

An den
Österreichischen Imkerbund

Georg-Coch-Platz 3/11a
1010 Wien

ENDBERICHT
ZUM PROJEKT
BIENENGIFT GEGEN ENTZÜNDUNGEN
- ein Beitrag zur Schaffung wissenschaftlicher Grundlagen
für Apitherapeutische Behandlungskonzepte

Prof. Dr. Christian Reiter

1. Einleitung

Vor etwa 200 Millionen Jahren - vor Bestehen der Blütenpflanzen- dürften die Bienen, wie die Wespen, noch als räuberische Insekten ihren Eiweiß- und Fettbedarf aus Beutetieren und ihren Kohlehydratbedarf nach Benagen der Rinde aus austretenden Pflanzensaft gewonnen haben. Aus dieser Zeit stammen noch der Stachel- und Giftapparat sowie die sehr effizienten Beißwerkzeuge. Als sich in der Kreidezeit, vor etwa 100 Millionen Jahren, unter gegenseitiger Beeinflussung die Blütenpflanzen und die Honigbienen evolutiv entwickelten, konnten die Bienen ihren Eiweiß- und Fettbedarf aus dem Blütenpollen abdecken. Die Kohlehydrate wurden aus speziellen Einrichtungen der Pflanzen, den Nektarien, in Form von Zuckersaft erzielt, wodurch die Blütenpflanzen bestäubende Tiere anlocken. Der Stachelapparat, der primär zur Jagd diente, wird nur mehr als Verteidigungseinrichtung genutzt und die Beißwerkzeuge dienen als effiziente Arbeitswerkzeuge (Benagen, Kneten).

Der Mensch steht seit seiner altsteinzeitlichen Entwicklungsstufe in regelmäßiger Beziehung zu den Honigbienen. In diesem Kulturstadium war der Mensch lediglich Nutznießer aus der Plünderung der Honigreserven wilder Honigbienen. Vermutlich ab dem Seßhaftwerden im

Neolithikum und ab dem Beginn des Landbaues hat auch der Mensch begonnen, die Honigbiene zu kultivieren. Er ging mit ihr eine Symbiose ein, die dem Menschen höhere landwirtschaftliche Erträge und den Bienen Monokulturen und saisonale Häufungen blühender Pflanzen gebracht hat. Gewiss ist, dass seit dem Alten Ägypten (ca. 2400 v. Chr.) der Mensch den Honigbienen eigene Unterkünfte in Form von horizontal gelagerten Röhren herstellte - wie sie auch heute noch Verwendung finden - und sie so in seinem Umfeld züchtete und selektierte.

Wehrfähigkeit, im Sinne defensiver Stärke, ist bei den hohen Eiweiß-, Fett- und Zuckerreserven, die ein Bienenvolk zu verwalten hat, lebenswichtig. Die Pförtnerbienen erkennen Individuen des eigenen Volkes am Geruch und eine fremde Biene kann nur dann in ein Bienenvolk eindringen, wenn sie sich einbettelt, indem sie Pollen oder Honig als Gastgeschenk mitbringt. Sticht eine Biene ein anderes Insekt, so kann sie den Stachel aus dessen Chitinpanzer wieder herausziehen und sie selbst erleidet keinen Schaden.

Da auch für den alterfahrenen Imker nichts unerfreulicher ist, als bei der Arbeit regelmäßig gestochen zu werden, hat es der Mensch geschafft, durch züchterische Selektion die Aggressivität der Honigbienen zu vermindern. Die natürlich vorkommenden Bienenrassen sind in der Regel relativ friedfertig. Herrscht stabiles, schönes Wetter und gibt es reichlich Nahrungsangebot, so ist, selbst bei umfänglichen Eingriffen in ein Bienenvolk, kaum mit Stichen zu rechnen. Gewisse Pflanzen, wie z.B. der Raps, erhöhen in ihrer Blühzeit die Aggressivität der Bienen. Aber auch Erschütterung des Bienenvolkes oder starke Gerüche, wie z.B. Schweiß führen zu Aggression. Eine junge, gesunde Königin vermindert oft die Aggression des Bienenvolkes. Auch der genetische Faktor ist mitbestimmend, so leiden beispielsweise die Bewohner der Südstaaten der USA derzeit unter der genetisch bedingten Aggressivität der sogenannten Killerbienen, einer von Menschen unfreiwillig geschaffenen Hybridkreuzung afrikanischer mit europäischer Bienen.

Wie wir alle schon einmal erfahren mussten, geht der Stich sofort mit einer brennenden Schmerzempfindung einher und es kommt zur Rötung, gefolgt von Überwärmung, Spannung und Schwellung der betroffenen Stelle. Kühlung mindert das Beschwerdebild. Im späteren

Verlauf, meist bei Abklingen der Schwellung, - nach 1 bis 2 Tagen -, tritt ein Jucken der betroffenen Region auf. Die Symptomatik des Bienenstiches enthält deckungsgleich die Symptome einer klassischen Entzündung, nämlich Schmerz, Rötung, Hitze und Schwellung und eine Besserung bei Kälteapplikation.

Hippokrates hat bereits ausgeführt, dass *„Die Krankheit durch Einflüsse entsteht, die den Heilmitteln ähnlich wirken, und der Krankheitszustand wird beseitigt durch Mittel, die in ihm ähnliche Erscheinungen hervorrufen.“* und Paracelsus meinte: *„Wer Gift verachtet, der weiß nicht um das, was im Gift verborgen liegt! Denn wo Gift ist, ist auch Tugend“.*

In der Volksmedizin wird behauptet, dass Imker meist bis ins hohe Alter frei von entzündungsbedingten Erkrankungen sind, und Bienenstiche unter anderem gut gegen entzündliche Gelenkserkrankungen z.B. Arthritis, Multiple Sklerose wirken würden. Tierversuche und klinische Studien deuten auf die Richtigkeit dieser Beobachtung hin (3, 9, 10, 27, 33, 34, 36).

In der Homöopathie wird „Apis“, das dynamisierte Bienengift, gegen alle jene Entzündungen angewandt, die mit Schmerz, wässriger Schwellung und Hitze einher gehen.

Da Bienengift die klassischen Symptome der Entzündung (Rötung, Schwellung, Schmerz, Hitze) nach sich zieht, ist anzunehmen, dass der Organismus im Sinne einer Gegenregulation entzündungshemmende Mechanismen aktiviert. Durch Tierversuche (1, 12, 31, 45, 46) und klinische Tests (20, 23) konnte geklärt werden, dass Bestandteile des Bienengiftes über eine Aktivierung der Zwischenhirn-Hypophysen-Nebennieren-Achse eine Freisetzung von Cortisol nach sich ziehen. Die bisherigen Messergebnisse haben aber auf die bezüglich der Aussagekraft bedeutsame zirkadiane Rhythmik des Cortisolspiegels nicht Bedacht genommen, so dass oben angeführte Hypothese auch unter diesem Aspekt zu überprüfen war. Da Imker hinsichtlich ihrer Krankheitsanfälligkeit von der Normalbevölkerung abweichen dürften, könnte chronische Bienengiftexposition und ein damit im Zusammenhang stehender veränderter Cortisolmetabolismus von allgemein medizinischem Interesse sein.

2. Fragestellungen

Mit gegenständlicher Studie sollte versucht werden, folgende Fragen zu beantworten:

- Reagiert auch der menschliche Organismus nach s.c. Bienengiftapplikation mit einer Änderung des Cortisolspiegels?
- Wenn ja, gibt es Unterschiede in diesen Änderungen zwischen chronisch exponierten

(Imker) und akzidentell exponierten Menschen (Nicht-Imker)

- Wie lange dauert die Cortisolerhöhung an?
- Welches Ausmaß im Bezug auf die circadianen Extremwerte wird erreicht?
- Welche nachhaltige Änderung erfährt der Cortisolhaushalt nach länger dauernder s.c. Bienengiftapplikation?
- Kommt es zur Gewöhnung bzw. Toleranzentwicklung?

3. Bienengift

Zur Giftproduktion sind bei *Apis mellifera* nur die Arbeiterinnen und die Königin befähigt.

Die sogenannte Saure Giftdrüse, die das eigentliche Bienengift produziert, ist eine gegabelte, schlauchförmige Drüse im Hinterleib, die das Gift an die Giftblase abgibt. Hingegen produziert die Alkalische Giftdrüse nur eine Gleitsubstanz für den Stechapparat. Die Stockbienen produzieren ca. ab einem Alter von 3 Tagen allmählich Gift. Im Alter von ca. 15 Tagen ist die Giftblase komplett gefüllt (0,3g). Bei Sommerbienen hält die Giftproduktion ca. bis zum 20. Tag an, sodass eine durch einen Stechvorgang entleerte Giftblase bei Bienen unter 20 Tagen Alter wieder neu gefüllt wird.

Das Gift der Biene ist eine Mischung aus diversen Stoffgruppen:

- 3 Peptide (Eiweißkörper) machen ca. 55% der Trockensubstanz des Bienengiftes aus:
 - Melittin (50%) wirkt aufgrund seines chemischen Aufbaus als oberflächenaktives Detergens (seifenartig) und entlädt an Nervenzellen die Schmerzrezeptoren.
 - Apamin (2%) wirkt auf Ionenkanäle der Nervenzellmembranen und kann Unruhe und allenfalls auch Krämpfe bewirken.
 - Das Mastzelldegranulierende Peptid setzt Histamin aus den regionalen Mastzellen des Zwischenbindegewebes frei und ist an der Lokalreaktion beteiligt
- Die biogenen Amine Histamin und Serotonin (20% des Trockengewichtes) bewirken eine lokale Gefäßreaktionen und Schmerz.
- 3 Enzyme (Phospholipase A2 (10% des Trockengewichtes), Hyaluronidase, Phospholipase B) haben spaltende und abbauende Effekte auf Gewebsbestandteile und fördern dadurch die Ausbreitung der Giftstoffe. Phospholipase A2 ist auch das wichtigste Allergen des Bienengiftes.

- Weiters finden sich Dopamin (0,5%) und Noradrenalin (0,5%).

Eigentlich sind Bienenstiche, sieht man von den allergisch/anaphylaktischen Reaktionen ab, für den Menschen nicht sonderlich toxisch. Meist bleibt es bei den bekannten lokalen Reaktionen (siehe oben). Es bedarf schon einer großen Zahl von Stichen um Allgemeinsymptome auszulösen. Selbst 50 bis 100 Stiche werden durchaus verkraftet. Einige hundert Stiche können jedoch als Folge der zytotoxischen Wirkung Gewebsschäden, Rhabdomyolyse und Hämolyse mit nachfolgendem Nierenversagen bewirken. Die massiven Ödeme tragen die Gefahr des hypovolämischen Schocks in sich. Todesfälle, die erst nach Tagen auftreten, sind extrem selten. Die allergische Sofortreaktion, die hin bis zum anaphylaktischen Schock mit rapide abfallendem Blutdruck einhergeht, der ohne rasche ärztliche Hilfe meist tödlich endet, ist eine gefürchtete Verlaufsform (37). In den USA sollen ca. 0,15 bis 4% der Bevölkerung auf Insektenstiche allergisch reagieren. Trotzdem treten in Deutschland nur etwa 10 Todesfälle pro Jahr nach Bienen- oder Wespenstichen auf. Die Chance, an einem Blitzschlag zu sterben, ist somit zweieinhalbmal größer.

In Tierversuchen bei Ratten, Hunden und Affen (1, 12, 45, 46) konnten Veränderungen des Cortisolspiegels nach Bienengiftapplikation nachgewiesen werden.

4. Cortisol

Cortisol oder Hydrocortison ist ein körpereigenes Hormon der Gruppe der Glucocorticoide und wird aus Progesteron, dem Vorläufer aller Steroidhormone, synthetisiert. Die Synthese erfolgt in der Zona fasciculata der Nebennierenrinde. Obwohl in der Nebennierenrinde auch Aldosteron (Zona glomerulosa) und Sexualhormone (Zona reticularis) produziert werden, ist Cortisol das Hauptsekretionsprodukt (daher der Name Cortisol von *cortex* = *Rinde*).

Die Regulation der Synthese und Freisetzung unterliegt dem Hypophysenhormon ACTH, welches selbst wiederum durch das Hypothalamushormon CRH (Corticotropin-Releasing-Hormon) reguliert wird. Cortisol selbst hemmt die Freisetzung von CRH und somit in weiterer Folge von ACTH (negativer Feedbackmechanismus).

Cortisol hat ein breites Wirkungsspektrum und beeinflusst sowohl den Kohlenhydrathaushalt, den Fettstoffwechsel und den Proteinumsatz. Zudem wirkt Cortisol entzündungshemmend, immunsuppressiv und ist ein wichtiges Stresshormon.

Der Cortisolspiegel unterliegt einer circadianen Rhythmik. Der höchste Wert wird morgens kurz nach dem Aufwachen erreicht (Cortisol Awakening Response, CAR).

4.1. Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse (HHN-Achse)

Die Cortisolfreisetzung unterliegt einem komplexen Regelkreis auf zentraler Ebene. Im Hypothalamus wird das Corticotropin-Releasing-Hormon (CRH) gebildet, welches in weiterer Folge in den Hypophysenvorderlappen (hypothalamo-hypophysärer Kreislauf) gelangt. Hier erfolgt die Produktion und Ausschüttung von ACTH (adrenocorticotropes Hormon, Corticotropin) – dem wichtigsten Freisetzungsstimulus für Cortisol - das auf dem Blutweg die Nebennierenrinde erreicht und dort eine gesteigerte Synthese und Freisetzung von Cortisol bewirkt, welches wiederum auf Hypothalamus und Hypophyse hemmend wirkt und somit den Regelkreis wieder schließt.

Körperlicher Stress oder psychische Belastungen (14, 24, 32, 35) erhöhen über vermehrte CRH-Freisetzung und einen erhöhten Sympathicotonus die Ausschüttung von Cortisol.

4.2. Synthese/Freisetzung

Das Hormon Cortisol (Hydrocortison) (MolG: 362.47) gehört chemisch zur Gruppe der 17-Hydroxysteroiden und wird täglich in einer Menge von ca. 20-30 mg in der Zona fasciculata der Nebennierenrinde aus Cholesterin über Progesteron mit Hilfe spezifischer Hydroxylasen synthetisiert. Im Blut ist Cortisol zu 95% an die Transportproteine Transcortin (CBG = corticosteroid binding globulin) und Albumin gebunden. Die übrige, ungebundene Fraktion

(freies Cortisol) stellt den eigentlich biologisch aktiven Anteil dar. Seine ausgeprägte Lipophilie und sein niedriges Molekulargewicht ermöglichen dem ungebundenen Cortisolanteil die passive Diffusion durch die Zellmembranen auch in die Gewebsflüssigkeit sowie in Körpersekrete (Tränen, Speichel etc.). Die Wirkung erfolgt über intrazelluläre Rezeptoren.

Cortisol besitzt im Gegensatz zu anderen Hormonen eine relativ lange Plasmahalbwertszeit von 60 - 120 Minuten und ist somit nach seiner Freisetzung relativ lange biologisch verfügbar.

Erhöhte Cortisolwerte treten auf bei

- primärem Cushing-Syndrom
- Alkoholismus
- Depression
- Anorexie
- Adipositas
- Östrogen-Therapie, Schwangerschaft, „Pille“
- Stress, Verletzungen, schwere physische Belastung

Erniedrigte Cortisolwerte bei

- primärer (Morbus Addison) und sekundärer Nebennierenrindeninsuffizienz
- Zuständen mit hohem Eiweißverlust

Proteinreiche Diät bewirkt eine Erhöhung des Cortisolspiegels, kohlehydratreiche Diät eine Reduktion (2).

Körperliche Anstrengung geht mit vorübergehender Cortisolausschüttung einher (24, 42).

Raucher zeigen geringere Cortisolspiegelanstiege, wenn sie psychischen Herausforderungen ausgesetzt werden, als Nichtraucher (29, 30).

Hohe Cortisolspiegel gehen mit Bluthochdruck einher (16). Studien konnte aufdecken, dass Versuchspersonen mit familiärer Disposition zu Bluthochdruck bei Stress zu überschießender Cortisolausschüttung neigen (17).

4.3. Circadiane Rhythmik

Kinder werden ohne circadianen Rhythmus der Cortisolausschüttung geboren und entwickeln im Verlauf des ersten Lebensjahres, offenbar parallel zur Stabilisierung ihres Schlaf- und Wachrhythmus, den charakteristischen Cortisolspiegelverlauf (13).

Ab Ende des 1. Lebensjahres unterliegt die Cortisol-Freisetzung einem circadianen Rhythmus mit einem Tagesmaximum in den frühen Morgenstunden (Cortisol Awakening Response, CAR), wobei bis zu 90% der Cortisolmenge bis zum Vormittag aus der Nebennierenrinde ins Blut abgegeben werden, um schließlich kontinuierlich auf seinen tiefsten Wert (ungefähr Mitternacht) zu fallen.

Der höchste Wert wird morgens kurz nach dem Aufwachen erreicht und beträgt im Blutserum $165\text{-}690\text{ nmol/L} = 5,9\text{ - }25\text{ }\mu\text{g/dL} = 59\text{ - }250\text{ ng/ml}$ (Cortisol total) bzw. bei $5\text{-}23\text{ nmol/L} = 181\text{-}832,6\text{ ng/dL} = 1,8\text{-}8,3\text{ ng/ml}$ (freies Cortisol)).

Referenzbereich Serumcortisol

▶ über 200 nmol/L Cortisol morgens (Erwachsene)
unter 165 nmol/L Cortisol abends (Erwachsene)

Achtung: die Referenzbereiche sind methodenabhängig!

Umrechnung: $[\mu\text{g/dL}] \times 0.0276 = [\mu\text{mol/L}]$; $[\mu\text{mol/L}] \times 36.2 = [\mu\text{g/dL}]$

Trotz seiner circadianen Rhythmik ist der Cortisolspiegel äußerst empfindlich gegenüber exogenen Reizen, welche als Reizantwort zu weiteren Cortisol-Peaks führen können. Dabei bestehen bei gleichen Stimuli zum Teil signifikante individuelle Unterschiede in der „Reizantwort“.

4.4. Abbau

Der Abbau erfolgt vorwiegend in der Leber durch Hydrierung, Glucuronidierung/Sulfatierung (u. a. zu Cortolonen und Tetrahydrocortisol). Danach werden die Metaboliten größtenteils über die Niere in konjugierter Form ausgeschieden.

4.5. Bekannte Glucocorticoid-Rezeptoren-vermittelte Wirkung

base-level — physiologische Reaktionen

high-dose — bei Stress und unspezifischer pharmakologischer Anwendung.

Metabolismus (Induktion von Leberenzymen)

- Erhöhung des Glukosespiegels (insulinantagonistisch)
- Hemmung des Glucoseverbrauchs im peripheren Geweben
- Steigerung der Glykogensynthese
- Herabsetzung von Insulinempfindlichkeit und Glukosetoleranz
- Herabsetzung der Nierenschwelle für Glukose
- Aufrechterhaltung der Gewebsreaktionsfähigkeit gegenüber Katecholaminen
- Stimulation der alpha-adrenergen Rezeptoren an glatten Muskel- und Nervenzellen.
- Steigerung der Glucoseneubildung (Glukoneogenese) aus Aminosäuren durch vermehrten Eiweißabbau (insulinantagonistisch)
- Förderung des Proteinabbaues, Hemmung der Proteinsynthese
- Lipolyse = Fettsäuremobilisierung (durch Verstärkung der Catecholamin – und Glucagonwirkung)

Membranen

Stabilisierung von Membranen und Lysosomen

Wasser – und Elektrolyt – Haushalt

erhöhte Na^+ /Wasser-Rückresorption, erhöhte K^+ -Ausscheidung

Herz – Kreislaufsystem

- Steigerung des Herz–Minuten–Volumens
- Erhöhung des Blutdrucks durch Gefäßkonstriktion

Hämatologie

Erhöhung der Thrombozyten und Erythrozyten

Zunahme der neutrophilen Granulozyten,

Abnahme der Lymphozyten, eosinophilen und basophilen Granulozyten,

Immunsystem

entzündungshemmend durch Hemmung der

- frühen (Ödem, Fibrinexkretion, Kapillardilatation, Leukozytenmigration und Phagozytose) und
- späten Entzündungsreaktion (Hemmung der Kapillar – und Fibroblastenproliferation, Kollagen – und Narbenbildung),

immunsuppressiv (Hemmung der Proteinsynthese der Lymphozyten).

Hemmung der Prostaglandinsynthese

ZNS

Einfluss auf das Gehirn mit Veränderung des Verhaltensmusters

Unerwünschte Arzneimittel-Wirkungen (UAW)

bei systemischer Langzeittherapie

- Suppression der endogenen Cortisol-Sekretion
- Cushing Syndrom
- Ulcus ventriculi
- Ödeme
- Hypertonie
- Petechien
- Steroidakne
- Steroiddiabetes
- Steroidkatarakt
- Myopathie
- Osteoporose
- erhöhtes Infektionsrisiko

4.6. substanzabhängige Relativität der Glucocorticoid-Rezeptoren-vermittelten Wirkung

Verschiedene natürlich vorkommende und synthetische Corticoide unterscheiden sich hinsichtlich ihrer Glukokortikoidaktivität, wobei Cortisol als Referenzsubstanz herangezogen

wird.

Substanz	Glukokortikoidaktivität
Natürliche Cortikoide	
Cortisol	1
Cortison	0,8
Corticosteron	0,3
Desoxycorticosteron	0
Aldosteron	0
Synthetische Kortikoide	
Fludrocortison	10
Prednison	4
Prednisolon	4
Methylprednisolon	5
Triamcinolon	5
Betamethason	25
Dexamethason	25

4.7. Therapie

Indikationen.

- Gezielter Einsatz (base-level) in der Substitutionstherapie bei Nebennierenrindeninsuffizienz,
- relativ unspezifisch (high-dose) zur Unterdrückung entzündlicher und autoimmunologischer Erkrankungen.
 - rheumatische Erkrankungen (z.B. Rheumatoide Arthritis)
 - allergische Erkrankungen (z.B. anaphylaktischer Schock, Urtikaria)
 - Blutkrankheiten (z.B. idiopathische Thrombozytopenie)
 - Erkrankungen des Magen-Darm-Trakts (z.B. Colitis ulcerosa)
 - Erkrankungen der Leber
 - Erkrankungen der Lunge (z.B. Asthma bronchiale)
 - Haut- und Augenkrankheiten
 - maligne Tumoren (in Kombination mit Zytostatika)
 - Organtransplantationen

Kontraindikationen

- Ulcus duodeni oder Ulcus ventriculi
- schwere Osteoporose
- Herpesinfektionen
- Varicellen
- Systemmykosen
- Glaukom

Systemische Glucocorticoide

Wirkungsäquivalente Dosen verschiedener Glucocorticoidderivate auf der Basis von 5 mg Prednisolon

Wirkstoffmenge	Glucocorticoid	Präparate	Form
5 mg	Prednisolon	Decortin-H ®	tabl. 1, 5, 20, 50 mg
25 mg	Cortisonacetat	Cortison CIBA ®	tabl. 25 mg
20 mg	Hydrocortison (Cortisol)	Hydrocortison Hoechst ®	tabl. 10 mg
20 mg	Prednison	Decortilen ®	tabl. 6, 24, 60 mg
5 mg	Prednison	Decortin ®	tabl. 1, 5, 20, 50 mg
2,5 mg	Cloprednol	Syntestan ®	tabl. 2,5, 5 mg
5 mg	Fluocortolon	Ultralan-oral ®	tabl. 5, 20, 50 mg
4 mg	Triamcinolon	Delphicort ®	tabl. 2, 4, 8 mg
4 mg	Methylprednisolon	Urbason ®	tabl. 4, 8, 16, 40 mg
0,75 mg	Dexamethason	Dexamethason ®	tabl. 0,5; 1,5; 4 mg
	Dexamethason	Fortecortin ®	tabl. 0,5; 1,5; 4; 8 mg
0,50 mg	Betamethason	Celestamine N 0,5 ®	tabl. 0,5 mg liquid. 0,5 mg/1 ml

Hinweise für orale Langzeitbehandlung

- 7,5 mg Prednisolonäquivalente können ohne Wirkungsverlust häufig unterschritten werden.
- Minimal wirksame Dosis kann durch stufenweisen Abbau in 1- oder ½-mg-Schritten ausgetestet werden.
- Gleichzeitige Gabe von NSAR (nichtsteroidale Antirheumatika) und Prednison über 10 mg wegen Ulkusrisiko kontraindiziert.
- Bei Ernährung auf ausreichenden Gehalt an Eiweiß, Kalzium und Vitaminen achten.

Therapieüberwachung

Monatlich

– Gewicht, Blutdruck, Temperatur, Magen-, Rückenbeschwerden erfragen.

Alle 3 Monate

– BKS, Blutbild, Urinstatus, postprandialer Blutzucker.

Alle 6 Monate

– Fettstoffwechselanalyse, EKG.

Jährlich

– augenärztliche Kontrolle, Röntgen-Thorax, Knochendichte (Osteoporose)

Dosisreduktion

– Bei langsamer Dosisreduktion lässt man zuerst die Abenddosis fort, dann die mittags oder nachmittags gegebene Dosis, so dass nach ca. 10 Tagen nur noch eine Dosis morgens verabreicht wird.

– Dosisreduktion mit fließendem Übergang zur alternierenden Therapie (1 Dosis jeden 2. Tag morgens), um eine Suppression von ACTH/endogener Steroidbiosynthese der Nebennierenrinde (NNR) zu vermeiden.

Nach einem Monat pharmakologischer Steroidtherapie:

– Dosisreduktion auf 5 mg Prednisolon morgens für 2 Wochen, dann Absetzen möglich.

Hohe Dosierung (> 50 mg Prednisolon-Äquivalent pro Tag) *über Wochen:*

– Langsame Dosisreduktion auf 10 bis 5 mg pro Tag über mindestens ein Monat.

Dosierung > 75 mg Prednisolon-Äquivalente *über mehrere Monate bis Jahre:*

– Nach Absetzen muss mit NNR-Insuffizienz gerechnet werden. Deshalb Testung der NNR-Funktion erforderlich.

– Messung von Serum-Cortisol um 8.00 Uhr, und 24 Stunden nach der letzten Medikation (> 10 mg Prednisolon). Sofern im Normbereich (7–20 µg/dL), Absetzen möglich.

NNR-Insuffizienz

ACTH-Kurztest:

– Ausgangswert Cortisol vormittags und 60 Minuten nach Gabe von 0,25 mg ACTH i.v. – Anstieg um mindestens das Zweifache.

– Bei kompletter oder partieller NNR-Insuffizienz weiterhin mit 5 mg Prednisolon oder 20 mg Hydrocortison substituieren.

– Nach 2–3 Monaten erneut testen und ggf. absetzen.

– Die Gabe von Depot-ACTH ist nicht empfehlenswert, verkürzt nicht die Dauer der NNR-Insuffizienz.

Merke

Dosiserhöhung bei schwerer körperlicher Arbeit, Stress, Infekt.

Patient muss Notfallsausweis bei sich tragen.

5. MATERIAL UND METHODEN

5.1. Versuchspersonencharakteristik

Es wurden drei Versuchspersonenkollektive untersucht:

- eine Gruppe von Nicht-Imkern nach einem Bienenstich
- eine Gruppe von Imkern nach einem Bienenstich sowie
- eine Kontrollgruppe, in der kein Stichereignis stattgefunden hat.

Als Einschlusskriterien hierfür galten:

- Geschlecht: nur männlich, da laut Literatur (7) bei Frauen größere Streuungen bestehen.
- Altersgruppe: 20-60
- Unauffällige Krankengeschichte, insbesondere keine bekannte Überempfindlichkeit gegenüber Hymenopterenangift, sowie unauffällig bei physikalischer Krankenuntersuchung

Als Ausschlusskriterien:

- Kardiovaskuläre Erkrankungen, Nierenerkrankungen
- Bekannte Überempfindlichkeit gegenüber Hymenopterenangift
- Medikamenteneinnahme
- Alkoholmissbrauch
- Symptom einer klinisch relevanten Erkrankung während der letzten 6 Wochen vor Studienbeginn bzw. jegliche Erkrankungen, die mit den Studienzielen interferieren können.

Mit den Probanden der Kontrollgruppe wurde für ihre Teilnahme eine Aufwandsentschädigung von 50 Euro und mit den beiden anderen Verum-Gruppen (Zustand nach Bienenstich) von 150 Euro vereinbart.

Das Versuchskollektiv setzte sich insgesamt aus 29 Personen zusammen, davon 6 Personen in der Kontrollgruppe, 11 Imker, 12 Nicht – Imker.

Die Altersverteilung umfaßte das 20. bis 60. Lebensjahr.

Fälle n29	Alter	BMI	Sport	Raucher	Alkohol	Aktivitätsmax.	Tätigkeit	letzter Stich	Imker
Proband 01	31	28	gel.	nein	ja	abends	Student	10 Jahre	
Proband 02	28	23	ja	gel.	ja	abends	Student, Masseur		
Proband 03	29	26	gel.	gel.	ja	abends	Angestellter	einige Jahre	
Proband 04	33	28	gel.	gel.	ja	morgens	Laborant	5 Jahre	
Proband 05	43	26	gel.	gel.	Vortag	morgens	Laborant	10 Jahre	
Proband 06	20	27	ja	gel.	gel.	abends	Laborant	10 Jahre	
Proband 25	33	22	gel.	ja	gel.	abends	Angestellter	5 Jahre	
Proband 26	40	27	ja	ja	ja	abends	MA15		
Proband 27	42	24	ja	ja	ja	morgens	MA15	8 Jahre	
Proband 28	42	29	ja	nein	nein	morgens	Bestattung		
Proband 29	24	24	ja	nein	gel.	abends	MA15	2 Jahre	
Proband 30	44	34	gel.	nein	gel.	k.A.	MA15		
Proband 13	50	26	gel.	gel.	gel.	morgens	Tischler	vor 20 d	3a
Proband 14	54	28	gel.	nein	gel.	abends	Angestellter	vor 4 Wo	2a
Proband 15	50	29	nein	nein	gel.	morgens	LKW, Landwirt	vor 2 Wo	3a
Proband 16	38	21	gel.	nein	gel.	abends	Beamter	vor 3 Wo	26a
Proband 17	44	25	ja	gel.	nein	abends	Imker	vor 2 Wo	33a
Proband 18	60	25	gel.	nein	gel.	beides	Pensionist	vor 2Wo	50a
Proband 19	44	21	ja	nein	gel.	morgens	Sicherheitsbeamter	vor 2 Wo	1,5a
Proband 20	50	28	gel.	nein	ja	abends	Beamter	vor 2 Wo	17a
Proband 21	38	22	gel.	nein	ja	abends	Büro, PC	vor 31/2 Wo	3a
Proband 22	46	31	gel.	nein		morgens	Feuerwehr	vor 2 Wo	4Mo
Proband 24	36	25	gel.	gel.	gel.	beides	Messtechniker	vor 3 Wo	6Mo
Proband 07	25	20	gel.	nein	gel.	abends	Angestellter	7 Jahre	
Proband 08	27	24	ja	ja	ja	morgens	Angestellter		
Proband 09	42	24	ja	ja	Vortag	morgens	MA15	5 Jahre	
Proband 10	35	29	ja	ja	ja	morgens	MA15	13 Jahre	
Proband 11	40	27	ja	ja	ja	k.A.	MA15		
Proband 12	45	33	nein	nein	gel.	abends	Beamter	vor Jahren	

5.2. Speichel-Cortisol

Neben dem Blut (Serum) lassen sich die Cortisolwerte auch in anderen Körperflüssigkeiten (Tränenflüssigkeit, Schweiß, Urin) bestimmen. Während die Cortisolbestimmung in Tränenflüssigkeit und Schweiß eher von untergeordneter Bedeutung ist, konnte sich die Bestimmung von Speichel - Cortisol sowohl in der wissenschaftlichen als auch klinischen Praxis etablieren.

Speichel-Cortisol repräsentiert unabhängig vom Ausmaß des Speichelflusses und Transcortinschwankungen (8, 28) sehr genau die ungebundene, freie Fraktion im Plasma (43, 47, 50) und deren Änderungen und ist daher für engmaschige Mess-Wiederholungen besonders geeignet. Diese Methode der Cortisolbestimmung im Speichel stellt somit eine non-invasive und stressfreie Möglichkeit der Probengewinnung dar. Das Speichel-Cortisol repräsentiert somit die biologisch wirksame Komponente des Cortisolspiegels.

Die mittlere Speichelcortisolkonzentration wird mit 11-15 nmol/L (4,37-5,96 ng/ml) angegeben, wobei eine ausgeprägte intraindividuelle Variabilität besteht.

5.3. Sammlung von Speichelproben

Die standardisierte Sammlung von Speichel erfolgt hier mit Hilfe einer sogenannten „Salivette“. Leichtes Kauen der im Plastiksammelgefäß enthaltenen Watterolle stimuliert den Speichelfluss und ermöglicht in der Regel innerhalb von 1 – 2 Minuten eine ausreichende Gewinnung von 0.5 – 1 ml Speichel. Die Watterolle wird schließlich in das Transportgefäß zurückgegeben und bis zur Analyse gekühlt gelagert.

5.4. Studienablauf

Proben wurden an den Studientagen selbständig von den Probanden zu folgenden Zeitpunkten entnommen:

Gruppe 1: 11 Personen (Imker)

Die Probanden wurden angewiesen in den ersten beiden Studientagen morgens (innerhalb der ersten halben Stunde nach dem Aufstehen, VOR dem Zähneputzen), um 12 Uhr und abends (eine halbe Stunde vor dem zu Bett gehen, vor dem Zähne putzen, mindestens eine halbe Stunde nach dem Essen) Speichelproben zu gewinnen.

Am 3. Studientag ebenfalls morgens und um 12 Uhr. Die Probanden erfuhren im Rahmen der Studie am Nachmittag (14 Uhr) einen Bienenstich (in einen Arm). In weiterer Folge waren Speichelproben zu folgenden Zeitpunkten zu entnehmen: 20 Minuten, 40 Minuten, 60 Minuten und 120 Minuten nach dem Stich, weiters abends vor dem zu Bett gehen sowie am nächsten Morgen kurz nach dem Erwachen (4.Tag).

Gruppe 2: 12 Personen (Nicht – Imker)

1. Studientag: morgens, um 12 Uhr und abends

2. Studientag: morgens und 12 Uhr. Im Falle eines Stichereignisses (14 Uhr): 20 Minuten, 40 Minuten, 60 Minuten und 120 Minuten nach dem Stich, weiters abends vor dem zu Bett gehen sowie am nächsten Morgen kurz nach dem Erwachen (3.Tag).

Gruppe 3: 6 Personen (Kontrollgruppe)

An zwei aufeinander folgenden Tagen wurden Speichelproben morgens, um 12 Uhr sowie abends gewonnen.

5.5. Analytische Methoden

Nach der Sammlung wurden die Röhrchen bei -80°C bis zur Analyse aufbewahrt. Nachdem Auftauen wurden die Röhrchen fünf Minuten bei 3000 rpm, bei 4°C zentrifugiert und anschließend die Cortisol-Speichel-Konzentrationen mittels Radioimmunoassay (Spectria, Orion Diagnostics, Finland) doppelbestimmt.

6. ERGEBNISSE

6.1. Messergebnisse siehe Anhang D

sämtliche Messdaten sind in nmol/L angegeben

6.2. Eigene statistische Vorauswertungen

Für die Auswertung wurden

- die Proben der "Novizen" von Tag 1 (Kontrolle) + Tag 2 (Stich) + Morgenwert Tag 3,
- für die "Imker" die Proben von Tag 1 und 2 (Kontrolle) + Tag 3 (Stich) + Morgen Tag 4 verwendet.
- Die Daten der Kontrollprobanden wurden zur Ermittlung der ungestörten basalen circadianen Rhythmik berücksichtigt.

Gruppen und der Einfluss des Bienenstichs, sowie Tagesverlauf wurden mittels ANOVA überprüft (Gruppenfaktoren x Tag x Tagesgang) sowie die Messwerte nach dem Stich (Gruppe x Verlauf). Die Δ -Werte (morgendliches Maximum - abendliches Minimum) wurden ebenfalls mittels ANOVA (Gruppe x Tag) analysiert.

Aus diesen ergab sich Nachfolgendes:

1. Durch die angewandte Methode konnte die circadiane Konzentrationsänderung von Cortisol in reproduzierbarer Weise bei allen Probanden dargestellt werden (Abb.1.), wobei der Cortisolspiegel im Mittel am Morgen ca. 7-8 mal höher war, als am Abend.

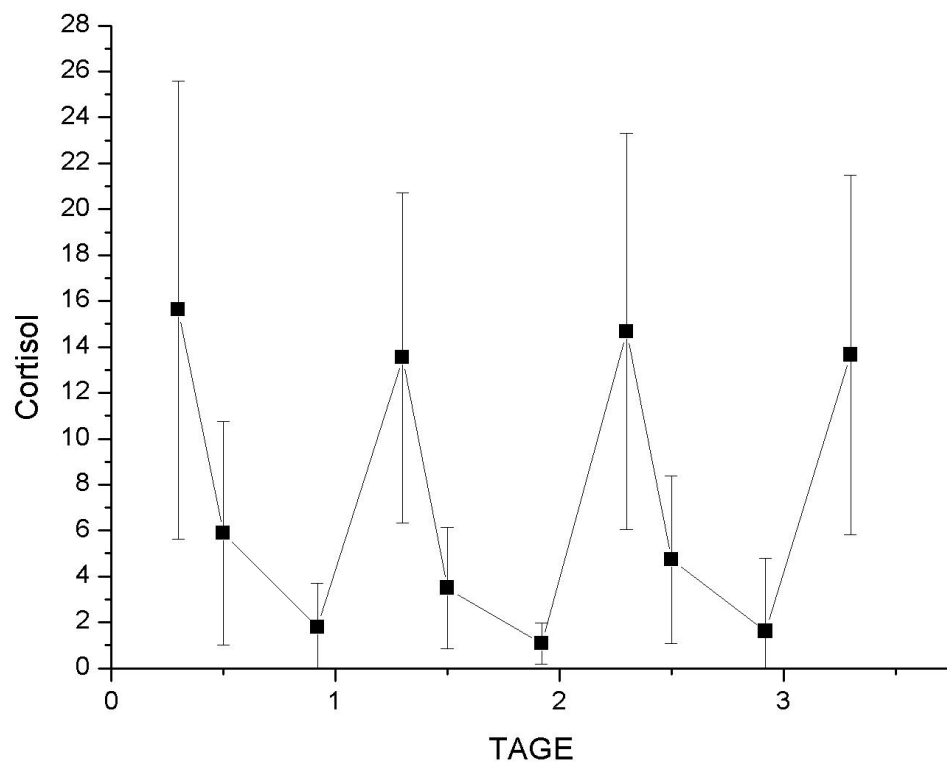


Abbildung 1

2. Sowohl Imker, als auch Nichtimker reagierten auf den Bienenstich mit einem Anstieg des Cortisolspiegels, wobei bei Imkern, als auch bei Nichtimkern z.T. sehr individuell Reaktionen und sowohl starke, als auch schwache Reaktionen beobachtet wurden (Abb.2).

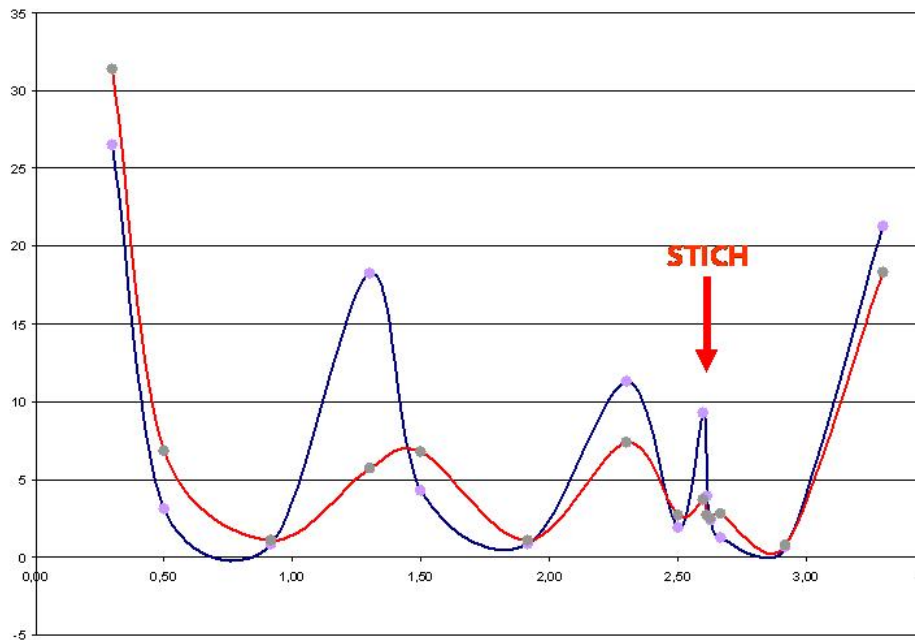


Abbildung 2

3. Die bisherigen vorinformativen statistischen Auswertungen (Abb.3) würden darauf hindeuten, dass bei den Imkern der abendliche Cortisolspiegel mit jenem der Nichtimker vergleichbar ist, am Abend eventuell stärker absinkt. Hingegen bestand der Eindruck, dass die Imker am Morgen mit einem höheren Cortisolspiegel beginnen.

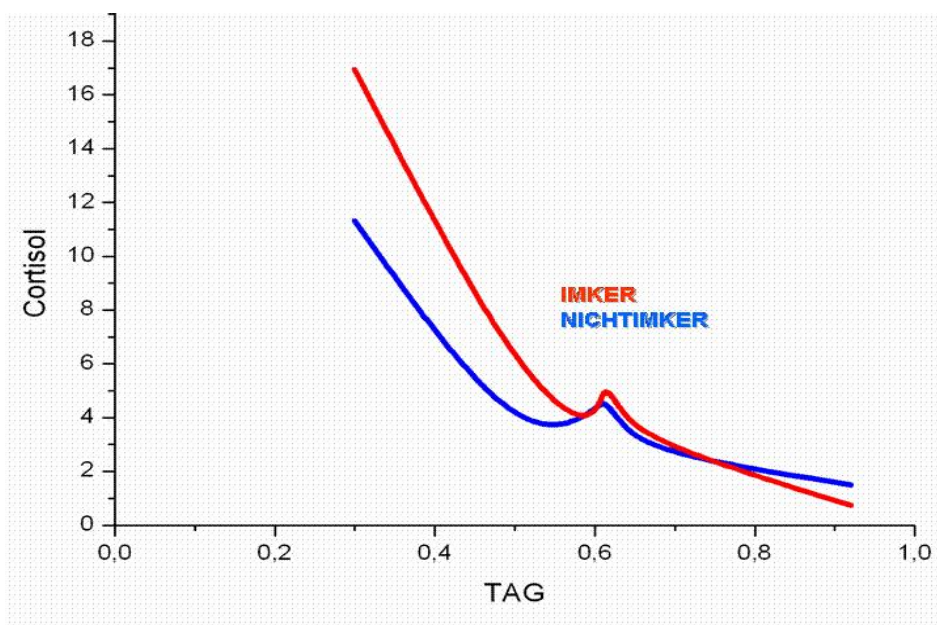


Abbildung 3

6.3. Statistische Auswertungen vom Institut für Angewandte Statistik und EDV am Department für Raum, Landschaft und Infrastruktur der Universität für Bodenkultur Wien

Zur statistischen Absicherung dieser Hinweise waren aber Berechnungen der Signifikanz erforderlich. Diese detaillierten statistischen Evaluierungen wurden am Institut für Angewandte Statistik und EDV am Department für Raum, Landschaft und Infrastruktur der Universität für Bodenkultur Wien von Univ. Ass. D.I. Bernhard Spangl vorgenommen. Die Ergebnisse liegen als Anhang E vor.

7. DISKUSSION UND SCHLUSSFOLGERUNGEN

Circadiane Rhythmen werden durch sogenannte innere Uhren getrieben und bestehen auch unter Bedingungen fort, unter denen Zeitgeber der inneren Uhren, wie der Wechsel von Licht und Dunkelheit, Mahlzeiten, körperliche Aktivität und soziale Faktoren wegfallen. Allerdings gehen die inneren Uhren von Natur aus „falsch“, da sie in der Regel mit einem 25-Stunden-Tag laufen. Es ist somit die Aufgabe der Zeitgeber, die inneren Uhren auf den geophysikalischen 24-Stunden-Tag festzuhalten. Wir wissen heute, dass innere Uhren im zentralen Nervensystem lokalisiert sind. Bei einigen Spezies sind auch bereits die Gene bekannt, die die inneren Uhren steuern. Beim Menschen ist kürzlich die rhythmische Bildung verschiedener Uhren -Gene in der Haut und der Schleimhaut nachgewiesen worden. Die verschiedensten Körperfunktionen des Menschen unterliegen ebenfalls rhythmischen Veränderungen innerhalb von 24 Stunden. Derartige Rhythmen existieren für Blutdruck und Puls, der Körpertemperatur, der Durchblutung von Organen, Funktionen von Lunge, Leber und Nieren, die Konzentration von Hormonen und Elektrolyten, sowie weiteren Bestandteilen des Blutes. Circadiane Rhythmen lassen sich auf der Ebene der genetischen Information (z.B. DNA-Synthese, Zellteilungsrate) nachweisen.

Aus humanbiologischer Sicht hat sich der circadiane Rhythmus des Cortisolspiegels zur Gewährleistung einer raschen Anpassung des Organismus auf akute Belastungssituationen entwickelt. Beim Primaten Mensch muss in Analogie mit genetisch nahe verwandten Spezies ein Schlaf – Wach – Rhythmus - parallel mit dem Tageslicht - als Grundrhythmik

angenommen werden. Nach der nächtlichen Ruhezeit erwacht das Individuum, wobei sämtliche am Tag zuvor zugeführten Nahrungsstoffe sind bereits verbraucht bzw. gespeichert sind, sodass die „vorprogrammierte“ Cortisolausschüttung kurz nach dem Erwachen einer Mobilisierung von Energieträgern (Glucose, Fettsäuren) aus den Depots dient. So ist es dem Individuum möglich, trotz Nüchternheit in den Vormittagsstunden körperliche und emotionale Belastungen zu meistern, die wohl aus humanbiologischer Sicht am ehesten der Nahrungsbeschaffung, aber auch der sozialen Fitness (Sicherung der Rangordnung, Revierabgrenzung) dienen sollen. Der Blutdruck und Ansprechbarkeit der Gewebe auf Stresshormone sind erhöht.

Ab Mittag erwartet der Organismus einen Anstieg von Glucose, Aminosäuren und Fettsäuren als Folge der Nahrungszufuhr, sodass der Organismus in den Nachmittagsstunden der Effekte des Cortisol im Regelfall nicht mehr bedarf. Nun überwiegt die Leistung des Insulins, das auch als Antagonist des Cortisol anzusehen ist.

Während der Vormittag als katabole (zehrende) Phase zu bezeichnen ist, dominieren in den Nachmittags- und Nachtstunden die anabolen (aufbauenden) Prozesse. Die zugeführten Nahrungsstoffe werden in den Zellen und Geweben deponiert, der Proteinaufbau forciert, Blutdruck und Ansprechbarkeit der Gewebe auf Stresshormone gesenkt.

Obwohl der basale circadiane Rhythmus der Cortisolausschüttung bei gesunden Individuen bis ins hohe Alter fortbesteht, nimmt der morgendliche Maximalwert mit zunehmendem Alter ab und der nächtliche Minimalwert steigt (26, 48); das Kurvenbild verflacht.

Dies geht mit einer Herabsetzung der Reparationsfähigkeit und Wiederherstellung der Ressourcen beim älteren Menschen während der Nacht einher. Der ältere Mensch ist auch in den Vormittagsstunden weniger körperlich und geistig belastbar als der junge Mensch.

Eine enge Beziehung zwischen dem circadianen Rhythmus und den täglichen Gemütsverfassungen wurde sowohl bei gesunden, als auch bei depressiven Individuen beobachtet (51). Eine Störung des circadianen Rhythmus wurde bei Patienten mit Depressionen festgestellt (19, 21, 22). Diese zeigen eine Steigerung der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenachsen-Aktivität mit erhöhter Cortisolausschüttung. Es bestehen sowohl erhöhte Morgen- als auch Mitternachtswerte (18, 21).

REM- Schlaf ereignet sich primär in den Phasen, in denen der Cortisolspiegel sehr niedrig ist oder die Sekretion sogar eingestellt ist. Schlaflosigkeit ist mit einem Anstieg des

Cortisolspiegels vergesellschaftet. In kontrollierten Experimenten konnten durch Cortisolinfusionen neben einem moderaten Anstieg des Anteiles des SWS- Schlafes (short-wave sleep) vor allem eine signifikante Abnahme des REM- Schlafanteiles erzielt werden (5, 6). Erhöhte nächtliche Cortisolspiegel und damit vergesellschaftete Störungen des REM- Schlafes werden von Gedächtnisforschern als Ursachen für Störungen der Verarbeitung von Erlebnisinhalten und mit Leistungsreduktion des Kurzzeitgedächtnisses in Zusammenhang gebracht.

Emotionale Überbelastungen führen auch in den Nachmittag- und Abendstunden zu hohen Cortisolspiegeln, wodurch die Regenerations- und Reparationsfähigkeit des Organismus, die physiologischerweise während der Nachtstunden vorgesehen wäre, beeinträchtigt oder gehemmt werden. Die Folgen sind Störungen der Syntheseleistung, was sich letztlich in Beeinträchtigung des Immunsystems, Infektanfälligkeit und Beeinträchtigung der geistigen Leistungsfähigkeit äußert.

Im Rahmen der gegenständlichen Studie konnte nachgewiesen werden, dass sowohl beim Imker als auch Nichtimker der physiologische circadiane Rhythmus existiert. Imker zeigen eine signifikant höhere Cortisolsekretion im Verlauf des Tages als Nichtimker. Daraus könnte geschlossen werden, dass Imker in den Vormittagstunden von Seiten des Organismus für akute Belastungsreaktionen besser mit den erforderlichen Ressourcen versorgt werden, als Nichtimker. Imker sind im Vergleich zu Nichtimkern „fitter“ um von Seiten des Stoffwechsels auf akute Belastungssituation zu reagieren.

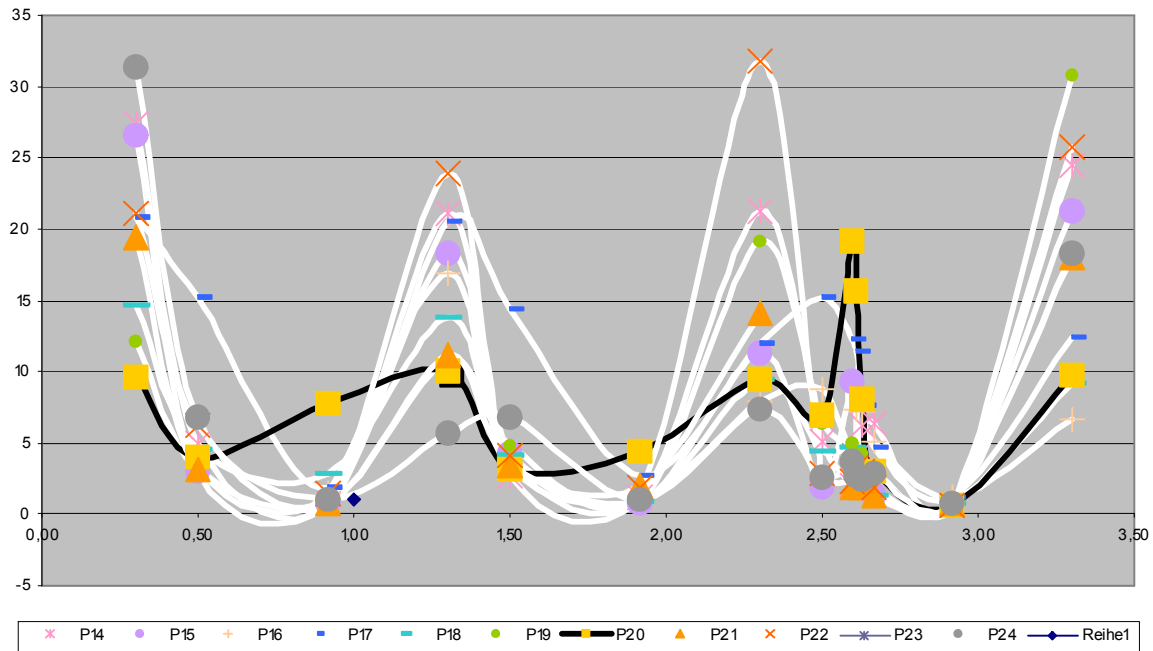
Die statistischen Auswertungen könnten zeigen, dass sowohl Imker als auch Nichtimker gleichartig auf Bienengift mit Cortisolausschüttung reagieren. Es existieren sehr starke interindividuelle Reaktionsstärken: Es gibt sowohl Imker als auch Nichtimker, die sehr heftig nach Bienenstich mit Cortisolausschüttung reagieren, während es sowohl Imker als auch Nichtimker gibt, die nur gering auf Bienengift mit Cortisolausschüttung antworten. Insgesamt konnte aber nachgewiesen werden, dass es bezüglich der Cortisolreaktion nach Bienenstich nicht zu einer Gewöhnung kommt. Auch nach langjähriger Bienengiftexposition kommt es nicht zu einer Toleranz hinsichtlich der Cortisolausschüttung. Also die Stressreaktion des Organismus auf Bienengift bleibt bestehen!

Als Folge des Bienenstiches kommt es zu einem Cortisolpeak, der entsprechend der

Halbwertszeit des Cortisols, ca. 2 – 3 Stunden fortbesteht. Die bei manchen Probanden aufgetretenen Cortisolspitzen nach Bienengiftapplikation entsprechen Cortisolmengen, wie sie auch therapeutisch eingesetzt werden. Geht man davon aus, dass die Nebenniere eines Menschen täglich ca. 20 – 30 mg Cortisol freisetzt, so entspricht bei manchen Probanden die Cortisolausschüttung nach dem Bienenstich einem zweistelligen Prozentsatz des Gesamttagescortisols, sodass daraus nicht unwesentliche Einflüsse auf den Stoffwechsel des Organismus abzuleiten sind.

Laut statistischer Auswertung unterscheiden sich Imker und Nichtimker an Tagen, an denen kein Bienenstich stattfindet, zu Mittag und am Abend signifikant hinsichtlich ihres Cortisolspiegels. Aufgrund der generell erhöhten Cortisolausschüttung im Verlauf des Tages bestehen beim Imker auch zu Mittag und in den Abendstunden im Vergleich zum Nichtimker höhere Cortisolspiegel. Nach stattgefundenem Bienenstich unterscheiden sich Imker und Nichtimker vor dem Schlafengehen im Cortisolspiegel nicht mehr.

Eine interessante Einzelbeobachtung besteht bezüglich des Kurvenverlaufes von Probanden 20, bei dem die morgendliche Cortisolausschüttung im Normbereich lag und diese auch entsprechend der allgemeinen Gesetzmäßigkeit bis Mittag auf mindestens 50% des Morgenwertes absank. Bei P 20 bestanden an den Tagen, in denen kein Bienenstich stattfand, in den Nachmittags- und Abendstunden atypisch hohe Cortisolspiegel, die über dem Mittagswert lagen. Eine eingehende Befragung des Probanden 20 ergab, dass dieser zum Zeitpunkt der Studie unter erheblichem beruflichen Stress litt, täglich bis in die Abendstunden arbeitete, aufgrund seiner beruflichen Situation unter einer existentiellen Bedrohung mit beginnenden Anzeichen des Burn-out-Syndroms mit Schlafstörungen litt. Die Verflachung und Asynchronisierung des Kurvenverlaufes würde eher dem Bild eines alten oder depressiv erkrankten Menschen entsprechen. Interessant ist, dass die Reaktion auf Bienengift bei Proband 20, obwohl er langjähriger Imker ist, relativ stark verlief und dass es nach hohen Abendspiegeln in den beiden Tagen vor dem Bienenstich zu einer Absenkung des abendlichen Cortisolspiegels infolge des Bienenstiches auf völlig normale Konzentration kam.



Dies könnte als Hinweis darauf gewertet werden, dass es bei einem guten Ansprechen der Cortisolausschüttung auf Bienengift zu einer Art Entspeicherung der Nebenniere kommt, wodurch das physiologische, abendliche Minimum erzwungen wird. Auf diese Weise wird eine Synchronisierung eines gestörten Cortisolrhythmus provoziert, wodurch der Organismus die Möglichkeit bekommt, während der Nachtstunden die erforderliche Regeneration und Reparation in physiologischer Weise vorzunehmen. Eine gehäufte Exposition gegenüber Bienengift, wie sie üblicherweise nur beim Imkern stattfindet, ist daher offenbar geeignet, Störungen des Cortisolspiegels, die durch äußere Lebensumstände bewirkt werden, zu synchronisieren, wodurch sowohl eine körperliche als auch geistige Erholung während der Nacht ermöglicht wird.

Abschließend sind daher aus der gegenständlichen Studie interessante, allgemein medizinische Aspekte im Zusammenhang mit Bienengiftexposition abzuleiten:

- Auch im Zuge langjähriger Imkertätigkeit kommt es nicht zu einer Gewöhnung des Organismus gegenüber Bienengift als Stressfaktor.
- Imker reagieren gegenüber Bienengift mit gleichartiger Cortisolausschüttung wie Nichtimker.
- Die Reaktion von Individuen (Imker und Nichtimker) gegenüber Bienengift bezüglich der Cortisolausschüttung unterliegt starken interindividuellen Schwankungen. Nicht jeder

reagiert auf Bienengift gleich heftig.

- Imker haben generell eine höhere Cortisolausschüttung im Verlauf des Tages als Nichtimker, woraus eine bessere Adaptionsfähigkeit gegenüber Stressfaktoren abzuleiten ist.
- Werden Imker nicht gestochen, so ist der Cortisolspiegel des Imkers am Abend geringfügig höher als beim Nichtimker.
- Es liegen Hinweise dafür vor, dass bei einer Störung der circadianen Rhythmik des Cortisolspiegels, wie z.B. hervorgerufen durch Stress oder Depression, eine Bienengiftexposition zu einer Synchronisierung des circadianen Rhythmus, insbesondere zu einer Absenkung des abendlichen Cortisolspiegels führt, wodurch die lebenswichtigen Reparations- und Regenerationsvorgänge während der Nachtstunden gewährleistet werden.

Die Ergebnisse der gegenwärtigen Studie können belegen, dass imkerliche Tätigkeit positive Einflüsse auf die Lebensfunktionen und somit auf den Gesundheitszustand der damit beschäftigten Personen nach sich zieht.

8. LITERATUR

1. Alfano JA, Elliott WB, Brownie AC (1973) The effect of bee venom on serum corticosterone levels and adrenal mitochondrial cytochrome P-450 in intact and hypophysectomized rats. *Toxicol* 11:101-102
2. Anderson KE, Rosner W, Khan MS, New MI, Pang SY, Wissel PS, Kappas A (1987) Diet-hormone interactions: protein/carbohydrate ratio alters reciprocally the plasma levels of testosterone and cortisol and their respective binding globulins in man. *Life Sci* 40:1761-1768.
3. Arne L, Pautrizel R, Seilhean A, Fenelon J, Bezian J, Bargues JF (1967) Immunologic study after bee stings in a patient developing a picture of multiple sclerosis. *Rev Neurol (Paris)* 116:345-349
4. Ball TM, Anderson D, Minto J, Halonen M (2006) Cortisol circadian rhythms and stress responses in infants at risk of allergic disease. *J Allergy Clin Immunol* 117:306-311
5. Born J, Kern W, Bieber K, Fehm-Wolfsdorf G, Schiebe M, Fehm HL (1986) Night-time plasma cortisol secretion is associated with specific sleep stages. *Bio Psychiat* 21:1415-1424
6. Born J, DeKloet ER, Wenz H, Kern W, Fehm HL (1991) Gluco- and antimineralocorticoid effects on human sleep: a role of central corticosteroid receptors. *Amer J Physiol*;260
7. Brandtstadter J, Baltes-Götz B, Kirschbaum C, Hellhammer D (1991) Developmental and personality correlates of adrenocortical activity as indexed by salivary cortisol: observations in the age range of 35 to 65 years. *J Psychosom Res* 35:173-185
8. Castro M, Elias PC, Martinelli CE, Antonini SR, Santiago L, Moreira AC (2000) Salivary cortisol as a tool for physiological studies and diagnostic strategies. *Braz J Med Biol Res* 33:1171-1175
9. Cerrato PL (1998) A therapeutic bee sting? *RN* 61:57-58
10. Chang YH, Bliven ML (1979) Anti-arthritic effect of bee venom. *Agents Actions* 9:205-211
11. Chrousos GP (2000) Stress, chronic inflammation, and emotional and physical well-being:

concurrent effects and chronic sequelae. *J Allergy Clin Immunol* 106:275-291

12. Couch TL, Benton AW (1972) The effect of the venom of the honey bee, *Apis mellifera* L., on the adrenocortical response of the adult male rat. *Toxicon* 10:55-62
13. deWeerth C, Zjil RH, Buitelaar JK (2003) Development of Cortisol circadian rhythm in infancy. *Early Hum Development* 73: 39 -52
14. Dunn JD, Killion JJ (1988) Effect of mellitin on pituitary-adrenal responsiveness to stress. *Acta Endocrinol (Copenh)* 119:339-344
15. Ferrante A, Mocatta F, Goh DH (1986) Changes in IgG and IgE antibody levels to bee venom during immunotherapy. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 81:284-287
16. Filipovsky J, Ducimetaere P, Eschwaeghe E, Richard JL, Rosselin G, Claude JR (1996) The relationship of blood pressure with glucose, insulin, heart rate, free fatty acids and plasma cortisol levels according to degree of obesity in middle-aged men. *J Hypertens* 14:229-235.
17. Fredrickson M, Tuomisto M, Bergman-Losman B (1991) Neuroendocrine and cardiovascular stress reactivity in middle-aged normotensive adults with parental history of cardiovascular disease. *Psychophysiol* 28:656-664.
18. Galard R, Gallart JM, Catalan R, Schwartz S, Arguello JM, Castellanos JM (1991) Salivary cortisol levels and their correlation with plasma ACTH levels in depressed patients before and after DST. *Amer J Psychiat* 148:505-508
19. Goodyer I, Herbert J, Moor S, Altham P (1991) Cortisol hypersecretion in depressed school-aged children and adolescents. *Psychiat Res* 37:237-244
20. Grandison L (1984) Stimulation of anterior pituitary prolactin release by mellitin, an activator of phospholipase A2. *Endocrinology* 114: 1-7
21. Guéchet J, Lépine JP, Cohen C, Fiet J, Lempérière T, Dreux C (1987) Simple laboratory test of neuroendocrine disturbance in depression: 11 p.m. saliva cortisol. *Biol Psychiat* 18:1-4.
22. Guechet J, Fiet J, Passa P, Villette JM, Gourmel B, Tabuteau F, et al. (1982) Physiological and pathological variations in saliva cortisol. *Horm Res* 16:357-364.

23. Guild SB (2001) Effects of phospholipase A(2) activating peptides upon GTP-binding protein-evoked adrenocorticotropin secretion. *Eur J Pharmacol* 424:163-171
24. Hackny AC, Premo MC, McMurray RG (1995) Influence of aerobic versus anaerobic exercise on the relationship between reproductive hormones in men. *J Sports Sci* 13:305-311.
25. Nabil ZI, Hussein AA, Zalat SM, Rakha MKh (2001) Comparative study of bee venoms from three species of bees: effect on heart activity and blood. *J Nat Toxins* 10:343-357
26. Ice GH, Katz-Stein A, Himes J, Kane RL (2004) Diurnal cycles of salivary cortisol in older adults. *Psychoneuroendocrinology* 29:355-370
27. Kang SS, Pak SC, Choi SH (2002) The effect of whole bee venom on arthritis. *Am J Chin Med* 30:73-80
28. Kirschbaum C, Hellhammer DH (1994) Salivary cortisol in psychoneuroendocrine research: recent developments and applications. *Psychoneuroendocrinology* 19:313-333,
29. Kirschbaum C, Strasburger CJ, Langkrar J (1993) Attenuated cortisol response to psychological stress but not to CRH or ergometry in young habitual smokers. *Pharmac Biochem and Behav* 44:527-531.
30. Kirschbaum C, Wust S, Strasburger CJ (1992) "Normal" cigarette smoking increases free cortisol in habitual smokers. *Life Science* 50:435-442.
31. Knepel W, Gerhards C (1987) Stimulation by melittin of adrenocorticotropin and beta-endorphin release from rat adenohypophysis in vitro. *Prostaglandins* 33:479-490
32. Kudielka BM, Busbe-Kirschbaum A, Hellbauer DH, Kirschbaum C (2004) HPA axis responses to laboratory psychosocial stress in healthy elderly adults, younger adults, and children: impact of age and gender. *Psychoendocrinology* 29: 83- 98
33. Kwon YB, Lee HJ, Han HJ, Mar WC, Kang SK, Yoon OB, Beitz AJ, Lee JH (2002) The water-soluble fraction of bee venom produces antinociceptive and anti-inflammatory effects on rheumatoid arthritis in rats. *Life Sci* 71:191-204

34. Lee JD, Kim SY, Lee SH, Yang HI, Lee DI, Lee YH (2004) Anti-inflammatory effect of bee venom on type II collagen-induced arthritis. *Am J Chin Med* 32:361-367
35. Ockenfels MC, Porter L, Smyth J, Kirschbaum C, Hellhammer DH, Stone AA (1995) Effect of chronic stress associated with unemployment on salivary cortisol: overall cortisol levels, diurnal rhythm, and acute stress reactivity. *Psychosom Med* 57:460-467
36. Page SA, Verhoef MJ, Stebbins RA, Metz LM, Levy JC (2003) The use of complementary and alternative therapies by people with multiple sclerosis. *Chronic Dis Can* 24:75-79
37. Riches KJ, Gillis D, James RA (2002) An autopsy approach to bee sting-related deaths. *Pathology* 34:257-262
38. Schleimer RP (2000) Interactions between the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and allergic inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 106:270-274
39. Shkenderov S, Koburova K (1982) Adolapin – a newly isolated analgetic and anti-inflammatory polypeptide from bee venom. *Toxicon* 20:317-321
40. Shkenderov S, Gencheva G (1976) Effect of bee venom components on immuno-competent cell proliferation at a primary humoral immune response. *Dokl Bulg Acad Nauk* 29:1685-1687
41. Stone AA, Schwartz JE, Smyth J, Kirschbaum C, Cohen S, Hellhammer D, Grossman S (2001) Individual differences in the diurnal cycle of salivary free cortisol: a replication of flattened cycles for some individuals. *Psychoneuroendocrinology* 26:295-306
42. Sutton JR. (1978) Hormonal and metabolic responses to exercise in subjects of high and low work capacities. *Med Sci*;10:1-6
43. Umeda T, Hiramatsu R, Iwaoka T, Shimada T, Miura F, Sato T (1981) Use of saliva for monitoring unbound free cortisol levels in serum. *Clinica Chimica Acta* 110:245-153
44. Urbanek R., Forster J., Ziupa J, Karitzky D. Immunological studies on bee-keepers: specific IgG and subclass typing IgG against bee venom and bee venom components. *Klin Wochenschr* 58:1257-1260

45. Vick JA, Mehlman B, Brooks R, Phillips SJ, Shipman W (1972) Effect of the bee venom and melittin on plasma cortisol in the unanesthetized monkey. *Toxicon* 10:581-586
46. Vick JA, Shipman WH (1972) Effects of whole bee venom and its fractions (apamin and mellitin) on plasma cortisol levels in the dog. *Toxicon* 10:377-388
47. Vining RF, McGinley RA, Maksvytis JJ, Ho KY (1983) Salivary cortisol: a better measure of adrenal cortical function than serum cortisol. *Ann Clin Biochem* 20:329-335
48. Van Cauter E, Leproult R, Kupfer DJ (1996) Effects of gender and age on the levels and circadian rhythmicity of plasma cortisol. *J Clin Endocrinol Metab* 81:2468-2473
49. von Zerssen D, Doerr P, Emrich HM, Lund R, Pirke KM (1987) Diurnal variation of mood and the cortisol rhythm in depression and normal states of mind. *Eur Arch Psychiat Neurol Sci* 237:36-45.
50. Walker RF, Riad-Fahmy D, Read GF (1978) Adrenal status assessed by direct radioimmunoassay of cortisol in whole salival or parotid saliva. *Clinical Chemistry* 24:1460-1463
51. Wamboldt MZ, Laudenslager M, Wamboldt FS, Kelsay K, Hewitt J (2003) Adolescents with atopic disorders have an attenuated cortisol response to laboratory stress. *J Allergy Clin Immunol* 111:509-514

ANHANG A

Probandeninformation und Einverständniserklärung Zum Einfluss des Bienengiftes auf den Cortisolspiegel beim Menschen

Sehr geehrter Proband!

Wir laden Sie ein, an der oben genannten Studie als freiwilliger Proband teilzunehmen.

Die Teilnahme an dieser Studie ist freiwillig und kann jederzeit ohne Angabe von Gründen durch Sie beendet werden, ohne dass Ihnen hierdurch Nachteile entstehen.

Studien sind notwendig, um verlässliche neue medizinische Forschungsergebnisse zu gewinnen. Unverzichtbare Voraussetzung für die Durchführung einer Studie ist jedoch, dass Sie Ihr Einverständnis zur Teilnahme an dieser Studie schriftlich erklären. Bitte lesen Sie den folgenden Text als Ergänzung zum Informationsgespräch sorgfältig durch und zögern Sie nicht Fragen zu stellen.

Bitte unterschreiben Sie die Einwilligungserklärung nur

- wenn Sie Art und Ablauf der Studie vollständig verstanden haben,
- wenn Sie bereit sind, der Teilnahme zuzustimmen und
- wenn Sie sich über Ihre Rechte als Teilnehmern an dieser Studie im Klaren sind.

Zu dieser Studie, zur Probandeninformation und Einverständniserklärung wurde von der zuständigen Ethikkommission eine befürwortende Stellungnahme abgegeben.

Ziel der Studie:

In der Volksmedizin wird dem Bienengift eine entzündungshemmende Wirkung nachgesagt. Des Weiteren ist bekannt, dass Imker seltener an entzündlichen Erkrankungen leiden als die Durchschnittsbevölkerung. Das Bienengift besteht aus mehreren Peptidfraktionen, die zum Teil auf bestimmte Entzündungszellen des Körpers aber auch auf das Nervensystem wirken. In Tierversuchen konnten Veränderungen des Cortisolspiegels nach Bienengiftverabreichung nachgewiesen werden. Unter Berücksichtigung des zirkadianen Rhythmus der Cortisolkonzentration im Speichel wird bei chronisch exponierten Menschen ein anderer Wert erwartet als beim akzidentell Exponierten.

Ziel dieser Studie ist die Untersuchung bzw. der Nachweis einer unterschiedlichen Cortisolfreisetzung zwischen chronisch exponierten (Imkern) und akzidentell exponierten Menschen.

Studienablauf:

An dieser Studie werden insgesamt 24 Personen teilnehmen.

Am vereinbarten Termin kommen Sie zum Treffpunkt, wo Ihnen der weitere Verlauf erläutert wird. Während der gesamten Studie stehen Sie unter Aufsicht von geschultem Personal, das für Sie auch telefonisch zu erreichen ist.

Am 1. Studientag sollen alle Probanden um 8 Uhr, 12 Uhr und um 20 Uhr Speichelproben gewinnen.

Am 2. Studientag ebenfalls um 8 Uhr und 12 Uhr. Sollten Sie im Rahmen der Studie am Nachmittag von einer Biene gestochen werden, ersuchen wir Sie in weiterer Folge Speichelproben zu folgenden Zeitpunkten zu entnehmen: 10

Minuten nach dem Stich, dann alle 10 Minuten eine Stunde lang, weiters um 20.00 sowie am nächsten Morgen kurz nach dem Erwachen. Sollten Sie nicht gestochen werden, ersuchen wir Sie am zweiten Studientag auch um 8 Uhr, 12 Uhr und um 20 Uhr Speichelproben zu gewinnen.

Zeitaufwand:

Die gesamte Untersuchung dauert 2 Tage.

Entschädigung:

Sollten Sie gestochen werden, wird Ihnen für Zeitaufwand und Unbill eine Entschädigung von 150 Euro überwiesen.

Sollten Sie nicht gestochen werden, überweisen wir Ihnen für Ihre Mühewaltung einen Betrag von 50 Euro.

Nutzen der Studie:

Die Ergebnisse dieser Studie sollen dazu beitragen, neue Erkenntnisse über den Einfluss von Bienengift auf den Cortisolhaushalt des Menschen und allfälligen Einfluss des Bienengiftes auf den Gesundheitszustand zu liefern.

Gesundheitsrisiken, unerwünschte Wirkungen, Unannehmlichkeiten:

Im Rahmen einer Bienengiftexposition kann es zu allen Stadien der Überempfindlichkeitsreaktion bis hin zu einem allergischen Schock kommen. Die vorgenommenen Speichelprobenentnahmen sind vollkommen gefahrlos. Aus Vorsorgegründen werden sämtliche erforderliche Maßnahmen im Falle eines Auftretens eines allergischen Schockgeschehens getroffen.

Ihre Aufgaben/ Verpflichtungen:

Durch die Teilnahme an dieser Studie verpflichten Sie sich:

- die letzten 14 Tage vor dem 2. Studientag keinem Bienen- oder Wespenstich ausgesetzt gewesen zu sein.
- Etwaige Überempfindlichkeiten - insbesondere gegen Bienengift - bekannt zu geben
- während der gesamten Studiendauer keine Medikamente regelmäßig einzunehmen, die der studienführenden Mitarbeiterin nicht bekannt gegeben wurden.
- am Tag der Studie keinen Alkohol, keine Energydrinks (Red Bull, etc.) oder andere koffeinhaltige Getränke (Kakao, Tee, Kaffee, Cola), keine Schokolade oder Mohn innerhalb der letzten 12 Stunden zu sich zu nehmen.
- am Studientag keinen Sport zu betreiben.
- vor dem Studientag ausreichend Nachtruhe einzuhalten und pünktlich zu erscheinen.
- während der Studie den Anweisungen der studienführenden Mitarbeiterinnen Folge zu leisten und alle Vorkommnisse bzgl. Ihrer Gesundheit so bald wie möglich zu melden, auch wenn kein offensichtlicher Zusammenhang mit der Studie besteht.

Wann wird die klinische Prüfung vorzeitig beendet ?

Sie können jederzeit auch ohne Angabe von Gründen Ihre Teilnahmebereitschaft widerrufen und die Studie abbrechen, ohne dass Ihnen dadurch irgendwelche Nachteile entstehen.

Es ist aber auch möglich, dass der studienführende Arzt entscheidet, Ihre Teilnahme an der Studie vorzeitig zu beenden, ohne vorher Ihr Einverständnis einzuholen. Die Gründe hierfür können sein:

- a) Sie können den Erfordernissen der Studie nicht entsprechen.
- b) Der studienführende Arzt hat den Eindruck, dass eine weitere Teilnahme an der Studie nicht in Ihrem Interesse ist.

Datenschutz:

Sofern gesetzlich nicht etwas anderes vorgesehen ist, haben nur die studienführenden Mitarbeiter/innen, sowie in- und ausländische Gesundheitsbehörden Zugang zu den vertraulichen Daten, in denen Sie namentlich genannt werden. Diese Personen unterliegen der Schweigepflicht.

Es ist geplant, die bei Ihnen erhobenen Daten im Rahmen einer Diplomarbeit und einer wissenschaftlichen Publikation zu veröffentlichen. Da Ihr Name durch einen Code ersetzt wird, bleibt Ihre Anonymität auf jeden Fall gewahrt.

Sie erhalten eine Kopie der Einverständniserklärung.

Möglichkeit zur Diskussion weiterer Fragen

Für weitere Fragen im Zusammenhang mit dieser Studie stehen Ihnen folgende MitarbeiterInnen gerne zur Verfügung. Auch Fragen, die Ihre Rechte als Proband und Teilnehmer an dieser Studie betreffen, werden Ihnen gerne beantwortet.

Name der Kontaktperson: Ao.Prof.Dr. Christian Reiter

Ständig erreichbar unter: 0676- 70 69 049 bzw. 4277-65742

Name der Kontaktperson: Dr. Brigitte Litschauer

Ständig erreichbar unter: 4277-6230

Name der Kontaktperson: Dr. Astrid Krauskopf

Ständig erreichbar unter: 4277-65740

Einverständniserklärung

Name des Probanden in Druckbuchstaben:

.....

Geb. datum: Code:.....

Kontonummer:..... Bankleitzahl:

Ich erkläre mich bereit, an der Studie "Zum Einfluss des Bienengiftes auf den Cortisolspiegel beim Menschen" teilzunehmen.

Ich bin von Herrn Prof. Dr. Christian Reiter ausführlich und verständlich über den Ablauf der Studie, mögliche Belastungen und Risiken aufgeklärt worden. Ich habe darüber hinaus den Text dieser Patienteninformation und Einverständniserklärung, die insgesamt 4 Seiten umfasst, gelesen. Aufgetretene Fragen wurden mir verständlich und genügend beantwortet. Ich hatte ausreichend Zeit, mich zu entscheiden. Ich habe zur Zeit keine weiteren Fragen.

Durch meine Unterschrift bestätige ich, dass ich in den letzten drei Wochen an keiner klinischen Studie teilgenommen habe, keine Medikamente einnehme, die dem studienführenden Mitarbeiter nicht bekannt sind, keine Suchtgifte einnehme oder arzneimittelabhängig bin.

Ich wurde darauf hingewiesen, dass ich allen Instruktionen der studienführenden MitarbeiterInnen im Interesse meiner eigenen Sicherheit nachkommen soll und dass ein Verschweigen von bestehenden Krankheitszuständen oder vorangegangenen Medikamenteneinnahmen die eigene Sicherheit gefährden kann. Ich behalte mir jedoch das Recht vor, meine freiwillige Mitwirkung jederzeit zu beenden, ohne dass mir daraus Nachteile entstehen.

Ich bin zugleich damit einverstanden, dass meine im Rahmen dieser Studie ermittelten Daten aufgezeichnet werden. Um die Richtigkeit der Datenaufzeichnung zu überprüfen, dürfen Beauftragte der zuständigen Behörden Einblick in meine personenbezogenen Daten nehmen.

Beim Umgang mit den Daten werden die Bestimmungen des Datenschutzgesetzes beachtet.

Eine Kopie dieser Patienteninformation und Einwilligungserklärung habe ich erhalten. Das Original verbleibt beim Studienführer.

.....
(Datum und Unterschrift der Probandin/ des Probanden)

.....
(Datum, Name und Unterschrift des verantwortlichen Arztes)

.....
(Datum, Name und Unterschrift der Zeugin/ des Zeugen)

ANHANG B

STUDY PROTOCOL
Date: 03.06.05

Title: the influence of bee venom on cortisol level
in men

Protocol authors: Ao.Prof.Dr. Christian Reiter

Investigator: Univ. Ass. Dr. Astrid Krauskopf, Univ. Ass. Dr. Brigitte Litschauer

Study Center: Department für Gerichtliche Medizin, Sensengasse 2, 1090 Wien

Study Synopsis

Title:	Influence of bee venom on cortisol level in men
Background and Rationale	Prior investigation with animals and experience of ethnic and complementary medicine indicates that bee venom has an influence on plasma cortisol levels. Regarding the different reaction of the organism of beekeepers to bee venom the Speichel cortisol levels in this group should be compared with a group of people who voluntarily are exposed to an accidental bee sting during a bee keeper training course.
Study objective:	To investigate if there is an influence of bee venom administration to the cortisol level and if frequent exposition to bee venom has an influence on cortisol metabolism.
Study design:	Open study control group pilot project two groups of male volunteers aged between 18 to 55 years
Study population:	22 male volunteers Group 1: 12 male volunteers accidentally exposed to bee venom during taking part on a beekeeper training course. Group 2: 10 chronically exposed male volunteers (longtime beekeepers) exposed to bee venom
Outcome variables:	Arithmetic mean and standard deviation of cortisol Speichel level in both groups
Risk assessment:	Anaphylactic reaction
Expected benefit:	Influence of bee venom on chronic inflammatory diseases and increase of knowledge concerning regulation of cortisol liberation after exposition to bee venom

1. Introduction

1.1. Background and Rationale

In ethnic medicine bee venom is said to have the ability to cause inflammatory symptoms. Beekeeper seldom suffer from inflammatory diseases. In complementary and alternative medicine administration of bee venom is reported to be used successfully in treatment of inflammatory diseases such as multiple sclerosis. Bee venom is composed of different peptides which have influence on the central nervous system and basophilic granulocytes. There are indications that components of bee venom may stimulate interaction between central nervous system/pituitary gland/adrenal glands. Accidentally administration of bee venom causes the typical symptoms of inflammation (pain, swelling, warming and discolouration). It can be estimated that the organism tries to diminish inflammation caused by bee venom by cortisol liberation.

Investigations with animals revealed an influence of bee venom on plasma cortisol levels. The effect of bee venom on cortisol levels in respect to the circadian change of cortisol level in body fluids should be examined in men. Regarding different reactions of the organism of bee keepers to bee venom cortisol levels in this group should be compared with a group of people who are exposed to bee sting accidentally. Cortisol levels are easily and without using invasive methods investigable in Speichel samples. The subjects are recruited during a voluntary beekeeper training course. The study should demonstrate the hypothesis that there is an influence of bee venom induced cortisol elevation on inflammatory processes.

1.2. Project aims and study hypotheses

- Demonstration of a difference in cortisol levels between chronic exposed beekeepers and accidentally stung volunteers.
- to increase knowledge concerning regulation of cortisol liberation after exposition to bee venom and the influence of bee venom on chronic inflammatory diseases.

1.3. Risk/ benefit assessment

Risk: anaphylactic reaction

Benefit: compensation money

2. Study objectives

To demonstrate the influence of bee venom on cortisol liberation in chronic exposed beekeepers compared with people who voluntarily are exposed to bee venom during a beekeeper newcomer training course.

3. Investigation plan

3.1. Design

- open
- parallel groups
- monocentric
- pilot project

3.2. Study population

22 male volunteers

3.2.1. Number of subjects

22

3.2.2. Prestudy screening

3.3.3. Inclusion criteria

for all participants:

- age: 18-55
- sex: male
- normal findings in the medical history and physical examination unless the investigator considers an abnormality to be clinically irrelevant
- no anamnestic hints for being allergic to bee venom

3.3.4. Exclusion criteria

Any of the following will exclude a subject from the study:

- cardiovascular diseases (heart failure, hypertension, cor pulmonale, ventricular hypertrophy, diastolic dysfunction), chronic renal failure, cirrhosis
- regular use of medication, abuse of alcoholic beverages, participation in a clinical trial in the 6 weeks preceding the study
- symptoms of a clinically relevant illness in the 6 weeks before the first study day, which could interfere with the objectives of the study
- any history of disease, which could interfere with the objectives of the study
- allergic to bee venom

3.4. Study protocol

3.4.1. General restrictions on subjects

The subjects will be advised not to take any nontrial medication, including over-the-counter remedies throughout the study without consulting the investigator in advance. Subjects must sleep for 7-8 hours the night before the trial days. Subjects will be advised to abstain from strenuous physical activity for 6 hours before the beginning of the study.

3.4.2. Description of a study day

Speichel cortisol will be collected every 10 minutes after an accidentally bee sting for one hour as well as before turning in and the next morning immediately after getting up.

3.4.3. Withdrawal and replacement of subjects

Subjects must be withdrawn under the following circumstances:

- at their own request
- if the investigator feels it would not be in the best interests of the subject to continue
- if the subject violates the conditions layed out in the consent form/information sheet or disregards instructions by the study personnel

In all cases, the reasons why subjects are withdrawn must be recorded in detail in the case record form and in the subject's medical records. Should the study be discontinued prematurely, all study materials (completed, partially completed and empty case record forms) will be retained.

Subjects who do not complete the study according to protocol will be replaced. The data from the replaced subjects will be eligible for analysis of the conducted trial periods and for safety variables.

3.5. Variables and schedule of observations

3.5.1. Study variables

Main variables: CORTISOL

Safety variables:

- Adverse events

3.5.2. Speichel sampling

Cortisol assessment

Speichel samples for cortisol assessment will be collected using the Speichel collecting tubes "Salivette" (Sarstedt, Austria). After sampling, the tubes will be centrifuged at 3000 rpm for 5 minutes at 4°C and stored at -80°C until analysis. Cortisol sputum concentrations will be measured in duplicate using radioimmunoassay (Spectria, Orion Diagnostica, Finland) at the Department of Physiology (Center of Physiology and Pathophysiology).

3.5.3. Follow- up safety investigation

No follow- up safety investigations are scheduled for subjects (except follow-up of adverse events, see below).

4. Methods of evaluation

4.1. Analytical methods

saliva

4.3. Clinical procedure for safety variables

All data will be collected in the case record form. Safety data will be collected by spontaneous reporting.

4.4. Adverse events

An adverse event is any event during a study, including intercurrent illness or accident, which impairs the well-being of the subject; it may also take the form of an abnormal laboratory value. The term adverse event does not imply a causal relationship with the study treatment.

All subjects experiencing adverse events will be monitored until symptoms subside and any abnormal laboratory values have returned to baseline, or until there is a satisfactory explanation for the changes observed, or until death, in which case a full pathologist's report will be supplied, if possible. All findings must be reported on an "Adverse event" page in the case record form.

All adverse events, including intercurrent illnesses, will be reported on and documented as described below.

Adverse events are divided into the categories "serious" and "nonserious". This determines the procedure which must be used to report/document the adverse event (see below).

4.5.1. Definition of serious and nonserious adverse events

A serious adverse event is:

- any event that is fatal or life-threatening
- any event that is permanently disabling
- any event that requires or prolongs hospitalization
- any event that involves cancer, congenital anomaly, or occurs as a result of overdose (application of more than the stipulated dose)

Adverse events which do not fall into these categories are defined as nonserious.

4.5.2. Reporting / documentation of adverse events

Adverse events are collected by spontaneous reporting.

Serious adverse events

All serious adverse events which occur during this study, whether considered to be associated with the study medication or not, must be documented on an "Adverse event" page in the case record form.

A follow-up report including all new information obtained on the serious event must be prepared and will be collected.

The investigator will submit on request copies of all these reports to the ethics committee. Where necessary, investigators will inform the authorities.

Nonserious adverse events

These are to be documented on an "Adverse event" page in the case record form.

4.5.3. Assessment of severity

Regardless of the classification of an adverse event as serious or nonserious (see above), its severity must be assessed as mild, moderate or severe, according to medical criteria alone:

mild	=	does not interfere with routine activities, acceptable
moderate	=	interferes with routine activities
severe	=	impossible to perform routine activities, considered as unacceptable by the physician, requires treatment, requires discontinuation of study, or has residual effect.

It should be noted that a severe adverse event needs not be serious in nature and that a serious adverse event needs not, by definition, be severe. Regardless of severity, all serious adverse events must be reported on as above.

4.5. Data handling procedure

A case record form will be completed for each volunteer. The entries will be checked by trained personnel and any errors or inconsistencies

will be checked immediately. The results of the prestudy screening examination will be documented in the study masterfile.

4.6. Biometric methods

4.6.1 Biometric methods

Analyses of variance will be performed to evaluate possible venom exposition and time effects.

4.6.2. Adverse events/Safety investigations.

All adverse events will be properly listed and an appropriate method will be used to summarize the data.

5. Ethical and legal aspects

The study will be carried out in keeping with local legal requirements.

5.1. Ethics and Good Clinical Practice

The study will be performed in accordance with the Declaration of Helsinki (1964), including current revisions, the Austrian Arzneimittelgesetz and the EC-GCP guidelines.

5.2. Acknowledgment / approval of the study

The study protocol will be submitted to the Ethics Committee of Medical University Vienna for approval.

5.3. Informed consent

Before being admitted to the study, the subject must have consented to participate after the nature, scope and possible consequences of the study have been explained in a form understandable to her/him (see Appendix).

The subject must give consent in writing. The subject's consent will be confirmed by the signatures of the investigator and a witness.

5.4. Inconveniences and risks for the subjects

The accidentally stung volunteers may have the normal reaction (pain, swelling) or in worst case show anaphylactic reaction like circulatory collapse or dyspnea.

5.5. Confidentiality

All subject names will be kept secret in the investigator's files. Subjects will be identified throughout documentation and evaluation by the number allotted to them during the study. The subjects will be told that all study findings will be stored and handled in strictest confidence.

6. Documentation and use of study findings

6. 1. Documentation of study findings

All findings collected during the study will be entered on the case record forms. All entries in the case record forms will be made legibly in black ink. If corrections are made to entries in the case record form, the words or figures will be ringed and a single stroke drawn through them. The correct value will be entered beside the old entry and date and the correction will be initialed. Incorrect entries must not be covered with correcting fluid, or obliterated, or made illegible in any way.

Case record forms will be completed immediately after the final examination. The medical records upon which the case record form is based will be kept for at least 15 years.

6.2. Use of study findings

The findings of this study will be published by the investigators in a scientific journal and presented at scientific meetings. The manuscript will be circulated to all co-investigators before submission.

7. Protocol amendments

If any modifications (such as selection of additional variables) become necessary or desirable, these will be documented in writing; major changes require the approval of all investigators and the ethics committee.

References

- Grandison L. Stimulation of anterior pituitary prolactin release by mellitin, an activator of phospholipase A2. *Endocrinology* 1984;114: 1-7
- Kang SS, Pak SC, Choi SH. The effect of whole bee venom on arthritis. *Am J Chin Med.* 2002;30:73-80
- Shkenderov S, Koburova K. Adolapin - a newly isolated analgetic and anti-inflammatory polypeptide from bee venom. *Toxicon* 1982;20: 317-321
- Lee JD, Kim SY, Lee SH, Yang HI, Lee DI, Lee YH. Anti inflammatory effect of bee venom on type II collagen induced arthritis. *Am J Chin Med* 2004;32:361-7
- Alfano JA, Elliott WB, Brownie AC. The effect of bee venom on serum corticosterone levels and adrenal mitochondrial cytochrome P 450 in intact and hypophysectomized rats; *Toxicon* 1973;11:101-102
- Hussein AA, Nabil ZI, Zalat SM, Rakha MK. Comparative study of bee venoms from three species of bees: effect on heart activity and blood; *J Nat Toxins* 2001;10:343-357
- Couch TL, Benton AW: The effect of the bee venom of the honey bee, *Apis mellifera* L.; on the adrenocortical response of the adult male rat; *Toxicon* 1972;10:55-62
- Shkenderov S, Gencheva G.: Effect of bee venom components on immunocompetent cell proliferation at a primary humoral immune response. *Dokl Bulg Acad Nauk* 1976;29:1685-1687
- Urbanek R., Forster J., Ziupa J, Karitzky D. Immunological studies on beekeepers: specific IgG and subclass typing IgG against bee venom and bee venom components
- Cerrato P. A therapeutic bee sting? *RN.*1998;61:57-58
- Page SA, Verhoef MJ, Stebbins RA, Metz LM, Levy JC. The use of complementary and alternative therapies by people with multiple sclerosis. *Chronic Dis Can.*2003 Spring - Summer; 24:75-79
- Kwon YB, Lee HJ, Han HJ, Mar WC, Kang SK, Yoon OB, Beitz AJ, Lee JH. The water-soluble fraction of bee venom produces antinociceptive and anti-inflammatory effects on rheumatoid arthritis in rats. *Life Sci* 2002;31:71:191-204
- Riches KJ, Gillis D, James RA. An autopsy approach to bee sting-related deaths. *Pathology* 2002;34:257-262
- Arne L, Pautrizel R, Seilhean A, Fenelon J, Bezian J, Bargues JF. Immunologic study after bee stings in a patient developing a picture of multiple sclerosis
- Ferrante A, Mocatta F, Goh DH. Changes in IgG and IgE antibody levels to bee venom during immunotherapy. *Int Arch Allergy Appl Immunol.*1986;81:284-287

Vick JA, Mehlman B, Brooks R, Phillips SJ, Shipman W. Effect of the bee venom and melittin on plasma cortisol in the unanesthetized monkey. *Toxicol* 1972;10:581-586

Chang YH, Bliven ML. Anti-arthritic effect of bee venom. *Agents Actions* 1979;9:205-211

Vick JA, Shipman WH. Effects of whole bee venom and its fractions (apamin and mellitin) on plasma cortisol levels in the dog. *Toxicol* 1972;10:377-388

Guild SB. Effects of phospholipase A(2) activating peptides upon GTP-binding protein-evoked adrenocorticotropin secretion. *Eur J Pharmacol.* 2001;27:424:163-171

Dunn JD, Killion JJ. Effect of mellitin on pituitary-adrenal responsiveness to stress. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1988;119:339-344

Knepel W, Gerhards C. Stimulation by melittin of adrenocorticotropin and beta-endorphin release from rat adenohypophysis in vitro. *Prostaglandins* 1987;33:479-490

Margit C. Ockenfels, MA, Laura Porter, MA, Joshua Smyth, MA, Clemens Kirschbaum, PhD, Dirk H. Hellhammer, PhD, and Arthur A. Stone, PhD: Effect of Chronic Stress Associated With Unemployment on Salivary Cortisol: Overall Cortisol Levels, Diurnal Rhythm, and Acute Stress Reactivity

Jochen Brandstätter, Bernhard Baltes-Götz, Clemens Kirschbaum and Dirk Hellhammer: Developmental and Personality correlates of adrenocortical activity as indexed by Salivary cortisol: observations in the age range of 35 to 65 years

Waldemar Fibinger, George Singer, Heather Kaufman: Diurnal changes of cortisol and IgA in Speichel and life events

ANHANG C

Abrechnung des Apitherapieprojektes: „Über den entzündungshemmenden Effekt des Bienengiftes“

Sehr geehrte Damen und Herren,

Zur Finanzierung des gegenständlichen Projektes wurden am 1.9.05 € 22.000.- angewiesen.

Das Projekt hat nachfolgende Kosten nach sich gezogen:

:

- Es wurden am Department für Physiologie der Medizinischen Universität Wien 336 Speicheluntersuchungen hinsichtlich der Cortisolspiegel (Doppeluntersuchungen incl. Material) bei 29 Versuchspersonen in Auftrag gegeben; € 7.469.-
- Unbill- und Schmerzenabgeltung an 29 Probanden; 22 x € 150, 1 x € 200 (Nichtimker-2 Stiche), 6 x € 50 € 3.800.-
- notfallmedizinische Observanz der gestochenen Nichtimker € 200.-
- Honorar Prof. Dr .Christian Reiter: Projektleitung, Literaturrecherche, Organisation der Probanden, Einreichung bei Ethikkommission, Publikationsrecherche, Evaluation, Finanzverwaltung, Berichterstattung, € 5.000.-
- Honorar Dr. Astrid Krauskopf: Instruktion und Betreuung der Probanden, Probenverwaltung, Datenevaluation und -archivierung, Literaturrecherche, € 3.500.-
- Honorar der Univ. BOKU/ Statistik bez. wissenschaftlicher Datenauswertung € 2.000.-

Gesamtkosten: € 19.969.-

Die Rechnungsbelege liegen in Kopie bei, die Originale sind beim Projektleiter jederzeit einseh- und prüfbar.

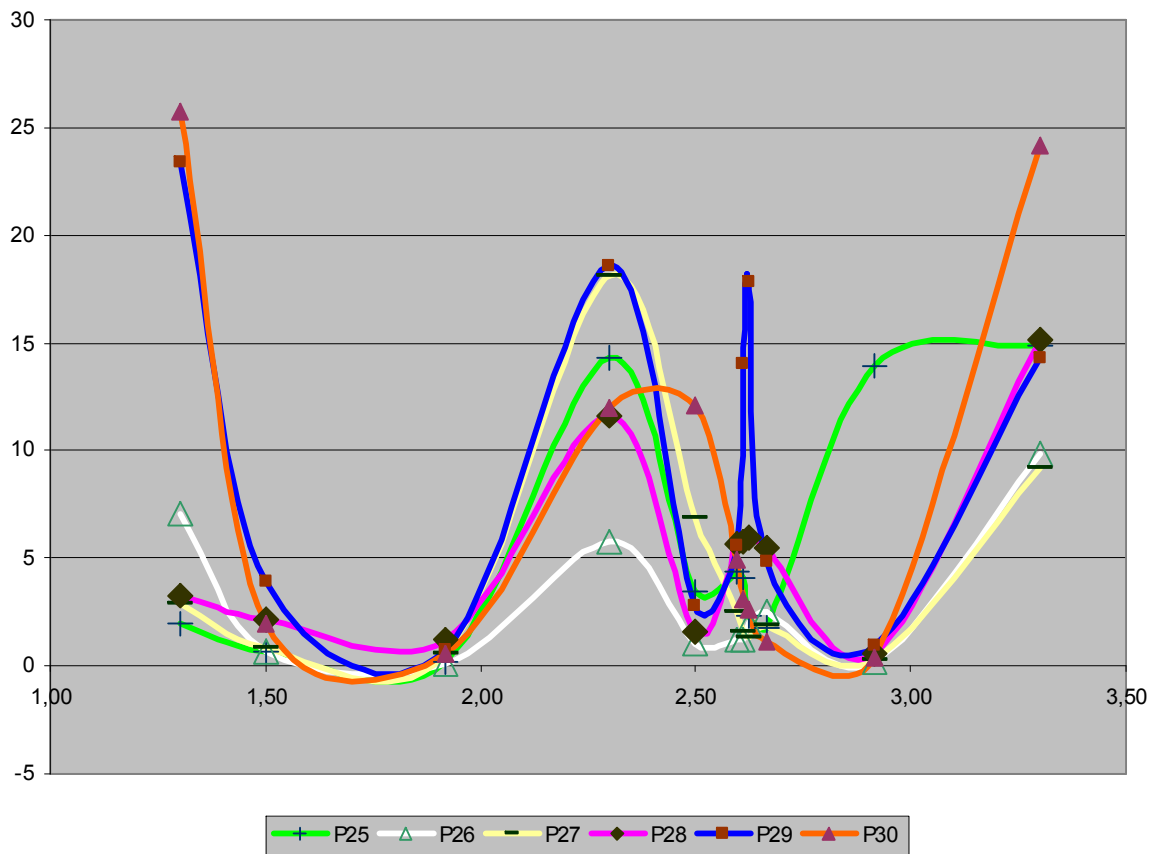
Die Differenz zwischen dem überwiesenen Betrag und den tatsächlichen Kosten der Studie in der Höhe von € 2031.- kann in den nächsten Tagen auf ein bekannt gegebenes Konto an Sie überwiesen werden.

ANHANG D

Messergebnisse

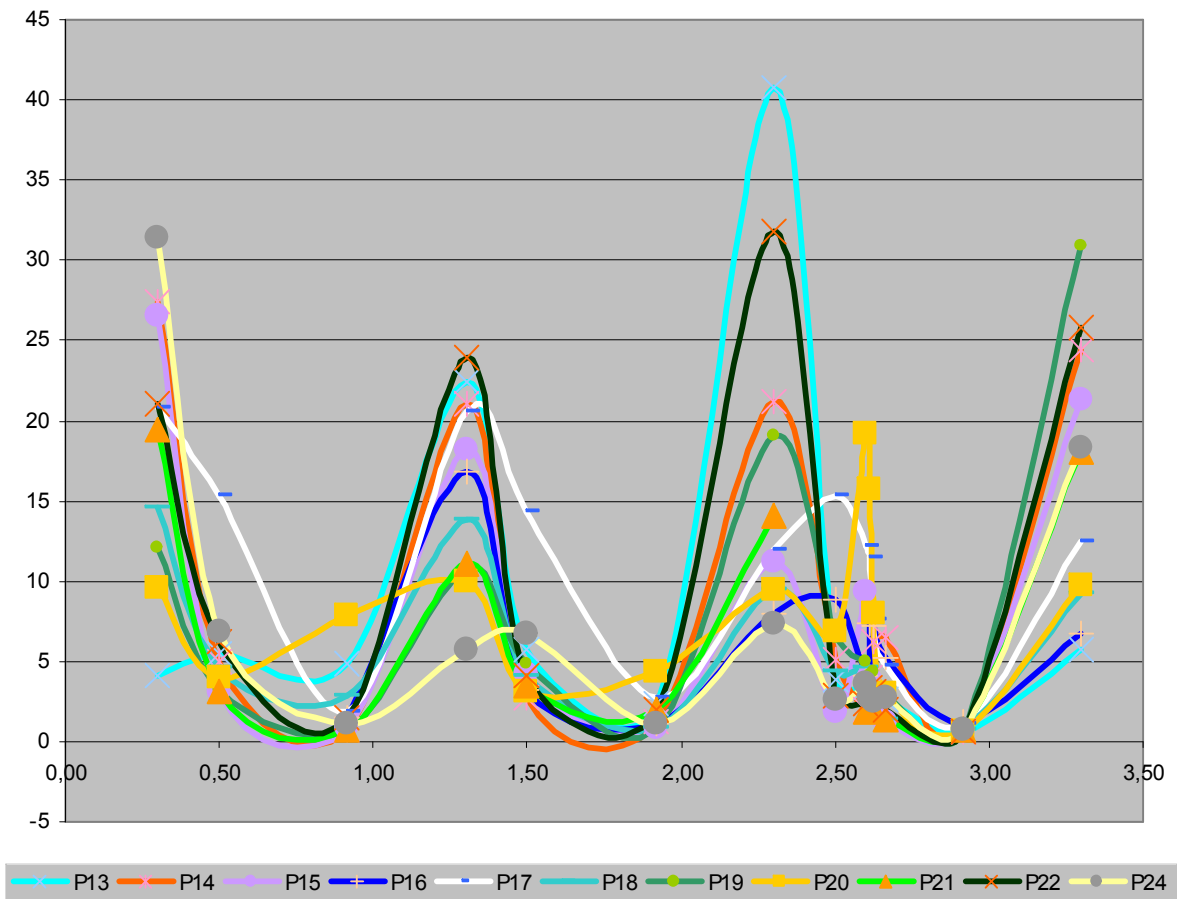
Nichtimker:

Tag	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P25	P26	P27	P28	P29	P30
1,30	21,11	15,32	11,93	10,85	12,42	6,68	1,97	7,08	2,89	3,31	23,37	25,72
1,50	3,57	3,61	2,51	2,86	1,48	1,39	0,69	0,63	0,84	2,17	3,92	1,99
1,92	0,81	0,64	0,27	0,29	1,53	0,41	0,18	0,09	0,53	1,23	0,73	0,60
2,30	26,24	12,89	10,40	6,44	10,12	6,61	14,29	5,76	18,14	11,64	18,54	11,98
2,50	3,19	1,60	6,95	2,89	1,51	1,75	3,43	1,03	6,90	1,57	2,83	12,10
2,60	2,41	5,85	9,70	2,52	1,55	3,34	4,34	1,21	2,49	5,72	5,60	4,92
2,61	1,82	4,56	5,39	11,98	1,24	2,26	4,14	1,25	1,58	5,73	14,07	3,12
2,63	2,15	6,55	2,03	1,16	0,69	1,87	2,32	1,92	1,33	6,00	17,88	2,59
2,67	8,24	1,25	0,62	1,22	1,05	2,48	1,80	2,47	1,90	5,44	4,81	1,08
2,92	8,75	1,69	0,20	1,31	0,18	0,34	13,92	0,18	0,31	0,56	0,96	0,39
3,30	15,10	12,41	4,62	0,86	2,72	8,20	14,82	9,88	9,23	15,12	14,28	24,13



Imker:

Tag	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20	P21	P22	P24
0,30	4,12	27,45	26,52		20,84	14,60	12,07	9,59	19,48	21,08	31,36
0,50	5,53	4,96	3,06		15,28	4,60	3,18	4,03	3,13	6,19	6,81
0,92	4,88	0,79	0,80	1,48	1,90	2,92	0,72	7,81	0,77	1,46	1,05
1,30	22,44	21,10	18,25	16,88	20,50	13,86	10,83	10,01	11,11	23,89	5,72
1,50	5,66	2,79	4,28	3,28	14,33	4,06	4,79	3,10	3,43	4,12	6,74
1,92	2,31	1,19	0,82	1,05	2,72	0,88	0,91	4,36	2,02	1,94	1,09
2,30	40,76	21,24	11,26	7,95	11,93	9,51	19,10	9,46	14,09	31,79	7,34
2,50	3,91	5,06	1,90	8,81	15,27	4,41	6,41	6,89		2,87	2,64
2,60	3,37	1,95	9,29	4,07	12,20	4,65	5,02	19,21	1,88	2,37	3,67
2,61	2,02	3,92	3,93	7,36	11,45	3,25	4,11	15,68	2,13	3,34	2,69
2,63	1,93	6,20	2,38	7,17	7,58	2,49	4,32	7,99	1,94	3,05	2,49
2,67	2,60	6,43	1,26	5,17	4,69	1,37	3,01	2,97	1,38	1,92	2,79
2,92	0,59	0,62	0,63	1,22	1,11	0,76	0,55	0,58	0,69	0,57	0,79
3,30	5,77	24,49	21,28	6,72	12,43	9,21	30,85	9,70	18,04	25,75	18,32



Kontrollgruppe:

Tag	P7	P8	P9	P10	P11	P12
0,30	30,37	12,32	5,90	10,27	3,03	0,70
0,50	15,11	14,86	1,24	3,90	1,04	1,22
0,92	0,87	0,33	0,61	0,97	0,34	2,44
1,30	24,60	17,24	3,61	8,06	9,70	12,10
1,50	4,92	1,58	1,23	5,06	1,13	5,09
1,92	1,16	0,66	0,77	0,88	0,41	0,43

ANHANG E

Statistik

siehe eigenes Dokument: Statistik.pdf