikanter Unterschied wurde nicht ermittelt.

3.3.9 Hämatome

Bei der Untersuchung der 70 verstorbenen Personen wurde besonders auch auf das Vorhandensein von Hämatomen jeder Größe geachtet. So wiesen 39 Personen (55,7%) Hämatome an den verschiedensten Stellen und Stadien auf. Für die in diesen Fällen gemessene Tryptase ergab sich ein Medianwert von 14,50 µg/l. Die 31 Fälle (44,3%) in denen keine Hämatome gefunden wurden, zeigten einen Tryptasemedian von 11,10 µg/l.

Ein statistisch signifikanter Unterschied wurde nicht gefunden.

3.3.10 Frakturen

Bei der Obduktion wurde besonders darauf geachtet, ob die verstorbene Person Knochenbrüche aufwies. Diese Information wurde dem Sektionsprotokoll entnommen und auf ihren möglichen Zusammenhang mit den Tryptasewerten hin analysiert. Es zeigte sich, dass bei 20 (28,6%) Verstorbenen Frakturen verschiedenster Genese und Schweregrade gefunden wurden. Die ermittelte Tryptase ergab einen Median von 20,40 µg/l. Die Serumproben der restlichen 50 (71,4%) Studienteilnehmer wiesen dagegen deutlich niedrigere Werte mit einem Median von 11,10 µg/l auf.

Der U- Test nach Mann und Whitney zum nichtparametrischen Vergleich zweier unabhängiger Stichproben zeigte einen signifikanten Unterschied in der Höhe der gemessenen Tryptasewerte bei Personen mit Frakturen und bei solchen ohne (Tabelle 9, Grafik 6).

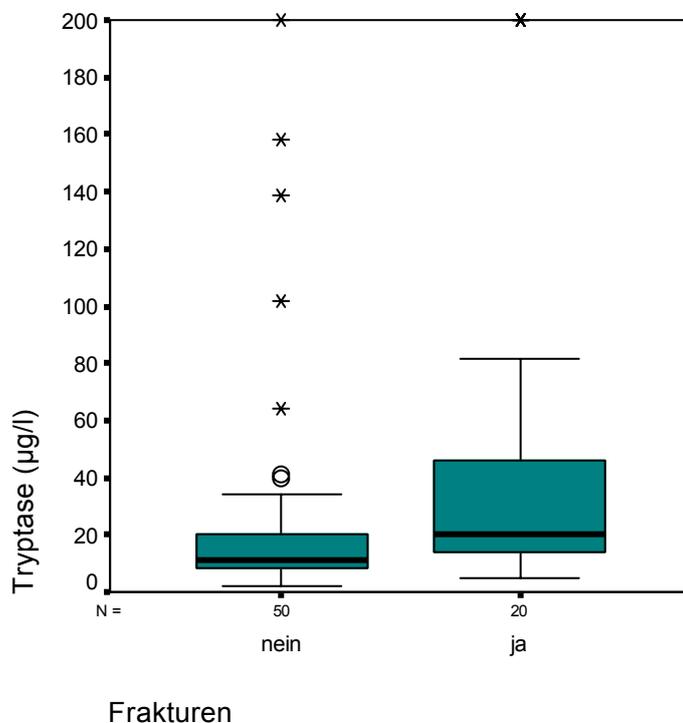
Tabelle 9: Statistik zum nichtparametrischen Vergleich der zwei unabhängigen Stichproben: Frakturen/ erhöhte Tryptase ($\mu\text{g/l}$)

<i>Tryptase ($\mu\text{g/l}$)</i>	<i>Frakturen</i>	<i>N</i>	<i>Mittlerer Rang</i>	<i>Rangsumme</i>
	nein	50	31,42	1571,00
	ja	20	45,70	914,00
	Total	70		
Mann-Whitney U		296,000		
Wilcoxon W		1571,000		
Z		-2,652		
Asymp.Sig. (2-tailed)		,008		

a Gruppenvariable: Frakturen

Signifikanzniveau $p < 0,01$

Grafik 6: Boxplot der Tryptase ($\mu\text{g/l}$) in Bezug auf prämortale Frakturen



3.3.11 Herzgewicht

Bei jedem Verstorbenen wurde im Rahmen der Obduktion das Herzgewicht durch wiegen bestimmt und in den Unterlagen vermerkt. Die gemessenen Werte lagen zwischen 190 und 1210 g, mit einem Mittelwert von $446,5 \pm 158,2$ g. Im Rahmen der Studie wurden die einzelnen Herzgewichte auf ihren allgemeinen Zusammenhang mit Tryptasewerten hin analysiert. Dazu wurden zwei Gruppen gebildet. Zum einen Personen mit einem Herzgewicht $\geq 500\text{g}$ und

zum andern die mit einem Herzgewicht < 500g. In die erste Gruppe fielen 22 (31,3%) der Verstorbenen wobei sich hier ein medianer Tryptasewert von 23,95 µg/l ergab. Für die anderen 48 Personen zeigte sich ein Median von 11,10 µg/l.

Der U- Test nach Mann und Whitney zum nichtparametrischen Vergleich zweier unabhängiger Stichproben zeigte hierbei einen signifikanten Unterschied in der Höhe der gemessenen Tryptasewerte bei Personen mit einem Herzgewicht ≥ 500 g und solchen mit einem Gewicht < 500 g (Tabelle 10, Grafik 7).

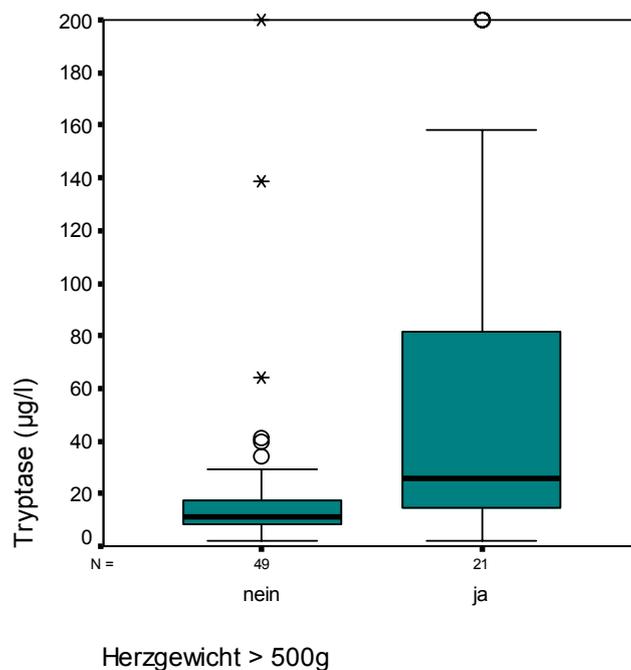
Tabelle 10: Statistik zum nichtparametrischen Vergleich der zwei unabhängigen Stichproben: Herzgewicht ≥ 500 g erhöhte Tryptase (µg/l)

	<i>Herzgewicht >500g</i>	<i>N</i>	<i>Mittlerer Rang</i>	<i>Rangsumme</i>
<i>Tryptase (µg/l)</i>	nein	48	30,85	1481,00
	ja	22	45,64	1004,00
	Total	70		
Mann-Whitney U			305,000	
Wilcoxon W			1481,000	
Z			-2,822	
Asymp.Sig. (2-tailed)			,005	

a Gruppenvariable: Herzgewicht ≥ 500 g

Signifikanzniveau p < 0,01

Grafik 7: Boxplot der Tryptase (µg/l) in Bezug auf ein Herzgewicht ≥ 500 g



3.3.12 Koronarsklerose

Im Rahmen der Obduktion wurden bei allen Verstorbenen die Koronargefäße gezielt auf Stenosen hin untersucht. Bei 45 (64,3%) Personen zeigten sich dabei Verengungen des Lumens in unterschiedlichen Stadien. Die zugehörigen Tryptasespiegel ergaben in diesen Fällen einen Median von 11,80 µg/l. In den 25 Fällen ohne nachweisbare Koronarveränderungen im Sinne einer Stenose lagen die Tryptasewerte bei einem Median von 14,70 µg/l. Ein statistisch signifikanter Unterschied konnte nicht nachgewiesen werden.

Anhand der Sektionsberichte wurden die 45 Fälle in denen eine Koronarsklerose vorlag, abhängig von ihrer Lumeneinengung (%), in 3 Schweregrade eingeteilt. Dabei wiesen 12 Personen (17,1%) eine drittgradige (75-99%), 18 Personen (25,7%) eine zweitgradige (50-74%) und 15 Personen (21,4%) eine nur erstgradige (25-49%) Koronarstenose auf.

3.3.12.1 Koronarsklerose Grad I

Bei der Sektion zeigte sich in 15 Fällen eine Koronarsklerose mit Stenosen von 25-49%. Der mediane Tryptasewert ergab sich hier bei 10,30 µg/l. Für die übrigen 55 Personen, die nicht in diese Gruppe fielen, lag er bei 13,30 µg/l. Ein statistisch signifikanter Unterschied konnte nicht festgestellt werden.

Auch bei der Betrachtung der Personen mit einer Koronarsklerose Grad I im Vergleich mit den 25 Personen ohne jegliche Anzeichen einer Sklerose wurde kein statistisch signifikanter Unterschied nachgewiesen.

3.3.12.2 Koronarsklerose Grad II

Laut Obduktionsprotokoll wiesen 18 der verstorbenen Personen Anzeichen einer Koronarsklerose mit Minderung der Lumenweite von 50-74% auf. Ihre ermittelten Tryptasewerte lagen bei einem Median von 11,05 µg/l. Im

Gegensatz dazu zeigten die anderen 52 Seren einen Median von 14,60 µg/l. Ein statistisch signifikanter Unterschied konnte nicht nachgewiesen werden. Die 18 Personen mit einer zweitgradigen Koronarsklerose sowie die 25 Personen ohne Anzeichen für Koronarsklerose wiesen ebenfalls keinen statistisch signifikanten Unterschied ihrer Tryptasewerte auf.

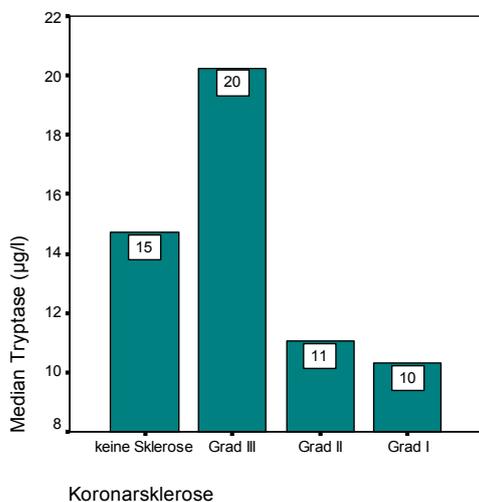
3.3.12.3 Koronarsklerose Grad III

Für die 12 Verstorbenen mit nachgewiesener hochgradiger Koronarsklerose im Bereich von 75-99% ergab sich ein Tryptasemedian von 20,25 µg/l. Die übrigen 58 Proben wiesen einen medianen Wert von 12,85 µg/l auf. Ein statistisch signifikanter Unterschied konnte nicht nachgewiesen werden.

Es fand sich kein statistisch signifikanter Unterschied der Tryptasewerte bei den 12 Personen mit einer Koronarsklerose Grad III und den 25 Personen ohne Koronarsklerose.

Wie aus Grafik 8 ersichtlich, zeigt sich insgesamt ein statistisch nicht signifikanter, Anstieg der durchschnittlichen Tryptasewerte mit zunehmendem Stenosegrad der Koronargefäße.

Grafik 8: Balkendiagramm der medianen Tryptasewerte (µg/l) in Bezug auf die Schweregrade der Koronarsklerose



3.3.13 Arteriosklerose

Die Untersuchung im Rahmen der Sektion umfasste jedes Mal auch die genaue Inspektion des allgemeinen Gefäßstatus des Verstorbenen. Besonders wurde hier auf arteriosklerotische Ablagerungen im Sinne von erkennbaren Stenosen geachtet. Auffälligkeiten wurden im Obduktionsbericht vermerkt.

Die Datenanalyse ergab bei 47 Personen (67,1%) des Gesamtkollektivs pathologische Befunde im Sinne einer Arteriosklerose. Die zugehörigen Seren ergaben einen durchschnittlichen Tryptasewert von $35,0 \pm 53,4 \mu\text{g/l}$. In den 23 Fällen ohne Anzeichen von arteriosklerotischen Ablagerungen in den Gefäßen lag der mittlere Tryptasewert bei $27,1 \pm 42,6 \mu\text{g/l}$. Ein statistisch signifikanter Unterschied konnte nicht nachgewiesen werden.

Eine Einteilung der Arteriosklerose in drei verschiedene Klassen wurde anhand der festgestellten Stenosegrade vorgenommen. In die Gruppe mit Stenosegrad I, Lumeneinengung von 25-49%, fielen 16 Personen (22,9%). Die 19 Fälle (27,1%) mit einem Stenosegrad von 50-74% wurde als Grad II eingestuft. In die Gruppe der hochgradigen Arteriosklerose fielen alle mit Stenosen von 75-99% des Gefäßlumens. Dieser Grad III der Arteriosklerose wurde bei 12 Personen (17,1%) festgestellt.

3.3.13.1 Arteriosklerose Grad I

In den 16 Serumproben der Personen mit geringgradigen Gefäßstenosen von 25-49% des Lumens lag der als Median ermittelte Tryptasewert bei $9,48 \mu\text{g/l}$. Für die übrigen 54 Fälle wurde ein Median von $14,50 \mu\text{g/l}$ bestimmt. Ein statistisch signifikanter Unterschied wurde nicht nachgewiesen.

In Bezug auf die Tryptasewerte der 25 Personen ohne Anzeichen einer Arteriosklerose zeigte sich kein statistisch signifikanter Unterschied zu den 16 Personen mit einer Arteriosklerose Grad I.

3.3.13.2 Arteriosklerose Grad II

Die Gruppe mit Stenosen von 50-74% des Gefäßlumens umfasste 19 Personen. Für sie wurde ein medianer Tryptasespiegel von 11,80 µg/l bestimmt. Bei den anderen 51 Serumproben lag der Medianwert mit 14,50 µg/l etwas höher.

Ein statistisch signifikanter Unterschied der ermittelten Tryptasewerte der 25 Personen ohne Arteriosklerose und der 19 Personen mit einer mittelgradigen Arteriosklerose konnte nicht nachgewiesen werden.

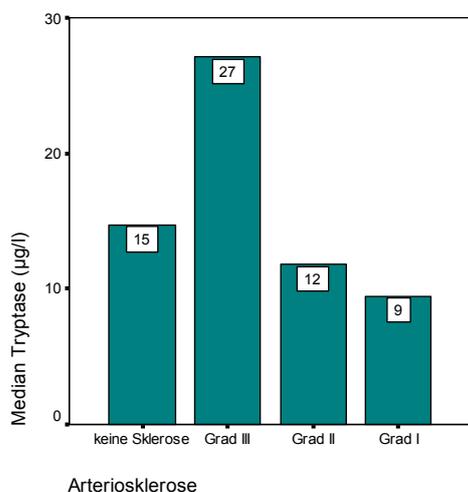
3.3.13.3 Arteriosklerose Grad III

Für die 12 Personen bei denen im Rahmen der Obduktion eine hochgradige Stenose von 75-99% festgestellt wurde, ergab sich ein medianer Tryptasewert von 27,10 µg/l. Dieser lag im Vergleich zu den übrigen 58 Serumproben mit einem Median von 12,80 µg/l deutlich höher.

Der Nachweis eines statistisch signifikanten Unterschieds der Tryptasewerte der 12 Personen mit einer Arteriosklerose Grad III und der Personen ohne jegliche Anzeichen einer Arteriosklerose ließ sich nicht führen.

Wie aus der Grafik 9 ersichtlich, zeigten sich die höchsten Tryptasewerte mit einem Median von 27,10 µg/l bei den Personen mit Stenosen von 75-99% des Gefäßlumens. Es zeigt sich eine, wenn auch nicht statistisch signifikante, treppenförmige Zunahme der Medianwerte. Mit steigendem Stenosegrad wird auch eine höhere Tryptase im Serum gemessen.

Grafik 9: Balkendiagramm der medianen Tryptasewerte ($\mu\text{g/l}$) in Bezug auf die Schweregrade der Arteriosklerose



3.3.14 Veränderungen der Leber

Anhand der Sektionsberichte konnte sowohl das Lebergewicht als auch etwaige Leberauffälligkeiten wie Verfettung, Sklerose und Zirrhose eruiert werden. Diese Angaben wurden analysiert und auf ihren Zusammenhang mit den ermittelten Tryptasewerten hin untersucht. Die bestimmten Lebergewichte lagen im Bereich von 980-3850 g. Ihr Mittelwert ergab sich bei $1815,0 \pm 591,0$ g. Als Grenze zur Hepatomegalie gilt beim erwachsenen Menschen ein Lebergewicht von 1500 g. Über diesem Wert lagen 43 (61,4%) der untersuchten Personen. Für sie ergab sich ein medianer Tryptasewert von $12,80 \mu\text{g/l}$. In den anderen 27 (38,6%) Fällen ergab die Analyse einen Median von $14,70 \mu\text{g/l}$. Ein statistisch signifikanter Unterschied konnte nicht festgestellt werden.

3.3.15 Prämortale intensivmedizinische Betreuung

Um zu beurteilen in wie weit die Behandlung unter intensivmedizinischen Bedingungen einen Einfluss auf die Tryptasewerte besitzt wurde dieser Parameter für jeden der 70 Studienteilnehmer erfasst. Die Auswertung ergab,

dass 21 (30,0%) Personen der Studie vor ihrem Tod auf einer Intensivstation betreut wurden. Ihr medianer Tryptasewert im Serum lag bei 22,40 µg/l. Die 49 (70,0%) Verstorbenen ohne prämortale intensivmedizinische Betreuung wiesen einen Median von 11,90 µg/l auf. Ein statistisch signifikanter Unterschied zeigte sich nicht.

3.3.16 Reanimation

Im Rahmen der Studie wurde für jede einzelne Person vermerkt, ob vor dem Eintritt des Todes kardiopulmonale Reanimationsversuche mit und ohne Defibrillation unternommen wurden. Das Ergebnis wurde dann auf seine Tryptasewerte hin untersucht um einen etwaigen Zusammenhang festzustellen. Hierbei ergab sich für die 34 (48,6%) Fälle mit positiver Reanimationsanamnese ein Tryptasemedian von 11,85 µg/l. Einen mit 13,90 µg/l durchschnittlich höhern Wert zeigten die Serumproben der 36 (51,4%) Personen bei denen keine prämortalen Wiederbelebungsversuche durchgeführt wurden. Ein statistisch signifikanter Unterschied konnte nicht nachgewiesen werden.

3.4 Zusammenhang zwischen erhöhten Tryptasewerten und epidemiologischen sowie klinischen Merkmalen

Um mögliche Zusammenhänge zwischen erhöhten Tryptasewerten und anderen epidemiologischen oder klinischen Parametern zu erkennen, erfolgte eine Gegenüberstellung der 41 Patienten mit einem Tryptasewert $\geq 11,4 \mu\text{g/l}$ mit den 29 Patienten mit einem Tryptasewert $< 11,4 \mu\text{g/l}$. Die Unterschiede zwischen diesen beiden Gruppen wurden auf Signifikanz geprüft. Tabelle 11 stellt die Charakteristika der untersuchten Patienten stratifiziert nach Tryptase $<$ (\geq) $11,4 \mu\text{g/l}$ dar.

Der Tabelle 11 lässt sich entnehmen, dass Personen mit einer Tryptase $\geq 11,4 \mu\text{g/l}$ signifikant höhere Werte für den zeitlichen Abstand zwischen Todeseintritt und Serumgewinnung sowie Analyse aufwiesen als Personen mit einer Tryptase $< 11,4 \mu\text{g/l}$.

Tabelle 11: Epidemiologische und klinische Parameter der untersuchten Patienten stratifiziert nach Tryptase < 11,4 µg/l und Tryptase ≥ 11,4 µg/l

	Tryptase < 11,4 µg/l n = 29	Tryptase ≥ 11,4 µg/l n = 41	Signifikanz
Alter (Jahre)	47,6 ± 16,8	50,1 ± 20,4	n.s.
- Altersklasse 18-28 Jahre	5 (17,2%)	7 (17,1%)	n.s.
- Altersklasse 29-39 Jahre	4 (13,8%)	8 (19,4%)	n.s.
- Altersklasse 40-50 Jahre	8 (27,6%)	7 (17,1%)	n.s.
- Altersklasse 51-61 Jahre	4 (13,8%)	4 (9,7%)	n.s.
- Altersklasse 62-72 Jahre	7 (24,1%)	8 (19,4%)	n.s.
- Altersklasse > 73	1 (3,4%)	7 (17,1%)	n.s.
Geschlecht (w/m)	12/17	12/29	n.s.
Body-Mass-Index (kg/m²)	24,8 ± 5,0	26,8 ± 5,7	n.s.
- Untergewicht	4 (13,8%)	1 (2,4%)	n.s.
- Normalgewicht	9 (31,0%)	16 (39,0%)	n.s.
- Präadipositas	12 (41,4%)	12 (29,3%)	n.s.
- Adipositas Grad I	4 (13,8%)	9 (21,9%)	n.s.
Abstand Tod-Serumgewinnung (h)	26,9 ± 18,6	50,8 ± 35,4	p < 0,01
Todesursache			
- kardiologisch/hämodynamisch(n)	9 (31,0%)	12 (29,3%)	n.s.
- Intoxikation (n)	7 (24,1%)	8 (19,4%)	n.s.
Prämortaler Alkoholkonsum (n)	8 (27,6%)	7 (17,1%)	n.s.
Prämortaler Drogenkonsum (n)	2 (6,9%)	8 (19,4%)	n.s.
Hämatome (n)	13 (44,7%)	26 (63,3%)	n.s.
Koronarsklerose (n)	21 (72,3%)	24 (58,4%)	n.s.
- Grad I (n)	8 (27,6%)	7 (17,1%)	n.s.
- Grad II (n)	10 (34,5%)	8 (19,4%)	n.s.
- Grad III (n)	3 (10,2%)	9 (21,9%)	n.s.
Arteriosklerose (n)	22 (75,9%)	25 (61,0%)	n.s.
- Grad I (n)	10 (34,5%)	6 (14,5%)	n.s.
- Grad II (n)	9 (31,0%)	10 (24,4%)	n.s.
- Grad III (n)	3 (10,2%)	9 (21,9%)	n.s.
Herzgewicht (g)	387,3 ± 111,0	488,4 ± 173,6	p < 0,01
Lebergewicht (g)	1894,0 ± 549,3	1759,7 ± 619,2	n.s.
Hepatomegalie (n)	20 (68,9%)	23 (56,1%)	n.s.
Prämortale Blutung (n)	15 (51,6%)	18 (43,8%)	n.s.
Z.n. intensivmedizinischer Betreuung (n)	7 (24,1%)	14 (34,0%)	n.s.
Z.n. Reanimation (n)	15 (51,6%)	19 (46,2%)	n.s.
Frakturen (n)	3 (10,2%)	17 (41,4%)	p < 0,01

Der U- Test nach Mann und Whitney zum nichtparametrischen Vergleich zweier unabhängiger Stichproben zeigte einen signifikanten Unterschied hinsichtlich der zeitlichen Abstände zwischen Todeszeitpunkt und Serumgewinnung/Analyse und der erhöhten Tryptasewerte (Tabelle 12).

Tabelle 12: Statistik zum nichtparametrischen Vergleich der zwei unabhängigen Stichproben: Tod-Serumgewinnung (h)/ erhöhte Tryptase ($\mu\text{g/l}$)

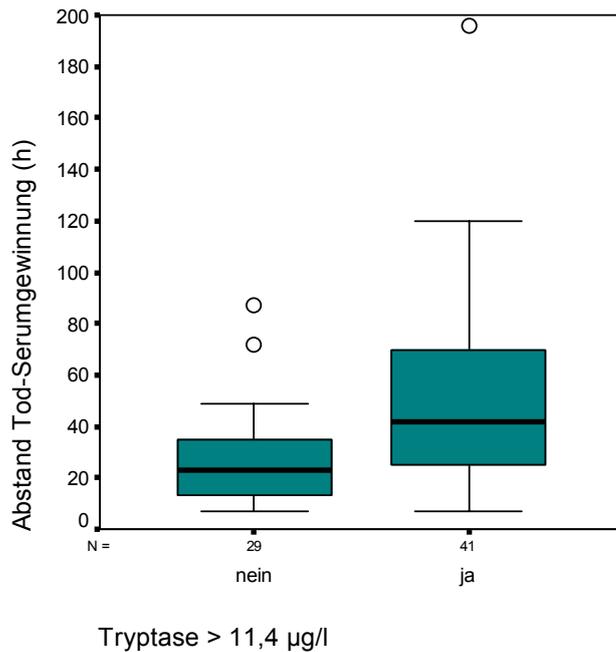
	<i>erhöhte Tryptase</i>	<i>N</i>	<i>Mittlerer Rang</i>	<i>Rangsumme</i>
<i>zeitl. Abstand zwischen Tod und Serumgewinnung (h)</i>	nein	29	25,74	746,50
	ja	41	42,40	1738,50
	Total	70		
Mann-Whitney U		311,500		
Wilcoxon W		746,500		
Z		-3,375		
Asymp.Sig. (2-tailed)		,001		

a Gruppenvariable: Tryptase $\geq 11,4 \mu\text{g/l}$

Signifikanzniveau: $p < 0,01$

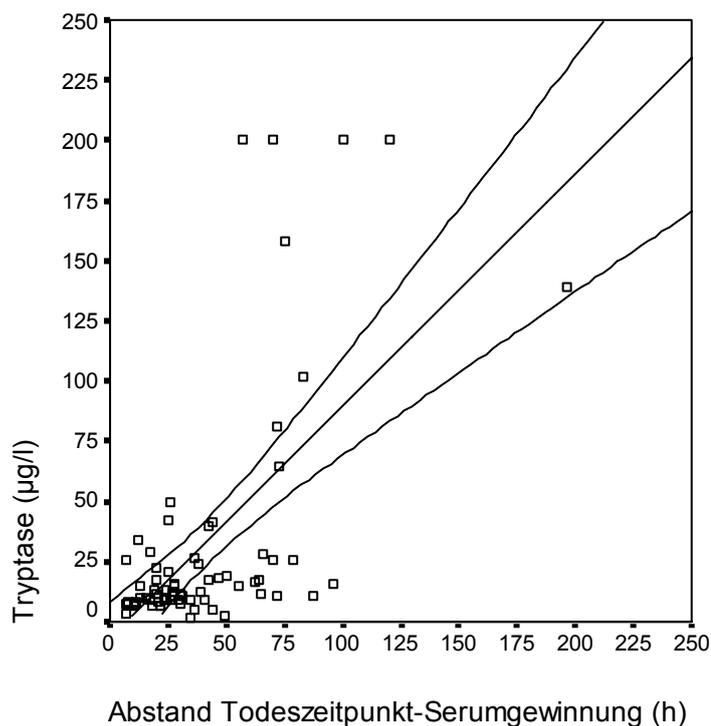
Die Grafik 10 zeigt das Balkendiagramm der Mittelwerte des zeitlichen Abstands von Todeszeitpunkt und Serumgewinnung in Bezug auf die Tryptasewerte $\geq 11,4 \text{ mg/l}$.

Grafik 10: Balkendiagramm der Mittelwerte des zeitl. Abstands von Todeszeitpunkt und Serumgewinnung in Bezug auf Tryptasewerte $\geq 11,4 \mu\text{g/l}$



Zur Visualisierung der Zusammenhänge zwischen dem zeitlichen Abstand von Tod und Serumgewinnung und den Tryptasewerten wurde ein Streudiagramm mit zugehöriger linearer Regressionsgrade erstellt (Grafik 11). Man erkennt einen deutlichen linearen Zusammenhang.

Grafik 11: Streudiagramm mit Regressionsgrade zur Darstellung des Zusammenhangs von Tryptasewerten ($\mu\text{g/l}$) zum zeitl. Abstand zwischen Tod und Serumgewinnung (h); $r = +0,614$, $p = 0,001$



Ferner fanden sich in der Gruppe mit Tryptasewerten $\geq 11,4 \mu\text{g/l}$ häufiger Personen mit einer Myokardhypertrophie (51,3 % gegenüber 25,6 %) sowie eine erhöhte Prävalenz an Knochenbrüchen (42,8 % gegenüber 14,3%). Die weiteren Kategorien waren ähnlich zwischen beiden Gruppen verteilt.

3.5 Logistische Regressionsanalyse

Zuletzt muss die Frage gestellt werden, welche der überprüften Faktoren die Tryptaseerhöhung erklären und ob zwischen den Faktoren, die auf die Tryptasewerte einen signifikanten Einfluss haben, eine Abhängigkeit besteht. So besteht beispielsweise zwischen Koronarsklerose und Arteriosklerose ein signifikanter Zusammenhang ($p < 0,0001$).

Zur Berechnung der binären logistischen Regressionsanalyse wurden zunächst sämtliche Variablen auf Nominalskalenniveau (vorhanden oder nicht vorhanden) transformiert. Beispielsweise wurden Koronarsklerose oder Arteriosklerose als vorhanden oder nicht vorhanden kategorisiert. Für Daten mit Verhältnis- oder Intervallskala wurde zunächst der Mittelwert berechnet und die Transformation in 0 = kleiner als der Mittelwert und 1 = nicht kleiner als der Mittelwert vorgenommen.

Unter diesen Bedingungen ergibt die binär logistische Regressionsanalyse für die Einschlussmethode das in Tabelle 13 dargestellte Ergebnis.

Tabelle 13: In die Gleichung (binär logistische Regressionsanalyse, Einschluss aller Variablen) eingegebene Variablen: BMI, zeitl. Abstand Tod-Serumgewinnung, Todesursache: kardiol./hämodyn., Todesursache: Intoxi., Alkoholkonsum, Drogenkonsum, Hämatome, Koronarsklerose, Arteriosklerose, Blutungen, Z.n.intensivmed. Betreuung, Z.n.Reanimation, Herzgewicht >500g, Lebergewicht >1500g, Frakturen, Alter

		Regressions- Koeffizient β	Standard- fehler	Wald- Test	df	Signifikanz	Exp(B)
Schritt 1(a)	BMI	,81	,88	,85	1	,35	2,26
	Zeitl. Abstand Tod-Serumgewinnung	2,01	,88	5,20	1	,02	7,49
	Todesursache: kardiologisch/hämodynamisch	-,18	,92	,03	1	,84	,83
	Todesursache: Intoxikation	,93	1,27	,54	1	,46	2,54
	Alkoholkonsum	-1,81	1,36	1,77	1	,18	,16
	Drogenkonsum	-,38	1,19	,10	1	,74	,67
	Hämatome	-,96	1,02	,88	1	,34	,38
	Koronarsklerose	-1,54	1,45	1,12	1	,28	,21
	Arteriosklerose	-,02	1,25	,00	1	,98	,97
	Blutungen	2,10	1,15	3,34	1	,06	8,23
	Z.n.intensivmedizinischer Betreuung	-,32	1,02	,09	1	,75	,72
	Z.n.Reanimation	-,85	,85	,99	1	,31	,42
	Herzgewicht >500g	2,26	1,07	4,47	1	,03	9,66
	Lebergewicht >1500g	-,99	,89	1,24	1	,26	,37
	Frakturen	2,10	1,04	4,03	1	,04	8,16
	Alter	-,47	1,23	,14	1	,70	,62
Konstante	,68	1,24	,30	1	,58	1,98	

Tabelle 14: Variablen in der Gleichung (binär logistische Regressionsanalyse, Einschluss schrittweise vorwärts); a In Schritt 1 eingegebene Variablen: zeitl. Abstand Tod-Serumgewinnung; b In Schritt 2 eingegebene Variablen: Frakturen

		Regressions- koeffizient	Standard- fehler	Wald- Test	df	Signifikanz	Exp(B)
Schritt 1(a)	Zeitl. Abstand Tod-Serumgewinnung	1,99	,62	10,11	1	,00	7,33
	Konstante	-,28	,31	,85	1	,35	,75
Schritt 2(b)	Zeitl. Abstand Tod-Serumgewinnung	2,01	,65	9,54	1	,00	7,52
	Frakturen	1,74	,73	5,66	1	,01	5,75
	Konstante	-,70	,36	3,64	1	,05	,49

Tabelle 15: Nicht in die Gleichung aufgenommene Variablen (binär logistische Regressionsanalyse, Einschluß schrittweise vorwärts)

			Wert	df	Signifikanz	
Schritt 1	Variablen	BMI	,31	1	,57	
		Todesursache: kardiologisch/hämodynamisch	,08	1	,77	
		Todesursache: Intoxikation	,81	1	,36	
		Alkoholkonsum	1,60	1	,20	
		Drogenkonsum	,46	1	,49	
		Hämatome	1,78	1	,18	
		Koronarsklerose	2,79	1	,09	
		Arteriosklerose	2,67	1	,10	
		Blutungen	5,36	1	,02	
		Z.n.intensivmedizinischer Betreuung	,79	1	,37	
		Z.n.Reanimation	,03	1	,86	
		Herzgewicht >500g	3,47	1	,06	
		Lebergewicht >1500g	,92	1	,33	
		Frakturen	6,38	1	,01	
		Alter	,28	1	,59	
		Gesamtstatistik		19,39	15	,19
Schritt 2	Variablen	BMI	,17	1	,68	
		Todesursache: kardiologisch/hämodynamisch	,24	1	,62	
		Todesursache: Intoxikation	,05	1	,81	
		Alkoholkonsum	2,03	1	,15	
		Drogenkonsum	,20	1	,65	
		Hämatome	,11	1	,74	
		Koronarsklerose	3,67	1	,05	
		Arteriosklerose	2,79	1	,09	
		Blutungen	1,55	1	,21	
		Z.n.intensivmedizinischer Betreuung	,06	1	,80	
		Z.n.Reanimation	,00	1	,97	
		Herzgewicht >500g	2,29	1	,13	
		Lebergewicht >1500g	2,03	1	,15	
		Alter	,48	1	,48	
		Gesamtstatistik		15,27	14	,36

Unter Berechnung mittels Einschluss- wie auch Ausschlussmethode zeigt sich, dass ausschließlich der Zeitpunkt der Serumgewinnung (nach mehr oder weniger als 41 Stunden) und das Vorhandensein bzw. die Abwesenheit von

Frakturen die Erhöhung der Tryptase erklären (Tabelle 14, 15). Die beiden Variablen sind nicht voneinander abhängig.

4 DISKUSSION

In unserer Studie wurden die Tryptasewerte von Personen, welche sich zur Obduktion im Institut für Rechtsmedizin der Westfälischen Wilhelms- Universität Münster befanden, untersucht. Dabei ging es darum, Zusammenhänge zwischen postmortal ermittelten Tryptasewerten und verschiedenen Obduktionsbefunden nachzuweisen. Zudem stellten wir uns die Frage nach der diagnostischen Relevanz und der klinischen Verwertbarkeit der Ergebnisse.

4.1 Serumtryptasespiegel

Die ermittelten Tryptasewerte der gesamten Kohorte zeigten einen Durchschnittswert von $32,46 \pm 49,9 \mu\text{g/l}$. Als Normalwerte bei lebenden Personen werden Werte von bis zu $11,4 \mu\text{g/l}$ angesehen. Damit lag der Mittelwert in unserer Studie deutlich im erhöhten Bereich. Über dem klinisch festgesetzten Grenzwert von $11,4 \mu\text{g/l}$ lagen in unserer Studie 41 der insgesamt 70 geprüften Seren. Ihr Median ergab sich bei $23,60 \mu\text{g/l}$. Wohingegen er bei den übrigen 29 Seren mit $8,06 \mu\text{g/l}$ im Normbereich lag.

Dieses Ergebnis stimmt mit anderen Studien überein, die ebenfalls postmortem höhere Tryptasewerte nachwiesen als bei lebenden Personen (19; 66).

Für gesunde lebende Personen liegen die gemessenen Tryptasewerte meist wesentlich niedriger. Schwartz et al. wiesen in einer ihrer Studien bei drei unabhängigen Gruppen von gesunden Personen mittlere Werte im Bereich von $1,9 \mu\text{g/l}$ und $4,9 \mu\text{g/l}$ nach (84).

Die Ursachen hierfür sind bis jetzt nur teilweise geklärt. So wird die β -Tryptase beispielsweise im Normalfall kaum bei lebenden gesunden Menschen gefunden, sondern stellt vielmehr die aktive Form dar (78), welche aufgrund verschiedener Stimuli aus den Mastzellen freigesetzt wird. Als gesichert gilt hierbei die Reaktion im Sinne einer Anaphylaxie. Hohe Tryptasewerte werden

äußerst selten bei Personen gefunden, die nicht auf Grund einer allergischen Reaktion verstarben (22; 67). Postmortem ermittelte β -Tryptasewerte bei Kontrollpatienten liegen hier meistens unter 10 $\mu\text{g/l}$ (22). Obwohl in unserer Studie kein belegter Fall von Anaphylaxie oder allergischer Reaktion vorkam, zeigte sich bei uns dennoch ein deutlich erhöhter Tryptasemittelwert der Kohorte. Eine Erklärung hierfür könnte die passive Diffusion der Tryptase postmortem sein (22; 104). Diese Möglichkeit führen auch Edston et al. in einer ihrer Studien an. Sie fanden heraus, dass die ermittelten Tryptasewerte bei an Asphyxie Verstorbenen im entnommenen Herzblut signifikant höher waren als die im Femoralblut (19). Als eine mögliche Ursache wird hier ebenfalls die passive Diffusion der postmortem freigesetzten Tryptase aus den reichlich in Lunge und Herz vorhandenen Mastzellen angeführt. Im Rahmen unserer Studie stammte das entnommene Blut immer aus der Vena femoralis. So stellt sich also die Frage, ob bei der Analyse des Herzblutes der Verstorbenen nicht noch wesentlich höhere Tryptasewerte nachweisbar gewesen wären.

4.2 Tryptasewerte im Zusammenhang mit epidemiologischen und klinischen Befunden

4.2.1 Geschlecht

Für die 46 männlichen Seren wurde, mit 14,60 $\mu\text{g/l}$ ein medianer Tryptasewert knapp oberhalb des Grenzwertes festgestellt. Bei den 24 Frauen lag der Median mit 11,05 $\mu\text{g/l}$ etwas unter der Grenze von 11,4 $\mu\text{g/l}$. Ein statistisch signifikanter Unterschied ergab sich nicht.

4.2.2 Alter

Die Personen mit Tryptasewerten $> 11,4 \mu\text{g/l}$ waren mit $50,1 \pm 20,4$ Jahren zwar tendenziell älter als diejenigen mit Werten $< 11,4 \mu\text{g/l}$, welche im Schnitt ein Alter von $47,6 \pm 16,8$ Jahre zeigten, ein statistisch signifikanter Unterschied lag nicht vor. Zur besseren Differenzierung wurden Altersklassen gebildet und diese auf ihre Tryptasespiegel hin analysiert. Dabei zeigten sich die höchsten Werte in der Gruppe der > 73 - Jährigen. Zwar handelt es sich hierbei nicht um ein statistisch signifikantes Ergebnis, dennoch ist es möglich, dass sich in einem größeren Kollektiv ein Zusammenhang darstellen ließe.

4.2.3 BMI

Die Analyse der verschiedenen Gewichtsklassen, eingeteilt anhand des jeweiligen BMI (kg/m^2), im Zusammenhang mit den zugehörigen Tryptasewerten, ergab kein signifikantes Ergebnis. Dennoch zeigte sich ein auffallend geringer medianer Tryptasewert in der Gruppe der Personen mit einem BMI $< 18,5 \text{ kg/m}^2$. Diese Personen lagen mit einem Median von $7,8 \mu\text{g/l}$ unterhalb des Grenzwertes von $11,4 \mu\text{g/l}$. Diese untergewichtigen Personen weisen meist ein stark verringertes Fett-, Binde- und Stützgewebe auf. Oft kommt es auch zu einer extremen Mangelversorgung des Körpers mit Nährstoffen. Hierin könnte auch die mögliche Erklärung für eine Abnahme der Mastzellpopulation mit daraus resultierenden geringeren Tryptasespiegeln liegen. In wie weit es sich bei dem Gewicht jedoch um einen echten Einflussfaktor auf den Serumtryptasespiegel handelt, ist in weiterführenden Studien zu klären.

4.2.4 Zeitlicher Abstand zwischen Todeseintritt und Serumgewinnung

In einer früheren Studie von Edston et al. konnte kein Zusammenhang zwischen der Zeit postmortem und den ermittelten Tryptasekonzentrationen nachgewiesen werden (22).

Den Ergebnissen unserer Studie lässt sich allerdings entnehmen, dass die ermittelte Tryptase im Serum umso höher war, je mehr Zeit zwischen Todeseintritt und Serumgewinnung sowie der Analyse lag. Je später also die Entnahme und damit die Analyse des Serums erfolgte, desto höher lagen die gemessenen Tryptasespiegel. So wiesen Proben, welche innerhalb von 24 Stunden entnommen und analysiert wurden einen medianen Tryptasewert von 9,42 µg/l auf. Solche, die erst nach mehr als 96 Stunden der Auswertung zugeführt wurden, zeigten einen Medianwert von 200 µg/l.

Eine Erklärung für dieses Ergebnis könnte zum einen in der eingetretenen Hämolyse und der damit verbundenen Mediatorenfreisetzung aus den jeweiligen Zellen liegen. Da es sich dabei auch um Mastzellen sowie basophile Zellen handelt, welche ebenfalls Tryptase enthalten, würde es dabei zu einer Tryptasewerterhöhung kommen. Allerdings ist die Anzahl dieser Zellen im peripheren Blut in der Regel relativ gering, so dass dies die nachgewiesenen hohen Spiegel nicht zufrieden stellend erklärt. In einer Studie von Edston et al. zeigte sich eine Korrelation zwischen erhöhten Tryptasewerten und Hämolyse nur in jenen Fällen, in denen als Todesursache ein Trauma vorlag (23).

Zu bedenken ist in diesem Zusammenhang auch die These, dass die einsetzende Gewebszersetzung nach dem Eintritt des Todes und der damit verbundene Übertritt von Mediatoren und anderen Zell- und Gewebeanteilen in das Gefäßsystem ebenfalls einen Rolle bei der Erhöhung der Tryptasespiegel spielt.

4.2.5 Todesursache

In Bezug auf die Todesursachen konnten wir keinen Zusammenhang mit erhöhten Tryptasewerten nachweisen.

4.2.5.1 Kardiologisch/Hämodynamisch

Studien zeigten, dass in Abhängigkeit von der Schwere des Koronarsyndroms auch die Anzahl der vorhandenen Mastzellen ansteigt (17; 40). Diese sind in der Lage durch die Freisetzung von Histamin und Tryptase Metalloproteinasen zu aktivieren (31; 38). Diese, sowie die Tryptase selbst (54), führen zu einer Zerstörung von zellulärer- und extrazellulärer Matrix und prädisponieren so zur Plaqueruptur. Als wahrscheinlich gilt, dass es sich bei den Triggersubstanzen zur Degranulation der Mastzellen um aktivierte Makrophagen, aktivierte T-Lymphozyten und aktiviertes Komplement handelt (33; 50; 54; 94).

Als erwiesen gilt die Tatsache, dass bei Patienten mit Variantangina erhöhte Histaminspiegel im zirkulierenden Koronarblut kurz vor den Gefäßspasmen und während des Anfalls nachgewiesen werden (70). Dies legt die Annahme nahe, dass es sich bei den Mastzellen und deren Mediatoren um einen so genannten „final trigger“ bei der Angina pectoris handelt (28). Im Gegensatz dazu zeigte eine Studie von Kervinen et al., dass bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom keine erhöhten Tryptasespiegel im peripher zirkulierenden Blut nachweisbar waren und dies somit nicht als diagnostisches Mittel bei der Klassifikation des Koronarsyndroms geeignet ist (43).

Wir konnten bei der Analyse unserer Daten keinen Zusammenhang zwischen den ermittelten Tryptasewerten und dem Tod durch ein kardiologisches oder hämodynamisches Ereignis feststellen. Es muss jedoch bedacht werden, dass es sich hierbei ausschließlich um Todesfälle durch Myokardinfarkte sowie akutes Herz-Kreislaufversagen handelte. Die Personen verstarben also fast alle innerhalb von wenigen Sekunden oder Minuten. Nach einer Studie von Edston et al. zeigen sich erhöhte Tryptasespiegel selten bei plötzlichem Tod infolge

kardiovaskulärer Ursachen (22). Auch in Fällen, in denen der Patient innerhalb von Minuten nach Mastzelldegranulation, wie zum Beispiel bei Anaphylaxie, verstarb ergaben sich nur selten Tryptasewerte oberhalb der Norm. Als Ursache hierfür wird die mangelnde Zeit angesehen, in der die Tryptase in den Körperkreislauf gelangen kann (86). Dies könnte auch in unseren Fällen der entscheidende Faktor gewesen sein.

4.2.5.2 Intoxikation

Wir fanden keinen Zusammenhang zwischen den Todesfällen durch Intoxikation und den gemessenen Tryptasewerten.

4.2.6 Prämortaler Drogenkonsum

Bei der Analyse der Tryptasewerte von Personen, die vor ihrem Tod Drogen zu sich nahmen, zeigten sich signifikant höhere Serumtryptasespiegel als bei Verstorbenen ohne Rauschmittelkonsum. Dabei handelte es sich sowohl um die Einnahme von Heroin als auch um Kokain.

Dieses Ergebnis stimmt mit früheren Studien überein, die ebenfalls signifikant erhöhte Tryptasekonzentrationen bei Drogentoten nachwiesen, was auf eine Mastzelldegranulation hindeutet (21). Opioide wie das Morphin sind bekannt als potente Histamin- und Tryptase- Liberatoren und genau auf diese Eigenschaft werden auch die in diesem Zusammenhang beobachteten anaphylaktischen Reaktionen zurückgeführt (3). Edston et al. zeigten, dass der Missbrauch von Drogen wie Heroin und Kokain in der Gegenwart von oxidativen Enzymen zur Freisetzung von Histamin aus Mastzellen führt. Diese beobachtete massive Histaminfreisetzung könnte als ein zusätzlicher Risikofaktor bei Heroin- und Kokainüberdosen gewertet werden (18).

Insgesamt konnte der konkrete Zusammenhang zwischen erhöhter Serumtryptase und dem Tod durch Heroinkonsum in mehreren Studien bestätigt werden (21; 27).

4.2.7 Prämortaler Alkoholkonsum

Für die Personen mit prämortalem Alkoholkonsum wurde kein statistisch signifikantes Ergebnis in Bezug auf die gemessenen Tryptasewerte festgestellt

4.2.8 Prämortale Blutungen, Hämatome, Frakturen

Bei der Untersuchung Verstorbener infolge Trauma stellten Edston et al. fest, dass die ermittelten Tryptasespiegel wesentlich höher waren als in der Kontrollgruppe. Zudem lagen die Werte kurz nach dem Todeseintritt wesentlich höher als bei den Patienten, welche nach dem Unfall noch eine Zeit lang überlebten (23). Hierbei wird als Grund die lokale Lyse von Mastzellen oder die Freisetzung der Tryptase infolge des direkten Traumas diskutiert. Als weitere These wird angenommen, dass die durch das Trauma ausgelöste Hämolyse und Hämorrhagie mit der Lyse von Mastzellen im Zusammenhang stehen. Ebenso kann möglicherweise die akute Stresssituation bei einem Trauma mit der Freisetzung von Katecholaminen, Bradykinin und anderen vasoaktiven Substanzen sowie die Aktivierung des Complementsystems die Mastzelldegranulation triggern (63). Die Annahme, Hämolyse habe einen Einfluss auf die Tryptasewertmessung konnte bis jetzt nur für die Fälle nachgewiesen werden in denen die Personen infolge eines Traumas verstarben (23). So zeigten sich signifikant höhere Tryptasewerte als in den Kontrollfällen. Als Ursache wird dabei nicht nur die eigentliche Hämolyse, sondern auch die durch das Trauma entstandenen Gewebsverletzungen diskutiert.

Um diese Ergebnisse besser zu differenzieren, erfassten wir anhand der Obduktionsberichte verschiedene Parameter, die meist im Rahmen eines

Traumas entstehen. Dazu zählte unter anderem der Nachweis von Hämatomen, Blutungen sowie Frakturen. In den Fällen in denen sich Blutungen oder Hämatome fanden, lagen die Serumtryptasespiegel zwar höher als die der übrigen, jedoch ergab sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang.

Anders dagegen bei den Personen, die prä mortal Frakturen erlitten. Es zeigte sich, dass in der Gruppe der 41 Personen mit Tryptasewerten $\geq 11,4 \mu\text{g/l}$ signifikant häufiger Knochenbrüche nachweisbar waren als bei den Verstorbenen mit Tryptasewerten $< 11,4 \mu\text{g/l}$ (17 (41,4%) Personen zu 3 (10,2%) Personen).

Wir gehen davon aus, dass diese Beobachtung vor allem durch die Freisetzung von Knochenmark im Rahmen der Frakturen zu erklären ist. Da dieses zumeist hohe Konzentrationen an Mastzellen sowie Mastzellvorstufen enthält, kommt es bei seiner Zerstörung zur Freisetzung der mastzellspezifischen Mediatoren, darunter auch der Tryptase. In unserer Studie wurde nicht zwischen verschiedenen Frakturformen oder Frakturlokalisationen differenziert. Dies ist aber insofern relevant, als dass im Erwachsenenalter nicht mehr in allen Knochen Knochenmark und damit Mastzellen vorliegen. Interessant ist hierbei auch die Frage, ob beispielsweise auch die Lokalisation der Fraktur eine Korrelation zu den gemessenen Tryptasewerten zeigt. Da es auf Grund der verschiedenen Frakturarten auch zu unterschiedlich ausgeprägten Verletzungsmustern sowohl des Knochens an sich, als auch des umliegenden Gewebes kommt, könnte theoretisch auch hier ein Zusammenhang mit erhöhten Tryptasewerten zu finden sein. Um dies zu untersuchen sind weiterreichende, differenziertere Studien in Betracht zu ziehen.

Bei der Betrachtung der Tryptasewerte muss immer beachtet werden, dass es nach einem Tryptasepeak in den ersten Stunden nach Ausschüttung zu einem Abfall der Konzentration mit einer Halbwertszeit von etwa 2 Stunden kommt (86). Da wir in unserer Studie nicht genau evaluieren konnten wie viel Zeit zwischen jeweiligem Trauma und Todeseintritt lag, ist es möglich, dass sich uns ein falsches Bild darstellt.

4.2.9 Herzgewicht

Im Rahmen unserer Studie wurde bei allen obduzierten Personen das Herzgewicht bestimmt und das Kollektiv anhand dessen in zwei Gruppen unterteilt. Als Cutpoint galt dabei ein Gewicht von 500 g. Alles darüber wurde als Myokardhypertrophie gewertet. Beide Gruppen wurden auf ihren Zusammenhang mit den Tryptasespiegeln hin untersucht. Dabei ergab sich, dass die Personen mit einem hohen Herzgewicht auch signifikant höhere Tryptasewerte aufwiesen als die übrigen. Dementsprechend zeigten auch die jeweiligen Herzgewichte bei den Personen mit Tryptasewerten $\geq 11,4 \mu\text{g/l}$ signifikant höhere Werte als bei denen mit Werten $< 11,4 \mu\text{g/l}$.

Als Erklärung für dieses Ergebnis kommen mehrere verschiedene Mechanismen in Frage, welche letztlich wahrscheinlich alle teilweise involviert sind.

Mastzellen kommen physiologischerweise im Herzmuskel des Menschen vor (19; 62). Es ist davon auszugehen, dass es im Rahmen der Hypertrophie zu vielfältigen Veränderungen, sowohl der Herzstruktur als auch der gesamten Versorgungssituation kommt, und dies eine Akkumulation von Mastzellen im Myokard induziert. Diese geben nach dem Eintritt des Todes, im Rahmen der einsetzenden Gewebe- und Zellyse, ihre Mediatoren frei, welche unter anderem in die Blutbahn gelangen und dort zu einer Erhöhung des Tryptasespiegels führen. Diese These wird durch die Beobachtung gestützt, dass man bei der postmortalen Blutentnahme aus dem Herzen signifikant höhere Tryptasewerte nachweist als bei der Entnahme aus der Vena femoralis (19).

Des Weiteren ist bekannt, dass es sich bei einer Myokardhypertrophie mit einem Herzgewicht von $> 500 \text{ g}$ um einen kritischen Zustand handelt. So kommt es vor allem unter Belastung zu einer Sauerstoffunterversorgung bestimmter Bereiche, vornehmlich der inneren Muskelschichten. Dies führt sowohl zu latenten Ischämien als auch zu kleineren und größeren Infarkten. Der daraus resultierende Gewebeuntergang mit der Freisetzung von Zellsubstanzen und Mediatoren des Myokards erhöht letztlich auch die Serumtryptasespiegel.

Beide Aspekte stellen theoretische Erklärungen dar. Bei der genaueren Betrachtung allerdings lassen sich Unstimmigkeiten nachweisen. So findet zum Zeitpunkt der Gewebezersetzung nach dem Todeseintritt keine Blutzirkulation mehr statt, dementsprechend müssten zwar im Herzen erhöhte Tryptasewerte nachweisbar sein, nicht jedoch, wie bei uns der Fall, im Blut der Femoralvene. Diese Tatsache spricht eher für eine entweder kontinuierliche Tryptasewerterhöhung bei lebenden Personen mit Myokardhypertrophie, oder aber für eine akute Ausschüttung von Tryptase vor dem Eintritt des Todes. Ebenso unbefriedigend stellt sich die These der Ischämien dar. Die Voraussetzung hierbei wäre, dass alle Personen mit einem erhöhten Herzgewicht kurz vor ihrem Tod einen Infarkt mit Gewebezersetzung erlitten, welcher zu der Erhöhung des Tryptasespiegels führte. Dies jedoch widerspricht unserer Beobachtung nach der die Personen, welche durch ein kardiologisch/hämodynamisches Ereignis, vornehmlich dem Myokardinfarkt, verstarben, keinen Bezug zu erhöhten Tryptasewerten aufwiesen. Möglich ist es jedoch, dass es sich bei diesem Prozess um ein latentes Geschehen handelt, bei dem es durch kontinuierlichen, unerschwelligen Sauerstoffmangel in den Innenschichten des Myokards zu einem Gewebeuntergang mit erhöhten Serumtryptasespiegeln kommt. Um die Frage nach der wirklichen Ursache befriedigend beantworten zu können ist es von Interesse in wie weit lebende Personen mit Myokardhypertrophie ebenfalls erhöhte Tryptasespiegel aufweisen, oder ob es sich um ein Phänomen handelt, welches speziell nach dem Eintritt des Todes zu finden ist. Hierzu sind weiterführende Studien, welche sich spezifischer mit der Myokardhypertrophie und ihren mikro- und makroskopischen Besonderheiten befassen, notwendig.

4.2.10 Koronarsklerose und allgemeine Arteriosklerose

Beim Menschen lassen sich Mastzellen sporadisch im Myokard (62) und der Adventitia der Koronararterien (49) nachweisen.

In unserer Studie erfassten wir anhand der Obduktionsberichte für jede der verstorbenen Personen den Stenosegrad der Koronararterien. Insgesamt 45 Personen der Kohorte wiesen dabei Verengungen in verschiedenen Stadien auf. Bei der Analyse in Bezug auf die zugehörigen Tryptasewerte zeigte sich kein statistisch signifikanter Unterschied zu den übrigen 25 Personen ohne Koronarsklerose. Jedoch fiel bei der differenzierten Betrachtung auf, dass es mit zunehmendem Stenosegrad der Herzkranzgefäße auch zu einer deutlich erkennbaren Zunahme der durchschnittlichen gemessenen Tryptase kam. So ergaben sich die höchsten Werte für die Personen mit einer Einengung des Gefäßlumens von 75-99%.

Die Ursache hierfür könnte in der nachgewiesenen Akkumulation von Mastzellen vor allem in den Schulterregionen arteriosklerotischer Plaques, in denen eine akute Erosion oder Ruptur stattfand (39; 47), liegen. Dabei ist es möglich, dass sowohl mechanische als auch humorale Faktoren zu einer Freisetzung der Mastzellmediatoren, darunter auch der Tryptase, führten.

Ein weiterer Aspekt im Bezug auf die nachgewiesenen Tryptasewerterhöhungen liegt unserer Meinung nach in der chronischen Stresssituation des Körpers aufgrund der oft beträchtlichen Einschränkung der Sauerstoffversorgung des Herzens. Die hierbei vorhandene Sympathikusaktivierung mit erhöhten Katecholaminspiegeln und anderen vasoaktiven Substanzen kann dabei die Mastzelldegranulation triggern (63).

Diskutiert wird ebenfalls der immunologische Mechanismus als Faktor bei der Entstehung der Koronarsklerose und ihrer thrombotischen Komplikationen. So wurden erhöhte IgE- Spiegel im Zusammenhang mit späteren Myokardinfarkten und kardialen Todesfällen bei einer großen Kohorte von Männern mit Dyslipidämie gefunden (48). Kounis und Zavras zeigten, dass es im Rahmen von akuten allergischen Symptomen auch zum Auftreten von instabilen Angina pectoris Anfällen kam (46). Dieses „allergische Angina pectoris Syndrom“ wurde auch bei Patienten mit vorbestehender Koronararteriosklerose nachgewiesen, bei denen es wohl im Rahmen der humoralen Effekte der allergischen Reaktion zu einer Ruptur der jeweiligen Plaques mit daraus resultierenden Symptomen kam (60). Da es sich bei IgE um den potentesten Trigger der

Mastzellaktivierung handelt, wäre in diesem Zusammenhang eine Tryptasewerterhöhung sehr wahrscheinlich. Da in unserer Studie bei keinem der Verstorbenen Anzeichen für eine allergische Reaktion vermerkt waren und auch das IgE nicht in unsere Analyse miteinbezogen wurde, lässt sich zu diesem Aspekt keine Aussage treffen.

Seit längerem ist bekannt, dass Mastzellen Einfluss auf die Modulation von Fibrosierung und Angiogenese nehmen (5; 6; 16; 92). Diese beiden Aspekte sind unter anderem essentiell für eine effektive Reparatur von Verletzungen. So konnte in experimentellen Studien eine vermehrte Ansammlung von Mastzellen in Infarktarealen des Myokards nachgewiesen werden. Dabei zeigte besonders die Tryptase große proinflammatorische und angiogenetische Effekte auf die Endothelzellen im Infarktgebiet (88).

Auch diese Beobachtungen könnten eine Erklärung für unsere tendenziell höheren Tryptasewerte bei schwerer Koronarsklerose darstellen. So ist es möglich, dass es durch die veränderte hämodynamische Situation prä- und poststenotisch, sowie die veränderte Sauerstoff- und Nährstoffversorgung vor allem poststenotisch zu einer Akkumulation von Mastzellen im Rahmen der stattfindenden Umbauvorgänge kommt.

Die Frage nach der tatsächlichen Ursache für die erhöhten Tryptasewerte bei Koronarsklerose lässt sich anhand der derzeitigen Studienlage nicht abschließend klären.

Die gleichen Beobachtungen wie bei der Koronarsklerose zeigten sich ebenfalls in den Fällen, bei denen im Rahmen der Sektion eine Arteriosklerose diagnostiziert wurde. Ein statistisch signifikanter Unterschied zur den Personen ohne Gefäßstenosen zeigt sich nicht, jedoch wurden auch hier bei zunehmender Einengung des Lumens höhere Serumtryptasewerte ermittelt. Die höchsten Werte wurden bei Stenosegraden von 75-99% gemessen.

Als Ursache kommen auch in diesen Fällen zum einen die Plaque bzw. Plaquerupturen oder Erosionen mit ihrem erhöhten Mastzellanteil sowie die Sympathikusaktivierung mit ihrer systemischen Auswirkungen in Betracht. Mit in Betracht gezogen werden muss dabei auch die Mastzellaktivierung im Rahmen

von Umbauvorgängen im Stenosegebiet. Um hierzu eine klare Antwort zu finden sind jedoch auch hier differenziertere Studien zu diesem Thema nötig.

4.2.11 Leber

Des Weiteren untersuchten wir den Zusammenhang zwischen Lebergewicht beziehungsweise etwaigen Leberauffälligkeiten und den jeweiligen Tryptasewerten. Es zeigte sich, dass diejenigen Personen mit einem Lebergewicht > 1500 Gramm tendenziell eher niedrigere Medianwerte aufwiesen als solche mit einem Gewicht < 1500 Gramm (12,80 µg/l zu 14,70 µg/l). Dieses Ergebnis ist zwar nicht signifikant, spiegelt aber durchaus eine Tendenz wieder. Der Grund für dieses Ergebnis ist bis jetzt nicht geklärt, hierzu sind Studien mit spezifischeren Untersuchungen und Analysen nötig, welche sich intensiver mit den verschiedenen Erkrankungen und Auffälligkeiten des Leberstoffwechsels beschäftigen.

4.2.12 Prämortale intensivmedizinische Betreuung und Reanimation

Genau wie Edston et al. kamen auch wir in unserer Studie zu dem Ergebnis, dass kein signifikanter Zusammenhang zwischen den Serumtryptasekonzentrationen im Blut und dem Zustand nach Reanimation besteht (19). Auch die Personen, welche vor ihrem Tod intensivmedizinisch behandelt wurden, zeigten gegenüber den anderen keine signifikant höheren Tryptasewerte.

4.3 Schlussfolgerung

Unsere Analyse der postmortalen Befunde in Bezug auf ihre Tryptasewerte lieferte neue klinische Zusammenhänge und diagnostische Aspekte.

Wir konnten anhand unserer Datenanalysen verschiedene Aspekte der postmortalen Tryptasebestimmung neu beleuchten. So zeigte unsere Studie, dass über fünfzig Prozent der postmortal analysierten Serumproben erhöhte Tryptasewerte aufwiesen. Da hierunter keine bekannten Fälle von Anaphylaxie vertreten waren, und mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden kann, dass mehr als 50% der Individuen prä mortal einen anaphylaktischen Schock gehabt haben, ist die Tryptase unseres Erachtens nicht als Marker für ein Schockgeschehen heranzuziehen. Unsere Untersuchung zeigt, dass die Höhe der Serumtryptase insbesondere vom Zeitraum zwischen Todeszeitpunkt und femoraler Blutgewinnung sowie von vorhandenen Frakturen abhängt.

Demnach ist es zunächst von großer Bedeutung die zu analysierenden Serumproben möglichst rasch nach dem Tod zu gewinnen und der Untersuchung zuzuführen, um keine Verfälschungen der Tryptasespiegel zu erhalten. Im Rückschluss kann auch an die Möglichkeit gedacht werden, den postmortal ermittelten Tryptasewert zur Ermittlung des Todeszeitpunkts heranzuziehen.

Bei Personen mit postmortal erhöhten Tryptasewerten ist das Augenmerk auch auf eine Myokardhypertrophie sowie etwaig vorhandene Frakturen zu legen, da diese mit erhöhten Serumspiegeln einhergehen. Die genauen Umstände dieser Aspekte sind noch unklar und bedürfen weiterführender Studien.

Zwar konnte in unserer Studie kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen den gemessenen Tryptasewerten und der Koronarsklerose sowie der Arteriosklerose nachgewiesen werden, jedoch zeigte sich eine deutliche Tendenz. So ist es durchaus möglich, dass unser Studienkollektiv nicht groß genug gewählt wurde um ein signifikantes Ergebnis zu erzielen. Wir betrachten es daher als sinnvoll, im Falle von erhöhten Tryptasespiegeln eine Inspektion des Gefäßsystems, vor allem im Hinblick auf vorhandene stenotische Geschehen, durchzuführen.

Wichtig bei der Betrachtung der Ergebnisse ist auch die Tatsache, dass es in relativ vielen der analysierten Fälle zu einem schnellen Todeseintritt kam und es daher wahrscheinlich oft nicht zu einer Freisetzung beziehungsweise Zirkulation der Tryptase kommen konnte.

Ebenfalls zu beachten sind Fälle, in denen der Tod erst verzögert einsetzte, wie beispielsweise nach einem Aufenthalt auf der Intensivstation. In diesen Fällen ist es abhängig vom zeitlichen Rahmen möglich, dass ursprünglich erhöhte Tryptasewerte schon wieder im Normbereich lagen. Da wir in unserer Studie diese Zeitabstände nicht erfassten, liegt hierin ein weiterer interessanter Aspekt zukünftiger Forschung.

4.4 Ausblick

Das Feld der Tryptase mit seinen Einflußfaktoren und klinischen Zusammenhängen ist bis heute in vielen Gebieten trotz umfassender Studien noch unklar. Dennoch steht ihre Bedeutung im diagnostischen Alltag heute schon außer Frage und ihre Wertigkeit im klinischen Bereich ist stetig zunehmend. Dabei findet sie Anwendung sowohl in der Diagnostik der Mastozytose, als auch in Fällen von allergischen Reaktionen. Da vor allem viel Fragen in Bezug auf den eigentlichen Wirkmechanismus und die Reaktionen einzelner Gewebe und Zellen auf die Tryptase noch nicht endgültig geklärt sind, bieten sich hier weiterführenden Studien interessante Ansätze.

LITERATURVERZEICHNIS

1. Addington AK & Johnson DA (1996). Inactivation of human lung trypsin: evidence for a re-activatable tetrameric intermediate and active monomers. *Biochemistry*, 35, 13511-13518.
2. Alter SC, Metcalfe DD, Bradford TR & Schwartz LB (1987). Regulation of human mast cell trypsin. Effects of enzyme concentration, ionic strength and the structure and negative charge density of polysaccharides. *Biochem J*, 248, 821.
3. Baldo BA & Fisher MM (1993). Diagnosis of Ig-E dependent anaphylaxis to neuromuscular blocking drugs, thiopentone and opioids. *Ann Fr Anesth*, 12, 173-181.
4. Benoist C & Mathis D (2002). Mast cells in autoimmune disease. *Nature*, 420, 875-878.
5. Berton A, Levi-Schaffer F, Emonard H, Garbuzenko E, Gillery P & Maquart FX (2000). Activation of fibroblasts in collagen lattices by mast cell extract: a model of fibrosis. *Clin Exp Allergy*, 30, 485-492.
6. Blair RJ, Meng H, Marchese MJ, Ren S, Schwartz LB, Tonnesen MG & Gruber BL (1997). Human mast cells stimulate vascular tube formation: trypsin is a novel, potent angiogenic factor. *J Clin Invest*, 99, 2691-2700.
7. Blank U & Rivera J (2004). The ins and outs of IgE-dependent mast-cell exocytosis. *Trends Immunol*, 25, 266-273.
8. Castells M & Schwartz LB (1988). Trypsin levels in nasal lavage fluid as an indicator of the immediate allergic response. *J.Allergy Clin.Immunol.*, 82, 348-355.
9. Castells MC, Irani AM & Schwartz LB (1987). Evaluation of human peripheral blood leukocytes for mast cell trypsin. *J Immunol*, 138, 2184-2189.
10. Caughey GH (2001). New developments in the genetics and activation of mast cell proteases. *Mol Immunol*, 38, 1353-1357.
11. Caughey GH (1997). Of mites and men: Trypsin-like proteases in the lungs. *Am.J.Respir.Cell Mol.Biol.*, 16, 621.
12. Caughey GH, Raymond WW, Blount JL, Hau LW, Pallaoro M, Wolters PJ & Vergheze GM (2000). Characterization of human gamma-trypsin, novel members of the chromosome 16p mast cell trypsin and prostatic gene families. *J Immunol*, 164, 6566-6575.
13. Chiu H & Langunoff D (1972). Histochemical comparison of vertebrate mast cells. *Histochem J*, 4, 135.
14. Chromlish JA, Seidah NG, Marcinkiewicz M, Hamelin J, Johnson DA & Chretien M (1987). Human pituitary trypsin: molecular forms NH₂-terminal sequence immunocytochemical localization and specificity with prohormone and fluorogenic substrates. *J Biol Chem*, 262, 1363-1373.

15. Corvera CU, Dery O, McConalogue K, Bohm SK, Khitin LM, Butterfield JH, Caughey GH, Payan DG & Bunnett NW (1997). Mast cell tryptase regulates colonic myocytes through proteinase-activated receptor-2. *J.Clin.Invest.*, 100, 1383.
16. Coussens LM, Raymond WW, Bergers G & et al (1999). Inflammatory mast cells up-regulate angiogenesis during squamous epithelial carcinogenesis. *Genes Dev*, 13, 1382-1397.
17. Depre C, Wijns W, Robert AM, Renkin JP & Havaux X (1997). Pathology of unstable plaque: correlation with the clinical severity of acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol*, 30, 694-702.
18. Di Bello MG, Masini E, Ioannides C, Fomusi Ndisang J, Raspanti S & Bani Sacchi T (1998). Histamine release from rat mast cells induced by the metabolic activation of drugs of abuse into free radicals. *Inflamm Res*, 47, 122-130.
19. Edston E, Eriksson O & van Hage M (2006). Mast cell tryptase in postmortem serum - reference values and confounders. *Int J Leg Med*, 10, 414-420.
20. Edston E, Gidlund E, Wickman M, Ribbing H & van Hage-Hamsten M (1999). Increased mast cell tryptase in sudden infant death syndrome - anaphylaxis, hypoxia or artefact? *Clin Exp Allergy*, 29, 1648-1654.
21. Edston E & van Hage-Hamsten M (1997). Anaphylactoid shock-a common cause of death in heroin addicts? *Allergy*, 52, 950-954.
22. Edston E & van Hage-Hamsten M (1998). β -Tryptase measurements post-mortem in anaphylactic deaths and in controls. *Forensic Sci Int*, 93, 135-142.
23. Edston E & van Hage-Hamsten M (2003). Mast cell tryptase and hemolysis after trauma. *Forensic Sci Int*, 131, 8-13.
24. Ehrlich P (1878). Beiträge zur Theorie und Praxis der histologischen Färbung. *Ph.D thesis, Leipzig, Germany, University of Leipzig.*
25. Ellis JM (1949). Urticaria Pigmentosa: a report of a case with autopsy. *Arch Pathol*, 48, 426.
26. Ewan PW (1998). ABC of allergies: Anaphylaxis. *BMJ*, 316, 1442-1445.
27. Fineschi V, Cecchi R, Centini F, Paglicci Reattelli L & Turillazzi E (2001). Immunohistochemical quantification of pulmonary mast-cells and post-mortem blood dosages of tryptase and eosinophil cationic protein in 48 heroin-related deaths. *Forensic Sci Int*, 120, 189-194.
28. Forman MB, Oates JA, Robertson D, Robertson RM, Roberts LJ & Virmani R (1985). Increased adventitial mast cells in a patient with coronary spasm. *N Engl J Med*, 313, 1138-1141.
29. Galli SJ, Nakae S, Tsai M (2005). Mast cells in the development of adaptive immune responses. *Nat Immunol*, 6, 135-142.
30. Glenner GC, Cohen LA (1960). Histochemical demonstration of species-specific trypsin-like enzyme in mast cells. *Nature (Lond)*, 185, 846.

31. Gruber BL, Marchese MJ, Suzuki K, Schwartz LB, Okada Y, Nagase H, Ramamurthy NS (1989). Synovial procollagenase activation by human mast cell tryptase: dependence upon matrix metalloproteinase 3 activation. *J.Clin.Invest.*, 84, 1657.
32. Hallgren J, Pejler G (2006). Biology of mast cell tryptase; An inflammatory mediator. *FEBS Journal*, 273, 1871-1895.
33. Hansson GK, Holm J, Johansson L (1989). Detection of activated T lymphocytes in the human atherosclerotic plaque. *Am J Pathol*, 135, 169-175.
34. Harvima IT, Karkola K, Harvima RF, Naukkarinen A, Neittaanmaki H, Horsmanheimo M, Fraki JE (1989). Enzyme and immunohistochemical localization of mast cell tryptase in psoriatic skin. *Arch Dermatol Res*, 281, 231-237.
35. Holgate S, Walters C, Walls AF, Lawrence S, Shell DJ, Variend S, Fleming PJ, Berry PJ, Gilbert RE, Robinson C (1994). The anaphylaxis hypothesis of sudden infant death syndrome (SIDS): mast cell degranulation in cot death revealed by elevated concentrations of tryptase in serum. *Clin Exp Allergy*, 24, 1115-1122.
36. Horny HP, Kaiserling E, Parwaresch MR, Lennert K (1992). Lymph node findings in generalized mastocytosis. *Histiopath*, 21, 439.
37. Huang C, Li L, Krilis SA, Chanasyk K, Tang Y, Li Z, Hunt JE, Stevens RL (1999). Human tryptases alpha and beta/II are funktionally distinct due, in part, to a single amino acid difference in one of the surface loops that forms the substrate-binding cleft. *J Biol Chem*, 274, 19670-19676.
38. Irani AA, Schechter NM, Craig SS, DeBlois G, Schwartz LB (1986). Two types of human mast cells that have distinct neutral protease compositions. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.*, 83, 4464-4468.
39. Kaartinen M, Penttilä A, Kovanen PT (1994). Accumulation of activated mast cells in the shoulder region of human coronary atheroma, the predilection site of atheromatous rupture. *Circulation*, 90, 1669-1678.
40. Kaartinen M, van der Wal AC, van der Loos CM, Piek JJ, Koch AE, Becker AE, et al. (1998). Mast cell infiltration in acute coronary syndromes: implications for plaque rupture. *J Am Coll Cardiol*, 32, 606-612.
41. Kaminska R, Helisalmi P, Harvima RJ, Naukkarinen A, Horsmanheimo M, Harvima IT (1999). Focal dermal-epidermal separation and fibronectin cleavage in basement membrane by human mast cell tryptase. *J Invest Dermatol*, 113, 567-573.
42. Kapeller-Adler R (1965). Histamine catabolism in vitro and in vivo. *Fed Proc*, 24, 757-765.
43. Kervinen H, Kaartinen M, Mäkynen H, Palosuo T, Mänttari M, Kovanen PT (2005). Serum tryptase levels in acute coronary syndroms. *Int J Cardiol*, 104, 138-143.
44. Keyzer JJ, de Monchy JG, van Doormaal JJ, van Voorst Vader PC (1983). Improved diagnosis of mastocytosis by measurement of urinary histamine metabolites. *N.Engl.J.Med.*, 309, 1603-1605.
45. Kitamura Y, Go S, Hatanaka K (1978). Decrease of mast cells in W/Wv mice and their increase by bone marrow transplantation. *Blood*, 52, 447-452.

46. Kounis N,Zavras G (1991). Histamin induced coronary spasm: the concept of allergic angina. *Br J Clin Pract*, 45, 121-128.
47. Kovanen PT,Kaartinen M,Paavonen T (1995). Infiltrates of activated mast cells at the site of coronary atheromatous erosion or rupture in myocardial infarction. *Circulation*, 92, 1084-1088.
48. Kovanen PT,Mänttari M,Palosuo T,Manninen V,Aho K (1998). Prediction of myocardial infarction in dyslipidemic men by elevated levels of immunoglobulin classes A, E and G, but not M. *Arch Intern Med*, 158, 1434-1439.
49. Laine P,Kaartinen M,Penttilä A,Panula P,Paavonen T,Kovanen PT (1999). Association between myocardial infarction and the mastcells in the adventitia of the infarct-related coronary artery. *Circulation*, 99, 361-369.
50. Laine P,Pentikainen MO,Wurzner R,Penttilä A,Paavonen T,Meri S,et al. (2002). Evidence for complement activation in ruptured coronary plaques in akute myocardial infarction. *Am J Cardiol*, 90, 404-408.
51. Liebetrau A 2005 Die Bedeutung des Renin-Angiotensin-Systemsund der Mediatoren Histamin und Tryptase bei Bienen- und Wespengift-Allergie vor und nach Stichprovokation.
52. Lindstedt KA,Kokkonen JO,Kovanen PT (1998). Regulation of the activity of secreted human lung mast cell tryptase by mast cell proteoglycans. *Biochem Biophys Acta*, 1425, 617-627.
53. Little SS,Johnson DA (1995). Human mast cell tryptase isoform: separation and examination of substrate-specificity differences. *Biochem J*, 307, 341-346.
54. Lohi J,Harvima I,Keski-Oja J (1992). Pericellular substrates of human mast cell tryptase: 72000 dalton gelatinase and fibronectin. *J Cell Biochem*, 50, 337-349.
55. Ludoph -Hauser D, Rueff F, Sommerhoff CP, Przybilla B (1999). Tryptase, a marker for the activation and localization of mast cells. *Hautarzt*, 50, 556-561.
56. Maier M,Spragg J,Schwartz LB (1983). Inactivation of human high molecular weight kininogen by human mast cell tryptase. *J Immunol*, 130, 2352-2356.
57. Metcalfe DD,Baram D,Mekori YA (1997). Mast cells. *Physiol Rev*, 77, 1033-1079.
58. Miller JS,Moxley G,Schwartz LB (1990). Cloning and characterization of a second complementary DNA for human tryptase. *J.Clin.Invest.*, 86, 864-870.
59. Miller JS,Westin EH,Schwartz LB. (1989). Cloning and characterization of complementary DNA for human tryptase. *J Clin Invest*, 84, 1188-1195.
60. Nikolaidis LA,Kounis NG,Gradman AH (2002). Allergic angina and allergic myocardial infarktion: a new twist on an old syndrom. *Can J Cardiol*, 18, 508-511.
61. Pallaoro M,Fejzo MS,Shayesteh L,Blount JL,Caughey GH (1999). Characterization of genes encoding known and novel human mast cell tryptases on chromosome 16p13.3. *J.Biol.Chem.*, 274, 3355.
62. Patella V,Marino I,Arbustini E,Lamparter-Schummert B,Verga L,Adt M,et al. (1998). Stem cell factor in mast cells and increased mast cell density in idiopathic and ischemic cardiomyopathy. *Circulation*, 97, 971-978.

63. Pearce FL (1989). Non-IgE-mediated mast cell stimulation. *Allergic Response*, 147, 74-92.
64. Pereira PJ, Bergner A, Macedo-Ribeiro S, Huber R, Matschiner G, Fritz H, Sommerhoff CP, Bode W (1998). Human beta-tryptase is a ring-like tetramer with active sites facing a central pore. *Nature*, 392, 306-311.
65. Platt MS, Yunginger JW, Sekula-Perlman A, Irani A-M, Smialek J, Mirchandani HG, Schwartz LB (1994). Involvement of mast cells in sudden infant death syndrome. *J Allergy Clin Immunol*, 94, 250-256.
66. Pumphrey RSH & Roberts ISD (2000). Postmortem findings after fatal anaphylactic reactions. *J Clin Pathol*, 53, 273-276.
67. Randall B, Butts J, Halsey JF (1995). Elevated postmortem tryptase in the absence of anaphylaxis. *J Forensic Sci*, 40, 208-211.
68. Roberts LJ, Seweetman BJ, Lewis RA, Austen KF, Oates JA (1980). Increased production of prostaglandin D2 in patients with systemic mastocytosis. *N.Engl.J.Med.*, 303, 1400-1404.
69. Sakai K, Ren S, Schwartz LB (1996). A novel heparin-dependent processing pathway for human tryptase. Autocatalysis followed by activation with dipeptidyl peptidase I. *J Clin Invest*, 97, 988-995.
70. Sakata Y, Hirayama A, Nanto S, Kitakaze M, Hori M, Kodama K (1996). Elevation of the plasma histamine concentration in the coronary circulation in patients with variant angina. *Am J Cardiol*, 77, 1121-1126.
71. Schwartz LB (1990). Tryptase a mediator of human mast cells. *Allergy Clin Immunol*, 86, 594-598.
72. Schwartz LB (1985). Monoclonal antibodies against human mast cell tryptase demonstrate shared antigenic sites on subunits of tryptase and selective localization of the enzyme to mast cells. *J Immunol*, 134, 526-531.
73. Schwartz LB, Atkins PC, Bradford TR, Fleekop P, Shalit M, Zweiman B (1987). Release of tryptase together with histamine during the immediate cutaneous response to allergen. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 80, 850-855.
74. Schwartz LB, Bradford TR (1986). Regulation of tryptase from human lung mast cells by heparin. Stabilization of the active tetramer. *J Biol Chem*, 261, 7372-7379.
75. Schwartz LB, B. T. L. B. W. B. (1985). *J Immunol*, 135, 2762-2767.
76. Schwartz LB, B. T. L. B. W. B. (1985). *J Immunol*, 135, 2762-2767.
77. Schwartz LB, Bradford TR, Griffin JH (1985). The effect of tryptase from human mast cells on human prekallikrein. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 129, 76-81.
78. Schwartz LB, Bradford TR, Rouse C, Irani AM, Rasp G, van der Zwan JK, van der Linden PWG (1994). Development of a new, more sensitive immunoassay for human tryptase: use in systemic anaphylaxis. *J Clin Immunol*, 14, 190-204.
79. Schwartz LB, Irani AA, Roller K, Castells MC, Schechter NM (1987). Quantitation of histamine, tryptase and chymase in dispersed human T and TC mast cells. *J Immunol*, 138, 2611-2615.

80. Schwartz LB, Kawahara MS, Hugli TE, Vik D, Fearon DT, Austen KF (1983). Generation of C3a anaphylatoxin from human C3 by human mast cell tryptase. *J Immunol*, 130, 1891-1895.
81. Schwartz LB, Lewis RA, Austen KF (1981). Tryptase from human pulmonary mast cells. Purification and characterization. *J Biol Chem*, 256, 11939.
82. Schwartz LB, Lewis RA, Seldin D, Austen KF (1981). Acid hydrolases and tryptase from secretory granules of dispersed human lung mast cells. *J Immunol*, 126, 1290.
83. Schwartz LB, M. M. S. J. (1985). *Adv. Exp. Med. Biol. in press*.
84. Schwartz LB, Metcalfe DD, Miller J, Earl H, Sullivan T (1987). Tryptase levels as an indicator of mast cell activation in systemic anaphylaxis and mastocytosis. *N. Engl. J. Med.*, 316, 1622-1626.
85. Schwartz LB, Sakai K, Bradford TR, Ren SL, Zweiman B, Worobec AS, Metcalfe DD (1995). The α form of human tryptase is the predominant type present in blood at baseline in normal subjects and is elevated in those with systemic mastocytosis. *J. Clin. Invest.*, 96, 2702.
86. Schwartz LB, Yunginger JW, Miller J, Bokhari R, Dull D (1989). Time course of appearance and disappearance of human mast cell tryptase in the circulation after anaphylaxis. *J Clin Invest*, 83, 1551-1555.
87. Smith TJ, Hougland MW, Johnson DA (1984). Human lung tryptase, purification and characterization. *J Biol Chem*, 259, 11046-11051.
88. Somasundaram P, Ren G, Nagar H, Kraemer D, Mendoza L, et al. (2005). Mast cell tryptase may modulate endothelial cell phenotype in healing myocardial infarcts. *J Pathol*, 205, -102.
89. Stack MS, Johnson DA (1994). Human mast cell tryptase activates single-chain urinary-type plasminogen activator (pro-urokinase). *J. Biol. Chem.*, 269, 9416.
90. Tam EK, Caughey GH (1990). Degradation of airway neuropeptides by human lung tryptase. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 3, 27.
91. Toru H, Pawankar R, Ra C, Yata J, Nakahata T (1998). Human mast cells produce IL-13 by high-affinity IgE receptor cross-linking: enhanced IL-13 production by IL-4-primed human mast cells. *J Allergy Clin Immunol*, 102, 491-502.
92. Trautmann A, Krohne G, Brocker EB, Klein CE (1998). Human mast cells augment fibroblast proliferation by heterotypic cell-cell adhesion and action of IL-4. *J Immunol*, 160, 5053-5057.
93. Unna PG (1887). Beiträge zur Anatomie und Pathogenese der Urticaria simplex und pigmentosa. *M Schr Prakt Dermatol, Suppl Dermatol Stud*, 3, 9.
94. Van der Wal AC, Becker AE, van der Loos CM, Das PK (1994). Site of intimal rupture or erosion of thrombosed coronary atherosclerotic plaques is characterized by an inflammatory process irrespective of the dominant plaque morphology. *Circulation*, 89, 36-44.

95. Vanderslice P, Ballinger SM, Tam EK, Goldstein SM, Craik CS, Caughey GH (1990). Human mast cell tryptase: Multiple cDNAs and genes reveal a multigene serine protease family. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.*, 87, 3811-3815.
96. Wang HW, McNeil HP, Husain A, Liu K, Tedla N, Thomas PS, Raftery M, King GC, Cai ZY, Hunt JE (2002). Delta tryptase is expressed in multiple human tissues, and a recombinant form has proteolytic activity. *J Immunol*, 169, 5145-5152.
97. Wenzel SE, Fowler AA, Schwartz LB (1988). Activation of pulmonary mast cells by bronchoalveolar allergen challenge: in vivo release of histamine and tryptase in atopic subjects with and without asthma. *Am.Rev.Respir.Dis.*, 137, 1002-1008.
98. Wodnar-Filipowicz A, Heusser CH, Moroni C (1989). Production of the hematopoietic growth factors GM-CSF and interleukin-3 by mast cells in response to IgE receptor-mediated activation. *Nature*, 339, 150-152.
99. Wong GW, Foster PS, Yasuda S, Qi JC, Mahalingam S, Mellor EA, Katsoulotos G, Li L, Boyce JA, Krilis SA, Stevens RL (2002). Biochemical and functional characterization of human transmembrane tryptase (TMT)/tryptase gamma. TMT is an exocytosed mast cell protease that induces airway hyperresponsiveness in vivo via an interleukin-13/interleukin-4 receptor alpha/signal transducer and activator of transcription (STAT) 6-dependent pathway. *J Biol Chem*, 277, 41906-41915.
100. Wong GW, Tang Y, Feyfant E, Sali A, Li L, Li Y, Huang C, Friend DS, Krilis SA, Stevens RL (1999). Identification of a new member of the tryptase family of mouse and human mast cell proteases which possesses a novel COOH-terminal hydrophobic extension. *J Biol Chem*, 274, 30784-30793.
101. Xia H-Z, Kepley CL, Sakai K, Chelliah J, Irani A-MA, Schwartz LB (1995). Quantitation of tryptase, chymase, Fc{epsilon}RI{alpha} and Fc{epsilon}RI{gamma} mRNAs in human mast cells and basophils by competitive reverse transcription-polymerase chain reaction. *J.Immunol.*, 154, 5472.
102. Yu JX, Chao L, Chao J (1995). Molecular cloning, tissue-specific expression, and cellular localization of human prostaticin mRNA. *J Biol Chem*, 270, 13489.
103. Yu JX, Chao L, Ward DC, Chao J (1996). Structure and chromosomal localization of the human prostaticin (PRSS8) gene. *Genomics*, 32, 334-340.
104. Yunginger JW, Nelson DR, Squillace DL, Jones RT, Holly KE, Hyma BA, Schwartz LB (1991). Laboratory investigation of deaths due to anaphylaxis. *J Forensic Sci*, 36, 857-865.

DANKSAGUNG

Meinem Doktorvater, Herrn PD Dr. med. Randolph Brehler, danke ich für die Bereitstellung des Themas, die stete Diskussionsbereitschaft mit vielen Anregungen sowie für die hervorragende Betreuung bei der Anfertigung dieser Arbeit.

Herrn PD Dr. med. Andreas Schmeling gilt mein Dank für die Übernahme des Zweitgutachtens.

Ich danke allen Mitarbeitern der Allergologischen Abteilung der Hautklinik Münster die ich während meiner Arbeit dort kennen gelernt habe und die mich immer und zu jeder Zeit freundlich und hilfsbereit unterstützt haben.

Ebenso möchte ich allen Mitarbeitern des Instituts für Rechtsmedizin der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster, unter der Leitung von Prof. Dr. med. Dr. h. c. Brinkmann, für ihre Unterstützung bei der Datenerhebung im Rahmen dieser Arbeit danken.

Bedanken möchte ich mich auch bei all meinen Freunden die stets für mich da waren und mir immer mit Rat und Tat zur Seite stehen.

Zuletzt möchte ich meinen Eltern den größten Dank aussprechen. Ohne ihre bedingungslose Unterstützung und Liebe wäre ich nie dort wo ich heute bin. Ihnen widme ich diese Arbeit.

