

Aus dem
CharitéCentrum 17 für Frauen-, Kinder- und Jugendmedizin mit
Perinatalzentrum und Humangenetik
Klinik für Pädiatrie mit Schwerpunkt Pneumologie und Immunologie
Frau Prof. Dr. med. Kirsten Beyer

Habilitationsschrift

Parameter in Diagnostik, Klinik und Verlauf von IgE-vermittelten Nahrungsmittelallergien im Kindesalter

Zur Erlangung der Lehrbefähigung
für das Fach Kinder- und Jugendmedizin

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät

Charité – Universitätsmedizin Berlin

von
Dr. med. Birgit Ahrens

Eingereicht: August 2016

Dekan: Prof. Dr. med. Axel R. Pries

1. Gutachter/in: Herr Prof. Matthias Kopp, Lübeck
2. Gutachter/in: Frau PD Dr. Bianca Schaub, LMU München

Inhalt

Inhalt.....	2
1 Einleitung.....	5
1.1 Epidemiologie.....	5
1.2 Natürlicher Verlauf der Nahrungsmittelallergie.....	8
1.3 Hypothesen zur Pathogenese der Nahrungsmittelallergie.....	9
1.4 Klinik der Nahrungsmittelallergie.....	13
1.5 Diagnostik der Nahrungsmittelallergie.....	15
1.6 Therapie der Nahrungsmittelallergie.....	19
1.7 Zielsetzungen.....	20
2 Eigene Arbeiten.....	21
2.1 Klinische Parameter im Rahmen der Nahrungsmittelallergie-Diagnostik.....	21
2.1.1 Organ-spezifische Symptome während einer oralen Nahrungsmittelprovokation bei Kindern mit manifester Nahrungsmittelallergie.....	22
2.1.2 Entwicklung eines experimentellen Modells zur Evaluierung der Allergenität von Nahrungsmittelallergenen.....	25
2.1.3 Positive Placebo Reaktionen bei Kindern im Rahmen einer doppelt-blinden-Placebo-kontrollierten Nahrungsmittelprovokation.....	34
2.2 Serum-diagnostische Parameter einer Nahrungsmittelallergie.....	42
2.2.1 Chemokine-Spiegel im Serum von Kindern mit atopischer Dermatitis in Abhängigkeit von der Schwere der Hautinflammation und des Sensibilisierungsstatus.....	43
2.2.2 Die Bedeutung von Hühnerei-spezifischem IgE, IgG und IgG4 im Rahmen der Diagnostik einer Hühnereiallergie.....	52
2.2.3 Einzel-Allergene der Kuhmilch als prognostische Marker für eine Toleranz-Entwicklung?	57
3 Diskussion.....	66
3.1 Herausforderungen der klinischen Diagnostik in Zusammenhang mit Alter, Ko-Erkrankungen und Symptommuster der Betroffenen sowie der Charakteristika einzelner Nahrungsmittelallergene.....	66
3.2 Prädiktor Allergene: das einzelne Allergen und die dadurch ausgelösten Reaktionen (human und im in vivo Modell).....	67
3.3 Prädiktoren im Serum – Immunologische Biomarker für eine Nahrungsmittelallergie oder Toleranz?.....	69
3.4 Charakteristika einzelner Allergene vor dem Hintergrund neuer Präventionsstrategien sowohl aus der Literatur, als auch anhand eigener laufender Forschungsprojekte.....	72
3.4.1 Klinische Reaktionen auf prozessierte (erhitzte) Nahrungsmittel im Rahmen der Toleranzentwicklung.....	72
3.4.2 Ausblick: Präventionsstrategien durch frühzeitigen und regelmäßigen Allergengenuss?	73

4	Zusammenfassung.....	77
5	Literatur.....	79
6	Danksagung.....	89

Abkürzungsverzeichnis

AD	Atopische Dermatitis
AR	Allergische Rhinokonjunktivitis
CI	Confidence Intervall, Konfidenzintervall
CRD	Component-resolved diagnostics, Komponenten-basierte Diagnostik
DBPCFC	Double-blind placebo-controlled food challenge, doppelt-blind Placebo-kontrollierte Nahrungsmittelprovokation
FLG-LOF	Filaggrin Gene loss of function Mutationen
HEA	Hühnereiallergie
IgE	Immunglobulin E Antikörper
IgG	Immunglobulin G Antikörper
KMA	Kuhmilchallergie
NMA	Nahrungsmittelallergien
SCORAD	Scoring of atopic dermatitis index
slgE	Spezifische IgE Antikörper
SPT	Skin Prick Test, Haut-Prick-Test

1 Einleitung

1.1 Epidemiologie der Nahrungsmittelallergie

Die Zahl der an Allergien leidenden Menschen nimmt seit Jahrzehnten weltweit zu. In einem aktuellen Übersichtsartikel beschreibt T.A.E. Platts-Mills „The Allergy Epidemics 1870-2010“ (1): die Epidemie der Allergischen Rhinokonjunktivitis (AR), die des allergischen Asthma bronchiale und schließlich die der Nahrungsmittelallergien (NMA). Platts-Mills beginnt mit den ersten Beschreibungen der Allergischen Rhinokonjunktivitis (AR) aus dem Jahr 1870; den stetigen Anstieg (10-13%) allergischer Erkrankungen zwischen 1932-1950 beispielhaft in New York, um dann hinsichtlich der AR ab 1940 epidemische Ausmaße zu erreichen (**Abbildung 1**) (1). Asthma galt noch 1960 in den meisten pädiatrischen Lehrbüchern nicht als eine häufige - und erst recht nicht als eine epidemische Erkrankung (1). Nur ca. 20 Jahre später (1982) wurde Asthma als eines der vorrangigsten medizinischen Probleme in New York angesehen, und die New York Times berichtete 1996 von einer „Emerging epidemic of asthma“ (1,2). In der Tat wurde dieser dramatische Anstieg der Asthma Prävalenz in allen westlichen Ländern erst in den 90er Jahren überhaupt erkannt (1).

Als “second wave of the allergy epidemic“ (3) wird seit ungefähr 10 bis maximal 20 Jahren die Zunahme von Nahrungsmittelallergien (NMA) insbesondere in den industrialisierten Ländern beschrieben (1,3,4). Diese „junge“ Beobachtung legt nahe, dass vieles zur Pathogenese inklusive der Verflechtung der allergischen Erkrankungen („Atopischer Marsch“), zur Diagnostik, zu den Entitäten oder auch zum individuellen Verlauf gerade einer (Nahrungsmittel) Allergie noch zu wenig bekannt ist.

Der Entwicklung allergischer Erkrankungen wird das Zusammenspiel einer Vielzahl von unterschiedlichen Faktoren zugrunde gelegt (multifaktorielle Genese). Eine genetische Prädisposition aber auch diverse Umweltfaktoren scheinen die Ausprägung eines allergischen Phänotyps zu beeinflussen. Als ein starker Einflussfaktor gilt dabei der westliche Lebensstil (5, 6, 7). Basierend auf dieser Beobachtung wurde vor 27 Jahren erstmals die „Hygiene Hypothese“ formuliert (8). Eine Hypothese mit der mittlerweile generell postuliert wird, dass eine genetische Prädisposition in Kombination mit einer gewissen Umwelt -“Hygiene“ (geringer Kontakt zu einer mikrobiellen Vielfalt, wenig Infektionen) die individuelle Entwicklung allergischer Erkrankungen aufgrund

einer fehlgeleiteten Stimulation des Immunsystems unterstützt.

Die Daten der weltweit laufenden ISAAC Studie (International Study of Asthma and Allergies in Childhood, mittlerweile in der Phase III), sowie zahlreiche andere Studien, vermuten seit einigen Jahren jedoch, dass sich der Trend einer Zunahme von Allergien, vornehmlich in westlichen Ländern, in Teilen gewandelt haben könnte. So steigt in weniger entwickelten Ländern die Prävalenz der allergischen Erkrankungen scheinbar kontinuierlich, doch in industrialisierten Ländern sei zumindest hinsichtlich der Asthma-Prävalenz ein Plateau zu beobachten (9-12), bzw. die Spitze der Schwere und Prävalenz des Asthmas scheint zwischen 1995 und 2000 zu liegen (1). Die Studie zur Gesundheit von Kindern und Jugendlichen in Deutschland (KiGGS, Alter 0-17 Jahre) berichtet von einer im internationalen Vergleich eher niedrigen, aber konstanten Asthma-Prävalenz-Rate von 4.7% (13). Die Raten der Lebenszeitprävalenz für die atopische Dermatitis (AD) (13,2%) und die AR (10.7%) in Deutschland sind hingegen vergleichbar mit denen aus zum Beispiel Irland wobei insgesamt eine ansteigende Tendenz beobachtet wird (13,14) [Prävalenzzahlen bei den 6-9 jährigen Kindern zwischen 2002-2007 in Irland bezüglich der AR von 7.6% auf 10.6% und die der AD von 8.9 auf 13.5%]. Eher neu ist, dass auch in einkommensschwachen Ländern wie Afrika und Ostasien neuere Daten einen Anstieg der AD suggerieren (15).

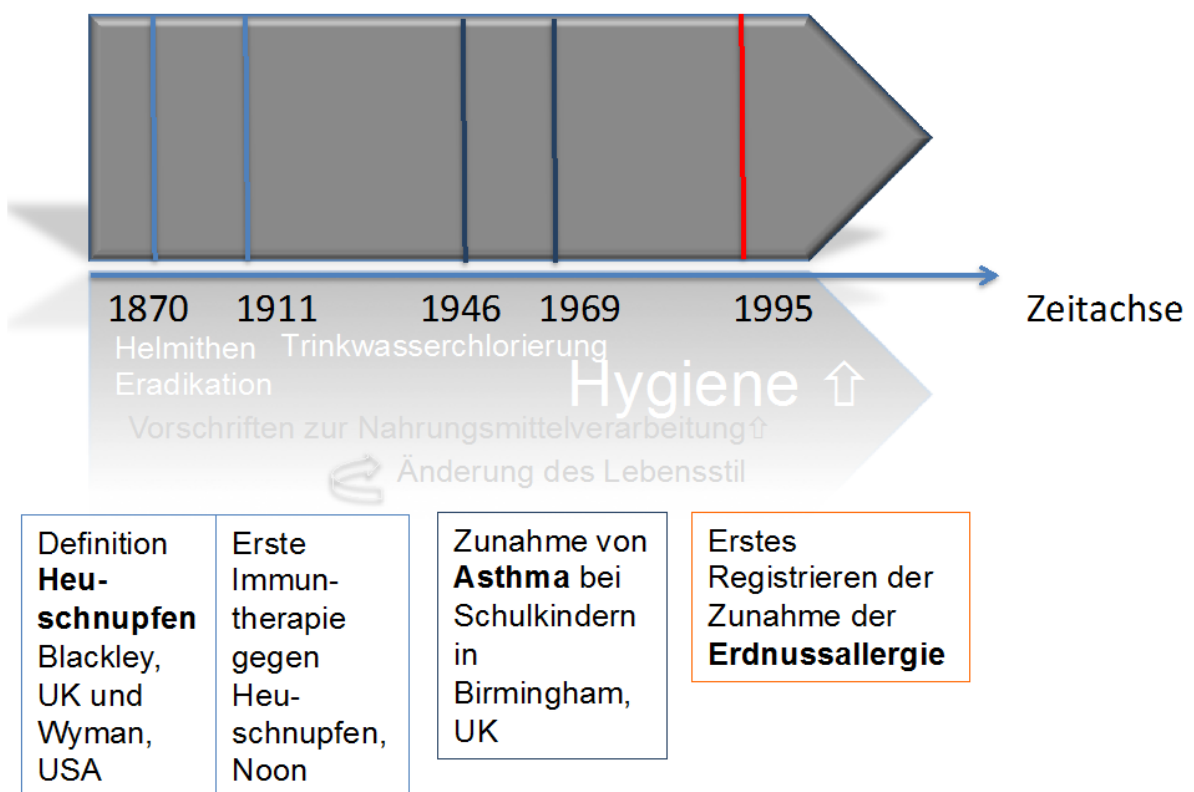


Abbildung 1: Stufenweiser Anstieg der Prävalenz der Allergischen Rhinitis, des pädiatrischen Asthma bronchiale und der Erdnussallergie unter Berücksichtigung einer

Zunahme der „modernen Hygiene“ der westlichen Gesellschaften. Modifiziert nach Ref 1.

Angaben zur Prävalenz der NMA sind noch immer rar (1,4). Erste verlässliche Prävalenzdaten aus epidemiologische Studien, die sich nicht nur auf Vermutungen (self-reported food allergy) berufen, sondern den Gold Standard für die Diagnose einer NMA verwenden, die DBPCFC (double-blind placebo-controlled food challenge, doppelt-blind Placebo-kontrollierte Nahrungsmittelprovokation) (4, 16, 17, 18) liegen erst seit kurzer Zeit vor. In einer systematischen Übersichtsarbeit und Meta-Analyse wurde für Europa die zusammengefasste Lebenszeitprävalenz und Punktprävalenz der selbst-berichteten NMA mit 17.3% (95% CI: 17.0–17.6) und 5.9% (95% CI: 5.7–6.1) berechnet, wobei die mittels Provokation gesicherten NMA-Diagnosen lediglich bei 0.9% (95% CI: 0.8–1.1) lagen (16). Diese Prävalenzraten wurden im Rahmen der *Europrevall Studie*, einer europaweiten Geburtskohortenstudie, in Bezug auf die Kuhmilchallergie bei Kindern bestätigt (19). So lag die Inzidenz der Provokationsbestätigten Kuhmilchallergie zwischen 0% bis 1.3%, wobei die süd-osteuropäischen Länder die niedrigsten Raten vorwiesen. Die Daten der Meta-Analyse hatten Prävalenz-Schätzungen von 0.6% (95% CI 0.5–0.8) (16). Hinsichtlich der Hühnereiallergie wurde eine adjustierte Inzidenz von 1,23% (95% CI 0.98–1.51) berechnet (20). Interessanterweise konnten ähnlich wie bei der Kuhmilchallergie auch bei der Hühnereiallergie große Unterschiede der Inzidenz zwischen den unterschiedlichen europäischen Ländern festgestellt werden. Sie rangierte zwischen 2.18% (95% CI 1.27–3.47) in Großbritannien und nur 0.07% in Griechenland (20).

Abgeleitet von oralen Provokationsdaten bei einjährigen Kindern, geht eine populations-basierte Kohorten-Studie aus Australien von Nahrungsmittelallergie-Prävalenzraten gegen Erdnuss von 3% aus, von 8.9 % bei einer Allergie gegen rohes Hühnerei und von 0.8% gegen Sesam (21), in Großbritannien gehen Schätzungen davon aus, dass 2% der 8-jährigen an einer Erdnussallergie leiden (22).

In der Tat sind allergische Reaktionen gegen jedes Nahrungsmittel denkbar. Nichts desto trotz gelten Kuhmilch und Hühnerei weltweit als die zwei häufigsten Nahrungsmittelallergene; das dritthäufigste variiert (23): Erdnuss in den USA und der Schweiz, Weizen in Deutschland und Japan, Baumnüsse in Spanien und Sesam in Israel (23, 24). Bei Kleinkindern werden die meisten allergischen Reaktionen von

Hühnerei, Kuhmilch, Erdnüssen, Baumnüssen, Weizen, Soja, Sesam und Kiwi verursacht wohingegen bei älteren Kindern und Erwachsenen Fisch, Schalentiere, Erdnüsse und Baumnüsse dominieren (25).

Diese regional geprägten Variationen deuten erneut auf den Einfluss von Umweltfaktoren und Lebensgewohnheiten, wie zum Beispiel eine landestypische traditionelle Ernährung (26, 27). Darüberhinaus sind auch innerhalb eines Nahrungsmittels Unterschiede im Immunogenitätsprofil gegenüber den Einzelallergenen (Komponenten) nachgewiesen (26).

1.2 Natürlicher Verlauf der Nahrungsmittelallergie

Glücklicherweise verlieren die meisten Kinder ihre NMA, insbesondere gegen Kuhmilch oder Hühnerei mit der Zeit. In der bereits oben zitierten EuroPrevall Studie waren mit 2 Lebensjahren bereits 69% der Kinder, die im ersten Lebensjahr eine Kuhmilchallergie (getestet mittels DBPCFC) aufwiesen, tolerant (19). Dabei war das Nicht-Vorhandensein von Kuhmilch-spezifischen IgE Antikörpern mit einer raschen Toleranzentwicklung assoziiert (23.6% der Kinder hatten eine nicht IgE-vermittelte Kuhmilchallergie). Eine retrospektive Studie aus den USA zeigte bei ausschließlich IgE-vermittelter Kuhmilchallergie Toleranzraten von 19% im Alter von 4 Jahren, 42% mit 8 Jahren, 64% mit 12 Jahren und 79% mit 16 Jahren. In dieser Studie scheinen Kinder mit einer persistierenden Kuhmilchallergie tendenziell höhere spezifische IgE Spiegel zu haben oder litten parallel an einem Asthma bronchiale oder einer AR (28). Bei der zuletzt genannten Studie ist jedoch kritisch zu bedenken, dass die Kinder nicht wie in der (prospektiven) EuroPrevall Studie nach einem fest definierten Zeitabstand provoziert wurden, sondern dies im Ermessen des Studienleiters (*Principle Investigators*) lag. In Bezug auf die Hühnereiallergie, konnte in einer großen prospektiven, Populations-basierten Kohorten Studie gezeigt werden, dass 66 Kinder (47%) (95% CI, 37%–56%) ihre im ersten Lebensjahr Provokations-bestätigte Hühnereiallergie im Alter von 2 Jahren verloren (29). Ähnliche Ergebnisse wurden in der bereits oben zitierten *EuroPrevall* Studie gezeigt, Hier entwickelten die Hälfte der Hühnerei-allergischen Kinder innerhalb eines Jahres nach der initialen Diagnose eine Toleranz (20).

Im Gegensatz zu diesen Nahrungsmittelallergenen scheint die Wahrscheinlichkeit

eine Allergie gegen Fisch, Sesam, Erdnuss oder Baumnüssen zu verlieren deutlich geringer. Studien dokumentieren, dass ungefähr 20% der Erdnuss-allergischen Kinder ihrer Erdnussallergie entwachsen (30 - 33) bzw. einige Berichte gehen davon aus, dass bei bis zu 50% der Kinder die Erdnussallergie persistiert (34 - 37). Weiterhin wird von einer Erdnussallergie-Rückfall-Rate von 8% (38) ausgegangen, wobei dies insbesondere mit dem weiteren strikten diätetischen Meiden von Erdnuss assoziiert ist. Hinsichtlich der klinischen Allergenität gilt geröstete Erdnuss als das stärkste Nahrungsmittelallergen weltweit und ist folglich assoziiert mit den schwersten allergischen, anaphylaktischen Reaktionen. In einer kürzlich veröffentlichten australischen Studie wurde nachgewiesen, dass 22% (95% CI, 14% bis 31%) der Kinder mit einer im ersten Lebensjahr Provokations-bestätigten Erdnussallergie, diese im Altern von 4 Jahren verloren (39).

Leider leidet ein Kind selten nur an einer NMA. Häufig entwickeln Kinder nicht nur eine Allergie gegen Kuhmilch und oder Hühnerei, sondern im Verlauf zusätzlich eine Allergie gegen zum Beispiel Erdnuss dazu. Dieses Phänomen scheint analog dem Atopischen Marsch (s. Seite 8) und wird daher als „Food Allergic March“ (25) bezeichnet (**Abbildung 2**).

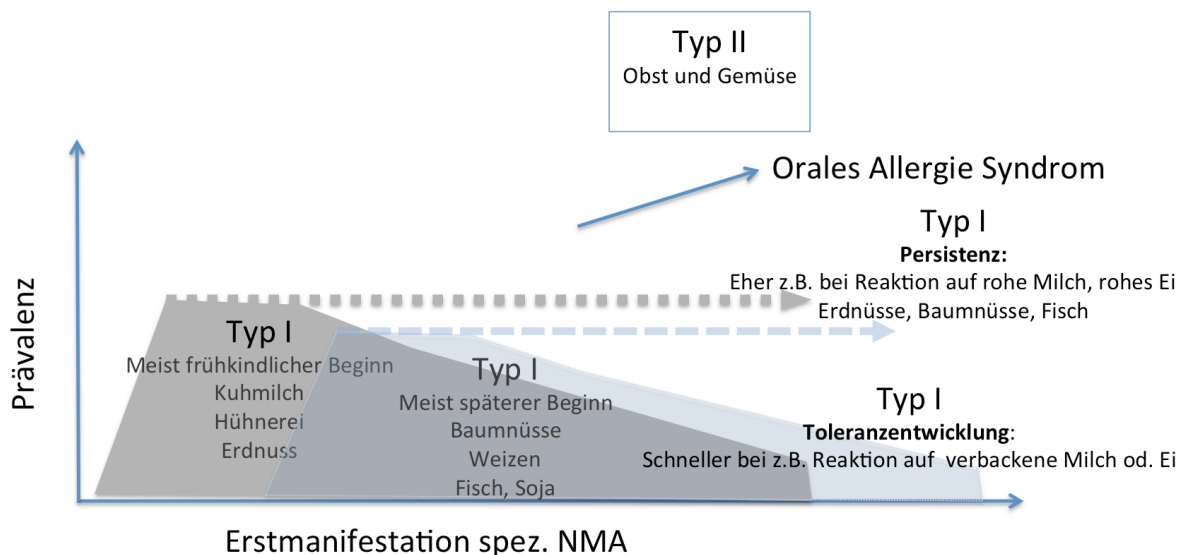


Abbildung 2: „Food Allergic March“, modifiziert nach Ref 25.

1.3 Hypothesen zur Pathogenese der Nahrungsmittelallergie

Die meisten NMA sind IgE-vermittelt und gehören zusammen mit der AD, der AR und dem allergischen Asthma bronchiale zum Atopischen Formenkreis. Hierbei ist, im Gegensatz zur AR oder dem Asthma bronchiale, gerade für die AD und die NMA eine Manifestation in den ersten Lebensmonaten typisch („Atopischer Marsch“). Der „Atopische Marsch“ ist eine Hypothese, die eine gewisse, altersabhängige Abfolge von allergischen Erkrankungen mit entsprechenden spezifischen Sensibilisierungen gegenüber Nahrungsmittel- und Inhalationsallergenen beschreibt. Er ist assoziiert mit einer AD und/oder einem *Wheezing* (pfeifende Atmung) in den ersten Lebensjahren, häufig gefolgt von einem chronischen allergischen Asthma bronchiale, der AR und anderen klinischen Manifestationen von atopischen Erkrankungen im späteren Leben. Die starke Verbindung zwischen den einzelnen allergischen Erkrankungsentitäten wird deutlich, wenn man sich die Koexistenz allergischer Erkrankungen bei Kindern mit einer NMA vor Augen führt (40, 41).

Die Hypothese des „Atopischen Marsches“, ist nicht nur aufgrund der neueren Daten, die sich mit der (Haut)Barrierestörung auseinandersetzen in den Vordergrund gerückt. So wurde in einem systematischen Review und Meta-Analyse die starke Verbindung zwischen Filaggrin Gen Mutationen und der AD dokumentiert (40). Ebenso weisen Daten darauf hin, dass das Vorliegen dieser Mutationen bei Patienten mit AD ebenso das Risiko für die Entwicklung eines allergischen Asthma bronchiale erhöht. Gerade im Hinblick auf die NMA aber ist interessant, dass FLG Mutationen adjustiert für die AD mit der Sensibilisierung gegen Nahrungsmittel assoziiert waren (OR 3.0; 95% CI, 1.0-8.7; P 5 .043). Diese Beobachtung passt hervorragend zu der Hypothese, dass eine defekte Hautbarriere die Sensibilisierung fördert (42). Weiterhin konnte anhand der *Isle of Wight* Geburtskohorte eine longitudinale Verbindung zwischen drei häufigen Filaggrin *Gene loss of function* Mutationen (FLG-LOF) und der NMA aufgedeckt werden (43). Diese Ergebnisse zeigen nicht nur die Verbindung zwischen FLG-LOF Mutationen und AD und NMA Sensibilisierung, sondern unterstreichen auch deren Bedeutung in der Persistenz. Eine kürzlich erschienene Studie bestätigte den prädiktiven Wert einer genetischen Analyse. Sie untersuchte die Assoziation zwischen FLG-LOF und positiven Reaktionen auf Nahrungsmittel im Rahmen einer DBPCFC bei Kindern. So lag die *odds ratio* für wenigstens eine FLG-LOF Variante und mindestens eine positive Provokation bei 4.9 (CI = 1.6-14.7, P = 0.005); dies entspricht einem relativen Risiko von 1.5, verglichen mit Trägern eines Wild-Type-

Allels (44). Mit diesen Beobachtungen ergänzen sich hinsichtlich der multifaktoriellen Genese der allergischen Erkrankungen beispielhaft genetische Einflüsse (FLG-LOF) und Umwelteinflüsse (externe Exposition mit Nahrungsmittelallergenen über die Haut). Viele Studien haben bislang die AD als einen starken Risikofaktor für die IgE-vermittelte NMA dargestellt (45). Somit sind Hautbarrieredefekte (genetisch oder auch nicht-genetisch, z.B. im Rahmen von Entzündungsreaktionen bedingt) mittlerweile fest in der „Liste der Risikofaktoren“ für (Nahrungsmittel)Allergien bzw. für den „Atopischen Marsch“ etabliert.

Als wichtiger Einflussfaktor bei der Entwicklung einer NMA im frühen Kindesalter gilt Zeitpunkt und Ablauf der Beikosteinführung. Aktuelle internationale Empfehlungen unterstützen das ausschließliche Stillen des Kindes für mindestens 4-6 Monate. Es gibt keine Evidenz dafür, die Einführung der Beikost nach dem 4. Lebensmonat heraus zu zögern (46), wie dies noch von einigen Jahren postuliert wurde. Dieser Wandel im Bereich frühkindlichen Ernährung beruht unter anderem darauf, dass sich die frühere Hypothese für eine Allergie-Prävention, die Allergenvermeidung im Sinne einer diätetischen Restriktion, nicht bewahrheitet hat. Vielmehr wird jetzt eine Prävention durch Exposition mit Allergenen im Sinne einer potentiellen Toleranzinduktion diskutiert. Das Konzept eines „window of opportunity“ bzw. „window of tolerance“, geht davon aus, dass eine bestimmte Zeitperiode besteht, in der die Einfuhr von (potenten allergenen) Nahrungsmitteln zu einer oralen Toleranz führt (**Abbildung 3**) (47). Und auch diese Zeitperiode unterliegt vermutlich multifaktoriellen Einflüssen wie zum Beispiel der Kolonisation, einer genetischen Prädisposition (z. B. positive atopische Familienanamnese), den Eigenschaften der Allergene (Konzentration oder Prozessierungszustand, Intervall der Gaben, Zeit der Einfuhr), der Darmpermeabilität bzw. Reife, den pH; sie wird eventuell moduliert durch eine Fortführung des Stillens bzw. des Stillens per se, sowie anderen Faktoren wie Fettsäuren, Stress, Antioxidantien, Auseinandersetzung mit Infekten, Vitamin D Mangel uvm. (47, 25, 26). Unter der Annahme, dass dieses Konzept zutrifft wird ferner postuliert, dass die einzelnen Nahrungsmittel unterschiedlich definierte Zeitfenster haben könnten, die wiederum den individuellen Umwelteinflüssen unterliegen (26).

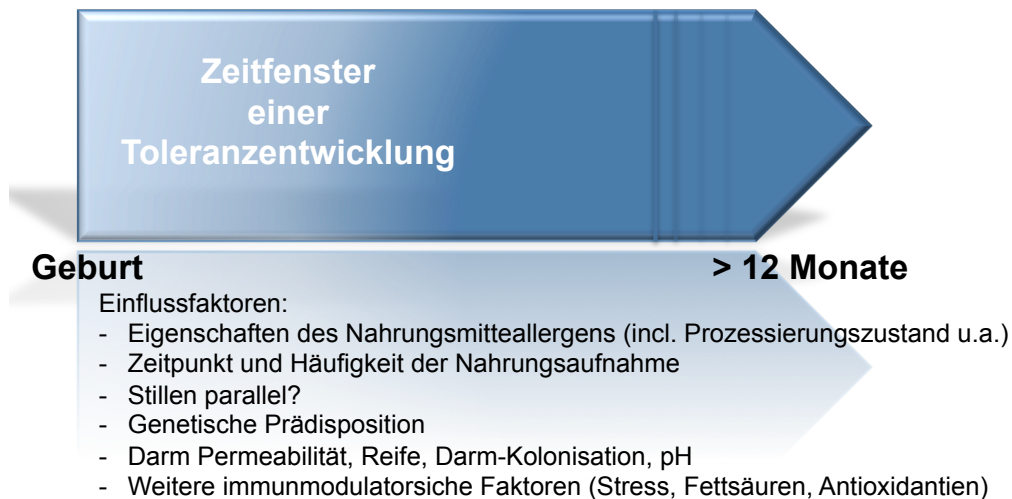


Abbildung 3: Mögliches Zeitfenster für eine Toleranzentwicklung im Rahmen der Beikosteneinführung Modifiziert nach Ref. 47.

Darüberhinausgehend stellt G. Lack die Hypothese einer „Dual-allergen exposure hypothesis for the pathogenesis of food allergy“ vor (26). Hierunter meint er, dass eine allergische Sensibilisierung aus der kutanen Exposition herrührt, und eine Toleranz gegenüber einem bestimmten Nahrungsmittel dann auftritt, wenn dieses Nahrungsmittel regelmäßig oral aufgenommen wird (26). Tatsächlich konnten wir Erdnussprotein im Hausstaub und im Bettstaub nachweisen, auch wenn die Studienteilnehmer sich nicht bewusst waren, Erdnuss überhaupt verzehrt zu haben (48). Da Kleinkinder die meiste Zeit im Bett verbringen, könnte deren enger Kontakt zwischen Haut und Erdnussprotein als ein wichtiger Risikofaktor für eine Sensibilisierung gelten – insbesondere bei Kindern mit Hautbarriere defekten.

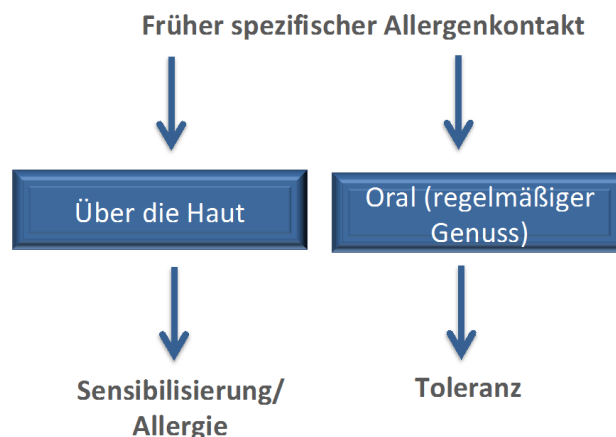


Abbildung 4: Hypothese einer „Dual-allergen exposure hypothesis for the pathogenesis of food allergy“. Modifiziert nach Ref 26.

1.4 Klinik der Nahrungsmittelallergie

Kinder mit einer NMA können sich mit sehr heterogenen klinischen Symptomen präsentieren. Bei der Mehrzahl der Nahrungsmittel induzierten Reaktionen handelt es sich um IgE-vermittelte, im Gegensatz zu den selteneren nicht-IgE vermittelten Nahrungsmittelallergien (18, 49). Diese Habilitationsschrift befasst sich ausschließlich mit der IgE-vermittelten NMA.

Die IgE-vermittelten NMA basieren am häufigsten auf einer primären Nahrungsmittelspezifischen Sensibilisierung auf vorwiegend stabile Nahrungsmittelallergene (Glykoproteine). Sie können aber auch sekundär als Konsequenz auf eine primäre Sensibilisierung gegenüber Kreuz-reagierenden Aeroallergenen (z.B. Pollenallergene) ausgelöst werden (Pollen-assoziierte Reaktionen, zum Beispiel das Orale Allergiesyndrom) (50).

IgE-vermittelte allergische Reaktionen auf Nahrungsmittel können jedes Organsystem betreffen: die Haut (Urtikaria, Angioödem, Rötungen, Verschlechterung einer AD), das gastrointestinale System (Erbrechen, Durchfall, Bauchkrämpfe), respiratorisch (Dyspnoe, pfeifende Atmung (*wheeze*), Stridor, Husten, Rhinokonjunktivitis) bis hin zu kardiovaskulären Symptomen mit Hypotension, Tachy-/Arrhythmie oder einem Herz-Kreislaufstillstand (51). Neben diesen objektiven Symptomen können auch schwer messbare subjektive Beschwerden auftreten, wie Schwindel, Brennen in Mund oder Rachen, Juckreiz von Haut, Nase, Augen oder ein allgemeines Unwohlsein, Schluckbeschwerden und Übelkeit (51). Die Symptome können mild sein, einzeln oder kombiniert mit Beteiligung der verschiedenen Organsysteme auftreten, oder aber auch schwer, anaphylaktisch, und lebensbedrohlich (49). Eine Studie beschrieb kürzlich bei anaphylaktisch reagierenden Kindern altersabhängige unterschiedliche Reaktionsmuster (Anaphylaxie definiert als akute allergische Reaktion unter Beteiligung von mehr als 2 Organsystemen oder alleinige Hypotension). So seien bei Kleinkindern (< 2 Jahren) Quaddeln plus Erbrechen vorherrschend, wohingegen Stridor und eine pfeifende Atmung häufiger bei Vorschulkindern (2 – 5 Jahre alt) zu beobachten sein (52). Eine andere Studie berichtet, dass bei jüngeren Kindern (0 – 9 Jahre alt im Gegensatz zu 10 – 17 Jahre alten Kindern), respiratorische Symptome dominant seien, wohingegen Kreislauf-Symptome mit zunehmendem Alter zunehmen (53). Andererseits aber könnten die selten berichteten kardiovaskulären Symptome bei jüngeren Kindern damit zusammenhängen, dass bei jüngeren Kindern deutlich weniger oft der Blutdruck gemessen werde (52). Insgesamt dokumentieren diese Beobachtungen die Schwierigkeiten im Erkennen von nahrungsmittelallergischen

Reaktionen und Anaphylaxie insbesondere bei den kleinen Kindern (52, 54). Einigkeit besteht in der aktuellen Literatur jedoch darin, dass insbesondere Kinder mit einem Koexistierenden Asthma bronchiale ein erhöhtes Risiko für eine schwere allergische Reaktion /Anaphylaxie aufweisen (55). Und dass schwere (anaphylaktische) Reaktionen von respiratorischen Komponenten dominiert werden (53,56).

Die Mehrheit der IgE-vermittelten Reaktionen treten im Zeitfenster von einigen Minuten bis hin zu wenigen Stunden nach Allergenaufnahme auf (55). In einer kürzlich veröffentlichten Studie wurde eine modifizierte orale Nahrungsmittelprovokation bei Kindern mit einer Erdnussallergie durchgeführt. Es wurde gezeigt, dass die mittlere Zeit zwischen der Nahrungsaufnahme bis zur klinischen Reaktion 55 Minuten dauerte (minimal 5 bis maximal 210 Minuten) (57). Weiterhin sind biphasische Reaktionen mit variierenden Symptomschweregraden bekannt (58). Diese werden mit einer Prävalenz von 2%–6% bei Kindern beschrieben (55,59). Meistens entwickeln sich die Symptome innerhalb 1-72 Stunden nach dem initialen Ereignis, mehrheitlich innerhalb von 8 Stunden; bei protrahierten Reaktionen sprechen die Symptome nicht auf die Therapie an und können bis zu 72 Stunden und mehr anhalten (55,58). Aus diesem Grund sollen Kinder nach schweren nahrungsmittelallergischen/ anaphylaktischen Reaktionen im Krankenhaus entsprechend lange überwacht werden (60).

„Chronische“ Reaktionen auf Nahrungsmittelallergene können sich zum Beispiel in einer Verschlechterung der AD äußern; mangelnde Gewichtszunahme, blutige Stühle, Durchfall und Obstipation können ebenfalls durch IgE-vermittelte Reaktionen der NMA darstellen, sind aber eher typisch für nicht-IgE vermittelte NMA.

Die Schwere einer einzelnen NMA Reaktion beim individuellen Kind lässt sich nicht vorher sagen, da viele Faktoren diese beeinflussen können: zum Beispiel die Art und die Menge des Allergens, die umgebende Matrix (fettig, wässrig), der Zubereitungszustand (geröstet, gebacken, gekocht, roh), oder auch die Art der Aufnahme (direkter oraler Verzehr, indirekt zum Beispiel über die Muttermilch, inhalativ). Weiterhin spielen Risikofaktoren eine wichtige Rolle (61). Neben co-existierenden Erkrankungen wie Asthma bronchiale, welches die Mortalität erhöht, können sogenannte Augmentationsfaktoren wie körperliche Bewegung, oder akute Infekte die Reaktionsschwelle erniedrigen zu stärkere allergische Reaktionen bedingen (61). Ergänzend dazu scheinen Ko-Faktoren eine wichtige Rolle zu spielen, hierbei werden Ko-Faktoren definiert als eine Untergruppe von Risikofaktoren die nicht selbst auf immunologischer Basis agieren; typische Beispiele beinhalten gewisse Allergene (z.B. Erdnüsse oder Baumnüsse), gewisse Entwicklungsstadien (z.B. Jugendliche), psychologische Faktoren (z.B. emotionaler Stress), oder tagtägliche Medikamente (z.B. ACE-Inhibitoren) (61).

1.5 Diagnostik der Nahrungsmittelallergie

Eine akkurate Diagnostik bei Verdacht auf eine IgE-vermittelte NMA ist wichtig, um die betroffenen Kinder vor schweren, lebensbedrohlichen Reaktionen zu schützen, und um unnötige Ernährungsrestriktionen (Diäten) oder gar Fehlernährungen zu vermeiden.

Eine sorgfältige erhobene klinische Anamnese des Kindes unter Berücksichtigung der bisherigen Ernährung (Muttermilch oder Formula Nahrung, Einführung der Beikost, beobachtete Reaktionen nach Genuss spezieller Nahrungsmittel), die Familienanamnese, eine körperliche Untersuchung (Untersuchung des Ernährungsstatus und des Wachstums, atopische Stigmata einschließlich Beurteilung einer AD, AR oder eines Asthma bronchiale) kombiniert mit der Bestimmung einer Nahrungsmittel-spezifischen Sensibilisierung gehören zu den ersten Schritten der diagnostischen Aufarbeitung (62). Das Vorhandensein von Nahrungsmittel-spezifischen IgE (sIgE) Antikörpern kann sowohl im Serum, als auch mittels Haut-Prick-Test (*Skin Prick Test*, SPT) evaluiert werden. Es ist wichtig zu betonen, dass der alleinige Nachweis von Nahrungsmittel-spezifischen IgE-Antikörpern oder eines positiven SPTs lediglich eine Sensibilisierung – also das Vorhandensein von Nahrungsmittel-spezifischem IgE – bestätigt. Für die Diagnose einer klinisch relevanten NMA ist generell entweder der Bericht einer eindeutigen, vor kurzem stattgefundenen Reaktion notwendig (zum Beispiel das Auftreten einer generalisierten Urtikaria und pfeifender Atmung innerhalb von 30 Minuten nach erstmaligem, bewußtem Verzehr eines Erdnuss-Produktes), oder aber eine orale Nahrungsmittelprovokation. Der Referenzstandard für die Diagnose einer NMA ist eine doppelt-blinde, Placebo-kontrollierte Nahrungsmittelprovokation (*dopple-blind, placebo-controlled food challenge* DBPCFC). Offene oder einfach-verblindete Provokationen werden im Klinikalltag jedoch auch häufig durchgeführt (63). Die Verblindung ermöglicht eine korrekte Zuordnung von allergischen Symptomen und hilft klinisch nicht relevante Sensibilisierungen oder funktionelle Symptome zu identifizieren; doppelt-blind bedeutet, dass weder der Patient noch das behandelnde medizinische Personal (ärztliches und Pflegepersonal) die Reihenfolge der verabreichten Nahrungsmittel wissen. Die verabreichten Gaben enthalten entweder

das Allergen oder ein Placebo. Dabei sind die placebohaltigen Gaben idealerweise den allergenhaltigen Gaben in Aussehen, Geschmack, Konsistenz und Geruch gleich.

Schlüsselemente in der Diagnose einer NMA:

- Anamnese und klinische Untersuchung
- Bestimmung einer spezifischen Sensibilisierung
 - o Nahrungsmittelallergen-spezifisches IgE
 - o Haut-Prick-Test

- Orale Nahrungsmittelprovokation

Aus Ref. 64

Im Dezember 2012 wurde der PRACTALL (63) Consensus Bericht publiziert. Dieser Bericht wurde von Experten der USA und Europa verfasst und beschreibt detailliert, wie eine DBPCFC sicher und standardisiert ablaufen soll. Zentrale Elemente beinhalten (62):

I. Vorbereitung:

- Vermeidung des entsprechenden Nahrungsmittels für mindestens 2 Wochen; gesundheitlich stabile Ausgangslage: z.B. keine akute (allergische) Erkrankungen; möglichst vorheriges Absetzen jeglicher Medikamente, die die Ergebnisse der Provokation beeinflussen (z.B. Kortikosteroide, Antihistaminika) oder Sicherheitsbedenken hervorrufen könnten (z.B. β -Agonisten).
- Beginn der Provokation idealerweise nüchtern.

II. Provokationsablauf:

- Ort der Provokation: für anaphylaktische Notfallreaktionen ausgerüstet; individuell vorbereitete, bereitgelegte Notfallmedikamente
- Durchführung: von einem medizinischen, für anaphylaktische Notfallsituationen trainierten Team (63)
- Verabreichung der Placebo- bzw. Allergenhaltigen Provokationsgaben möglichst an unterschiedlichen, aufeinanderfolgenden Tagen, mindestens aber mit 3h Abstand. Schrittweise erhöhte Allergenkonzentrationen in den einzelnen Gaben (z.B. 3, 10, 30, 100, 300, 1000, und 3000 mg Nahrungsmittelprotein, alle 20 min) (63).
- 2-stündige Beobachtungszeit nach letzter Gabe.

III. Auswertung und Interpretation der Symptome:

- Intensives Beobachten (Monitoring) des Patienten während der gesamten Provokati-

on, einschließlich wiederholtem Erfassen von klinischen, respiratorischen und kardiovaskulären Parametern.

- Beendigung der Provokation bei Auftreten von objektiven klinischen Symptome bzw. problemloses Vertragen der letzten Gabe (62)
- Symptom-Beurteilungsbogen (z.B. mit dem im PRACTALL Bericht vorgeschlagenen Scoring System (63); einschließlich Registrierung von späten/verzögerten und biphasischen Reaktionen.

Die Durchführung einer DBPCFC ist aufwendig und zeitintensiv. Zudem riskieren betroffene Patienten trotz der schrittweisen Steigerung der Allergengaben teils schwere allergische Reaktionen. Aus diesem Grund gibt es verschiedenste Bestrebungen, die Wahrscheinlichkeit einer allergischen Reaktion anhand von laborklinischen/ immunologischen Parametern vorherzusagen. *Diagnostic decision points* (diagnostische Entscheidungshilfen) wurden sowohl anhand des Haut-Prick-Tests (basierend auf den Radius der Induration für die Allergene Hühnerei und Kuhmilch) (65, 66, 67) als auch mittels Nahrungsmittel-spezifischer IgE Werte kalkuliert. So bewies sich ein hoher Spiegel an spezifischem IgE für Hühnerei, Milch, Erdnuss und Baumnüsse (> 20 kUA/L) zwar als nützlich für die Vorhersage eines Provokationsergebnisses (63, 66), doch konnte ein konsistenter, spezifischer *cut-off* Wert, der ein Optimum an Spezifität und Sensitivität für die einzelnen Nahrungsmittel in den verschiedenen Populationen und Altersgruppen belegt, nicht gefunden werden.

Sowohl die Messung von spezifischem IgE im Serum als auch die Durchführung eines SPT haben Vorteile (63). Doch zeigten sich nicht unbedingt einheitliche Testergebnisse (67, 68).

Prinzipiell limitierend ist, dass beim Nachweis einer Sensibilisierung (unabhängig ob dies mittels IgE Messung im Serum oder mittels SPT geschieht) nicht unterschieden werden kann, ob eine klinische Relevanz oder aber eine Toleranz vorliegt. Andere Einflussfaktoren wie zum Beispiel das Alter der Patienten, das verwendete Allergen/Reagenz, Kreuz-Reaktivitäten zwischen Pollen und Nahrungsmitteln erschweren eine Interpretation. Weder ein Haut-Testergebnis noch ein spezifischer IgE Serum-Spiegel erlauben einen Rückschluss auf die Schwere einer allergischen Reaktion. Aus diesen Gründen wird seit einiger Zeit ein besonderes Augenmerk auf die *component-resolved diagnostics* (CRD), Komponenten-basierte Diagnostik geworfen;

eine Analyse der Einzelproteine in allergenen Nahrungsmitteln oder Pflanzen. In der CRD werden spezifische reine Allergen-Einzelproteine, die nach Aufreinigung aus natürlichen Allergenquellen stammen oder rekombinant hergestellt wurden, benutzt und mit Allergenextrakten verglichen, die aus einer Mischung von allergenen und nicht-allergenen Komponenten bestehen (69). Bislang wurden die meisten Erfahrungen in Zusammenhang mit der Erdnuss-Allergie gemacht. Ergebnisse einer Nahrungsmittelprovokation und spezifische IgE Werte wurden mit den verschiedenen Speicherproteinen der Erdnuss korreliert (Samenspeicherproteine: Ara h 1-3, -4, und -6; Lipid Transfer Protein Ara h 9; PR-10 Protein Ara h 8, Birken-Pollen Protein, Bet v 1, Homolog) (18). Es zeigte sich, dass eine Sensibilisierung zu dem Bet v 1 Homolog Ara h8 eher für eine gute Prognose spricht (70). Der Nachweis von Ara h 2 (Ara h 1–3, Samenspeicherproteine) jedoch scheint ein guter Prädiktor für eine allergische Reaktivität zu sein (71, 72). Dennoch variieren die Ergebnisse bezüglich der Vorhersagbarkeit zwischen den Studien (72, 73). Wichtig gilt festzuhalten, dass eine Bindung an Ara h 1, Ara h 2, oder Ara h 3 nicht notwendigerweise (ausschließlich) eine schwere Reaktion bedeuten muss. Auch ohne eine entsprechende Bindung wurden schwere Reaktionen gegenüber Erdnuss beobachtet (18).

Eine Studie von Vereda et al (74) dokumentierte geographische Unterschiede in Kindern mit einer Erdnussallergie: spanische Patienten waren vor allem gegenüber dem Lipid Transfer Protein Ara h 9 sensibilisiert, schwedische Patienten - mit milderem Symptomen/ orale Allergie Symptome - gegenüber den Birken-Pollen-Homolog Ara h 8, und Patienten aus den USA - mit schweren Symptomen - gegenüber den Samenspeicherproteinen Ara h 1 - 3.

In einer systematischen Übersichtsarbeit und Meta-Analyse verglichen die Autoren den Haut-Prick-Test (SPT), spezifische IgE Messungen, CRD und Atopie-Patch-Tests mit dem Referenzstandard der DBPCFC für verschiedene Nahrungsmittel (75). Die Autoren schlussfolgern, dass der Haut-Prick-Test und spezifisches IgE (und möglicherweise ebenfalls die CRD) eine gute Sensitivität haben, aber eine geringe Spezifität mit großen Abweichungen in der Wahrscheinlichkeitsabschätzung für die jeweilig analysierten NMA (75). Bislang wurde insbesondere im Rahmen der Erdnussallergie ein großes diagnostisches Potential der CRD bewiesen. Doch werden mehr Studien gefordert, um insgesamt dessen Einsatzfähigkeit in der Routinediagnostik zu etablieren (75). Damit bedarf es für die Verifikation einer NMA in den meisten Fällen

weiterhin einer DBPCFC. Laborklinische Parameter, die eine manifeste NMA bzw. deren Verlauf vorhersagen können, werden weiterhin gesucht. Nicht zuletzt, um die aufwendige und kostenintensive Diagnostik zu reduzieren und um dem Patienten unnötige allergische Reaktionen zu ersparen.

1.6 Therapie der Nahrungsmittelallergie

Die konsequente Folge einer erfolgreichen Diagnosestellung ist eine daraufhin angepasste Therapie. Auch wenn die Therapie der Nahrungsmittelallergie kein direkter Bestandteil dieser Habilitationsschrift ist, wird an dieser Stelle der Vollständigkeit halber auf therapeutische Optionen eingegangen.

Prinzipiell kann man zwischen einer Akuttherapie und einer langfristigen Behandlungsstrategie unterscheiden (50, 64). Das zentrale Element der Behandlung ist das strikte Vermeiden des entsprechenden Nahrungsmittelallergens. Dies ist häufig sehr schwierig, da viele Nahrungsmittel ubiquitär und teils auch versteckt vorkommen. Mittels spezieller Ernährungstherapien werden nicht zuletzt Strategien zum Vermeiden einer Mangelernährung (z.B. insbesondere bei einer Kuhmilchallergie im Kleinkindalter) adressiert. In Schulungsprogrammen für Betroffenen bzw. deren Betreuungspersonen wird das Verhalten im Notfall bei versehentlichem Allergenkontakt und der Umgang mit den (individuellen) Notfallmedikamenten erlernt.

Als Notfallmedikamente in der Akuttherapie kommen insbesondere Adrenalin, appliziert mittels intramuskulärem Adrenalinautoinjektor, Kortison und Antihistaminika zur Anwendung. Dabei werden Dosierung und ggf. Applikation dem Alter des betroffenen Kindes angepasst.

Als kausaler Therapieansatz zum Erreichen einer klinischen Toleranz zeigen mittlerweile zahlreiche klinische Studien zur (sublingualen, oralen oder auch epikutanen) Immuntherapie vielversprechende Ergebnisse (50). Diese werden sicherlich zukünftige Behandlungsleitlinien beeinflussen.

1.7 Zielsetzungen

Das übergeordnete Ziel dieser Arbeit war es, Vorhersageparameter im Rahmen der IgE-vermittelten Nahrungsmittelallergie bei Kindern zu identifizieren, um

1. allergentypische Reaktionen insbesondere im Rahmen der oralen Nahrungsmittelprovokation besser einschätzen zu können (**Publikation P 1 - 3**) und um
2. individuelle Biomarker im Serum zu identifizieren, die sich als Prädiktoren für die (Entstehung) einer Nahrungsmittelallergie bzw. einer Toleranz eignen und durch die sich sogar eine aufwendige orale Nahrungsmittelprovokation erübrigt (**Publikation P 4 - 6**).

2 Eigene Arbeiten

2.1 Klinische Parameter im Rahmen der Nahrungsmittelallergie-Diagnostik

Durch Aufnahme bzw. teilweise bereits durch Kontakt mit einem entsprechenden Nahrungsmittel kann bei Vorliegen einer NMA ein sehr heterogenes Muster an klinischen Reaktionen ausgelöst werden: Symptome an der Haut (z.B. Urtikaria, Rötung, Juckreiz, Verschlechterung einer AD), dem Gastrointestinaltrakt (z.B. Erbrechen, Durchfall, Magenschmerzen), dem respiratorischen System (pfeifende Atmung, Atemnot, Husten, Stridor, Rhinokonjunktivitis) oder kardiovaskulär (Somnolenz, Bewusstlosigkeit, Herz-Kreislaufversagen). Diesen objektiven Reaktionen stehen subjektive Symptome gegenüber. So kann ein Patient auch aus anderen Gründen Symptome an den unterschiedlichen Organsystemen entwickeln. Beispielhaft kann sich der Hautzustand bei einem Kind mit AD aufgrund der Nervosität in der Klinik verschlechtern – ohne aber in direktem Zusammenhang mit einem Nahrungsmittelallergen zu stehen. Ein anderer Patient hat Angst vor möglichen allergischen Reaktionen und entwickelt während der Provokationsgaben eine Tachykardie, Übelkeit oder Bauchschmerzen mit oder ohne Diarrhoe. Diese Beispiele verdeutlichen unter anderem die Wichtigkeit der Placebo-Provokationen.

Im ersten Teil dieser Habilitationsschrift lag der Fokus auf einer erweiterten Analyse der provokations-induzierten klinischen Reaktionen bei Kindern, in Kombination mit Untersuchungen zur Allergenität einzelner Nahrungsmittel im experimentellen Modell. Es erfolgte eine Herausarbeitung von Charakteristika einzelner Allergene, um diese mit klinischen Parametern zu korrelieren, und um eine gewisse Vorhersage von induzierten Immunantworten durch einzelne Allergene zu diskutieren. Darüber hinaus wurden Fehlerquellen, falsch positive Placebo Reaktionen, analysiert (**Publikation P 1 - 3**).

2.1.1 Organ-spezifische Symptome während einer oralen Nahrungsmittelprovokation bei Kindern mit manifester Nahrungsmittelallergie

P1 Ahrens B, Niggemann B, Wahn U, Beyer K. Organ specific symptoms during oral food challenge in children with food allergy. J Allergy Clin Immunol 2012;130(2):549-51. Letter.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2012.05.045>

Es ist unklar warum und in welcher Konstellation die unterschiedlichen Organsysteme (die Haut, das gastrointestinale, respiratorische oder kardiovaskuläre System) durch Nahrungsmittelallergene ausgelöste Symptome bei einem Nahrungsmittelallergischen Patienten betroffen sind.

In der hier vorgestellten Arbeit war es das Ziel, die Verteilung von klinischen Symptomen im Rahmen einer Nahrungsmittelprovokation zu analysieren und zu hinterfragen, ob diese Verteilung vom getesteten Nahrungsmittel (Allergen) abhängig bzw. vorhersagbar ist.

Unsere Analysen zeigten, dass die Entwicklung von respiratorischen und gastrointestinalen Symptomen nach einer spezifischen Allergenprovokation nicht homogen verteilt ist. Die Entwicklung von gastrointestinalen Symptomen ist wahrscheinlicher nach einer Provokation mit Hühnerei und Erdnuss, verglichen mit einer Provokation nach Kuhmilch, Soja oder Weizen. Weiterhin ist die Entwicklung von respiratorischen Symptomen wahrscheinlicher nach einer Erdnuss Provokation verglichen mit Provokationen nach Kuhmilch, Hühnerei, Soja und Weizen. Fast alle positiven Provokationen zeigten ebenfalls Haut Symptome.

Zusammenfassend zeigen unsere Daten, dass gewisse Nahrungsmittelallergene bestimmte Organ-spezifische Symptome im Rahmen einer oralen Nahrungsmittelprovokation bevorzugen. Auf den folgenden Seiten findet sich die Originalpublikation.

2.1.2 Entwicklung eines experimentellen Modells zur Evaluierung der Allergenität von Nahrungsmittelallergenen

P2 Ahrens B, Quarcoo D, Buhner S, Reese G, Vieths S, and Hamelmann E. Development of an animal model to evaluate the allergenicity of food allergens. *Int Arch Allergy Immunol* 2014;164(2):89-96.
<http://dx.doi.org/10.1159/000363109>

Unter einer klinisch „hohen Allergenität“ wird im Allgemeinen verstanden, dass ein Nahrungsmittel mit entsprechend „starker Allergenität“ häufig schwere, gar anaphylaktische Reaktionen hervorruft. Gerade die Erdnussallergie ist durch schwerere allergische Reaktionen mit zum Teil tödlichem Ausgang charakterisiert. Typischerweise sind gerade hier respiratorische Symptome involviert. Passend dazu konnten wir in der vorherigen Arbeit dokumentieren, dass spezifische Allergene, Reaktionen in bestimmten Organen „bevorzugen“. So traten respiratorische Symptome häufiger nach Erdnuss Provokationen auf, verglichen mit Kuhmilch, Hühnerei, Soja und Weizen. Das Ziel der folgenden Arbeit war es, die unterschiedliche Allergenität von verschiedenen Nahrungsmittelallergenen in einem in-vivo Modell zu evaluieren. Dazu wählten wir das typischerweise in diversen Modellen eingesetzte Ovalbumin (aufgereinigtes Major Allergen des Hühnereis) als Referenzallergen und verglichen dies mit Extrakten von RuBisco, Apfel, Soja, Gartenerbse und gerösteter Erdnuss. Brown Norway Ratten wurden entsprechen zusammen mit Bordetella pertussis und Aluminium Hydroxid intraperitoneal sensibilisiert und später oral mit diesen Allergenen provoziert. Wir analysierten das allergene Potential der eingesetzten Nahrungsmittelproteine hinsichtlich ihrer Fähigkeit sowohl verschiedene immunologische B- und T-Zell-Antworten zu induzieren als auch funktionale Parameter zu beeinflussen, wie zum Beispiel die intestinale Permeabilität. Interessanterweise konnten wir nicht nur dokumentieren, dass Allergene mit einem generell höheren allergenen Potential wie zum Beispiel Erdnuss und Ovalbumin stärkere immunologische Reaktionen hervorriefen als zum Beispiel RuBisCO und Apfel, sondern konnten auch den Einfluss der Nahrungsmittelprozessierung (z.B. rohe anstelle von gekochter Soja oder rohe versus gekochte Erbse) nachweisen. Dabei war die immunologische Immunantwort auf die gekochten Nahrungsmittel (Erbse und Soja) im Vergleich zu den rohen Allerge-

nen reduziert.

Wir konnten mit diesem Modell Schlüsselmerkmale der (humanen) Nahrungsmittelallergie widerspiegeln und von den eingesetzten Allergenen bzw. prozessierten Nahrungsmitteln ein Ranking ihrer Allergenität basierend auf deren ausgelösten lokalen bzw. systemischen immunologischen Antworten erstellen. Auf den folgenden Seiten findet sich die Originalpublikation.

2.1.3 Positive Placebo Reaktionen bei Kindern im Rahmen einer doppelt-blinden-Placebo-kontrollierten Nahrungsmittelprovokation

P3 Ahrens B; Niggemann B; Wahn U; Beyer K. Positive reactions to placebo in children undergoing double-blind, placebo-controlled food challenge. Clin Exp Allergy 2014;44(4):572-8.

<http://dx.doi.org/10.1111/cea.12284>

Während der DBPCFC bekommen die Patienten das allergene Nahrungsmittel und ein Placebo an separaten, randomisierten Tagen in steigenden Mengen. Auftretende klinische Reaktionen werden gemonitort. Interessanterweise werden manchmal Reaktionen als "positive" bewertet, obwohl die Patienten lediglich ein Placebo erhalten hatten. Das Ziel dieser Studie war es, Inzidenz und Charakteristika von positiven Placebo Reaktionen im Rahmen einer DBPCFC zu analysieren.

Wir analysierten retrospektiv die positiven Placebo-Reaktionen von 740 Placebo-Provokationen bei Nahrungsmittel-allergischen Kindern aus unserer Klinik. Die individuellen Merkmale, wie das Alter der Kinder oder die entwickelten klinischen Symptome, wurden verglichen.

2.8% (21 von 740) von allen Placebo Provokationen wurden als positiv bewertet. Kleinere Kinder (Alter \leq 1.5 Jahre) hatten mehr ($p = .047$) positive Placebo Provokationen (4.0%) als ältere (Alter $>$ 1.5 Jahre; 1.5%). Kinder mit positiven Placebo Reaktionen hatten höhere Serumspiegel an gesamt IgE (median 201 kU/l) verglichen mit Kindern mit negativ bewerteten Placebo Provokationen (Median 110 kU/l). Bei Kindern mit positiven Placebo Provokationen wurden signifikant häufiger Haut Symptome beobachtet, wobei einer Verschlechterung der AD das am häufigsten berichtete Symptome darstellte.

Placebo Reaktionen sind insgesamt bei DBPCFC nicht häufig. Eine Verschlechterung des Hautzustandes bei AD ist als die häufigste klinische Reaktion mit einer positiven Placebo Provokation assoziiert. Und kleinere Kinder (Alter \leq 1.5 Jahre) scheinen häufiger betroffen zu sein. Daher – im Gegensatz zu den aktuellen Empfehlungen – sollte eine DBPCFC Testung in Säuglingen und Kleinkindern, insbesondere mit einer Anamnese der AD, bedacht werden. Auf den folgenden Seiten findet sich die Originalpublikation.

2.2 Serum-diagnostische Parameter einer Nahrungsmittelallergie

Der individuelle Verlauf einer NMA ist von großem Interesse. So ist es zum Beispiel für die Eltern eines Hoch-Risiko-Kindes für Allergien wichtig zu wissen, wie hoch die Wahrscheinlichkeit ist, dass ihr Kind sich gegen bestimmte Nahrungsmittel sensibilisiert bzw. eine NMA entwickelt. Eng verknüpft mit dieser Fragestellung ist die Frage nach vorbeugenden, weichenstellenden (Präventions-) Möglichkeiten.

Bei bestehender Nahrungsmittelallergie ist die Hoffnung, dass das Kind diese verliert und eine Toleranz entwickelt. Beides sollte möglichst schonend erkannt und diagnostiziert werden können, auch mit dem Ziel Nahrungsmittelprovokationen einzusparen (**Publikationen P 4 - 6**).

2.2.1 Chemokine-Spiegel im Serum von Kindern mit atopischer Dermatitis in Abhängigkeit von der Schwere der Hautinflammation und des Sensibilisierungsstatus

P4 Ahrens B, Schulz G, Bellach J, Niggemann B, Beyer K. Chemokine levels in serum of children with atopic dermatitis with regard to severity and sensitization status. *Pediatr Allergy Immunol* 2015;26(7):634-40 (Editor's Choice and Cover Picture).
<http://dx.doi.org/10.1111/pai.12431>

Bei Kleinkindern mit einer AD findet sich - häufig aber nicht immer – eine spezifische Sensibilisierung gegenüber Nahrungsmittel- oder Inhalationsallergenen. Viele dieser Kinder leiden zudem an darauffolgenden allergischen Erkrankungen. In diesem Zusammenhang wurde postuliert, dass die Hautbarrierestörung im Rahmen der AD ein Eindringen von Allergenen erleichtert und zu einer allergischen Sensibilisierung mit Bildung spezifischer IgE Antikörper führt. Frühe Biomarker in diesem Sensibilisierungsprozess könnten helfen, die verschiedenen Phänotypen der AD vorherzusagen und/oder zu charakterisieren, und die Entwicklung von Präventionsstrategien unterstützen. In diesem Sinne haben wir retrospektiv im Serum von 128 Kleinkindern (im Median 8.8 Monate alt) verschiedene Chemokine (CCL8, CCL17, CCL20, CCL25) und spezifische IgE Spiegel analysiert.

Interessanterweise fanden wir in an AD leidenden Kindern mit einer spezifischen Sensibilisierung gegen Nahrungsmittel eine noch höhere (und statistisch hoch signifikante) Korrelation zwischen CCL17 (Ligand für CCR4) und deren SCORAD Werten, verglichen mit nicht sensibilisierten Kindern mit AD. Diese Beobachtung passt hervorragend zu Hypothesen, die eine AD als Risikofaktor für NMA aufgrund einer gestörten Hautbarriere diskutieren. Darüberhinaus zeigten Kinder mit einer AD und einer spezifischen Sensibilisierung gegen Nahrungsmittel signifikant höhere Spiegel an CCL25. Dabei zeigte eine Subgruppen-Analyse signifikant höhere CCL25 Werte bei Kindern mit einer Sensibilisierung gegen Hühnerei, Weizen und Erdnuss.

Diese Ergebnisse unterstreichen die Verbindung zwischen einer Haut-Inflammation, Barriere-Dysfunktion und einem (dadurch vereinfachten) Sensibilisierungsprozess. Auch wenn die Unterschiede der CCL25 Spiegel nicht ausreichen, um eine individuelle Nahrungsmittelsensibilisierung vorherzusagen, weisen sie deutlich auf einen Zusammenhang von CCL25 mit seinem Liganden CCR9, der überwiegend gastrointes-

tinal lokalisiert ist, mit dem Prozess einer Nahrungsmittel-induzierten allergischen Entzündung. Aus diesem Grund erfordert die Bedeutung der CCL25-CCR9 Achse insbesondere in Richtung Prädiktion von NMA weitere Untersuchungen. Auf den folgenden Seiten findet sich die Originalpublikation.

2.2.2 Die Bedeutung von Hühnerei-spezifischem IgE, IgG und IgG4 im Rahmen der Diagnostik einer Hühnereiallergie

P5 Ahrens B, Lopes de Oliveira LC, Schulz G, Borres MP, Niggemann B, Wahn U, Beyer K. The role of hen's egg-specific IgE, IgG and IgG4 in the diagnostic procedure of hen's egg allergy. *Allergy* 2010;65(12):1554-7.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1398-9995.2010.02429.x>

IgG Unterklassen scheinen bei einer möglichen Toleranzentwicklung von Bedeutung zu sein. So konnten in Studien zur oralen Immuntherapie unter anderem ein Anstieg des allergen-spezifischen IgG4 gefunden werden. Inwieweit die B-Zell-Antwort mit Bildung von allergen-spezifischem IgG4 bei der Entwicklung der natürlichen Toleranz involviert ist, ist Bestandteil der folgenden Forschungsarbeiten.

In unserer Arbeit verglichen wir Hühnerei-spezifische IgE, IgG und IgG4 Spiegel zwischen 150 Kindern mit aufgrund Ihrer Anamnese und/oder einer nachgewiesenen Hühnerei-Sensibilisierung vermuteter Hühnerei-Allergie mit den Ergebnissen einer oralen Hühnereiprovokation (DBPCFC). 66 Patienten waren Hühnerei-allergisch (Hühnerei sensibilisiert mit positiver DBPCFC), 48 Kinder Hühnerei-sensibilisiert aber tolerant (negative DBPCFC) und 36 Kinder waren nicht-sensibilisiert und tolerant (negative DBPCFC). Vor den Nahrungsmittelprovokationen wurde Hühnerei-spezifisches Serum IgE, IgG und IgG4 mittels des Phadia CAP Systems gemessen. Das Hühnerei-spezifische IgE war bei den Hühnerei-allergischen Kindern signifikant höher, als bei den toleranten. Jedoch gab es keinen Unterschied zwischen den Hühnerei-spezifischen IgG und IgG4 Konzentrationen zwischen den Patienten Gruppen. Der in der Literatur vorgeschlagenen *cut-off* Spiegel von 12 kU/l IgE (diagnostic decision point, diagnostische IgE Entscheidung-Spiegel) identifiziert Kinder mit darüber liegenden Serumwerten korrekt als Hühnerei-allergisch. Die Höhe des gemessenen Wertes von Hühnerei-spezifischem IgG oder IgG4 bei Kindern mit vermuteter Hühnereiallergie gibt jedoch keine weiteren diagnostischen Informationen. Daher sollten Hühnerei-spezifische IgG oder IgG4 Werte nicht in die Routinediagnostik bei Verdacht auf eine Hühnereiallergie getestet werden. Die DBPCFC bleibt der Referenzstandard. Auf den folgenden Seiten findet sich die Originalpublikation.

2.2.3 Einzel-Allergene der Kuhmilch als prognostische Marker für eine Toleranz-Entwicklung?

P6 Ahrens B, Lopes de Oliveira LC, Schulz G, Niggemann B, Wahn U, Beyer K. Individual cow's milk allergens as prognostic markers for tolerance development? Clin Exp Allergy 2012;42(11):1630-7.

<http://dx.doi.org/10.1111/cea.12001>

Auch in dieser Arbeit geht es um eine Vorhersagbarkeit der Toleranzentwicklung. Wir konzentrierten uns auf die Analyse der Einzel-Allergene (IgE und IgG) bei Kuhmilch-allergischen Kindern.

Ungefähr 2-3% der Kleinkinder sind von einer Kuhmilchallergie betroffen. Glücklicherweise verlieren die meisten mit der Zeit ihre Allergie und entwickeln eine Toleranz. Der individuelle Verlauf ist nicht vorhersagbar. Die Kuhmilch enthält vier Kasein-Proteine (α_{s1} -, α_{s2} -, β -, und κ -Kasein) sowie zwei Molke Proteine: α -Laktalbumin und β -Laktoglobulin (Major Allergene).

Um nun die Kinder früh identifizieren zu können, die ihre Kuhmilchallergie nicht, wie die meisten anderen, verlieren, bedarf es eines prognostischen Verlaufsmarkers, den es so jedoch bislang nicht gibt.

Unsere Daten zeigen, dass bereits zum Diagnosezeitpunkt signifikante Unterschiede hinsichtlich der Höhe der spezifischen IgE Werte gegenüber Kuhmilch-Einzel-Allergene in unserer Studienpopulation mit kuhmilchallergischen Kindern vorliegen. Die Kinder wurden eher tolerant, wenn ihre spezifischen IgE-Antikörper Spiegel gegen die beiden Molke Proteine der Kuhmilch (α -Laktalbumin-, β -Laktoglobulin-spezifisches IgE (Bos d5.0102)), aber auch gegen zwei der vier Casein Fraktionen (α_{s1} - und κ -Casein-spezifisches IgE) niedrig waren. Andererseits aber hat sich das Kuhmilch-spezifische IgE ebenfalls als guter prognostischer Marker einer persistierenden Kuhmilchallergie bewährt. Aus unserer Sicht ist daher der ergänzende Wert der Komponenten-basierten Diagnostik aufgrund der erhöhten Laborkosten nicht in der Routinediagnostik gerechtfertigt. Weiterhin konnten wir keinen Benefit durch die ergänzende Analyse von Kuhmilch-spezifischen IgG oder IgG4 hinsichtlich einer möglichen Toleranzentwicklung nachweisen. Damit können wir schlussfolgern, dass unsere Ergebnisse in der Diagnose und dem Management der Kuhmilchallergie hilfreich sind. Doch obwohl es mittlerweile viele Instrumente gibt, um die Wahrschein-

lichkeit einer Toleranzentwicklung vorherzusagen, ist eine orale Nahrungsmittelprovokation für die definitive Diagnosebestätigung weiterhin notwendig. Auf den folgenden Seiten findet sich die Originalpublikation.

3 Diskussion

3.1 Herausforderungen der klinischen Diagnostik in Zusammenhang mit Alter, Ko-Erkrankungen und Symptommuster der Betroffenen sowie der Charakteristika einzelner Nahrungsmittelallergene

Nahrungsmittelallergien stellen erst seit Anfang bis Mitte der 90er ein wachsendes Gesundheitsproblem insbesondere in den industrialisierten Ländern dar (1). Immer mehr Kinder (und auch Erwachsene) sind von NMA betroffen. Die Zunahme allergischer Erkrankungen generell wird in Zusammenhang gebracht mit einer Kombination aus genetischen Aspekten und den „westlichen Lebensstil“ prägenden Umweltfaktoren („Hygiene Hypothese“).

Neuere Daten suggerieren nun auch einen Anstieg der AD in einkommensschwachen Ländern wie Afrika und Ostasien (15). Wenn sich die Assoziation zwischen einer frühkindlichen AD und dem erhöhten Risiko der Entwicklung einer NMA bestätigt (möglicherweise durch eine vereinfachte Sensibilisierung über die gestörte Hautbarriere), ist ebenfalls ein Anstieg der NMA Prävalenz in diesen Ländern zu erwarten (27).

Ein weiterer Grund für die Zunahme bzw. das Neuauftreten von NMA auch in Deutschland scheint der Kontakt mit dem Allergen per se und damit die sich über die Zeit geänderte Zusammenstellung (inklusive der Verarbeitung/Prozessierung) der Nahrung oder auch Verbreitung einzelner Nahrungsmittel zu sein (27). Davon betroffen ist sowohl das frühkindliche Ernährungsmuster aber auch die Ernährung von älteren Kindern und Erwachsenen. Unter dieser Annahme stellen Veränderungen auf dem (traditionellen) Speiseplan auch zukünftig eine Herausforderung dar. Darüber hinaus ist die Einfuhr von neuen potentiellen Nahrungsmittelallergenen, „Novel foods“ zu nennen, beispielhaft der zunehmende Verzehr von Insekten als neue Proteinquelle (76). Ein vertieftes Wissen zu den bisherigen bekannten Nahrungsmittelallergenen und der durch sie ausgelösten Immunreaktionen, aber auch Möglichkeiten und Modelle, die Allergenität von nicht zuletzt neuen Nahrungsmitteln zu erfassen und vorherzusagen, ist somit von großer Bedeutung. Dies gilt umso mehr, da es bislang keine kausale (Routine)Therapie gegen eine NMA gibt. Die Weiterentwicklung von sicheren und effektiven Therapieoptionen, und insbesondere von Präventionsstrategien ist im Interesse der Betroffenen essentiell.

Neben der Einschätzung/Prädiktion bestimmter Allergene (**P1 - 3**) ist für den einzelnen Patienten die Prädiktion seines individuellen Verlaufs, seiner *Atopikerkarriere*, wichtig (**P4 - 6**). Eng mit dem Identifizieren von geeigneten Prädiktoren (**P4 - 6**) können folglich Präventionsstrategien zur Primär-, Sekundär- oder Tertiär-Prävention entwickelt werden.

Entsprechend befasst sich der erste Teil dieser Habilitationsschrift mit klinischen Parametern einzelner Allergene in Zusammenhang mit der Nahrungsmittelprovokation bei Kindern (**P1, 3**) und mit einem Modell zur Evaluierung der Allergenität von Nahrungsmittelallergenen mittels klinischer und immunologischer Parameter (**P2**). Im zweiten Teil der Schrift geht es um die Identifikation von immunregulatorischen Prädiktoren im Serum der Kinder, um bestehende Sensibilisierungen, Allergien bzw. Toleranzen gegenüber Nahrungsmittel auch ohne orale Nahrungsmittelprovokationen erfassen zu können (**P4 - 6**).

Abschließend wird eine Verknüpfung dieser Aspekte, der Eigenschaften einzelner Allergene in Kombination mit der Identifikation gewisser Prädiktoren vor dem Hintergrund neuer Präventionsstrategien sowohl aus der Literatur als auch anhand eigener laufender Forschungsprojekte diskutiert.

3.2 Prädiktor Allergen: das einzelne Allergen und die dadurch ausgelösten Reaktionen (human und im in vivo Modell)

Die DBPCFC gilt als Gold-Standard in der Diagnostik der NMA. Insgesamt dokumentieren die verschiedensten Beobachtungen immer wieder die Schwierigkeiten im Erkennen einer Nahrungsmittel-allergischen Reaktion insbesondere bei kleinen Kindern (51, 52, 54). Mit unserer Arbeit zur Analyse von falsch positiv gewerteten Provokationen (**P3**) konnten wir die Wichtigkeit der Durchführung einer solchen Provokation gerade bei kleineren Kindern mit einer AD herausstellen. Denn falsch positive bewertete Provokationen waren am häufigsten mit einer Verschlechterung des Hautzustandes assoziiert. Darüberhinaus zeigte unsere Analyse, dass diese falsch positiven Bewertungen meistens bei Kindern ≤ 1.5 Jahren auftraten. Daher – im Gegensatz zu den aktuellen Empfehlungen – sollte eine DBPCFC Testung in Säuglingen und Kleinkindern, insbesondere mit einer Anamnese der AD, bedacht werden.

Ein bestimmtes Verteilungsmuster in dem Sinne, dass spezifische Allergene Reaktionen in bestimmten Organen „bevorzugen“, war bislang nicht bekannt. Übereinstimmend wird in der aktuellen Literatur jedoch beschrieben, dass vor allem Kinder, die ebenfalls an einem Asthma bronchiale leiden, ein erhöhtes Risiko für eine schwere allergische Reaktion /Anaphylaxie oft unter Beteiligung der Atemwege aufweisen (55). In unserer Arbeit (**P1**) beobachteten wir, dass respiratorische Symptome zu 87% nach einer Erdnuss Provokation bei Kindern und nur zu deutlich geringeren Raten nach anderen Allergenen auftraten (3.6% nach Soja, 13.3% nach Haselnuss, 15.3% nach Weizen, 17.3% nach Kuhmilch, 19.5% nach Hühnerei). Diese Beobachtung passt zu der Feststellung, dass Erdnuss weltweit die Hauptursache für Nahrungsmittel-allergisch bedingte Todesfälle darstellt (56, 77). Darüber hinaus, konnten wir das starke allergene Potential der Erdnuss auch in unserem *in vivo* Modell bestätigen (**P2**). So erstellten wir in dieser Arbeit *ein Ranking der Allergenität* von den eingesetzten Allergenen (u.a. Erdnuss, Soja, Erbse, Ovalbumin/Hühnerei) bzw. prozessierten Nahrungsmitteln (gekocht versus roh) basierend auf deren ausgelösten lokalen bzw. systemischen immunologischen Antworten, welches *Erdnuss* anführte (**P2**).

Gastrointestinale Symptome dominierten bei allergischen Patienten nach Provokationen gegen Hühnerei (44.4%) und Erdnuss (45.6%), verglichen mit Reaktionen auf Kuhmilch, Soja oder Weizen (**P1**). Die Kombination von Reaktionen an Haut, gastrointestinalem und respiratorischem System wurde vor allem in 7.2% der Kinder nach einer Hühnerei-Provokation und in 13% nach einer Erdnuss-Provokation beobachtet. Wohingegen diese Symptomkonstellation nur in 2% (7 von 330 Kindern) nach einer Kuhmilch-Provokation auftrat (**P1**). Haut Symptome traten fast immer auf (89.9%).

Die Gründe für die Tendenz spezieller Nahrungsmittelallergene, bei den Patienten gewisse Reaktionen hervorzurufen, wie zum Beispiel die Dominanz der gastrointestinalen Symptome nach Hühnerei und Erdnuss, bleiben unklar.

In diesem Zusammenhang kann man spekulieren, dass es Allergen-spezifische Eigenschaften der Nahrungsmittel sind, die gezielt eine Auslösung von bestimmten IgE-vermittelten klinischen Reaktionen bewirken, die sich aber auch zum Beispiel an den unterschiedlichen Organen manifestiert. Vergleichbar mit der unterschiedlichen Potenz bzw. Allergenität (**P2**) von Nahrungsmitteln, allergische Symptome überhaupt bzw. verschiedene Schweregrade an Reaktionen auslösen zu können (wie eben schwerere allergische Symptome bei der Erdnussallergie). Auch die veränderte Allergenität prozessierter Nahrungsmittel – und damit die Veränderung der Protein-

struktur, untermauern diese Annahme (zum Beispiel die abgeschwächten Reaktionen von gekochter versus roher Soja oder Erbse, gezeigt in unserem *in vivo* Model, **P2**).

Darüber hinaus könnten immunologische Unterschiede, zum Beispiel die Expression von intestinalen "homing" Markern eine Rolle spielen (**P4**). Verschiedene Chemokine und Chemokin-Rezeptoren wurden mit der allergischen Inflammation in unterschiedlichen Organen korreliert: beispielhaft wird CCR6 eine pro-allergische Rolle im Gastrointestinaltrakt zugeschrieben (78) und CCR9 scheint für die Induktion der oralen Toleranz wichtig zu sein (79); einen Einfluss von CXCL13, CCL21 und CCL19 ist in Zusammenhang mit der allergischen Atemwegsinfammation beschrieben (80, 81), und erhöhte Serum Spiegel von TARC/CCL17 (Ligand von CCR4) korrelieren mit der Schwere der Entzündung der AD (82). Darüber hinaus wurde gezeigt, dass bestimmte Allergene bzw. Allergenextrakte in der Lage sind, nicht nur allergische Entzündungsreaktionen zu induzieren, sondern dabei ebenfalls bestimmte Chemokine *in vivo* und *in vitro* freizusetzen (81). Um diese interessanten Interaktionen im Netzwerk von zirkulierenden und Organ-residenten Zellen und ihre Bedeutung für die Klinik weiter zu hinter leuchten, haben wir als erstes hinterfragt, ob bestimmte Chemokine mit einer Sensibilisierung gegen Nahrungsmittel bei Risiko-Kindern assoziiert sind (**P4**).

3.3 Prädiktoren im Serum – Immunologische Biomarker für eine Nahrungsmittelallergie oder Toleranz?

Unsere Ergebnisse demonstrierten, dass die Korrelation zwischen CCL17 und dem SCORAD (ein Index für die aktuelle Schwere der Hautentzündung bei der AD) bei an AD leidenden Kindern mit spezifischen Sensibilisierungen gegen Nahrungsmittel- und Inhalationsallergene noch stärker vorhanden ist als bei AD Kindern ohne Sensibilisierungen (**P4**). Damit unterstreichen diese Daten die Verbindung zwischen Hautinflammation, Barrieredysfunktion und dem Sensibilisierungsprozess. Einen möglichen Einfluss von CCL17 auf die Hautbarriere (und damit Sensibilisierung) wurde von Nakahigashi et al. vorgeschlagen (83). In dieser Arbeit wurde beschrieben, dass CCL17 anscheinend in der Lage ist Aquaporin-3 in menschlichen Keratinozyten zu

induzieren (ein Wasser/Glycerol-transportierendes Protein welches von den Keratinozyten in der Epidermis exprimiert wird), welches wiederum die Keratinozyten Proliferation erhöht, was dann zu einer Hyperplasie und Barrieredysfunktion in der AD führen könne (26).

Weiterhin detektierten wir in Nahrungsmittel-sensibilisierten Kinder mit einer AD signifikant höhere Spiegel an CCL25. CCL25, Ligand von CCR9, welcher vor allem im Gastrointestinal Trakt lokalisiert ist, scheint in der T-Zell Chemotaxis zum Darm eingebunden zu sein. Die Expression von CCR9 (und anderen Rezeptoren) wurde als notwendig für die Induktion der oralen Toleranz bei Mäusen beschrieben. Entsprechend interessant ist es im humanen System zu überprüfen, ob Unterschiede zwischen Nahrungsmittel-allergischen bzw. toleranten Kindern bestehen. Bislang können wir nicht sagen, ob CCL25 nur bei einer Sensibilisierung oder auch bei einer Allergie gegen Nahrungsmittel von Bedeutung ist (**P4**).

Auch wenn diese Daten nicht prädiktiv eine Sensibilisierung gegen Nahrungsmittel vorhersagen, betonen sie stark den Einfluss von CCL25 inklusive des korrespondierenden Rezeptor CCR9 im Zusammenhang mit einer Nahrungsmittel-induzierten Entzündung (**P4**).

Eine andere Möglichkeit könnte sein, dass CCL25 mit einer frühen (intestinalen) Barriere Dysfunktion in Zusammenhang mit einem (ersten) Allergenkontakt und / oder der spezifischen Sensibilisierung verbunden ist. Dies könnte dann darauf deuten, dass erhöhte CCL25-Spiegel als früher Prädiktor (Primäre Prädiktion) für eine sich entwickelnde Nahrungsmittelallergie fungieren könnten. Es wäre daher interessant, CCL25 Werte vor und nach einer elektiven Nahrungsmittelprovokation bei Kindern zu vergleichen. Darüber hinaus ist denkbar, dass CCL25 im Rahmen eines aktiven Allergenkontaktes hochreguliert wird und einer anstehenden (schweren) klinischen Reaktion vorhergeht. Auch diese prädiktive Rolle wäre von großem Interesse und verlangt einer Überprüfung, nicht zuletzt um Patienten vor schweren Reaktionen zu bewahren. Insgesamt wollen wir die Rolle der CCL25-CCR9 Achse und deren prädiktives Potential in zukünftigen Studien weiter analysieren (**P4**).

Auch in den **Publikationen 5 und 6** geht es darum, Nahrungsmittel-allergische Kinder vor eventuell umgänglichen Provokationen mittels geeigneter, im Serum messbarer Prädiktionsmarker zu bewahren. Viele, aber nicht alle Kinder verlieren ihre Kuh-

milch- bzw. Hühnereiallergie und entwickeln eine Toleranz. Bei der Hühnereiallergie konnten wir zwar zeigen, dass die vorgeschlagenen *cut-off* Spiegel von 12 kU/l Hühnerei-spezifischem Serum IgE Kinder mit darüber liegenden Serumwerten korrekt als Hühnerei-allergisch identifiziert und daher einer gute diagnostische Hilfestellung darstellen (**P5**), doch ergänzend gemessenes Hühnerei-spezifisches IgG oder IgG4 bei Kindern mit vermuteter Hühnereiallergie, gibt keine weiteren diagnostischen Informationen und hilft nicht bei der Unterscheidung eines Hühnerei-allergischen oder toleranten Kindes.

Bei Kindern mit einer Kuhmilchallergie (**P6**) konnten wir sehen, dass die Kinder mit einer Kuhmilchallergie eher tolerant wurden, wenn ihre spezifischen IgE-Antikörper Spiegel gegen die beiden Molke Proteine der Kuhmilch (α -Laktalbumin-, β -Laktoglobulin-spezifisches IgE (Bos d5.0102)), aber auch gegen zwei der vier Casein Fraktionen (α_{s1} - und κ -Casein-spezifisches IgE) niedrig waren. Aber auch niedrige Spiegel an Kuhmilch-spezifischem IgE waren ein guter prognostischer Marker. Einen Benefit durch die ergänzende Analyse von Kuhmilch-spezifischen IgG oder IgG4 hinsichtlich einer möglichen Toleranzentwicklung konnten wir nicht nachweisen. Wir konnten schlussfolgern, dass unsere Ergebnisse in der Diagnose und dem Management der Kuhmilchallergie hilfreich sind, doch um die Wahrscheinlichkeit einer Toleranzentwicklung vorherzusagen, ist eine orale Nahrungsmittelprovokation für die definitive Diagnosebestätigung weiterhin notwendig.

Die Ergebnisse dieser Studien zur Analyse von IgG gegen Hühnerei und Kuhmilch spiegeln sich nicht zuletzt im *PRACTALL consensus report* der *American Academy of Allergy, Asthma & Immunology* und der *European Academy of Allergy and Clinical Immunology* (63) sowie der S2k-Leitlinie zum Management IgE-vermittelter Nahrungsmittelallergien (50) wieder. Hier wird schlussfolgernd formuliert, dass Studien-erkenntnisse gezeigt hätten, dass das Messen von Nahrungsmittel-spezifischem IgG und IgG4 nicht hilfreich ist, um eine klinisch relevante NMA vorherzusagen (63, 50). Ergänzend haben sich auch andere Tests, wie zum Beispiel der Basophilen Aktivierungstest oder die Diagnose mittels T Zell-Proliferationen bislang nicht als Routine-messungen in der Diagnosefindung bestätigt (63). Auch diese Schlussfolgerungen finden sich in den S2k-Leitlinie zum Management IgE-vermittelter Nahrungsmittelallergien (50).

Hinsichtlich der Komponenten-basierten Diagnostik (CRD) bei einer Kuhmilchallergie, gibt es in der Literatur teilweise widersprüchliche Aussagen, ob die Messung von Einzelallergenen wie Casein (Bos d8), β -Laktalbumin (Bos d 4), β -Laktoglobulin (Bos d5), Bovines Serum Albumin (Bos d 6), Immunoglobulin (Bos d7), oder Laktoferrin der Messung des spezifischen IgE gegen das gesamte Kuhmilchallergen Vorteile bringt. So gibt es eine Studie, die in ihren Daten zu der Erkenntnis kommt, dass Bos d 8 eine Kuhmilchallergie besser vorhersagen könne, (84) wohingegen eine andere Studie keinen Benefit durch die Analyse der Einzelallergenen Bos d 4, 5, 6, und 8 (gemessen in einem handelsfähigen Mikroarray Assay) festgestellt hat (85).

Auch bei der Hühnereiallergie gibt es uneinheitliche Daten im Rahmen der Einzelallergendiagnostik. Einige Autoren halten die IgE Bindung an Ovomucoïd (einem *Minor Allergen* des Hühnereis) dem Standardtest für überlegen (86, 87), andere jedoch konnten eine Überlegenheit der CRD nicht bestätigen (85, 88).

3.4 Charakteristika einzelner Allergene vor dem Hintergrund neuer Präventionsstrategien sowohl aus der Literatur, als auch anhand eigener laufender Forschungsprojekte

3.4.1 Klinische Reaktionen auf prozessierte (erhitzte) Nahrungsmittel im Rahmen der Toleranzentwicklung

Die Einschätzung/Prädiktion bestimmter Allergene (**P1 - 2**) sowie das Identifizieren von geeigneten Prädiktoren (**P4 - 6**) sind Teil des Wissens, welches zur Entwicklung von Präventionsstrategien zur Primär-, Sekundär- oder Tertiär-Prävention notwendig ist.

In unserem *in vivo* Modell konnten wir beobachten (**P2**) dass gewisse Nahrungsmittel sich durch zum Beispiel Erhitzen hinsichtlich ihrer allergenen Potenz verändern (89). Interessanterweise scheinen die meisten (75%) der Kinder mit einer Kuhmilchallergie extensiv erhitzte (verbackene) Milchprodukte zu vertragen (90). Da diese Kinder auch schneller aus der Kuhmilchallergie „herauswachsen“, werden mindestens zwei unterschiedliche Phänotypen bei der IgE-vermittelten Kuhmilchallergie diskutiert: ein Typ mit einer „transienten“ Nahrungsmittelallergie, welcher verbackene Nahrungsmittel

tel verträgt, und ein „persistierender“ Typ, der auf rohe und auf verbackene Milch reagiert (**Abbildung 2**) (90). Mit großem Interesse wurde beobachtet, dass wenn Kinder, die erhitzten Milchprodukte im Rahmen ihrer ersten Nahrungsmittelprovokation vertragen im Verlauf regelmäßig verbackene Milch konsumieren, scheinen diese Kinder auch unerhitzte, rohe Milch schneller zu vertragen und schneller eine Toleranz zu entwickeln (91).

Ähnliche Beobachtungen wurden auch bei der Hühnereiallergie gemacht. In einer großen prospektiven, populations-basierten Kohorten-Studie, verloren 66 (47%) der Kinder im 2. Lebensjahr ihre im ersten Lebensjahr provokations-diagnostizierte Hühnereiallergie (95% CI, 37% bis 56%) (29). 80% (95% CI, 73% bis 86%) der Kinder, die während der ersten Provokation auf rohes Ei reagierten, vertrugen jedoch verbackenes Ei. Ähnlich wie bei der Kuhmilch, scheint eine Toleranz von verbackenem Ei mit 12 Monaten, das Verlieren der Hühnereiallergie vorherzusagen. Ein regelmäßiger Genuss von verbackenem Ei in der Gruppe der Kinder, die dies während der ersten Provokation vertrugen, führte zudem zu einer noch erhöhten Toleranzrate (29).

3.4.2 Ausblick: Präventionsstrategien durch frühzeitigen und regelmäßigen Allergengenuss?

Folgend dem übergeordneten Ziel dieser Habilitationsarbeit, Vorhersageparameter (Prädiktoren) im Rahmen der IgE-vermittelten Nahrungsmittelallergie bei Kindern zu identifizieren, für die Einschätzung der klinischen Reaktionen (**P 1 - 2**) und zur Identifizierung Serum-diagnostischer Prädiktoren/Biomarker (**P 4 - 6**), sollen abschließend noch aktuelle Studien zur Prävention der NMA bei Kindern diskutiert werden.

Gemäß der Hypothese, dass ein früher und regelmäßiger Allergengenuss in Hoch-Risiko-Kindern eher eine Toleranz-Entwicklung fördert, wurde die LEAP Studie (Learning Early about Peanut Allergy) ins Leben gerufen (92, 93).

In dieser prospektiven, randomisierten Interventionsstudie wurden 640 Hoch-Risiko-Kinder im Altern von 4 bis 10 Monaten eingeschlossen und bis zum 5. Lebensjahr in eine Erdnuss-konsumierende und eine Erdnuss-vermeidende Gruppe aufgeteilt. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass ein frühzeitiger und regelmäßiger Erdnussverzehr dem Entstehen einer Erdnussallergie vorbeugt. Darüber hinaus sprechen die Daten dafür, dass der Erdnussver-

zehr nicht nur bei Hoch-Risiko-Kindern schützend wirkt, die bei Studieneinschluss keine Erdnussensibilisierung aufwiesen (Primäre Prävention) sondern auch in Kindern, die bereits eine leichte Sensibilisierung aufwiesen (Sekundäre Prävention) (94). In einem Follow-up (LEAP-On) konnte darüber hinaus gezeigt werden, dass die Reduktion der Prävalenz der Erdnussallergie, die mit dem frühen und regelmäßigen Erdnusskonsum bis zum Alter von 5 Jahren gezeigt wurde, auch bis zum Alter der Kinder von 6 Jahren anhielt, obwohl 12 Monate lang (zwischen dem 5. und 6. Lebensjahr) keine Erdnuss gegessen wurde (95). Trotz der 12-monatigen Erdnuss-Abstinenz war die Erdnussallergie-Prävalenz in der Erdnusskonsumierende Gruppe 74% niedriger als die in der seit dem ersten Lebensjahr Erdnussvermeidenden Gruppe. Natürlich sind diese Ergebnisse verlockend, doch gibt es weiterhin viele offenen Fragen: beispielhaft in Bezug auf die Menge der Erdnusseinnahme oder auch der Übertragung der Ergebnisse aus dieser monozentrischen Studie in andere Studienzentren und andere Länder. Ebenfalls muss hinterfragt werden, ob die beobachteten Ergebnisse bei der Erdnuss, auch auf andere Nahrungsmittel zu transferieren ist (94). Kritisch aufhorchen lassen die Daten der ebenfalls kürzlich publizierte STAR Studie aus Australien (96). Diese Studie musste aufgrund vermehrter, teils schwerer Reaktionen im Rahmen der ersten Hühnereigabe(n) unterbrochen werden. Das Design dieser randomisierten, Placebo-kontrollierten Interventionsstudie sah vor, pasteurisiertes Hühnereipulver bzw. ein Placebo-Reispulver Säuglingen mit Ekzem regelmäßig ab dem 4. Monate im Sinne der primären Prävention einer Hühnereiallergie zu verabreichen (96). Ein Design, durchaus vergleichbar also dem der LEAP Studie mit jedoch einem anderen Allergen.

Ganz aktuell wurden die Daten der EAT-Studie (Enquiring about Tolerance) publiziert (97). In dieser randomisierten Studie wurde in über 1300 Kindern aus der Allgemeinbevölkerung untersucht, ob bei bis dahin ausschließlich gestillten Kindern die frühe Einfuhr von 6 hoch-allergenen Nahrungsmitteln (Einfuhr ab 3 Lebensmonaten von Kuhmilch, Erdnuss, Hühnerei, Sesam, Fisch und Weizen) eine entsprechende Nahrungsmittelallergie vorbeugen kann (Primärprävention) im Vergleich zu Kindern, deren Nahrungsaufbau nach einer ausschließlich bis zum 6. Lebensmonat durchgeführten Stillperiode erfolgte. Die Ergebnisse mit 3 Jahren waren ernüchternd, da sich kein signifikanter Unterschied im Primary Outcome in der Intention-To-Treat-Analyse zwischen den Gruppen feststellen ließ: 5.6% der Kinder mit früher Beikosteneinfuhr wiesen eine Nahrungsmittelallergie auf und 7.1% der Kinder aus der „Standard“-Beikostaufbau Gruppe. Auffälligerweise hielten sich weniger als die Hälfte der Teilnehmer aus der Interventionsgruppe (42.8%) an das Studienprotokoll (Per-Protokoll). Bei diesen Teilnehmern zeigte sich in der Per-Protokoll-Analyse, dass die frühe Interven-

tion dem herkömmlichen Nahrungsaufbau hinsichtlich des Primary Outcomes überlegen war. Ohne Frage scheint es eine große Herausforderung zu sein, die Säuglinge im Alter von 3 - 4 Monaten bereits mit 6 verschiedenen Nahrungsmitteln zu füttern. Eine „reverse Kausalität“ könnte ebenfalls den Unterschied zwischen der ITT und der PP-Analyse begründen – bei jeglicher Abwehr gegenüber einer entsprechenden Beikost wird folglich diese nicht mehr verabreicht. Damit bleiben viele Fragen zum Zeitpunkt und Menge eines entsprechenden Beikostangebots offen und das Konzept, dass jedes Nahrungsmittelallergen sein eigenes „window of opportunity“ für eine Toleranzentwicklung haben könnte rückt wieder in den Vordergrund (47). Um hier weiteres Licht ins Dunkle bringen zu können, werden die Ergebnisse von anderen laufenden Interventionsstudien helfen (98). Andere aktuell laufende Studien (RCTs Randomized Controlled Trial), die sich mit einer Toleranzentwicklung durch einen frühen und regelmäßigen Nahrungsmittelallergengenuss beschäftigen, sind zum Beispiel die BEAT “Beating Egg Allergy” Study aus Australien mit n = 600 geplanten Kindern; oder auch die PEAP “Peanut Allergy Prevention” Studie, die n= 460 Kinder einplant (98). Diese zuletzt genannte Studie (PEAP) konnte ich mit Unterstützung meines Rahel-Hirsch-Stipendiums 2011 bzw. meines Lydia-Rabinowitsch-Stipendium 2013 starten und führe sie weiterhin zusammen mit Prof. Kirsten Beyer an der Charité durch (DRKS-ID: DRKS00005487). Aufgrund einer bei dieser Art von Interventionsstudien schleppenden Rekrutierung ist die Studie leider noch nicht abgeschlossen. Wir konnten jedoch unterstützend weitere Studienzentren generieren und hoffen mit diesem multizentrischen Studienausbau bald die erforderliche Teilnehmeranzahl eingeschlossen zu haben. Dahingegen ist die HEAP (Hen’s Egg Allergy Prevention) Studie aus unserer Arbeitsgruppe von Prof. Kirsten Beyer abgeschlossen und die Ergebnisse wurden gerade zur Publikation angenommen (99). Das Design der HEAP Studie ist vergleichbar mit dem der STAR Studie, doch wurden nicht nur Risikokinder eingeschlossen, sondern Kinder aus der Allgemeinbevölkerung und der Beginn der Beikost lag zwischen dem 4 - 6 Monat. Insgesamt weisen auch diese Ergebnisse auf eine erhöhte Vorsicht bei der Beikosteinfuhr. Der regelmäßige Genuss von rohem (pasteurisierten) Hühnerei ab dem Altern von 4 - 6 Monaten war weder sicher noch effektiv um eine Hühnereiallergie vorzubeugen.

Zusammenfassend sind die Daten zur primären Prävention einer NMA bislang widersprüchliche. Dies mag unter anderem durch die verschiedenen Allergene mit jeweils

einem eigenen „window of opportunity“ und weiteren, zugrundeliegenden Umweltfaktoren zu begründen sein (**Abbildung 3**). Ebenso ist vorstellbar, dass eine „erfolgreiche Toleranzinduktion“ im Rahmen eines primär präventiven Ansatzes, eigentlich bereits eine Sekundärprävention bzw. eine orale Immuntherapie darstellen könnte – gleichzeitig verwoben mit den bekannten Risiken einer Oralen Immuntherapie (100). Um diese Frage weiter zu beantworten, braucht es präzisere Biomarker, die deutlich früher eine Nahrungsmittelsensibilisierung und Allergie anzeigen. Die von uns geplanten Studien zur prädiktiven Einsatzbarkeit der Analyse von gezielten Chemokinen können hier weiterhelfen.

Die Beschaffenheit bzw. der Prozessierungsstatus des jeweiligen Allergens scheint ebenfalls einen beträchtlichen immunregulatorischen Einfluss auf die Effektivität einer Toleranzinduktion zu haben. Interventionsstudien beispielhaft mit frühzeitiger Gabe von verbackenem Hühnerei in die Beikost der Säuglinge könnten hierauf mehr Klarheit bringen.

Allgemein erschwert die Überlappung von zum Beispiel multiplen NMAs, sowohl Analysen als auch Interventionsansätze in Ausführung und Interpretation der Präventionsstudien. Dies nicht zuletzt im Rahmen der Identifizierung von Biomarkern, die meist eher die Deviation der allergischen Immunantwort widerspiegeln aber selten gezielt auf ein individuelles Nahrungsmittel gerichtet sind.

4 Zusammenfassung

IgE-vermittelte Nahrungsmittelallergien nehmen weltweit insbesondere bei Kindern zu. Grundlegend für die Betreuung der chronisch kranken Patienten ist das sichere und eindeutige Diagnostizieren der Erkrankung bzw. auch das Erkennen einer möglichen Toleranzentwicklung. Dafür sind Kenntnisse über die Charakteristika der relevanten Allergene wichtig. Für den individuellen Patienten ist die Prädiktion seiner allergischen Reaktionen, seines individuellen Verlaufs und seiner *Atopikerkarriere* essentiell. In dieser Habilitationsschrift geht es darum, Vorhersageparameter im Rahmen der IgE-vermittelten Nahrungsmittelallergie bei Kindern zu identifizieren, um klinische Reaktionen im Rahmen der Doppel-blind Placebo-kontrollierten Nahrungsmittelprovokation (DBPCFC), dem Goldstandard in der Diagnostik, besser einschätzen zu können und um individuelle Biomarker im Serum der Kinder zu identifizieren, die sich als Prädiktoren für die (Entstehung einer) Nahrungsmittelallergie bzw. einer Toleranz eignen und sich dadurch sogar die aufwendige Provokation erübrigt.

Wir konnten herausarbeiten, dass auch bei Säuglingen und Kleinkindern, insbesondere mit einer Anamnese der atopischen Dermatitis, eine Verblindung der oralen Nahrungsmittelprovokation und eine Placebo Kontrolle hilfreich ist, da falsch positive Placebo-Reaktionen insbesondere bei dieser Patientengruppe gehäuft vorkommen.

In Anerkennung spezieller Charakteristika von gewissen Allergenen auf die Schwere der Reaktionen konnten wir ein bestimmtes Verteilungsmuster von klinischen Reaktionen nach oralen Nahrungsmittelprovokationen feststellen. Die Entwicklung von gastrointestinalen Symptomen geschah häufiger nach Provokationen mit Hühnerei verglichen mit Kuhmilch, Soja und Weizen, wohingegen die schwerwiegenderen, respiratorischen Symptome häufiger nach Provokationen mit Erdnuss auftraten.

Ebenfalls konnten wir die starke Allergenität der Erdnuss in einem experimentellen Modell bestätigen. In diesem *in vivo* Modell gelang es uns darüber hinaus den Einfluss einer Nahrungsmittelprozessierung (gekochtes versus rohes Nahrungsmittel) auf immunologische Parameter widerzuspiegeln.

Neben einer Einschätzung einer Reaktion auf ein bestimmtes Allergen aufgrund der jeweiligen Eigenschaften des Allergens per se, sind Biomarker zum Beispiel im Serum der Patienten wünschenswert, die prädiktive Funktionen erfüllen und nicht zuletzt helfen können orale Nahrungsmittelprovokationen zu ersetzen. Die Messung

von Hühnerei- und Kuhmilch-spezifischem IgG oder IgG4 und auch die Einzelkomponentenanalyse war in unseren Studien jedoch weder hinsichtlich Diagnostik noch Prognose einer Hühnerei- bzw. einer Kuhmilchallergie weiterführend.

Dahingegen konnten wir eine klare Assoziation von CCL25, dessen korrespondierender Rezeptor CCR9 primär gastrointestinal lokalisiert ist, bei einer Nahrungsmittel-Sensibilisierung nachweisen. Obwohl wir zum jetzigen Zeitpunkt noch nichts über das prädiktive Potential erhöhter CCL25-Spiegel im Rahmen einer sich entwickelnden Nahrungsmittelallergie (Primäre Prädiktion) oder einer anstehenden (schweren) klinischen Reaktion sagen können, sind die Ergebnisse zu einer Relevanz der CCL25-CCR9 Achse im Rahmen der Nahrungsmittel-induzierten Entzündungsprozesse vielversprechend, bedürfen aber noch weiterer Untersuchungen.

Die Verknüpfung der Eigenschaften einzelner Allergene in Kombination mit der Identifikation gewisser Prädiktoren sind die Basis für die Generierung neuer Präventionsstrategien und spiegeln sich sowohl in der aktuellen Literatur als auch in den eigenen laufenden Forschungsprojekten wieder.

Wir hoffen, dass wir mit unseren Daten einen Beitrag leisten, um das Wissen der durch Nahrungsmittelallergene ausgelösten Immunreaktionen besser zu verstehen und den betroffenen Patienten im Rahmen von Diagnostik, Prädiktion und langfristig auch der Prävention von Nahrungsmittelallergien zu helfen.

5 Literatur

1. Platts-Mills TAE. The Allergy Epidemics 1870-2010. *J Allergy Clin Immunol* 2015;136:3-13.
2. New York Times, September 29, 1996, "Emerging epidemic of asthma".
3. Prescott S, Allen KJ. Food allergy: riding the second wave of the allergy epidemic. *Pediatr Allergy Immunol Off Publ Eur Soc Pediatr Allergy Immunol* 2011;22(2):155–60.
4. Nwaru BI, Hickstein L, Panesar SS, Muraro A, Werfel T, Cardona V, Dubois AE, Halken S, Hoffmann-Sommergruber K, Poulsen LK, Roberts G, Van Ree R, Vlieg-Boerstra BJ, Sheikh A, EAACI Food Allergy and Anaphylaxis Guidelines Groups. The epidemiology of food allergy in Europe: a systematic review and meta-analysis. *Allergy*. 2014;69(1):62–75.
5. Anderson H, Gupta R, Strachan D, Limb E. 50 years of asthma: UK trends from 1955 to 2004. *Thorax* 2007;62:85-90.
6. Crater DD, Heise S, Perzanowski M, Herbert R, Morse CG, Hulse TC, et al. Asthma hospitalization trends in Charleston, South Carolina, 1956 to 1997: twenty-fold increase among black children during a 30-year period. *Pediatrics* 2001;108: E97.
7. Mitchell E. International trends in hospital admission rates for asthma. *Arch Dis Child* 1985;60:376-8.
8. Strachan DP. Hay fever, hygiene, and household size. *BMJ* 1989;299(6710):1259–60.
9. Hatzler L, Hofmaier S, Papadopoulos NG. Allergic airway diseases in childhood - marching from epidemiology to novel concepts of prevention. *Pediatr Allergy Immunol* 2012;23(7):616–22.
10. Anandan C, Nurmatov U, van Schayck OCP, Sheikh A. Is the prevalence of asthma declining? Systematic review of epidemiological studies. *Allergy* 2010;65(2):152–67.
11. Pearce N, Ait-Khaled N, Beasley R, Mallol J, Keil U, Mitchell E, Robertson C, ISAAC Phase Three Study Group. Worldwide trends in the prevalence of asthma symptoms: phase III of the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). *Thorax* 2007;62(9):758–66.

12. Asher MI, Montefort S, Björkstén B, Lai CKW, Strachan DP, Weiland SK, Williams H, ISAAC Phase Three Study Group. Worldwide time trends in the prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and eczema in childhood: ISAAC Phases One and Three repeat multicountry cross-sectional surveys. *Lancet* 2006;368(9537):733–43.
13. Schmitz R, Atzpodien K, Schlaud M. Prevalence and risk factors of atopic diseases in German children and adolescents. *Pediatr Allergy Immunol* 2012;23(8):716–23.
14. Duggan EM, Sturley J, Fitzgerald AP, Perry IJ, Hourihane JO. The 2002-2007 trends of prevalence of asthma, allergic rhinitis and eczema in Irish schoolchildren. *Pediatr Allergy Immunol* 2012;23(5):464–71.
15. Flohr C, Mann J. New insights into the epidemiology of childhood atopic dermatitis. *Allergy* 2014;69:3–16.
16. Nwaru BI, Hickstein L, Panesar SS, Roberts G, Muraro A, Sheikh A, et al. on behalf of The EAACI Food Allergy Ana- phylaxis Guidelines Group. Prevalence of common food allergies in Europe: a systematic review and meta-analysis. *Allergy* 2014;69:992–1007.
17. Sicherer SH. Epidemiology of food allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2011;127(3):594–602.
18. Sicherer SH, Sampson HA. Food allergy: Epidemiology, pathogenesis, diagnosis, and treatment. *J Allergy Clin Immunol* 2014;133(2):291–307; quiz 308.
19. Schoemaker AA, Sprickelman AB, Grimshaw KE, Roberts G, Grabenhenrich L, Rosenfeld L, Siegert S, Dubakiene R, Rudzeviciene O, Reche M, Fiandor A, Papadopoulos NG, Malamitsi-Puchner A, Fiocchi A, Dahdah L, Sigurdardottir STh, Clausen M, Stanczyk-Przyłuska A, Zeman K, Mills ENC, McBride D, Keil T, Beyer K. Incidence and natural history of challenge-proven cow's milk allergy in European children – EuroPrevall birth cohort. *Allergy* 2015;70: 963–72.
20. Xepapadaki P, Fiocchi A, Grabenhenrich L, Roberts G, Grimshaw KEC, Fiandor A, Larco JI, Sigurdardottir S, Clausen M, Papadopoulos LNG, Dahdah L, Mackie A, Sprickelman AB, Schoemaker AA, Dubakiene R, Butiene I, Kowalski ML, Zeman K, Gavrili S, Keil T, Beyer K. Incidence and natural history of hen's egg allergy in the first 2 years of life - the EuroPrevall birth cohort study. *Allergy* 2016;71(3):350-7.
21. Osborne NJ, Koplin JJ, Martin PE, Gurrin LC, Lowe AJ, Matheson MC, Ponsonby AL,

- Wake M, Dharmage SC, Allen KJ, HealthNuts Investigators. Prevalence of challenge-proven IgE-mediated food allergy using population-based sampling and predetermined challenge criteria in infants. *J Allergy Clin Immunol* 2011;127(3):668–76.
22. Nicolaou N, Poorafshar M, Murray C, Simpson A, Winell H, Kerry G, Härlin A, Woodcock A, Ahlstedt S, Custovic A. Allergy or tolerance in children sensitized to peanut: prevalence and differentiation using component-resolved diagnostics. *J Allergy Clin Immunol* 2010;125(1):191–7.
23. Rona RJ, Keil T, Summers C, et al. The prevalence of food allergy: a meta-analysis. *J Allergy Clin Immunol* 2007;120:638–46.
24. Fiocchi A, Brozek J, Schunemann H, et al. World Allergy Organization (WAO) Diagnosis and Rationale for Action against Cow's Milk Allergy (DRACMA) guidelines. *Pediatr Allergy Immunol* 2010;21:1–125.
25. Du Toit G, Santos A, Roberts G, Fox AT, Smith P, Lack G. The diagnosis of IgE-mediated food allergy in childhood. *Pediatr Allergy Immunol* 2009;20(4):309-19.
26. Lack G. Update on risk factors for food allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2012;129(5):1187–97.
27. Koplin JJ, Millis EN, Allen KJ. Epidemiology of food allergy and food-induced anaphylaxis: is there really a Western world epidemic? *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2015;15(5):409-16.
28. Skripak JM, Matsui EC, Mudd K, Wood RA. The natural history of IgE-mediated cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2007;120(5):1172–7.
29. Peters RL, Dharmage SC, Gurrin LC, Koplin JJ, Ponsonby AL, Lowe AJ, HealthNutsstudy, et al. The natural history and clinical predictors of egg allergy in the first 2 years of life: a prospective, population-based cohort study. *J Allergy Clin Immunol* 2014;133(2):485–91.
30. Skolnick HS, Conover-Walker MK, Koerner CB, Sampson HA, Burks W, Wood RA. The natural history of peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107:367–74.
31. Ho MH, Wong WH, Heine RG, Hosking CS, Hill DJ, Allen KJ. Early clinical predictors of remission of peanut allergy in children. *J Allergy Clin Immunol* 2008;121:731–6.
32. Van der Leek TK, Liu AH, Stefanski K, Blacker B, Bock SA. The natural history of

- peanut allergy in young children and its association with serum peanut-specific IgE. *J Pediatr* 2000;137:749–55.
33. Sampson HA, Scanlon SM. Natural history of food hypersensitivity in children with atopic dermatitis. *J Pediatr* 1989;115:23–7.
 34. Fleischer DM, Conover-Walker MK, Christie L, Burks AW, Wood RA. The natural progression of peanut allergy: resolution and the possibility of recurrence. *J Allergy Clin Immunol* 2003;112:183–9.
 35. Perry TT, Matsui EC, Kay Conover-Walker M, Wood RA. The relationship of allergen-specific IgE levels and oral food challenge outcome. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114:144–9.
 36. Nolan RC, Richmond P, Prescott SL, Mallon DF, Gong G, Franzmann AM, et al. Skinprick testing predicts peanut challenge outcome in previously allergic or sensitized children with low serum peanut-specific IgE antibody concentration. *Pediatr Allergy Immunol* 2007;18:224–30.
 37. Peters RL, Gurrin LC, Dharmage SC, Koplin JJ, Allen KJ. The natural history of IgE-mediated food allergy: can skin prick tests and serum-specific IgE predict the resolution of food allergy? *Int J Environ Res Public Health* 2013;10(10):5039–61.
 38. Skripak JM, Wood RA. Peanut and treenut allergy in childhood. *Pediatr Allergy Immunol* 2008;19:368–73.
 39. Peters RL, Allen KJ, Darmahge SC et al. Natural history of peanut allergy and predictors of resolution in the first 4 years of life: A population-based assessment. *J Allergy Clin Immunol* 2015;135:1257-66.
 40. Van den Oord RAHM, Sheikh A. Filaggrin gene defects and risk of developing allergic sensitisation and allergic disorders: systematic review and meta-analysis. *BMJ* 2009;339: b2433.
 41. Longo G, Berti I, Burks AW, Krauss B, Barbi E. IgE-mediated food allergy in children. *Lancet* 2013;382(9905):1656–64.
 42. Tan H-TT, Ellis JA, Koplin JJ, Matheson MC, Gurrin LC, Lowe AJ, Martin PE, Dang TD, Wake M, Tang ML, Ponsonby AL, Dharmage SC, Allen KJ, HealthNuts Study Investigators. Filaggrin loss-of-function mutations do not predict food allergy over and above the risk of food sensitization among infants. *J Allergy Clin Immunol* 2012;130(5):1211–3.

43. Venkataraman D, Soto-Ramírez N, Kurukulaaratchy RJ, Holloway JW, Karmaus W, Ewart SL, Arshad SH, Erlewyn-Lajeunesse M. Filaggrin loss-of-function mutations are associated with food allergy in childhood and adolescence. *J Allergy Clin Immunol*. 2014;134(4):876–82.e4.
44. Van Ginkel CD, Flokstra-de Blok BM, Kollen BJ, Kukler J, Koppleman GH, Dubois AE. Loss-of-function variants of the filaggrin gene are associated with clinical reactivity to foods. *Allergy* 2015;70(4):461-4.
45. Martin PE, Eckert JK, Koplin JJ, Lowe AJ, Gurrin LC, Dharmage SC, Vuillermin P, Tang ML, Ponsonby AL, Matheson M, Hill DJ, Allen KJ, The HealthNuts Study Investigators. Which infants with eczema are at risk of food allergy? Results from a population-based cohort. *Clin Exp Allergy*;2015;45(1):255-64.
46. Muraro A, Halcken S, Arshad SH, Beyer K, Dubois AE, Du Toit G, et al. EAACI food allergy and anaphylaxis guidelines. Primary prevention of food allergy. *Allergy* 2014;69(5):590-601.
47. Prescott SL, Smith P, Tang M, Palmer DJ, Sinn J, Huntley SJ, et al. The importance of early complementary feeding in the development of oral tolerance: concerns and controversies. *Pediatric allergy and immunology: official publication of the European Society of Pediatric Allergy and Immunology* 2008;19(5):375-80.
48. Trendelenburg V, **Ahrens B**, Wehrmann A-K, Kalb B, Niggemann B, Beyer K. Peanut allergen in house dust of eating area and bed--a risk factor for peanut sensitization? *Allergy* 2013;68(11):1460–2.
49. Ho MH, Wong WH, Chang C. Clinical spectrum of food allergies: a comprehensive review. *Clin Rev Allergy Immunol* 2014;46(3):225–40.
50. Worm M, Reese I, Ballmer-Weber B, Beyer K, Bishoffs SC, Classens M, Fischer, JP, Fuchs T, Hutteggers I, Jappe U, Klinek L, Koletzko B, Lange L, Lepp U, Mahler V, Nast A, Niggemann B, Rabe U, Raithel M, Saloga J, Schäfers C, Schnadt S, Schreiber J, Szépfalusi Z, Treudler R, Wagenmann M, Watzl B, Werfel T, Zuberbier T, Kleine-Tebbe J. Leitlinie Management IgE-vermittelter Nahrungsmittelallergien-S2k-LL. *Allergo J Int* 2015;24:256-93.
51. Niggemann B. When is an oral food challenge positive? *Allergy* 2010;65(1):2.
52. Rudders SA, Banerji A, Clark S, Camargo Jr CA. Age-related differences in the clini-

- cal presentation of food-induced anaphylaxis. *J Pediatr* 2011;158(2):326–8.
53. Worm M, Edenharter G, Ruëff F, Scherer K, Pföhler C, Mahler V, et al. Symptom profile and risk factors of anaphylaxis in Central Europe. *Allergy* 2012;67:691–8.
54. Simons FE, Sampson HA. Anaphylaxis: unique aspects of clinical diagnosis and management in infants (birth to age 2 years). *J Allergy Clin Immunol*;2015;135(5):1125-31.
55. Järvinen KM, Celestin J. Anaphylaxis avoidance and management: educating patients and their caregivers. *J Asthma Allergy* 2014;10(7):95–104.
56. Pumphrey RS. Lessons for management of anaphylaxis from a study of fatal reactions. *Clin Exp Allergy* 2000;30:1144–50.
57. Blumchen K, Beder A, Beschorner J, Ahrens F, Gruebl A, Hamelmann E, et al. Modified oral food challenge used with sensitization biomarkers provides more real-life clinical thresholds for peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2014;134(2):390–8.
58. Lieberman P. Biphasic anaphylactic reactions. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2005;95(3): 217–26. quiz 226, 258.
59. Järvinen KM, Amalanayagam S, Shreffler WG, Noone S, Sicherer SH, Sampson HA, et al. Epinephrine treatment is infrequent and biphasic reactions are rare in food-induced reactions during oral food challenges in children. *J Allergy Clin Immunol* 2009;124(6):1267–72.
60. Anaphylaxis: assessment to confirm an anaphylactic episode and the decision to refer after emergency treatment for a suspected anaphylactic episode. London: National Institute for Health and Care Excellence;2011. Available at: <http://www.nice.org.uk/guidance/CG134>. [accessed 30.08.14].
61. Niggemann B, Beyer K. Factors augmenting allergic reactions. *Allergy* 2014;69(12):1582–7.
62. Muraro A, Werfel T, Hoffmann-Sommergruber K, Roberts G, Beyer K, Bindslev-Jensen C, EAACI Food Allergy and Anaphylaxis Guidelines Group, et al. EAACI food allergy and anaphylaxis guidelines: diagnosis and management of food allergy. *Allergy* 2014;69(8):1008–25.
63. Sampson HA, Gerth van Wijk R, Bindslev-Jensen C, Sicherer S, Teuber SS, Burks AW, et al. Standardizing double-blind, placebo-controlled oral food challenges: Amer-

ican Academy of Allergy, Asthma & Immunology-European Academy of Allergy and Clinical Immunology PRACTALL consensus report. *J Allergy Clin Immunol* 2012;130(6):1260–74.

64. Wahn U, Sampson HA. Allergy, Immunity and Tolerance in early Childhood. Chapter 4: Adverse reactions to Food, **Ahrens B**, Sampson HA, Beyer K. Elsevier. 2016 ISBN: 978-0-12-420226-9.
65. Rancé F, Juchet A, Brémont F, Dutau G. Correlations between skin prick tests using commercial extracts and fresh foods, specific IgE, and food challenges. *Allergy* 1997;52:1031–5.
66. Lieberman JA, Sicherer SH. Diagnosis of food allergy: epicutaneous skin tests, in vitro tests, and oral food challenge. *Curr Allergy Asthma Rep* 2011;11:58–64.
67. Verstege A, Mehl A, Rolinck-Werninghaus C, Staden U, Nocon M, Beyer K, et al. The predictive value of the skin prick test weal size for the outcome of oral food challenges. *Clin Exp Allergy* 2005;35(9):1220–6.
68. Mehl A, Niggemann B, Keil T, Wahn U, Beyer K. Skin prick test and specific serum IgE in the diagnostic evaluation of suspected cow's milk and hen's egg allergy in children: does one replace the other? *Clin Exp Allergy* 2012;42(8):1266–72.
69. Kattan JD, Wang J. Allergen component testing for food allergy: ready for prime time? *Curr Allergy Asthma Rep* 2013;13:58–63.
70. Asarnoj A, Nilsson C, Lidholm J, Glaumann S, Ostblom E, Hedlin G, et al. Peanut component Ara h 8 sensitization and tolerance to peanut. *J Allergy Clin Immunol* 2012;130:468–72.
71. Nicolaou N, Murray C, Belgrave D, Poorafshar M, Simpson A, Custovic A. Quantification of specific IgE to whole peanut extract and peanut components in prediction of peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2011;127:684–5.
72. Beyer K, Grabenhenrich L, Härtl M, Beder A, Kalb B, Ziegert M, et al. Predictive values of component-specific IgE for the outcome of peanut and hazelnut food challenges in children. *Allergy* 2015;70(1):90–8.
73. Klemans RJ, Otte D, Knol M, Knol EF, Meijer Y, Gmelig-Meyling FH, et al. The diagnostic value of specific IgE to Ara h 2 to predict peanut allergy in children is comparable to a validated and updated diagnostic prediction model. *J Allergy Clin Immunol*

2013;131:157–63.

74. Vereda A, van Hage M, Ahlstedt S, Ibanez MD, Cuesta-Herranz J, van Odijk J, et al. Peanut allergy: clinical and immunologic differences among patients from 3 different geo- graphic regions. *J Allergy Clin Immunol* 2011;127:603–7.
75. Soares-Weiser K, Takwoingi Y, Panesar SS, Muraro A, Werfel T, Hoffmann-Sommergruber K, et al. The diagnosis of food allergy: a systematic review and meta-analysis. *Allergy* 2014;69(1):76–86.
76. Risk profile related to production and consumption of insects as food and feed. *EFSA Journal* 2015;13(10):4257-60.
77. Mehl A, Wahn U, Niggemann B. Anaphylactic reactions in children - a questionnaire-based survey in Germany, *Allergy* 2005;60:1440–45.
78. Blázquez AB, Knight AK, Getachew H, Bromberg JS, Lira SA, Mayer L, Berin MC. A functional role for CCR6 on proallergic T cells in the gastrointestinal tract. *Gastroenterology* 2010;138(1):275-84.
79. Cassani B, Villablanca EJ, Quintana FJ, Love PE, Lacy-Hulbert A, Blaner WS, Sparwasser T, Snapper SB, Weiner HL, Mora JR. Gut-Tropic T Cells That Express Integrin $\alpha 4\beta 7$ and CCR9 Are Required for Induction of Oral Immune Tolerance in Mice. *Gastroenterology* 2011;141(6):2109-18.
80. Pease JE. Targeting chemokine receptors in allergic disease. *Biochem J* 2011;15:434 (1):11-24. Review.
81. Post S, Nawijn MC, Hackett TL, Baranowska M, Gras R, van Oosterhout AJM, Heijink IH. The composition of house dust mite is critical for mucosal barrier dysfunction and allergic sensitisation. *Thorax* 2012;67(6):488-95.
82. Hijnen D, De Bruin-Weller M, Oosting B, et al. Serum thymus and activation- regulated chemokine (TARC) and cutaneous T cell-attracting chemokine (CTACK) levels in allergic diseases: TARC and CTACK are disease-specific markers for atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2004;113:334–40.
83. Nakahigashi Nakahigashi K, Kabashima K, Ikoma A, Verkman AS, Miyachi Y, Hara-Chikuma M. Upregulation of aquaporin-3 is involved in keratinocyte proliferation and epidermal hyperplasia. *J Invest Dermatol* 2010;131:865–73.
84. D’Urbano LE, Pellegrino K, Artesani MC, et al. Performance of a component-based

allergen-microarray in the diagnosis of cow's milk and hen's egg allergy. *Clin Exp Allergy* 2010;40(10):1561-70.

85. Ott H, Baron JM, Heise R, et al. Clinical usefulness of microarray- based IgE detection in children with suspected food allergy. *Allergy* 2008;63(11):1521-8.
86. Alessandri C, Zennaro D, Scala E, Ferrara R, Bernardi ML, Santoro M, et al. Ovomucoid (Gal d 1) specific IgE detected by microarray system predict tolerability to boiled hen's egg and an increased risk to progress to multiple environmental allergen sensitisation. *Clin Exp Allergy* 2012;42:441–50.
87. Haneda Y, Kando N, Yasui M, Kobayashi T, Maeda T, Hino A, et al. Ovomucoids IgE is a better marker than egg white-specific IgE to diagnose boiled egg allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2012;129:1681–2.
88. Bartnikas LM, Sheehan WJ, Larabee KS, Petty C, Schneider LC, Phipatanakul W. Ovomucoid is not superior to egg white testing in predicting tolerance to baked egg. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2013;1:354–60.
89. Beyer K, Morrow E, Li XM, Bardina L, Bannon GA, Burks AW, Sampson HA: Effects of cooking methods on peanut allergenicity. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107:1077–81.
90. Nowak-Węgrzyn A, Bloom KA, Sicherer SH, Shreffler WG, Noone S, Wanich N, et al. Tolerance to extensively heated milk in children with cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2008;122(2):342–7.
91. Kim JS, Nowak-Węgrzyn A, Sicherer SH, Noone S, Moshier EL, Sampson HA. Dietary baked milk accelerates the resolution of cow's milk allergy in children. *J Allergy Clin Immunol* 2011;128(1):125–31.
92. Du Toit G, Roberts G, Sayre PH, Bahnson HT, Radulovic S, Santos AF, Brough HA, Phippard D, Basting M, Feeney M, Turcanu V, Sever ML, Gomez Lorenzo M, Plaut M, Lack G: LEAP Study Team. Randomized trial of peanut consumption in infants at risk for peanut allergy. *N Engl J Med* 2015;372(9):803-13.
93. Du Toit G, Katz Y, Sasieni P, Mesher D, Maleki SJ, Fisher HR, Fox AT, Turcanu V, Amir T, Zadik-Mnuhin G, Cohen A, Livne I, Lack G. Early consumption of peanuts in infancy is associated with a low prevalence of peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2008;122(5):984-91.

94. Gruchalla RS and Samson HA. Preventing Peanut Allergy through Early Consumption — Ready for Prime Time? *N Engl J Med* 2015;372(9):875-7.
95. Du Toit G, Sayre PH, Roberts G, Sever ML, Lawson K, Bahnson HT, Brough HA, Santos AF, Harris KM, Radulovic S, Basting M, Turcanu V, Plaut M, Lack G. Immune Tolerance Network LEAP-On Study Team. Effect of Avoidance on Peanut Allergy after Early Peanut Consumption. *N Engl J Med* 2016;374(15):1435-43.
96. Palmer DJ, Metcalfe J, Makrides M, Gold MS, Quinn P, West CE, et al. Early regular egg exposure in infants with eczema: A randomized controlled trial. *J Allergy Clin Immunol* 2013;132(2):387-92.
97. Perkin MR, Logan K, Tseng A, Raji B, Ayis S, Peacock J, Brough H, Marrs T, Radulovic S, Craven J, Flohr C, Lack G; for the EAT Study Team. Randomized trial of introduction of allergenic foods in breast-fed infants. *N Engl J Med* 2016;374(18):1733-43.
98. International Clinical Trials Registry Platform: <http://www.who.int/ictrp/search/en/>. [accessed 30.08.2014].
99. Bellach J, Schwarz V, **Ahrens B**, Trendelenburg V, Kalb B, Niggemann B, Keil T, Beyer K. Early Introduction of hen's egg at 4-6 months does not protect from hen's egg allergy but results in frequent anaphylactic reactions: A randomized, placebo-controlled trial on hen's egg allergy prevention. *J Allergy Clin Immunol*, accepted.
100. Nurmatov U, Devereux G, Worth A, Healy L, Sheikh A. Effectiveness and safety of orally administered immunotherapy for food allergies: a systematic review and meta-analysis. *Br J Nutr* 2014;111:12–22.

6 Danksagung

Diese Arbeit möchte ich von ganzem Herzen meinen Eltern widmen, die mich in jeder Lebenslage unermüdlich ermutigt haben, meine Ziele und somit meinen wissenschaftlichen Weg zu verfolgen. Ohne ihre Geduld und ihr Verständnis wäre diese Arbeit undenkbar gewesen.

Mein inniger Dank gilt meiner weiteren Familie und meinen Freunden. Insbesondere danke ich meinem Mann für seine Ausdauer mit mir statistische Fragestellungen und Computerprobleme zu lösen und Frau Dr. Henrike Kleinhaus für die Durchsicht des Manuskripts.

Mit großer Dankbarkeit möchte ich mich an Herrn Professor Dr. Ulrich Wahn wenden, der mich nicht zuletzt in seiner Zeit als Direktor der Klinik für Pädiatrie mit Schwerpunkt Pneumologie und Immunologie immer wieder neu für die Allergologie und meine Arbeit begeistert hat. Allen Mitarbeitern der Abteilung sowie allen Kooperationspartnern meiner Forschungstätigkeit danke ich für die stetige Bestärkung und Unterstützung meiner Ideen und Projekte.

Ein außerordentlicher Dank gilt Herrn Professor Dr. Eckard Hamelmann, mit dem ich die in dieser Habilitationsschrift vorgestellte Arbeit aus dem Bereich der Grundlagenforschung durchgeführt habe. Ihm und auch Herrn Dr. David Quarcoo und Frau PD Dr. Anna-Maria Dittrich danke ich für die fruchtbaren und anregenden Diskussionen in dieser Zeit.

Ganz besonders hervorheben und danken möchte ich Frau Professor Dr. Kirsten Beyer. Sie hat mich nicht nur in Zusammenhang mit unseren gemeinsamen Forschungsprojekten als Arbeitsgruppenleiterin stets motiviert, unterstützt und begleitet, sondern betreut auch diese Habilitationsschrift. Mit ihr verbinde ich dankend viele im ausnahmslos positiven Sinne äußerst prägende Betrachtungen meiner Forschungsergebnisse und Hypothesen.

Eng damit verbunden gilt mein Dank Herrn Professor Dr. Bodo Niggemann. Seine stetige Bereitschaft mich in forschungsrelevanten aber auch beruflichen Fragestellungen kritisch aber wohlwollend zu beraten, hat viele Weichenstellungen bewirkt.

Frau PD Dr. Katharina Blümchen danke ich für ihre konstante wissenschaftliche und auch moralische Unterstützung.

Allen Mitarbeitern im Studienzentrum und auf den Stationen danke ich für die sehr

gute und angenehme Atmosphäre im Rahmen der Betreuung der klinischen Studien, besonders bei meiner Studie zur Prävention der Erdnussallergie. An dieser Stelle möchte ich mich zudem bei der Fakultät der Charité-Universitätsmedizin Berlin für das Rahel-Hirsch-Habilitations Stipendium sowie das Lydia-Rabinowitsch Stipendium bedanken.

Ein abschließender Dank geht an die Mitarbeiter des Labors, die mir nun bereits seit fast 15 Jahren im Rahmen diverser Forschungsprojekte zur Seite standen, insbesondere Frau Dr. Christine Seib, Frau Gabi Schulze und Herr Alexander Rohrbach.

Erklärung

§ 4 Abs. 3 (k) der HabOMed der Charité

- - weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde,
- - die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern/Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden,
- - mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

Ich erkläre ferner, dass mir die Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis bekannt ist und ich mich zur Einhaltung dieser Satzung verpflichte.

.....
Datum

Unterschrift