

Aus dem
CharitéCentrum 17 für Frauen-, Kinder- und Jugendmedizin mit
Perinatalzentrum und Humangenetik
Klinik für Pädiatrie mit Schwerpunkt Pneumologie und
Immunologie

Frau Professor Dr. med. Kirsten Beyer

Habilitationsschrift

Untersuchungen zu Einflussfaktoren auf die infantile Sensibilisierung und Allergieentwicklung und deren Modulation: Studien zur Prävention und Toleranzinduktion

zur Erlangung der Lehrbefähigung
für das Fach Kinder- und Jugendmedizin

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät
Charité- Universitätsmedizin Berlin

von

Dr. med. Katharina Blümchen
geboren in Freiburg im Breisgau

Eingereicht: Mai 2014
Dekanin: Frau Prof. Dr. med. Annette Grüters-Kieslich
1.Gutachter: Herr Prof. Dr. med. Zsolt Szepfalusi
2.Gutachter: Herr Prof. Dr. med. Radvan Urbanek

Meinen Eltern

INHALTSVERZEICHNIS	3
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	6
<u>1. EINLEITUNG</u>	<u>7</u>
1.1 Atopische Erkrankungen	7
1.1.1 Epidemiologie von atopischen Erkrankungen	7
1.1.2 Gesundheitsökonomische Aspekte atopischer Erkrankungen	9
1.1.3 Gründe für die Entwicklung atopischer Erkrankungen	11
1.1.3.1 Genetische Faktoren	11
1.1.3.2 Umwelteinflüsse	13
1.1.4 Der „atopische“ Marsch	19
1.2 Pathophysiologie der Entwicklung einer Sensibilisierung und klinisch relevanten Allergie	24
1.2.1 Entwicklung einer Sensibilisierung	24
1.2.2 Entwicklung einer klinisch relevanten Allergie	27
1.3 Mechanismen der immunologischen peripheren Toleranz	30
<u>2. EIGENE ARBEITEN</u>	<u>34</u>
2.1 Fragestellung	34
2.2 Die Stärke der Sensibilisierung und der Th2- vermittelten Immunantwort beeinflusst den Schweregrad der allergischen, klinischen Reaktion am Beispiel der Nahrungsmittelallergie	35

2.3	Das Vorliegen und die Stärke der Ausprägung einer Th2-vermittelten Immunantwort triggert die Ausbildung des atopischen Marsches- ein direkter Nachweis des „Sensitization Spreadings“ im Mausmodell	50
2.4	Durch präventive Meidung des Allergens kann die Ausbildung einer atopischen Erkrankung verhindert werden und der atopische Marsch beeinflusst werden - ein indirekter Hinweis für das Vorliegen des atopischen Marsches im „humanen Modell“	58
2.5	Durch präventive Immunmodulation kann die Ausprägung einer systemischen Th2-Immunantwort, allergischen Atemwegsentzündung und Atemwegshyperreagibilität reduziert werden am Beispiel der Histamin 1-Rezeptor-Blockade im Mausmodell	69
2.6	Durch therapeutische Immunmodulation kann die Ausprägung einer systemischen Th2-Immunantwort und allergischen Reaktion vermindert werden am Beispiel der oralen Immuntherapie bei Erdnuss-allergischen Kindern	78

3. DISKUSSION 90

3.1	Korrelation zwischen Höhe der Sensibilisierung/Th2-vermittelten Immunantwort und dem Schweregrad der allergischen Reaktion	90
-----	---	----

3.2	Das Vorliegen und die Stärke einer Th2- vermittelten Immunantwort triggert Allergen- unabhängig die Ausbildung eines „Sensitization spreadings“ und des atopischen Marsches	95
3.3	Durch Präventions-Maßnahmen kann der Beginn als auch das Fortschreiten des atopischen Marsches verhindert werden	99
3.3.1	Primäre und sekundäre Prävention durch Allergenmeidung	101
3.3.2	Primäre und sekundäre Prävention durch Immunmodulation	104
3.4	Durch therapeutische Immunmodulation kann die Ausprägung einer systemischen Th2-Immunantwort und allergischen Reaktion vermindert werden	109
3.4.1	Klinische Wirksamkeit der spezifischen Immuntherapie	109
3.4.2	Immunmodulatorische Wirkmechanismen der SIT	111
3.4.3	Klinische Wirksamkeit der oralen Immuntherapie (OIT)	113
3.4.4	Verträglichkeit der oralen Immuntherapie (OIT)	116
3.4.5	Mögliche immunmodulatorische Wirkmechanismen der OIT	117
<u>4. ZUSAMMENFASSUNG</u>		119
<u>5. LITERATUR</u>		122
DANKSAGUNGEN		136
EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNGEN		138

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

APC	Antigen präsentierende Zelle
BSA	Bovines Serumalbumin
CD	Cluster of Differentiation
CFSE	Carboxyfluorescein succinimidyl Ester
Fcε-RI	Fc-IgE-Rezeptor
Foxp3	Forkhead box protein
HA	Humanes Albumin
ICOS	Inducible Costimulator
IFN	Interferon
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
i.p.	Intraperitoneal
IT	Immuntherapie
MAS	Multicenter Atopy Study
MHC	Haupthistokompatibilitätskomplex
OIT	Orale Immuntherapie
OVA	Ovalbumin
PBMCs	Periphere Blut-mononukleäre Zellen
SCORAD	Scoring of atopic dermatitis index
SCIT	Spezifische subkutane Immuntherapie
SIT	Spezifische Immuntherapie
SLIT	Spezifische sublinguale Immuntherapie
TCR	T-Zell Rezeptor
Th-Zelle	T Helfer Zelle
TNF	Tumor-Nekrose-Faktor
Treg-Zelle	Regulatorische T-Zelle
TSLP	Thymic stromal lymphopoietin

1. EINLEITUNG

1.1 Atopische Erkrankungen

1.1.1 Epidemiologie von atopischen Erkrankungen

„Allergie“ wurde durch die „World Allergy Organisation“ (WAO) definiert als eine durch immunologische Mechanismen ausgelöste Hypersensitivitäts-Reaktion (Johansson et al., 2004) auf bestimmte Umweltstoffe (Allergene), die in der Regel Eiweiße sind. Eine Allergie kann entweder durch Antikörper oder auch zellvermittelt ausgelöst werden. In den meisten Fällen werden allergische Sofort-Typ-Reaktionen z.B. bei Asthma bronchiale, der allergischen Rhinokonjunktivitis, der atopischen Dermatitis und Nahrungsmittelallergie jedoch durch IgE-Antikörper vermittelt. Somit werden diese Erkrankungen auch als atopische Erkrankungen bezeichnet und zusammengefasst. „Atopisch“ wird hierbei als die genetische Prädisposition gewertet, IgE-Antikörper gegen normalerweise harmlose Substanzen- meist Proteine wie Pollen, Hausstaubmilben, Tierhaare und Nahrungsmittel- zu bilden.

In den letzten 50 Jahren kam es besonders in der westlichen, industrialisierten Welt zu einer starken Zunahme der Prävalenz von atopischen Erkrankungen (Taylor et al., 1984), sodass sogar manche Autoren von einer „Epidemie des 21. Jahrhunderts“ sprechen (Ring et al., 2010). Hochrechnungen besagen, dass weltweit ca. 500 Millionen Menschen, in Deutschland ca. 20-30 Millionen Menschen, momentan an einer allergischen Erkrankung, wie z.B. der allergischen Rhinokonjunktivitis, leiden (Bousquet et al., 2008; Ring et al., 2010). Häufig besteht auch eine Komorbidität zu anderen atopischen Erkrankungen wie z.B. dem Asthma bronchiale (Cruz et al., 2007). 1996 konnten in der ersten, großen, weltweiten, epidemiologischen Studie zur Prävalenz von atopischen Erkrankungen- der ISAAC Studie-Daten von Kindern im Alter von 6-7 Jahren bzw. 13-14 Jahren in 56 Ländern mittels Fragebögen zu atopischen

Erkrankungen erhoben werden (ISAAC et al., 1998). Es zeigten sich große Unterschiede zwischen den einzelnen Ländern bezüglich der 12-Monats-Prävalenz der 13-14-Jährigen für z.B. Asthma bronchiale (1,6%-36,8%) oder allergische Rhinokonjunktivitis (1,4%-39,7%). Die westlichen, industrialisierten und hauptsächlich auch Englisch- sprachigen Länder wiesen die höchste Prävalenz auf, währenddessen die osteuropäischen oder Entwicklungsländer die niedrigsten Prävalenzen zeigten. In der Phase III dieser Studie, wo Prävalenzen der atopischen Erkrankungen nach 5-10 Jahren erneut in den beteiligten Zentren in der Altersgruppe der 6-7Jährigen und 13-14Jährigen untersucht wurde, konnte weiterhin eine leichte, weltweite Zunahme der Prävalenz der allergischen Rhinokonjunktivitis (Bjorksten et al., 2008), des Asthma bronchiales (Pearce et al., 2007) und der atopischen Dermatitis (Williams et al., 2008) besonders in der Altersgruppe der 6-7Jährigen beobachtet werden (Asher et al., 2006). Allerdings scheint es, dass in den industrialisierten Ländern und damit in den Ländern mit schon hoher Prävalenz atopischer Erkrankungen, ein maximales Plateau von ca. 20% z.B. für die Prävalenz der atopischen Dermatitis erreicht wurde (Williams et al., 2008). In Ländern Südamerikas, Afrikas oder auch Asiens stieg die Prävalenz der atopischen Dermatitis (Williams et al., 2008), der allergischen Rhinokonjunktivits (Bjorksten et al., 2008) und des Asthma bronchiale (Pearce et al., 2007) währenddessen weiter an (Asher et al., 2006). In der ISAAC-Studie liegen die Prävalenzdaten für Deutschland im Verhältnis zu anderen Ländern im oberen Drittel (ISAAC et al., 1998), innerhalb Europas liegt jedoch die Asthmaprävalenz eher in der Mitte.

Die momentane Lebenszeit-Prävalenz für atopische Erkrankungen im Kindes- und Jugendalter in Deutschland wurde in der KiGGS-Studie bei insgesamt 17.450 Kindern zwischen 2003 und 2006 untersucht (Schmitz et al., 2012). Bei 22,6% der deutschen Kinder gaben die Eltern in einem Fragebogen an, dass bei ihrem Kind jemals die ärztliche Diagnose eines Asthma bronchiale, einer atopischen Dermatitis oder einer allergischen Rhinokonjunktivitis gestellt wurde. Die Lebenszeit-Prävalenz lag bei 13,2% für atopische Dermatitis, 10,7% für allergische Rhinokonjunktivitis und bei

4,7% für Asthma bronchiale. Da atopische Erkrankungen momentan in Deutschland die häufigste Ursache für eine chronische Erkrankung im Kindesalter sind, stellen sie daher sowohl gesundheitsökonomisch als auch in Hinblick auf die Lebensqualität eine wichtige Erkrankungsgruppe dar.

Die Zunahme der allergischen Erkrankungen weltweit kann nicht durch ein generell verstärktes Bewusstsein für diese Erkrankungen oder eine verbesserte Diagnostik in diesem Bereich erklärt werden (Burney et al., 1990). Die Ursachen für diese Zunahme sind sicherlich komplex. Sowohl genetische Faktoren als auch geänderte Umwelteinflüsse, wie verbesserte hygienische Bedingungen, Veränderungen des Lebensstils, wie verminderte Familiengrößen, urbanes Leben, Landflucht, zügige antimikrobielle Behandlung bei bakteriellen Infektionen, andere Ernährung und auch Umweltverschmutzung werden diskutiert (siehe Kapitel 1.1.3).

1.1.2 Gesundheitsökonomische Aspekte atopischer Erkrankungen

Atopische Erkrankungen belasten die Kosten des Gesundheitssystems stark. So lagen die Ausgaben der deutschen Gesundheitssysteme 1996 für Asthma bronchiale, allergische Rhinokonjunktivitis und atopische Dermatitis bei insgesamt 3,2 Milliarden Euro (Bocking et al., 2012). Neuere Analysen für an Asthma erkrankte amerikanische Kinder schätzen, dass z.B. 6,6 Millionen der 6 bis 17-Jährigen US-Amerikaner 2009 unter einem Asthma bronchiale litten und die ökonomischen Belastungen der Gesundheitssysteme bei diese Altersgruppe für 2009 bei ca. 7 Milliarden Dollar in den USA lag (Jang et al., 2013). Betrachtet man die Jahre 2000-2004 und 2005-2008 in dieser Studie separat, konnten die Autoren zeigen, dass der Hauptanteil der Kosten durch Medikamentenverschreibungen verursacht worden waren, die sich von 44% auf 79% in 10 Jahren erhöht hatten. Dafür hatten sich die Kosten der Krankenhausaufnahmen allerdings deutlich von 17% auf 5% in dieser Altersgruppe innerhalb von zehn Jahren reduziert. Dies lag wahrscheinlich daran, dass die Kinder- und Jugendlichen besser therapiert waren, dass Therapie-Leitlinien für Asthma bronchiale stringent umgesetzt wurden und

dass das generelle Bewusstsein der Bevölkerung für diese Erkrankung durch Medien-Kampagnen in dieser Zeitspanne gestärkt wurde. Trotz dieser Faktoren hatten sich die Gesamtkosten nicht reduziert, sondern waren von 4,7 Milliarden Dollar (2000-2004) auf 8,2 Milliarden Dollar (2005-2009) in dieser Altersgruppe in den USA angestiegen.

Für Deutschland liegen für diese Altergruppe keine neueren Daten vor. Ältere Daten zu Medikamentenverbrauch (=Kosten) und Krankenhausaufenthalten der deutschen allergischen Kinder konnten aus der von unserer Arbeitsgruppe durchgeführten MAS- Geburtskohorte (Multicenter Atopy Study) erhoben werden. Die MAS- Studie stellt eine noch laufende epidemiologische Studie dar, die die verschiedensten immunologischen und Umwelt- Einflussfaktoren auf die frühkindliche Sensibilisierung und Entwicklung einer Allergie untersucht. Die Patientendaten der ersten acht Lebensjahre (1990-1998) von 145 Kinder, die innerhalb dieser Geburtenkohorte an Asthma, atopischer Dermatitis und/oder saisonaler Rhinokonjunktivitis litten, wurden retrospektiv analysiert. Es zeigte sich, dass damals die jährlichen direkten Kosten z.B. für ein Asthma-krankes Kind bei 627 US Dollar lagen, wobei 265 US Dollar (44%) für Krankenhauskosten und nur 121 US Dollar (19%) für Medikamente ausgegeben wurden (Weinmann et al., 2003). Nach neueren Berechnungen für deutsche 10-jährige Kinder mit Asthma bronchiale liegen die jährlichen Ausgaben pro Patient 2006 für anti-allergische/asthmatische Medikamente nun bei ca. 273-315 Euro (Reinhold et al., 2013).

Es wird deutlich, dass bei steigender Prävalenz allergischer Erkrankungen im Kindesalter auch in Deutschland erhebliche Kosten auf das Gesundheitssystem zukommen werden. Somit besteht ein großer Bedarf, die Ursachen der Allergieentstehung, mögliche Einflussfaktoren, deren präventive Modulation als auch bessere und kostengünstigere Therapien zu untersuchen, um die jährlichen Milliardenausgaben zu reduzieren.

1.1.3 Gründe für die Entwicklung atopischer Erkrankungen

1.1.3.1 Genetische Faktoren

Atopie bzw. atopische Erkrankungen treten familiär gehäuft auf. Dies konnte z.B. anhand von Zwillingsstudien gezeigt werden. Im Gegensatz zu dizygoten kam es bei monozygoten Zwillingen häufiger zu Konkordanzpaaren für Asthma bronchiale, atopische Dermatitis, allergische Rhinokonjunktivitis (Edfors-Lubs, 1971) oder auch für Erdnussallergie (Sicherer et al., 2000a). Auch in der schon erwähnten prospektiven MAS-Geburtskohortenstudie konnte bei den untersuchten Zweijährigen gezeigt werden, dass eine deutliche Assoziation zwischen dem Auftreten von einer atopischen Dermatitis und einer positiven Anamnese der Eltern für diese Erkrankung bestand (Bergmann et al., 1997). Des Weiteren fand man bei der gleichen Geburtskohorte, dass 24% der 13-Jährigen mit negativer Familienanamnese in den letzten 12 Monaten unter einem Heuschnupfen litten, währenddessen sich die Zahl auf 44% erhöhte, wenn die Jugendlichen mindestens ein Elternteil mit allergischer Erkrankung aufwiesen (Keil et al., 2010). 20 Jahre später wurden die MAS-Teilnehmer erneut untersucht und es zeigte sich, dass elterliches Asthma, allergische Rhinokonjunktivitis oder atopische Dermatitis ein erhöhtes Risiko für das Auftreten eines Asthma bronchiale bei den 20-Jährigen darstellte (Grabenhenrich et al., 2014). Auch in der großen, deutschen, bevölkerungsbezogenen Querschnittsstudie der KiGGS-Studie konnte nachgewiesen werden, dass eine positive Familienanamnese (ein oder beide Eltern leiden unter einer atopischen Erkrankung) den deutlichsten Risikofaktor für das Auftreten von einer allergischen Erkrankung beim Kind darstellte (Schmitz et al., 2012). Genomweite Assoziationsstudien und Kandidatengenstudien konnten bislang viele Genvarianten identifizieren, die mit einer atopischen Erkrankung assoziiert sind (diskutiert in (Hamelmann et al., 2007)). So sind z.B. Genvarianten, die für die angeborene Immunität (CD14, Toll-like receptor 2, TLRA 4) oder Th2-Differenzierung (GATA3, TBX21, IL4RA, IL-13) oder auch Funktion der Epithelzellen bzw. der Inflammation (RANTES, CCL24, SPINK5) codieren, mit einem Asthma bronchiale assoziiert (diskutiert in (Vercelli, 2008)). Viele dieser assoziierten

Genvarianten konnten aber in anderen Populationen wiederum nicht als Kandidatengene reproduziert werden, welches eventuell mit der unterschiedlichen Ethnizität der Studienteilnehmer, der jeweiligen Populationsgröße und unterschiedlichen Definitionen der Phänotypen in den anderen Populationen zusammenhängen kann (Vercelli, 2008). Auch gibt es hinsichtlich der Entstehung von Entzündungen redundante Wege und epigenetische Einflüsse wie DNA-Methylierungen, Histon-Modifikationen und RNAi-vermittelte Mechanismen, die bei der bloßen Sequenzanalyse vernachlässigt werden.

Es konnte aber für zwei Varianten des Filaggrin-Gens („loss of function“ Mutationen R510X und 2282del4) in vielen separaten Populationen bestätigt werden, dass eine Assoziation zwischen diesen Mutationen des Gens und zur atopischen Dermatitis besteht (Marenholz et al., 2006; Palmer et al., 2006; Weidinger et al., 2006). Filaggrin ist ein epidermal vorkommendes Protein, welches für die epidermale Schutzfunktion und Hydratation der Haut wichtig ist. Es aggregiert Keratinfilamente. Bei einer verminderten Funktion bzw. Nichtvorliegen des Proteins führt dies zu einer beeinträchtigten Keratinisierung mit Ausbildung von trockener Haut und Ekzem (zusammengefasst in (Spergel, 2010)). Die beiden Null-Mutationen waren auch unabhängig von der atopischen Dermatitis stark mit einer allergischen Rhinokonjunktivitis oder auch Sensibilisierung gegenüber inhalativen als auch Nahrungsmittelallergenen assoziiert (Weidinger et al., 2006). Ein Asthma bronchiale war währenddessen abhängig vom Vorliegen eines Ekzems nur mit den Filaggrin-Genvarianten assoziiert (Marenholz et al., 2006; Weidinger et al., 2006). Kürzlich konnte auch für die Erdnussallergie in zwei unterschiedlichen Populationen eine Assoziation zu den Filaggrin-Genmutationen nachgewiesen werden (Brown et al., 2011).

Mittlerweile geht man bei atopischen Erkrankungen nicht nur von einem multi-genetischen Geschehen aus, sondern weiß, dass es zusätzlich auch zu vielen Gen-Umweltinteraktionen kommt. Zum Beispiel konnte für das Filaggrin-Gen sowohl in einer dänischen als auch in einer englischen

Population gezeigt werden, dass eine Null-Mutation in dem Gen, wie schon häufiger publiziert, zum einen ein erhöhtes Risiko für das Auftreten von atopischer Dermatitis im ersten Lebensjahr darstellte. Das Risiko erhöhte sich aber auch deutlich bei Katzen-Exposition bei Geburt (Bisgaard et al., 2008). Kein Effekt stellte dagegen eine Hunde-Exposition oder Hausstaubmilben-Exposition dar (Bisgaard et al., 2008). Diese unterschiedlichen Risiken hinsichtlich der Art der frühkindlichen Allergenexposition bei entsprechendem genetischem Risiko für eine Hautbarrierestörung werden noch nicht hinreichend verstanden.

1.1.3.2 Umwelteinflüsse

Trotz der auch neueren Daten zu genetischen Faktoren zeigt sich in vielen Studien, dass nicht alleinig genetische Aspekte für die Entstehung von Allergien verantwortlich sind. Epidemiologische Untersuchungen von familiär disponierten Kindern zeigten, dass ca. 40% der Kinder, deren Eltern an einem Asthma bronchiale leiden, kein Asthma entwickeln (Cookson et al., 2011). Es mehren sich auch die Daten, dass Migration von einem Land mit niedriger Prävalenz für z.B. atopische Dermatitis in ein Land mit hoher Prävalenz für diese Erkrankung das Risiko deutlich erhöht, dass diese Immigranten an atopischer Dermatitis erkranken (zusammengefasst in (McNally et al., 1998; Rottem et al., 2005). Bei einer Studie aus unserer Arbeitsgruppe an türkischen Schulanfängern in Berlin konnten Grüber et al. feststellen, dass sowohl die Sensibilisierung gegenüber inhalativen Allergenen als auch die Einjahres-Prävalenz für „pfeifender Atmung“ sukzessive mit der kulturellen Adaptation gemessen an der Sprache, die die Eltern zur Kommunikation mit ihrem Kind verwenden (türkisch/türkisch, türkisch/deutsch, nur deutsch) ansteigt (Gruber et al., 2002). Genetische Ursachen für das erhöhte Risiko sind dabei sehr unwahrscheinlich, da sich das Risiko innerhalb einer Generation bzw. noch in der Migrationsgeneration zum Teil erhöht. Ein weiterer Beweis, dass genetische Faktoren nicht alleinig ursächlich für die Entstehung von Allergien verantwortlich sind, zeigen Untersuchungen an einem gleichen genetischen Populationspool aber unterschiedlichen Umweltbedingungen, z.B. die Studien zur Prävalenz

allergischer Erkrankungen zwischen Ost- und Westdeutschland zur Zeit der Wiedervereinigung. Damals konnte die Gruppe um von Mutius et al. zeigen, dass 9-11jährige Westdeutsche Kinder häufiger eine atopische Sensibilisierung (36,7%) aufwiesen als ihre Altersgenossen in Ostdeutschland (18,2%) oder auch häufiger an einem Asthma bronchiale oder allergische Rhinokonjunktivitis litten als die Ostdeutschen Kinder (5,9% vs 3,9%) (von Mutius et al., 1994). Bei nach der Wiedervereinigung wechselnden Umweltbedingungen in Ostdeutschland wurde erwartet, dass diese Unterschiede sich schnell verlieren. So untersuchte die gleiche Gruppe nach fünf Jahren ein Teil der Kinder erneut und es zeigte sich, dass bei Leipziger Schulkindern die Prävalenz von allergischer Rhinokonjunktivitis (von 2,3% auf 5,1%) und atopischer Sensibilisierung (von 19,3% auf 26,7%) in der Zeit deutlich angestiegen war (von Mutius et al., 1998). Auch Studien zur Prävalenz von allergischen Erkrankungen in Schwellenländern Südamerikas oder Asiens konnten zeigen, dass sich die Prävalenz innerhalb von nur ein paar Jahren deutlich erhöht hat (Asher et al., 2006), welches nicht mit einer Änderung im Genpool erklärt werden kann. Diesen epidemiologischen Studien ist insgesamt gemeinsam, dass sich die Lebensumstände der Bevölkerung mit Annahmen eines „westlichen Lebensstils“ einer Industriegesellschaft während des Untersuchungszeitraumes deutlich geändert haben. Somit geht man davon aus, dass unterschiedlichste Umweltfaktoren dieses „westlichen Lebensstils“ maßgeblich die Phänotypen-Variabilität beeinflussen. Dies könnte z.B. durch epigenetische Modifikation Entzündungsregulierender Gene wie der DNA-Methylierung vermittelt werden. Der Methylierungsgrad hängt z.B. von Expositionsfaktoren in der Nahrung (Folsäure) und Tabakrauch ab.

Viele dieser Faktoren des „westlichen Lebensstils“ wurden in großen epidemiologischen Studien untersucht. Oft gibt es allerdings auch widersprüchliche Ergebnisse dieser Studien, je nachdem welche Länder bzw. Regionen der Welt betrachtet wurden. So wird aktuell sehr widersprüchlich über auslösende oder gar protektive Faktoren wie z.B. dem Vitamin D (diskutiert in (Muehleisen and Gallo, 2013), längeres oder kürzeres Stillen

(diskutiert in (Grabenhenrich et al., 2014; Hamelmann et al., 2007), Toxine der Umweltverschmutzung und Autoabgase (Gruzieva et al., 2014) oder auch klimatische Unterschiede in Höhe, Innenraumfeuchtigkeit, Außentemperatur und Breitengraden (Weiland et al., 2004) für die Entstehung von Asthma bronchiale diskutiert. Es mehren sich auch die Daten dazu, dass eine frühe Tabakrauchexposition z.B. schon pränatal zu einem höheren Risiko für die Entstehung eines Asthmas führt. In der von unserer Arbeitsgruppe durchgeführten MAS-Geburtskohorte konnte z.B. gezeigt werden, dass bis zu einem Alter von 20 Jahren die Inzidenz von Asthma bronchiale deutlich höher war in jungen Erwachsenen, deren Mütter während der Schwangerschaft geraucht hatten (Grabenhenrich et al., 2014). Anhand der gleichen Geburtskohorte konnte auch schon früher gezeigt werden, dass eine prä- und postnatale Exposition von Tabakrauch ein höheres Risiko bei den damals untersuchten 3-Jährigen der Studie für eine Sensibilisierung gegenüber Nahrungsmittelallergenen darstellte (Kulig et al., 1999b). Erst kürzlich konnte auch mittels einer Genom-weiten Interaktionsstudie bei 6000 europäischen Kindern (GABRIEL Konsortium) und einer Metaanalyse von 536.705 SNPs (single nucleotide polymorphisms) eine Interaktion zwischen einer bestimmten Genregion, pränataler Tabakrauchexposition und der Entwicklung von einem Asthma bronchiale gezeigt werden (Scholtens et al., 2013). Es könnten auch diätetische Faktoren einen Einfluss auf die Entstehung von Allergien haben. So konnte in der schon beschriebenen weltweit durchgeführten ISAAC (Phase 1)-Studie eine positive Assoziation zwischen der Prävalenz von Asthma bronchiale, atopischer Dermatitis und allergischen Rhinokonjunktivitis und dem Konsum von mehrfach nicht gesättigten *trans*-Fettsäuren (z.B. in Milchprodukten, Margarine, künstlich hergestellten Ölen) (Asher et al., 2010) aufgezeigt werden. In Phase 3 der Studie konnte bei Kindern und Jugendlichen ein erhöhtes Risiko für schweres Asthma, Ekzem oder Rhinokonjunktivitis gezeigt werden, wenn mindestens dreimalig pro Woche „Fast food“ (z.B. Burger) konsumiert wurde (Ellwood et al., 2013). Bei vielen von diesen Faktoren ist nicht klar, ob sie nicht nur stellvertretend für den „westlichen Lebensstil“ stehen und eher keinen

wirklichen kausalen Zusammenhang für die Entstehung von Allergien aufzeigen, der eventuell pathophysiologisch dies erklären könnte.

Eine deutlich geänderte und hohe Exposition von bestimmten Allergenen könnte auch einen Faktor darstellen, warum es zu einem vermehrten Auftreten von allergischen Erkrankungen in der westlichen Welt kommt. So könnte das höhere Heizvorkommen der Innenräume und die längeren Aufenthalte von auch Kindern in diesen beheizten Innenräumen dazu führen, dass sich die Hausstaubmilbenkonzentration deutlich erhöht und diese Allergenexposition zu einer vermehrten Sensibilisierung als auch vermehrten Entstehung z.B. eines kindlichen Asthma bronchiale führt. Dies wurde in einer australischen Studie in zwei Städten untersucht, die die unterschiedliche Hausstaubmilben-Belastung und Prävalenz für eine pfeifende Atmung im Zeitraum von 10 Jahren bei Kindern verglichen (Peat et al., 1994). Es zeigte sich, dass mit steigender Hausstaubmilbenbelastung innerhalb der 10 Jahre auch die Prävalenz für pfeifende Atmung in beiden Städten deutlich angestiegen war. Illi et al. konnte in der von unserer Arbeitsgruppe durchgeführten MAS-Geburtskohorte auch zeigen, dass Kinder, die eine hohe frühkindliche Exposition gegenüber Hausstaubmilben oder Katzenhaarallergen erfahren hatten und sensibilisiert dagegen waren, eine schlechtere Lungenfunktion (z.B. MEF_{50}) im Schulalter aufwiesen (Illi et al., 2006).

Eine weitere These betrifft die verminderte Anzahl von Wurminfektionen, die Kinder in der westlichen Welt nur noch sporadisch durchleiden. In Gebieten, wo Wurminfektionen endemisch auftreten (z.B. in Gabun), konnte gezeigt werden, dass Kinder, die an einer chronischen Infektion mit *Schistosoma haematobium* leiden, eine niedrigere Prävalenz für einen positiven Hautpricktest gegenüber Hausstaubmilben aufwiesen als Kinder, die diese Infektion nicht aufwiesen. Die verminderte Hautreaktivität war gleichzeitig assoziiert mit einer erhöhten IL-10 Produktion gegenüber Schistosomen-Antigen (van den Biggelaar et al., 2000). Wenn diese chronisch infizierten Kinder in den Endemie- Gebieten eine wiederholte anti-parasitäre Therapie

erhielten, kam es zu vermehrtem Auftreten von neuer Sensibilisierung gegenüber Hausstaubmilbenallergenen (van den Biggelaar et al., 2004).

Die momentan meist untersuchte These, warum die Prävalenz von allergischen Erkrankungen in der industrialisierten Welt zunimmt, stellt die „Hygiene-Hypothese“ dar. Strachan et al war 1998 der erste, der diese Hypothese in einer retrospektiven Studie an 17414 britischen Kindern untersuchte, die alle 1958 geboren waren und mit 23 Jahren befragt wurden, ob sie an einer allergischen Rhinokonjunktivitis litten und im ersten Lebensjahr an einer atopischen Dermatitis erkrankt waren (Strachan, 1989). Unter vielen betrachteten perinatalen, sozialen und Umweltfaktoren fand er eine inverse Assoziation zwischen dem Auftreten von Heuschnupfen oder Ekzem und der Anzahl der älteren Geschwisterkinder. Seine These zu diesem Ergebnis war, dass eventuell entweder der „unhygienische“ direkte Kontakt zu älteren Geschwistern (Exposition zu vermehrten viralen als auch bakteriellen Infektionen) in der frühen Kindheit oder der pränatale Kontakt der Mutter zu den Infektionen die Ausbildung eines Heuschnupfens/ atopischen Dermatitis verhindert. Diese Erkenntnis wurde durch weitere zahlreiche epidemiologische Studien verifiziert (z.B. Illi et al., 2001).

Die These wurde auch durch den sogenannten „farming effekt“ erweitert (diskutiert in (von Mutius and Vercelli, 2010). Untersuchungen an Kindern, die auf bayrischen, schweizerischen oder österreichischen Bauernhöfen traditionell aufgewachsen waren und somit nachweislich inhalativen (durch die Nähe zum Vieh) als auch oralen Kontakt (durch das Trinken von roher Kuhmilch) zu vielfältigen Keimen aufwiesen, zeigten, dass diese Kinder im Gegensatz zu ihren nichtbäuerlichen Nachbarkindern im gleichen Dorf weniger unter einem Asthma bronchiale, einer allergischen Rhinokonjunktivitis und einer atopischen Sensibilisierung litten (Riedler et al., 2001). Der Effekt war am deutlichsten, wenn die Kinder schon sowohl *in utero* durch ihre Mütter (Ege et al., 2006) aber auch bis zum Schulalter (Riedler et al., 2001) kontinuierlichen Kontakt zu Vieh oder roher Kuhmilch hatten. Speziell der erhöhte Gehalt von Endotoxin (LPS), ein

Zellwandbestandteil von gram negativen Bakterien, sowohl auf den Schlafmatratzen der Kinder (Braun-Fahrländer et al., 2002) als auch in der unbehandelten, rohen Kuhmilch (z.B. (Pfefferle et al., 2010)) schien für diesen „farming effekt“ bei Bauernkindern verantwortlich zu sein. Es könnten natürlich auch weitere mikrobielle Bestandteile von z.B. Schimmelpilzen oder gram-positiven Bakterien den protektiven Faktor darstellen. Kürzlich publizierte Daten zeigen auch, dass eher die Diversität der aufgenommen oder inhalierten Bakterien den protektiven Effekt darstellt als eine Einzelkomponente/ein einzelnes Bakterium allein (Ege et al., 2011). Bei diesen großen epidemiologischen Studien wurden auch pathophysiologische Mechanismen dieses „farming effects“ anhand z.B. von Nabelschnurblut von Neonaten untersucht. So erklärt man sich den Effekt durch folgendes Model: Durch den Kontakt der schwangeren Bäuerin zu verschiedenem Vieh im Stall und kontinuierlicher mikrobieller Exposition wird das angeborene Immunsystem durch Heraufregulierung von TLR (toll like receptors) 7 und 8 bei ihr aktiviert (Loss et al., 2012) und führt dazu, dass über Bildung von regulatorischen T-Zellen die physiologische Th2-Immunität des Neonaten unterdrückt wird und eine vermehrte Th1-Immunantwort mit unspezifischer Ausschüttung von Zytokinen wie IFN- γ und TNF- α bei ihm induziert wird (von Mutius and Vercelli, 2010).

Parallel zur „Hygiene-Hypothese“ wurde die Bedeutung des Mikrobioms und der postnatalen Besiedelung mit Bakterien auf Schleimhäuten und Epidermis erkannt. Die Art, Verteilung und Diversität der Bakterien, die kommensal den Menschen besiedeln, scheinen einen deutlichen Einfluss auf das menschliche Immunsystem zu haben. So wiesen Kinder mit atopischem Ekzem mehr Clostridien und weniger bakterielle Vielfalt im Darm auf als Nicht-Erkrankte (Penders et al., 2013; Wang et al., 2008). Außerdem konnte gezeigt werden, dass Kinder, die per Kaiserschnitt entbunden wurden, weniger Bifidobakterien und mehr Clostridien in ihrer Darmflora aufwiesen und gleichzeitig eine Risikogruppe für atopische Erkrankungen darstellten (Penders et al., 2013).

1.1.4 Der „atopische“ Marsch

„Atopie“ wird definiert als individuelle oder auch familiär gehäuft vorkommende Tendenz, eine Sensibilisierung auszubilden und IgE-Antikörper gegen normalerweise harmlose Proteine nach Exposition mit diesen Allergenen zu bilden (Johansson et al., 2004). Der alleinige Nachweis von IgE-Antikörpern wird als Sensibilisierung bezeichnet. Wenn aber zusätzlich typische allergische Symptome auftreten, spricht man von einer klinisch relevanten Allergie.

Meist tritt die IgE- Antikörperproduktion und Ausbildung einer klinisch relevanten Allergie in den ersten Lebensjahrzehnten auf. Direkt nach der Geburt treten fast nie klinische Symptome einer allergischen Erkrankung auf. Auch können bei den meisten Neugeborenen nur geringe Gesamt-IgE-Titer gemessen werden (Nickel et al., 2005). Im Laufe der ersten 10 Lebensjahre steigen allerdings die Gesamt IgE-Titer mit hoher Variabilität sukzessive an. Spezifische IgE-Antikörper können bei Geburt noch nicht nachgewiesen werden (Kulig et al., 1999a), werden dann aber in den ersten Monaten hauptsächlich gegen Nahrungsmittelallergene gebildet. So konnte unsere Arbeitsgruppe anhand der MAS-Kohorte zeigen, dass mit 12 Monaten 8,4% der Säuglinge spezifische IgE-Antikörper gegen Hühnerei, 6,5% gegen Kuhmilch, 2,2% gegen Weizen und 1,9% gegen Soja aufwiesen (Bergmann et al., 1994). Bis zum 3.Lebensjahr nahm die Sensibilisierung gegenüber Nahrungsmittelallergenen sukzessive zu. So wiesen im ersten Lebensjahr 14,1% der untersuchten Säuglinge mindestens eine Sensibilisierung gegenüber entweder Hühnerei, Kuhmilch oder Weizen auf, währenddessen 18,1% der Kinder im dritten Lebensjahr und 10% im 6.Lebensjahr sensibilisiert gegenüber Nahrungsmittelallergenen waren (Kulig et al., 1999a; Nickel et al., 1997). Im ersten Lebensjahr war die Sensibilisierung gegenüber inhalativen Allergenen wie Hund, Katze, Hausstaubmilbe, Gräserpollen und Birkenpollen nur bei sehr wenigen Säuglingen nachweisbar (0,1%-2,2%) (Bergmann et al., 1994). Die Sensibilisierungsrate gegenüber den inhalativen Allergenen stieg dann allerdings von 1,5% im ersten Lebensjahr zu 26% im 6.Lebensjahr deutlich an mit Sensibilisierungsraten gegenüber Birke von

10%, Gräsern von 19% und Innenraumallergenen von 4-7% (Kulig et al., 1999a). Auch in der KiGGS-Studie konnte gezeigt werden, dass ca. 30% der Drei- bis Sechsjährigen und fast 50% der 14-17-Jährigen in Deutschland eine Sensibilisierung gegenüber inhalative und/oder Nahrungsmittelallergene 2003/2006 aufwiesen (Schlaud et al., 2007). Diese Daten können darauf hindeuten, dass eine Sensibilisierung dann bei genetisch vorgeprägten Individuen stattfindet, wenn eine Exposition mit Allergenen vorliegt. Die Hauptexposition in den ersten Lebensjahren geschieht gegenüber Nahrungsmittelallergenen. Erst bei mehrmaliger Exposition gegenüber inhalativen Allergenen wie den Pollen kann sich später, in etwa ab dem 3.Lebensjahr, eine Sensibilisierung gegenüber diesen inhalativen Allergenen ausbilden. Auch anhand der MAS-Kohorte konnte gezeigt werden, dass es eine Dosis-Wirkungsbeziehung zwischen früher Exposition mit Katzenhaar- und Hausstaubmilbenallergenen und der Entwicklung einer Sensibilisierung besteht (Lau et al., 2000; Wahn et al., 1997).

Da die MAS-Kohorte mittlerweile ihre Studienteilnehmer für 20 Jahre nachverfolgt hat, konnte sehr eindrucksvoll anhand dieser Kohorte die Dynamik der Ausbildung, der Persistenz und aber auch Rückbildung von klinisch relevanten atopischen Erkrankungen wie der atopischen Dermatitis, allergischen Rhinokonjunktivitis und Asthma bronchiale gezeigt werden (Wahn, 2011). Ähnliche Beobachtungen wurden auch in anderen Kohorten immer wieder gemacht (diskutiert in (Dharmage et al., 2013)). Es zeigte sich, dass die atopische Dermatitis den ersten klinischen Phänotyp im Leben eines Allergikers darstellt. 13,4% der 1314 untersuchten Säuglinge der MAS-Kohorte litten im 12.Lebensmonat unter einer atopischen Dermatitis. Die höchste Periodenprävalenz war um den 3. Geburtstag festzustellen (siehe auch Abb.1). Von den Säuglingen, die im ersten Lebensjahr an einer atopischen Dermatitis litten, wiesen nur noch ca. 40% im 7.Lebensjahr diese allergische Manifestation auf (Illi et al., 2004). Die Prävalenz in der gesamten Kohorte im Jugendlichenalter eine atopische Dermatitis aufzuweisen war dann auch nur noch mit 3-5% gering ausgeprägt (Wahn, 2011). Ca. 5% der Eltern berichteten, dass ihr Kind im ersten Lebensjahr unter Giemen litt,

wobei bei den meisten dieser Kinder das Giemen nur transient auftrat. Im 7. Lebensjahr war die Periodenprävalenz für „Giemen in den letzten 12 Monaten“ auf 10% gestiegen, wobei 70% dieser giemenden Kinder eine Sensibilisierung gegen Nahrungsmittel- und/oder inhalativen Allergenen aufwiesen (Lau et al., 2000). Im 20. Lebensjahr stieg die Periodeprävalenz auf 17% an (mündliche Kommunikation mit MAS-Studenteam). In den ersten Lebensjahren litten nur sehr wenige Kinder unter einer allergischen Rhinokonjunktivitis. Dies nahm aber deutlich ab dem 3. Lebensjahr zu und stieg dramatisch im Jugendalter an (Rochat et al., 2010), so dass die Periodenprävalenz im 20. Lebensjahr bei 43% lag (mündliche Kommunikation mit MAS-Studenteam).

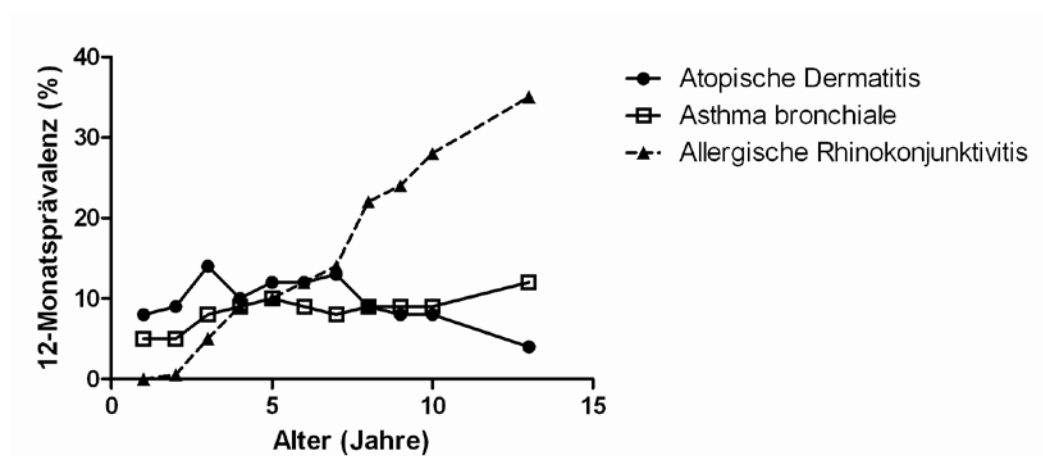


Abb. 1 Periodenprävalenz (z.B. Auftreten von Giemen in den letzten 12 Monaten vor der Untersuchung) der atopischen Dermatitis, des Asthma bronchiales und der allergischen Rhinokonjunktivitis in der MAS-Kohorte. Untersuchungen/ Interviews wurden im 12. Lebensmonat, vom 2. bis 10. Lebensjahr jährlich und im 13. Lebensjahr durchgeführt (modifiziert nach Wahn et al (Wahn, 2011))

Der „atopische Marsch“ wird generell charakterisiert als die Progression von der ersten Manifestation einer Atopie- der atopischen Dermatitis- über die Ausprägung einer Nahrungsmittelallergie, später eines Asthma bronchiale

und im Schul- und Jugendalter einer allergischen Rhinokonjunktivitis (Spergel and Paller, 2003). Wie oben schon erwähnt, scheinen einige Phänotypen der allergischen Manifestation nur im frühen Kindesalter aufzutreten, spontan besser zu werden oder auch zu persistieren, um dann sich im gleichen Individuum als andere Manifestation wie dem Asthma bronchiale oder Heuschnupfen zu zeigen. Multiple epidemiologische Longitudinalstudien konnten dieses Phänomen immer wieder reproduzieren. Je nach Populations-/Geburtskohorte konnte gezeigt werden, dass Kinder, die im frühen Kindesalter unter einer atopischen Dermatitis litten, zu 30-50% später, z.B. im Schulalter ein Asthma bronchiale entwickelt hatten (zusammengefasst in einer Metaanalyse (van der Hulst et al., 2007). Falls Kinder eine atopische Dermatitis in den ersten Lebensmonaten aufwiesen, stellte dies einen deutlichen Risikofaktor für die Entwicklung einer Sensibilisierung gegenüber Nahrungsmittelallergenen (Carlsten et al., 2013) als auch gegenüber inhalativen Allergenen im 5. bzw. 7. Lebensjahr dar (Bergmann et al., 1998; Carlsten et al., 2013). In zwei unterschiedlichen Studienpopulationen (GINI Studie und LISA Studie) konnte auch gezeigt werden, dass bei Kindern mit atopischer Dermatitis das Risiko ein Asthma zu entwickeln im 10. Lebensjahr deutlich anstieg, wenn diese Kinder eine Sensibilisierung gegenüber Nahrungsmittelallergenen zwischen dem 1. und 3. Lebensjahr aufweisen (Filipiak-Pittroff et al., 2011). Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass Kinder mit frühkindlicher atopischer Dermatitis zu 50-75% im späteren Alter eine allergische Rhinokonjunktivitis entwickelten (z.B. (Gustafsson et al., 2000). Eine Studie berichtet auch über eine Assoziation zwischen Kuhmilch-Allergie im 7. Lebensmonat und dem Auftreten von einer durch Histamin-Provokation diagnostizierten Atemwegshyperreagibilität im 8. Lebensjahr (Malmberg et al., 2010).

Es besteht außerdem sehr häufig eine Komorbidität zwischen den einzelnen allergischen Manifestationen. Eigenmann et al beobachteten, dass 35% der Kinder mit einer persistierenden, moderaten bis schweren atopischen Dermatitis auch gleichzeitig unter einer Nahrungsmittelallergie litten (Eigenmann et al., 1998). 80-90% der Asthmatiker wiesen in einer Studie an

40-Jährigen gleichzeitig eine allergische Rhinitis auf, währenddessen 21% der Erwachsenen mit allergischer Rhinitis gleichzeitig an Asthma bronchiale litten (Greisner et al., 1998).

Bislang gibt es nur einige indirekte Hinweise für einen eventuellen Pathomechanismus für die Sequenz des „atopischen Marsches“. So wird momentan hauptsächlich die These favorisiert, dass durch z.B. Filaggrin-Mutationen oder auch andere exogene Faktoren wie Proteasen der Hausstaubmilbe und *Staphylokokkus aureus* oder wie Peptidasen von Pollen ein Defekt der Hautbarriere entsteht. Dies führt zu einer erleichterten epidermalen Aufnahme von Allergenen, die dann durch Langerhans-Zellen, den hautständige Antigen-präsentierenden-Zellen, prozessiert werden, in die drainierenden Lymphknoten migrieren und Antigen-spezifische Th2-Helfer Zellen aktivieren, wodurch eine Sensibilisierung stattfinden kann und durch Boosterung auch weitere systemische allergische Sensibilisierungen als auch Entzündungsreaktionen an anderen Organen getriggert werden (Spergel, 2010) (siehe Abb. 2). Anhand von Mausmodellen konnte z.B. gezeigt werden, dass eine systemische Sensibilisierung und einen Th2-Aktivierung sowohl gegenüber Nahrungsmittelallergenen (Ovalbumin, (Spergel et al., 1998) und inhalativen Allergenen (*Aspergillus fumigatus*, (Akei et al., 2006) durch epikutane Applikation des Allergens ausgelöst werden konnte, welches dann bei erneuter Allergenexposition an anderen Organen (bronchiale oder nasale einmalige Provokation) zu einer lokalen eosinophilen Inflammation, allergischen Symptomen und Atemwegshyperreagibilität führte. Einen weiteren genetischen Beweis für diese These lieferten Daten der MAS-Studie. Marenholz et al. beobachtete eine hohe Assoziation zwischen dem Vorliegen von Filaggrin-Nullmutationen und dem Auftreten von Asthma und atopischer Dermatitis oder allergischer Rhinokonjunktivitis und atopischer Dermatitis oder allergischer Sensibilisierung und atopischer Dermatitis. Diese Assoziation zwischen den Nullmutation und den allergischen Manifestationen war nur zu beobachten, wenn gleichzeitig eine atopische Dermatitis vorlag (Marenholz et al., 2006). Andere Beweise für die These könnten durch Präventionsstudien zur primären als auch sekundären Prävention und zum

Aufhalten des „atopischen Marsches“ erbracht werden. Einige dieser Ansätze dazu werden in einem späteren Kapitel (siehe Diskussion) separat diskutiert.

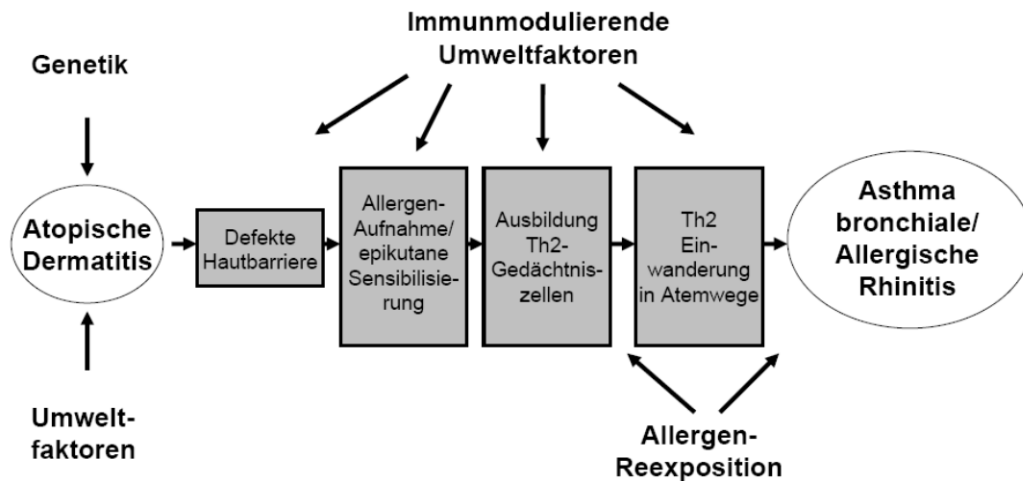


Abb.2 Momentan favorisierter Pathomechanismus des „atopischen Marsches“ (modifiziert nach Dharmage et al (Dharmage et al., 2013)

1.2 Pathophysiologie der Entwicklung einer Sensibilisierung und klinisch relevanten Allergie

1.2.1 Entwicklung einer Sensibilisierung

Der Sensibilisierungsprozess wird über das spezifische Immunsystem ausgelöst. Am Anfang steht eine Allergenaufnahme, die entweder, wie schon oben erwähnt, über die Haut, meistens allerdings über mukosale Wege wie den Atemwegen oder der Darmschleimhaut, zu geringen Mengen auch diaplazentar/ *in utero* (Loibichler et al., 2002) erfolgen kann. Genetische Prädisposition, Route, Timing als auch Dosis der Allergenexposition und biochemische, strukturelle Charakteristika der Allergene und deren Stabilität

können die Entwicklung einer Sensibilisierung beeinflussen (Valenta et al., 2004). Die aufgenommenen Allergene werden von Antigen-präsentierenden Zellen wie den gewebständigen dendritischen Zellen, Makrophagen und Langerhanszellen der Haut aufgenommen und prozessiert (siehe Abbildung 3). Die so „beladenen“ Antigen-präsentierenden und aktivierten Zellen wandern dann in die drainierenden lymphatischen Gewebe wie Lymphknoten bzw. Peyersche Plaques ein, wobei sie einen Reifungsprozess durchleben. Dort bildet sich dann die „immunologische Synapse“. Peptide der Allergene werden im MHC-Klasse2-Komplex zusammen mit anderen kostimulatorischen Molekülen auf der Oberfläche der Antigen-präsentierenden Zelle (APC) exprimiert und so Antigen-spezifischen T-Zell-Rezeptoren (TCR) von naiven, ruhenden $CD4^+$ -T-Zellen präsentiert, die daraufhin eine Kopplung damit eingehen und selber aktiviert werden. Je nachdem in welchem Milieu diese Interaktion zwischen Antigen-präsentierender Zelle und T-Zelle geschieht, kommt es entweder zur T-Helfer1 (Th1)-, Th2- oder regulatorischen T- Zellprogrammierung.

Coffman und Mosmann (zusammengefasst in (Coffman, 2006) waren die ersten Immunologen, die die Differenzierung der $CD4^+$ -T-Zellen in Th1 und Th2 anhand von murinen T-Zell-Klonen beschreiben konnten. So ist seitdem wiederholt nachgewiesen worden, dass beide T-Zell-Typen sich in ihrer spezifischen Zytokinsekretion unterscheiden. So produzieren Th1-Zellen die Zytokine Interleukin (IL)-2, Tumor-Nekrose-Faktor (TNF-) α und Interferon (IFN-) γ , währenddessen Th2-Zellen die Zytokine IL-4, IL-5, IL-9 und IL-13 produzieren. Th1-Zellen bzw. deren IFN- γ -Produktion sind für die Abwehr von intrazellulären Erregern durch die Aktivierung von Makrophagen und für die IgG-Produktion durch Aktivierung von B-Zellen wichtig. Dadurch wird die Fähigkeit von Makrophagen zur Lyse von Bakterien vereinfacht. IFN- γ fördert auch zytotoxische Reaktionen gegen Tumor- oder Virus-infizierte- Zellen. Außerdem hemmt es die Th2- Differenzierung und kann somit eine Inhibition der allergischen Immunantwort bedingen. Für die Ausbildung einer allergischen Sensibilisierung ist die Zellpolarisierung in die Th2-Richtung

maßgebend. So wird durch die Produktion von IL-4 und IL-13 eine Aktivierung von B-Zellen initiiert, die zu dem typischen Isotypenswitch und der IgE-Produktion (=Sensibilisierung) führt.

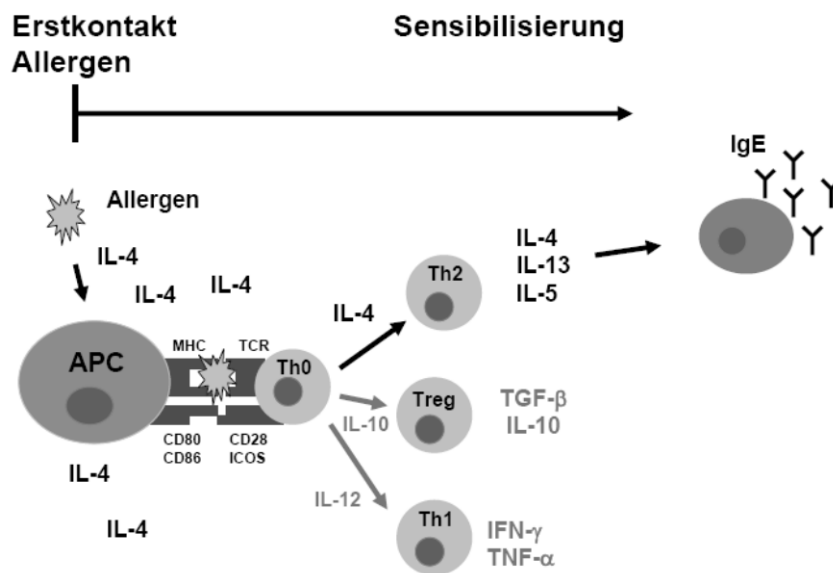


Abb.3 Schematische Darstellung des Sensibilisierungsprozesses.

Nach Allergen-Aufnahme und Aktivierung von Antigen-präsentierenden Zellen (APC), kommt es zur MHC-Komplex-abhängigen Präsentation der Allergen-Peptide auf der Oberfläche der APCs. In Zusammenspiel von einem IL-4 Milieu und kostimulatorischen Molekülen kommt es zur Ankopplung durch den Allergen-spezifischen T-Zell-Rezeptor (TCR) und zur Aktivierung der naiven T-Zelle, die mittels IL-4 zu einer Th2-Zelle differenziert. Diese schüttet Th2-spezifische Zytokine, wie z.B. IL-4 und IL-13, aus, die eine Aktivierung von B-Zellen und den Isotypenswitch zur IgE-Produktion vermitteln.

Wie schon vorher erwähnt, ist es für die Ausdifferenzierung der Th2-Zelle wichtig, wie bzw. in welchem Mikromilieu die immunologische Synapse

zwischen der Antigen-präsentierenden Zelle und der naiven T-Zelle erfolgt. Für die Th1-Differenzierung sind mittlerweile die Mechanismen bekannt: So kommt es im Zuge der Aktivierung von z.B. Toll-like-Rezeptoren (TLRs) durch bestimmte Bakterien auf der Oberfläche der APCs zur Transkription unter anderem von IL-12, welches in der naiven CD4⁺-Zelle die Transkription und somit Produktion von IFN- γ induziert. Die genauen Mechanismen für ein Th2-„Priming“/ Differenzierung sind noch nicht klar. So ist momentan bekannt, dass zum einen die Gegenwart von thymic stromal lymphopoietin (TSLP), welches in Epithelzellen gebildet wird, notwendig für die Th2-Differenzierung ist (Liu, 2007; Ziegler and Artis, 2010). Es mehren sich auch die Daten dazu, dass eine gleichzeitige Expression von kostimulatorischen Molekülen wie dem OX40-Ligand auf den APCs notwendig scheint (Liu, 2007). IL-4 kann sicherlich als das „Masterzytokin“ für die Differenzierung der naiven T-Zelle zur Th2-Zelle angesehen werden (Coffman, 2006). Es ist allerdings immer noch unklar, von welcher Zelle die initiale Bereitstellung von IL-4 erfolgt. Es wurde postuliert, dass z.B. basophile Granulozyten als Initiator der allergischen Immunantwort und Bereitsteller des IL-4 gelten könnten (Karasuyama et al., 2009).

1.2.2 Entwicklung einer klinisch relevanten Allergie

1966 konnten Ishizaka et al (Ishizaka et al., 1966) und auch unabhängig von ihnen 1967 Johansson et al. (Johansson and Bennich, 1967) zeigen, dass die allergische Soforttyp (Typ I)-Reaktion durch IgE vermittelt wird. Nach erfolgter Sensibilisierung und der Produktion von Allergen-spezifischen IgE-Antikörpern gehen diese in die Blutbahn über und binden an hochaffinen Fc-IgE-Rezeptoren (Fc ϵ -RI) auf gewebständigen Mastzellen und im Blut zirkulierenden basophilen Granulozyten (siehe Abb.4). Kommt es zu einer erneuten Allergenexposition, z.B. auf den Schleimhäuten der Atemwege, bindet das Allergen an die Allergen-spezifischen, zellständigen IgE-Moleküle. Es kommt zu einer Kreuzvernetzung von mindestens zwei IgE-Molekülen, welches zu einer Aktivierung der Mastzelle oder der basophilen Granulozyten führt mit konsekutiver Freisetzung von präformierten Mediatoren wie Histamin. Dies führt durch vermehrte Kapilarpermeabilität z.B. im nasalen

Bereich zu einer Schwellung der Nasenschleimhaut mit Fließschnupfen, vermehrtem Juckreiz und Niesreiz. In den tieferen Atemwegen kann dies zu einer Kontraktion der bronchialen Muskulatur, zum Ödem der Bronchialschleimhaut führen oder im Darm zur Hypermobilität.

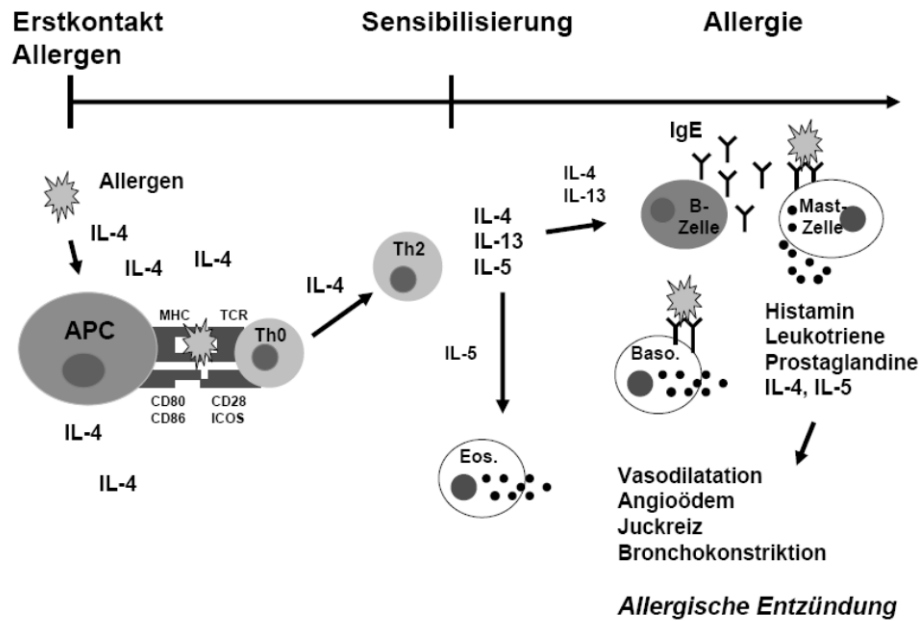


Abb. 4 Schematische Darstellung der Ausbildung einer klinisch relevanten Allergie.

Nach Ausbildung Allergen-spezifischer Th2-Zellen werden durch die IL-4 und IL-13-Produktion B-Zellen aktiviert, die IgE produzieren. IgE bindet an gewebständigen Mast-Zellen und basophilen Granulozyten. Bei erneutem Allergenkontakt und Bindung an die zellständigen IgE-Moleküle kommt es durch Kreuzvernetzung zu einer Aktivierung von Mastzellen und basophilen Granulozyten, die Histamin ausschütten und die typischen Symptome einer Sofortreaktion auslösen. Außerdem wird Eotaxin, Leukotrien C4 und Prostaglandin D2 freigesetzt, welches zusammen mit IL-5 zu einer Expression von Adhäsionsmolekülen und Chemotaxis führt, so dass eine chronische allergische Entzündung entsteht.

Durch die Ausschüttung von Th2-spezifischen Zytokinen und Histamin werden andere lokale Mediatoren wie Eotaxin, Leukotrien C₄, Prostaglandin D₂ und multiple Chemokine freigesetzt, die chemotaktisch wirken und zu einer Expression von lokalen Epithel-Adhäsionsmolekülen führen. So kommt es zu einem Influx von inflammatorischen Zellen wie den eosinophilen und basophilen Granulozyten und weiteren CD4⁺-Th2 Zellen, welches zu einer Spätreaktion bzw. zur Ausbildung einer chronische allergischen Entzündung führt. IL-5 bewirkt dabei zusätzlich eine Reifung der eosinophilen Granulozyten im Knochenmark und Einwanderungshilfe in das entzündliche Geschehen (zusammengefasst in (Blumchen et al., 2001; Ozdemir et al., 2010).

Die meisten dieser Erkenntnisse sind anhand von murinen Allergiemodellen gewonnen worden. Aber auch anhand von Biopsien bei betroffenen Allergikern konnte die typische allergische Entzündungsreaktion in den unterschiedlichen Organsystemen wiederholt nachgewiesen werden. So zeigte sich in Gewebsbiopsien von Patienten, die an einem Asthma bronchiale gestorben sind, als auch in Schleimhautbiopsien, Bronchiallavagen und Sputen von milden bis schweren Asthmatikern, dass eine Entzündungsreaktion vorlag, die charakterisiert war durch eosinophile Granulozyten, Mastzellen, aktivierten CD4⁺-T-Zellen, die ein Th2-Zytokinprofil aufwiesen, und B-Zellen (zusammengefasst in (Blumchen et al., 2001). Auch in Biopsien bzw. Nasenspülwasser von Patienten mit allergischer Rhinokonjunktivitis konnte diese typische allergische Entzündung nachgewiesen werden (zusammengefasst in (Pawankar et al., 2011). Es zeigte sich z.B. auch, dass in gesunden Probanden keine basophilen Granulozyten in der nasalen Schleimhaut nachgewiesen werden konnten, dass aber bei Patienten mit allergischer Rhinokonjunktivitis diese nachweisbar waren. Die Anzahl der basophilen Granulozyten konnte auch mit dem Schweregrad der Erkrankung korreliert werden. In Hautbiopsien von Patienten mit atopischer Dermatitis im akuten Schub konnten in der Dermis hauptsächlich aktivierte CD4⁺-Gedächtnis-T-Zellen, die IL-4, IL-5 und IL-13 mRNA exprimieren, als auch IgE-tragende Antigen-präsentierende Zellen,

wie Langerhanszellen, Macrophagen und dendritische epidermale Zellen, eosinophile Granulozyten und Mastzellen nachgewiesen werden (zusammengefasst in (Werfel, 2009). Aber auch in Hautbiopsien von nicht akut entzündeten Arealen bei Patienten mit atopischer Dermatitis konnten mikroskopisch perivaskuläre Th2-Zellen als auch Mastzellen nachgewiesen werden. Im Gegensatz zur atopischen und nicht-atopischen Kontrollgruppe enthielten Dünndarmbiopsien von Patienten mit durch orale Provokation gesicherter Nahrungsmittelallergie vermehrt intraepitheliale als auch in der Lamina propria vermehrt Lymphozyten, mononukleäre Zellen, Mastzellen und IL-5 exprimierende Eosinophile (Vandezande et al., 1999). Turcanu et al. konnte unter Verwendung von Carboxyfluorescein succinimidyl Ester (CFSE) als Proliferationsmarker peripher gewonnene allergen-spezifische T-Zellen von Kindern mit Erdnussallergie charakterisieren (Turcanu et al., 2003). Diese T-Effektor-Zellen wiesen ein typisches Th2 Muster (IFN- γ niedrig, TNF- α niedrig, IL-4 hoch, IL-5 hoch, IL-13 hoch) auf, währenddessen T-Zellen von gesunden Kindern ein typisches Erdnuss-spezifisches Th1- Zytokinmuster zeigten (IFN- γ hoch, TNF- α hoch, IL-4 niedrig, IL-5 niedrig, IL-13 niedrig).

1.3 Mechanismen der immunologischen peripheren Toleranz

Autoreaktive T-Zellen, deren TCR körpereigene Antigene erkennen können, werden schon im Reifungsstadium der T-Zellen z.B. im Thymus deletiert. Dies wird als zentrale Toleranz bezeichnet. Als periphere Toleranz wird das Nichtansprechen auf Fremddantigene bezeichnet. Die immunologische Auseinandersetzung mit Fremddantigenen findet in peripheren lymphatischen Organen statt, wobei das erworbene (adaptive) Immunsystem dafür eine bedeutende Rolle spielt. Als hauptsächlicher „Masterplayer“ für die Ausbildung einer peripheren Toleranz, z.B. gegenüber harmlosen Umweltmolekülen wie den Allergenen, wird die CD4⁺-T-Zelle angesehen. So können verschiedene Mechanismen dazu führen, dass eine Allergen-spezifische naive T-Zelle nicht zu einer reifen Th2-Zelle heranreift und somit

keine allergische Entzündungskaskade in Gang setzt (zusammengefasst in (Ozdemir et al., 2010)).

Ausbildung einer Anergie: Damit eine vollständige T-Zellaktivierung stattfindet, benötigt es zwei Signale: Zum einen muss es in der „immunologischen Synapse“ zu einer Interaktion zwischen dem am MHC-II-Komplex gekoppelten Allergenpeptid und dem TCR kommen. Zum anderen muss gleichzeitig ein zweites Signal durch kostimulatorische Moleküle stattfinden. So wird Signal 2 durch eine Kostimulation von CD28 auf der T-Zelle mit CD80 (B7.1)/CD86 (B7.2) auf der APC vermittelt. Andere kostimulatorische Moleküle wie ICOS oder CD40Ligand können dadurch auch hochreguliert werden. Fehlt das Signal 2, kommt es zu keiner vollständigen Aktivierung der T-Zelle sondern zur sogenannten „Anergie“. Als solches wird ein immunologischer „Schlafzustand“ der T-Zelle bezeichnet, wobei die T-Zelle dadurch charakterisiert ist, dass sie nicht proliferiert und kein IL-2 ausschüttet.

Polarisierung in Th1-Zelle: Wie schon oben erwähnt, kann es bei Präsentation des z.B. harmlosen Umweltmoleküls durch eine APC im entsprechenden Zytokin- Mikromilieu, wie dem IL-12, zu einer Polarisierung in die Th1-Richtung kommen. Mit der Produktion von IFN- γ kann dann auch gleichzeitig die Polarisierung sich in der Nähe befindlicher naiver T-Zellen in Richtung Th2-Zelle unterdrückt werden. Dies wird als „Bystander Suppression“ bezeichnet.

Ausbildung regulatorischer T-Zellen (Treg): Aus CD4⁺CD25⁻-Vorläuferzellen können sich im entsprechenden Zytokin-Mikromilieu (IL-10, TGF- β) bei Fremdartigenkontakt in der Peripherie adaptiv antigenspezifische, regulatorische T-Zellen bilden, die im Laufe der Reifung CD25⁺ (IL-2-Rezeptor α -Kette) und den Transkriptionsfaktor forkhead box protein (Foxp3) exprimieren. Diese Zellen können dann wiederum durch die Ausschüttung „tolerogener“ Zytokine wie IL-10 und TGF- β inhibitorisch gegenüber Th2-Zellen agieren. Man unterscheidet zwei Subpopulationen: Th3-Zellen sind durch die Produktion von TGF- β charakterisiert, sind meistens im Darm lokalisiert und sind maßgeblich an der immunologischen Toleranz gegenüber

Nahrungsmittel beteiligt. Treg-Zellen setzen hauptsächlich IL-10 frei. IL-10 kann zu einer Inhibition der Kostimulation von CD28 und ICOS führen. Es kann aber auch Effektorzell-Aktivität z.B. der eosinophilen Granulozyten inhibieren und die IL-5-Produktion von Th0- und Th2-Zellen supprimieren. Daten unterstützen die Annahme, dass im Fall einer Allergie das Gleichgewicht zwischen Th2-Zellen und Treg-Zellen unausgeglichen ist.

Klinische Daten mehrten sich, dass das Konzept der Toleranzentwicklung gegenüber Allergenen diesen aus der Grundlagenforschung ermittelten Thesen entspricht. So zeigt sich unter anderem auch, dass man während einer systemischen Immuntherapie Allergen-spezifisch, z.B. auch durch Treg-Zellen vermittelt, eine Toleranz induzieren kann. Die vorherrschenden Toleranzmechanismen können klinisch zum einen an der Gruppe der „Gesunden“ untersucht werden. Wenn man z.B. PBMCs von gesunden Probanden *in vitro* mit Hausstaubmilbenallergen stimuliert, so proliferieren die Zellen weniger und produzieren somit auch weniger IL-5 und IL-4 als z.B. PBMCs der asthmatischen Hausstaubmilbenallergiker (z.B. (Till et al., 1997). CD4⁺CD25⁺-Zellen von Gesunden, nicht-atopischen Probanden, die mit Gräserextrakt *in vitro* stimuliert wurden, konnten deutlich die Proliferation und IL-5 Produktion der eigenen T-Zellen supprimieren, welches nicht so ausgeprägt bei den Gräserpollen-Allergikern nachweisbar war (Ling et al., 2004). Auch anhand der Gruppe der „ehemals allergischen Patienten“, die eine spontane Toleranz gegenüber dem ehemalig Allergie-auslösendem Antigen im Laufe des Lebens ausgebildet hatten, konnten spezifische Toleranzmechanismen untersucht werden. Wie schon oben erwähnt, konnten z.B. Turcanu et al. bei allergen-spezifischen T-Zellen von Kindern mit Erdnussallergie zeigen, dass diese ein Th2-typisches Zytokinmuster aufwiesen (IFN- γ niedrig, TNF- α niedrig, IL-4 hoch, IL-5 hoch, IL-13 hoch), währenddessen Erdnuss-spezifische T-Zellen von gesunden Kindern als auch von Kindern, die ihre Erdnussallergie spontan verloren hatten, ein Th1-Zytokinmuster (IFN- γ hoch, TNF- α hoch, IL-4 niedrig, IL-5 niedrig, IL-13 niedrig) aufwiesen (Turcanu et al., 2003). Alle Probanden (Erdnuss-allergisch, gesund, ehemals Erdnuss-allergisch) wiesen ein Th1-Zytokinprofil

auf, wenn deren PBMCs mit einem nicht- allergenen Nahrungsmittel, wie dem Ovalbumin, *in vitro* stimuliert wurden (Turcanu et al., 2003).

2. EIGENE ARBEITEN

2.1 Fragestellung

Ziel der hier vorliegenden Arbeiten war es, Einflussfaktoren auf die Sensibilisierung und Ausprägung einer allergischen Erkrankung zu untersuchen und dabei weitere Hinweise für ein Vorliegen des atopischen Marsches zu erlangen. Des Weiteren wurden immunmodulatorische Ansätze untersucht, die sowohl präventiv als auch therapeutisch die Sensibilisierung, allergische Reaktion und Fortschreiten des atopischen Marsches beeinflussen könnten.

Die Arbeit beinhaltet Untersuchungen

- zum Stellenwert der Sensibilisierung auf die Schwere der klinischen Ausprägung einer allergischen Erkrankung.
- zu Einflüssen der Sensibilisierung auf das Fortschreiten des atopischen Marsches mit Ausbildung von weiteren Sensibilisierungen und allergischen Erkrankungen.
- zu möglichen Ansätzen zur primären Prävention von Sensibilisierung, allergischer Erkrankung und vom atopischen Marsch durch Allergenmeidung oder Immunmodulation.
- zu möglichen Ansätzen zur Therapie der allergischen Erkrankung durch Immunmodulation.

2.2 Die Stärke der Sensibilisierung und der Th2-vermittelten Immunantwort beeinflusst den Schweregrad der allergischen, klinischen Reaktion am Beispiel der Nahrungsmittelallergie.

P1 Blumchen K., Beder A., Beschorner J., Ahrens F., Gruebl A., Hamelmann E., Hansen G., Heinzmann A., Nemat K., Niggemann B., Wahn U., Beyer K. *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.

Zur Ausbildung einer Sensibilisierung und klinisch relevanten Allergie ist das Vorliegen einer Th2-gerichteten Immunantwort pathognomonisch. So wird auch im klinischen Alltag Allergen-spezifisches IgE oder die Reaktivität von Haut-ständigen Mastzellen mittels Hautpricktest bestimmt. Das alleinige Vorliegen einer so diagnostizierten Sensibilisierung weist allerdings keine klinisch relevante Allergie direkt nach. Je höher allerdings der Sensibilisierungsnachweis ist, desto wahrscheinlicher ist es, dass auch eine klinisch relevante Allergie vorliegt (z.B. gezeigt für Hühnereiallergie in (Celik-Bilgili et al., 2005).

Es gibt allerdings widersprüchliche Ergebnisse, ob bei schon bekannter, klinisch relevanter Allergie die Höhe der Sensibilisierung und die Ausprägung der Th2- Immunantwort einen Einfluss auf die klinische allergische Reaktion im Alltag oder auch unter alltagsähnlicher Situationen, wie Provokationstestungen, haben. In der hier vorgestellten Studie konnten wir eine Korrelation zwischen Allergen-spezifischen B-Zell, T-Zell- und Effektorzell-Markern und der Allergen-spezifischen allergischen Reaktion unter oraler Provokation bei Erdnussallergikern mittels eines neuen, modifizierten Provokationsprotokolls zeigen. Anstelle von im Standardprotokoll vorgesehenen 30-Minuten-Intervallen zwischen Dosissteigerungen, wurden im modifizierten Protokoll Dosissteigerungen alle zwei Stunden durchgeführt. Das Ziel war es, kumulative Effekte zu

minimieren und somit genauere, „lebensnähere“ individuelle Reaktionsschwellen zu erhalten, welche auch für die Nahrungsmittelindustrie bzw. deren Allergendecklaration wichtig wären. Die meisten Erdnussallergischen Kinder dieser Studie zeigten erst > 30 Minuten nach Einnahme der Reaktions-Dosis eine objektive allergische Reaktion. Im Median reagierten die Kinder mit einer Latenz von 55 Minuten. Je höher die Sensibilisierung und Th2-Immunantwort bei den Patienten ausgeprägt war, desto niedriger war deren Reaktionsschwelle unter Provokation, welches als Marker für die Schwere der Erkrankung angesehen werden kann.

Blumchen K., Beder A., Beschorner J., Ahrens F., Gruebl A., Hamelmann E., Hansen G., Heinzmann A., Nemat K., Niggemann B., Wahn U., Beyer K. *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.

URL:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2014.03.035>

2.3 Das Vorliegen und die Stärke der Ausprägung einer Th2-vermittelten Immunantwort triggert die Ausbildung des atopischen Marsches- ein direkter Nachweis des „Sensitization Spreadings“ im Mausmodell.

P2 Blumchen K., Gerhold K., Schwede M., Niggemann B., Avagyan A., Dittrich AM., Wagner B., Breiteneder H., Hamelmann E. *Effect of established allergen sensitisation on immune responses and airway reactivity following sensitisation with a secondary allergen.* J Allergy Clin Immunol 2006, 118(3):615-21.

Die Frage besteht, ob die spezielle Abfolge der allergischen Erkrankungen und Sensibilisierungsmuster im Rahmen des atopischen Marsches kausal zusammenhängen. Entweder triggert das Auftreten einer atopischen Dermatitis und Sensibilisierung alle weiteren Phänomene (z.B. Ausbildung einer Nahrungsmittelallergie, gefolgt von Asthma bronchiale und/oder allergischen Rhinokonjunktivitis) und löst einen Circulus vitiosus aus, oder es gibt für alle diese allergischen Manifestationen einen genetischen Hintergrund oder bestimmte gleiche Umweltfaktoren, die dazu prädestinieren, dass ein Individuum diese Erkrankungsfolge durchleidet.

Durch die hier dargestellten Untersuchungen am Mausmodell (**P2**) konnten wir zeigen, dass das Vorliegen einer primären Sensibilisierung und somit Allergen-spezifischen Th2-vermittelten Immunantwort den atopischen Marsch im Sinne eines „Sensitization spreadings“ begünstigt und dass die Stärke dieser primären Immunantwort die folgenden Th2-Immunreaktionen gegenüber anderen Allergenen beeinflusst. Dies war auch unabhängig von dem Allergen, was die primäre Sensibilisierung auslöste. Somit scheint es wahrscheinlich, dass eine primäre Th2-Immunantwort alle weiteren Schritte des atopischen Marsches triggert, und dass das Phänomen „atopischer Marsch“ nicht alleinig durch genetische Faktoren bestimmt wird.

Blumchen K., Gerhold K., Schwede M., Niggemann B., Avagyan A., Dittrich AM., Wagner B., Breiteneder H., Hamelmann E. *Effect of established allergen sensitisation on immune responses and airway reactivity following sensitisation with a secondary allergen.* J Allergy Clin Immunol 2006, 118(3):615-21.

URL:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2006.04.054>

2.4 Durch präventive Meidung des Allergens kann die Ausbildung einer atopischen Erkrankung verhindert werden und der atopische Marsch beeinflusst werden- ein indirekter Hinweis für das Vorliegen des atopischen Marsches im „humanen Modell“.

P3 Blumchen K., Bayer P., Buck D., Michael T., Cremer R., Fricke C., Henne T., Peters H., Hofmann U., Keil T., Schlaud M., Wahn U., Niggemann B. *Effects of latex avoidance on latex sensitization, atopy and allergic patients with spina bifida*. Allergy 2010, 65(12):1585-93.

Es gibt unterschiedlichste präventive Ansätze zur Verhinderung der Entstehung und des Fortschreitens atopischer Erkrankungen. Die effektivste Methode im Sinne einer primären Prävention wäre, eine primäre Sensibilisierung und Ausprägung einer Allergen-spezifischen Th2-Immunantwort zu verhindern. Ein sehr einleuchtender Interventionsansatz wäre z.B. das einfache Meiden eines Allergens. Für verschiedene Allergene (Hausstaubmilbe, Tierhaare, Kuhmilch) wurde dies auch schon in unterschiedlichen epidemiologischen Interventionsstudien näher untersucht, mit widersprüchlichen Ergebnissen. Diese könnten eventuell dadurch erklärt werden, dass eine komplette bzw. rigorose Allergenelimination nicht konsequent durchgeführt werden konnte.

In der hier vorgestellten Untersuchung (**P3**) an Kindern mit Spina bifida konnte gezeigt werden, dass durch das konsequente Meiden von Latexallergen, im Sinne einer Latexfreien neonatalen, ersten Operation, und im weiteren Verlauf auch meist durchgeführten Latex-freien-Prophylaxe bei diesen Kindern die Entstehung einer Latexsensibilisierung und Latexallergie verhindert werden konnte, im Gegensatz zu einer „historischen“ Kontrollgruppe, die diese Allergenmeidung nicht durchgeführt hatte. Zusätzlich konnte gezeigt werden, dass das Fortschreiten des atopischen Marsches mit Ausprägung von Sensibilisierungen gegenüber anderen Allergenen und Entstehung anderer atopischer Erkrankungen in der

Studiengruppe verhindert werden konnte im Gegensatz zur „historischen Kontrollgruppe“. Da eine fast komplette Allergenmeidung in diesem „humanen Modell“ wahrscheinlich erlangt werden konnte, könnte diese Untersuchung auch als „proof of concept“ gelten, dass durch Allergenmeidung eine primäre Prävention und Aufhalten des atopischen Marsches möglich ist.

Blumchen K., Bayer P., Buck D., Michael T., Cremer R., Fricke C., Henne T., Peters H., Hofmann U., Keil T., Schlaud M., Wahn U., Niggemann B. *Effects of latex avoidance on latex sensitization, atopy and allergic patients with spina bifida*. Allergy 2010, 65(12):1585-93.

URL:

<http://dx.doi.org/10.1111/j.1398-9995.2010.02447.x>

2.5 Durch präventive Immunmodulation kann die Ausprägung einer systemischen Th2-Immunantwort, allergischen Atemwegsentzündung und Atemwegshyperreagibilität reduziert werden am Beispiel der Histamin 1-Rezeptor-Blockade im Mausmodell.

P4 Blumchen K., Gerhold K., Thorade I., Seib C., Wahn U., Hamelmann E.
Oral administration of desloratadine prior to sensitization prevents allergen-induced airway inflammation and hyper-reactivity in mice. Clin Exp Allergy 2004 Jul, 34(7):1124-30.

Das Prinzip der Immunmodulation könnte auch ein effektiver Ansatz sein für eine primäre Prävention von atopischen Erkrankungen. Histamin hat einen bedeutenden Stellenwert in der Soforttyp-Reaktion, währenddessen hinlänglich bekannt ist, dass die Blockade von Histamin, wie z.B. der Einsatz von Antihistaminika, in der Therapie von chronischen allergischen Entzündungen, wie dem Asthma bronchiale, nicht effektiv ist. Von *In vitro*-Studien an T-Zellen und APC-Kulturen ist allerdings bekannt, dass die Aktivierung oder Blockade (zusammengefasst in (Canonica and Blaiss, 2011)) von Histamin 1 (H1)- oder H2- Rezeptoren zu einer Expressionsveränderung von kostimulatorischen Molekülen und zur Modulation der Zytokinausschüttung führen kann. So könnte Histamin eine Bedeutung in der Entstehung und die Blockade von Histamin eine Bedeutung zur präventiven Immunmodulation der allergischen Entzündung haben.

Hier dargestellt (**P4**) ist der Effekt der präventiven, systemischen Gabe von einem H1-Rezeptor-Antagonisten der zweiten Generation (Desloratadin) oder Placebo kurz vor und während der Sensibilisierungsphase auf die

anschließende Ausbildung einer allergischen, pulmonalen Entzündung und Atemwegshyperreagibilität nach inhalativer Allergen-Provokation anhand eines Mausmodells für Atemwegshyperreagibilität. Sowohl die Allergenspezifische Th2-Immunantwort als auch die eosinophile, pulmonale Entzündung und Atemwegshyperreagibilität konnten durch die primärpräventive Gabe von Desloratadin supprimiert werden, im Gegensatz zur Placebo-Gabe. Diese Daten können die *In vitro*-Daten des immunmodulatorischen Effekts der Histamin-Blockade auf die allergische Immunantwort anhand eines Tiermodells belegen. Sie deuten daraufhin, dass H1-Rezeptor-Antagonisten eventuell wirksam in der primären Prävention von atopischen Erkrankungen sein könnten.

Blumchen K., Gerhold K., Thorade I., Seib C., Wahn U., Hamelmann E. *Oral administration of desloratadine prior to sensitization prevents allergen-induced airway inflammation and hyper-reactivity in mice.* Clin Exp Allergy 2004, 34(7):1124-30.

URL:

<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2222.2004.01974.x>

2.6 Durch therapeutische Immunmodulation kann die Ausprägung einer systemischen Th2-Immunantwort und allergischen Reaktion vermindert werden am Beispiel der oralen Immuntherapie bei Erdnuss-allergischen Kindern.

P5 Blumchen K., Ulbricht H., Staden U., Dobberstein K., Beschorner J., Camargo Lopes de Oliveira L., Shreffler W., Sampson H., Niggemann B., Wahn U., Beyer K. *Oral immunotherapy in children with peanut anaphylaxis*. J Allergy Clin Immunol 2010, 126(1):83-91.

Das Prinzip der Immunmodulation stellt auch momentan in Form der Allergen-spezifischen subkutanen (SCIT) und sublingualen (SLIT) Immuntherapie eine etablierte Therapievariante dar, die kausal in das Krankheitsgeschehen von atopischen Erkrankungen eingreifen kann (zusammengefasst in (Calderon et al., 2012)). Die klinische Wirksamkeit dieser spezifischen Immuntherapie (SIT) ist für allergische Rhinokonjunktivitis, Insektengift-Anaphylaxie und Asthma bronchiale gezeigt worden. Die immunmodulatorischen Mechanismen dieser Therapieform sind hauptsächlich an Patienten untersucht worden, die eine SCIT erhielten. Dabei zeigten sich Allergen-spezifische Effekte auf T-Zellen, wie der spezifischen Stimulation von dem Th0/Th1 Lymphozytenpool, der Ausbildung einer Allergen-spezifischen T-Zell-Anergie oder der Induktion von regulatorischen T-Zellen, die Allergen-spezifisch IL-10 oder TGF- β produzierten. Man geht auch davon aus, dass es unter Therapie zu einem Immunglobulin-Klassen-Switch kommt und dass Allergen-spezifische blockierende IgG4-Antikörper produziert werden (zusammengefasst in (Akdis and Akdis, 2014)).

Es gibt bislang keine kausale Therapie für Erdnuss-allergische Kinder. Die ärztliche Empfehlung, gestützt durch Diätberatung, beinhaltet das strikte Meiden des Allergens. Da Erdnuss in der Nahrungsmittelindustrie momentan sehr häufig auch in Spuren verwandt wird, ist das strikte Meiden von Erdnuss für Erdnussallergiker sehr schwierig. Es kommt häufig zu einem akzidentellen

Verzehr, wonach diese Patienten gefährdet sind, schwere anaphylaktische Reaktionen zu erleiden. So könnte die orale Immuntherapie (OIT) eine mögliche Therapieoption für diese Patientengruppe darstellen. Die hier dargestellte Studie, stellt eine der ersten, offenen Pilotstudien zur OIT bei 23 Erdnuss-allergischen Kindern dar. Die Kinder erhielten täglich eine kleine Menge zermörserter, gerösteter Erdnuss, wobei die Dosis- meistens langsam alle 2 Wochen- gesteigert wurde, bis die Kinder eine Erhaltungsdosis von ca. 1-2 Erdnuss täglich zu sich nehmen konnten. Die klinische Wirksamkeit zeigte sich anhand eines deutlichen Anstiegs der Reaktionsschwellen bei 14 von 23 Patienten, die die OIT bis zur Erhaltungsdosis durchführen konnten. Somit waren diese Patienten geschützt vor schwerer Reaktion nach versehentlichem Verzehr von Spuren von Erdnuss. Immunmodulatorische Effekte konnten auf T-Zellebene im Sinne einer T-Zell-Anergie und auf B-Zellebene nachgewiesen werden.

Blumchen K., Ulbricht H., Staden U., Dobberstein K., Beschorner J., Camargo Lopes de Oliveira L., Shreffler W., Sampson H., Niggemann B., Wahn U., Beyer K. *Oral immunotherapy in children with peanut anaphylaxis*. J Allergy Clin Immunol 2010, 126(1):83-91.

URL:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2010.04.030>

3. DISKUSSION

Atopische Erkrankungen sind komplexe Erkrankungen, bei deren Entstehung, Manifestation und Chronifizierung der Entzündungsreaktion eine Vielzahl von interagierenden Immunzellen beteiligt sind. Auch ist bekannt, dass die Ausbildung einer atopischen Erkrankung ein multifaktorielles Geschehen ist, wobei genetische Faktoren und Umwelteinflüsse die Ausbildung einer Sensibilisierung und Ausprägung einer klinisch relevanten Allergie beeinflussen. Außerdem gibt es viele epidemiologische Hinweise, dass bei Initiierung der allergischen Sensibilisierung nicht nur eine ganze Kaskade an Folgeimmunreaktionen ausgelöst wird, sondern, dass auch ein Circulus vitiosus entsteht, der durch multiple, meist nicht-vermeidbare Boosterung weiter angetrieben wird, so dass ein atopischer Marsch daraus resultiert. Um die einzelnen Faktoren und immunologische Reaktionen genauer zu untersuchen, Bedarf es zum einen der Grundlagenforschung anhand von z.B. Mausmodellen, aber auch Übertragung der so gewonnen Erkenntnisse von „Bench to Bedside“ auf „humane Modelle“. Die vorliegende Arbeit versucht diesen Transfer und untersuchte Einflussfaktoren auf die Sensibilisierung und allergische Immunantwort als auch deren Immunmodulation an murinen und „humanen Modellen“.

3.1 Korrelation zwischen Höhe der Sensibilisierung/Th2-vermittelten Immunantwort und dem Schweregrad der allergischen Reaktion

Aus einem immunologischen Grundverständnis heraus, könnte man die These als selbstverständlich erachten, dass eine verstärkte systemische Sensibilisierung und Th2-Immunantwort auch zu einer vermehrten lokalen allergischen Entzündungsreaktion nach erneutem Allergenkontakt und dies auch zu einer verstärkten allergischen Reaktion bzw. Symptomen führt. Mit der Etablierung von Mausmodellen für die Atemwegshyperreagibilität vor ca.

20 Jahren konnte dies zum Teil gezeigt werden (z.B. (Sakai et al., 1999). Immunisierte man Mäuse mit unterschiedlichen Mengen eines Standard-Allergens (Ovalbumin (OVA) in ALUM) intraperitoneal und provozierte diese Mäuse inhalativ nach 14 Tagen mit dem gleichen Allergen, so kam es zu einer unterschiedlich starken Induktion einer systemischen Th2-Immunantwort mit Allergen-spezifischer IL-4-, IL-5- und IgE-Produktion, welches mit der lokalen pulmonalen, eosinophilen, allergischen Entzündungsreaktion und im Bodyplethysmographen mittels Methacholinprovokation gemessenen Atemwegshyperreagibilität korrelierte. Andere Gruppen konnten aber diese Korrelation im Mausmodell nicht zeigen (Clarke et al., 1999).

Auch im „humanen Modell“ ist die Assoziation zwischen Allergen-spezifischem IgE und z.B. der Symptomstärke gemessen aus einem Symptom- und Medikamentenscore bei saisonaler allergischer Rhinokonjunktivitis, besonders bei Erwachsenen, nicht immer nachweisbar (Nickelsen et al., 1986; Somville et al., 1989). Unsere Gruppe konnte allerdings bei Gräserpollen- allergischen Kindern zeigen, dass eine signifikante, positive Korrelation zwischen Gräserpollen-spezifischen IgE-Titern vor der Pollensaison und auch während der Pollensaison und dem „symptom load“ (Summe des medianen täglichen Symptom- und Medikamentenscores) während der Gräserpollensaison nachzuweisen war (Rolinck-Werninghaus et al., 2008). Auch für Hausstaubmilben-sensibilisierte Kinder mit Asthma bronchiale konnte eine Korrelation zwischen Dermatophagoides pteronyssinus-spezifischen IgE-Titern und der Schwere des Asthmas (intermittierend-mild-moderat) nachgewiesen werden (Kovac et al., 2007). Für atopische Dermatitis konnte gezeigt werden, dass Kinder mit einem höheren klinischen Schweregrad, gemessen am SCORAD, vermehrt eine Sensibilisierung gegenüber Nahrungsmitteln (Hill et al., 2008), aber auch gegenüber inhalativen Allergenen aufwiesen (Laske and Niggemann, 2004). Hier scheint aber die Höhe des spezifischen IgEs keine direkte Korrelation zum SCORAD zu haben.

Es gibt mehrere Studien, die die These, ob die Höhe der systemischen Sensibilisierung mit dem Schweregrad einer allergischen Reaktion korreliert, bei Nahrungsmittelallergikern untersuchten (Benhamou et al., 2008; Eller et al., 2012; Flinterman et al., 2007; Hourihane et al., 2005; Osterballe and Bindslev-Jensen, 2003; Peeters et al., 2007; Rolinck-Werninghaus et al., 2012; Sicherer et al., 2000b; van der Zee et al., 2011; Wensing et al., 2002). Dabei wurde meist quantitativ Allergen-spezifisches IgE oder der Quaddeldurchmesser im Hautpricktest mit dem Schweregrad der allergischen Reaktion entweder bei akzidentellem Genuss vom Allergen im Alltag oder unter oraler Provokation korreliert. So wurde allerdings der Korrelation zur oralen Provokation- als fast Alltags-ähnliche, aber standardisierte Allergenexposition- einen größeren Stellenwert eingeräumt als der klinischen Reaktion auf eine nicht genau definierte Menge an Allergen bei versehentlichem Genuss. Wie auch in unserer Studie, ließ sich außerdem der Schweregrad der klinischen Reaktion unter oraler Provokation standardisiert anhand der Reaktionsschwelle und dem Schweregrad der Symptome bestimmen. Die meisten Studien dazu wurden retrospektiv und nur an einer geringen Anzahl von Studienteilnehmern durchgeführt und zeigten auch widersprüchliche Ergebnisse. Die hier vorgestellte Arbeit (**P1**) beinhaltet eine prospektive Studie an einer großen Anzahl von Erdnuss-allergischen Kindern, die zur Hochrisikogruppe gehörten, da sie hohe Erdnuss-spezifische IgE-Titer aufwiesen, häufig an einem Asthma bronchiale oder Atemwegshyperreagibilität litten und vermehrt schwere akzidentelle Reaktionen schon in der Anamnese aufwiesen. Es konnte eine eindeutige Korrelation in dieser Population zwischen multiplen Allergen-spezifischen Markern der systemischen Th2-Immunantwort und Effektorzellmarkern und dem Schweregrad der klinischen Reaktion, gemessen anhand der Reaktionsschwelle, aufgezeigt werden. Dies steht im Widerspruch zu einigen oben erwähnten Studien (Eller et al., 2012; Flinterman et al., 2007; Rolinck-Werninghaus et al., 2012; Sicherer et al., 2000b), die dies nicht zeigen konnten. Die orale Erdnussprovokation in der hier vorgestellten Studie wurde mittels eines neuen, modifizierten, mehr „lebensnahem“ Protokolls durchgeführt, wobei die Patienten in aufsteigender Dosierung alle zwei

Stunden die nächst höhere Provokationsdosis erhielten. Alle anderen, oben erwähnten Studien provozierten ihre Patienten im 15-30 Minuten-Rhythmus, so dass dies wahrscheinlich zu kumulativen Effekten für die genaue Bestimmung der Reaktionsschwelle (=Erdnussdosis) führte. Des Weiteren wurden in der hier vorgestellten Studie alle Provokationen vom gleichen Studienarzt, mit gleichen, objektiven Abbruchkriterien durchgeführt, welches einen besseren Vergleich zwischen den Patienten zuließ.

Da Provokationstestungen eine standardisierte, titrierte Allergen-Exposition darstellen, eignen sie sich auch bei anderen atopischen Erkrankungen dazu, die These zu untersuchen, ob eine verstärkte Sensibilisierung auch zu einer schwereren allergischen Reaktion führt. So konnten Schulze et al. mittels bronchialer Allergenprovokation bei 350 Hausstaubmilben-allergischen Kindern mit Asthma bronchiale, vergleichbar zu der hier vorgestellten Studie bei Nahrungsmittelallergikern (**P1**), eine sehr ähnliche inverse Korrelation (Spearman's Rangkoeffizient $r=-0,43$, $p<0,001$) zwischen Hausstaubmilben-spezifischen IgE-Titern und der Allergendosis, die bei bronchialer Provokation zu einem Abfall der Lungenfunktion (FEV₁) von 20% (PD₂₀FEV₁ Allergen) führte, zeigen (Schulze et al., 2013). Auch das exhalierete Stickstoffmonoxid (eNO), welches als klinischer Marker für die chronische allergische bzw. eosinophile Entzündung bei Asthma bronchiale gilt, und die Atemwegshyperreagibilität, gemessen mittels Methacholinprovokation (PD₂₀FEV₁ Methacholin), konnten mit der Reaktionsschwelle unter bronchialer Allergenprovokation (PD₂₀FEV₁ Allergen) signifikant korreliert werden. Eine Evaluation von klinischen Symptomen unter bronchialer Provokation wurde bei dieser Studie nicht durchgeführt.

In der hier vorgestellten Studie konnte allerdings keine Korrelation zwischen Markern der Th2-Immunantwort und basophilen Aktivität und der Ausprägung der klinischen Symptome unter oraler Provokation gemessen werden, ähnlich zu Ergebnissen von einigen schon oben erwähnten Studien zu oralen Provokationen bei Nahrungsmittelallergikern (Dang et al., 2012; Flinterman et al., 2007; Sicherer et al., 2000b). Dies war auch unabhängig von dem jeweilig

benutzen Symptom-Scoring-System. Der Schweregrad der klinischen Symptome der schwersten akzidentellen Reaktion in der Anamnese konnte auch nicht mit Markern der systemischen Th2-Immunantwort korreliert werden (Daten nicht gezeigt). Er konnte nur mit der Reaktionsdosis unter oraler Provokation korreliert werden. Dies stellt einen Hinweis dar, dass bei generell niedriger Reaktionsschwelle diese Patienten dann auch heftiger reagieren, wenn sie im Alltag eine nicht genau definierte (wahrscheinlich relativ hohe) Dosis von Erdnuss akzidentell zu sich nehmen.

Es scheint die Schwelle zur Auslösung einer allergischen Reaktion mit z.B. der Höhe der systemischen IgE-Produktion zu korrelieren. Im Gegensatz dazu scheint die Schwere der allergischen Reaktion eher nicht mit Sensibilisierungsmarkern oder auch systemischen Effektorzellmarkern zu korrelieren. Vielleicht ist dies eher abhängig von den gewebständigen Effektorzellen, wie den gewebständigen basophilen und eosinophilen Granulozyten oder Mastzellen, und deren Kapazität ihre vorgeformten Mediatoren und deren Menge plötzlich auszuschütten. Aufgrund der ethischen Limitation im „menschlichen Modell“ ist dies aber bislang noch nicht näher bei Nahrungsmittelallergikern mittels z.B. Biopsien untersucht worden. Bei Patienten mit Asthma bronchiale konnten allerdings andere Effektorzellmarker bzw. Marker für die Ausschüttung von Mediatoren der eosinophilen Granulozyten (z.B. dem Eosinophilen kationischen Protein (ECP) gemessen im Sputum oder als Anstieg im Serum während der Pollensaison) mit Markern für die Schwere der klinischen Reaktion wie Lungenfunktionseinschränkungen (FEV1-Abfall, Atemwegswiderstands-Erhöhung (Virchow et al., 1992) oder der Atemwegshyperreagilität (PD₂₀FEV₁ Methacholin) (Di Gioacchino et al., 2000) korreliert werden.

Es scheint somit, dass die Höhe einer Sensibilisierung und Th2-Immunantwort den Schweregrad einer atopischen Erkrankung z.B. deren Reaktionsschwelle beeinflusst. Sowohl in unserer Arbeit als auch in anderen Studien ist der klare Zusammenhang zwischen Höhe der systemischen Th2-Immunantwort und Ausprägung von klinischen Symptomen nicht immer

eindeutig erkennbar. Mit Einführung von Biologika in die Therapie von atopischen Erkrankungen konnte allerdings gezeigt werden, dass Dosis-abhängig eine Verminderung des freien IgEs durch Anti-IgE Therapie (Omalizumab) bei z.B. Patienten mit saisonaler allergischer Rhinokonjunktivitis (Casale et al., 2001) induziert wurde und die Höhe der IgE-Reduktion mit der Verminderung der klinischen Symptome korrelierte. Diese Studie könnte auch als indirekter „proof of concept“ angesehen werden, dass die Höhe der spezifischen Sensibilisierung eine Auswirkung auf die klinische Symptomstärke hat.

3.2 Das Vorliegen und die Stärke einer Th2- vermittelten Immunantwort triggert Allergen- unabhängig die Ausbildung eines „Sensitization spreadings“ und des atopischen Marsches

Das Fortschreiten des atopischen Marsches von der frühkindlichen atopischen Dermatitis und Nahrungsmittelallergie hin zum Asthma bronchiale und der allergischen Rhinokonjunktivitis im Schulalter geht einher mit einem Fortschreiten der Sensibilisierung („Sensitization spreading“). Wie schon in der Einleitung erwähnt, konnte in der MAS- Kohorte gezeigt werden, dass im Säuglings- und Kleinkindalter hauptsächlich Sensibilisierungen gegenüber Nahrungsmittelallergenen nachweisbar waren, währenddessen im Schul- und Jugendlichenalter die Prävalenz der Nahrungsmittelsensibilisierung abnahm, dafür aber Sensibilisierungen gegenüber inhalative Innenraum- als auch Umweltallergene zunahm. An einer nicht prospektiven, neueren Querschnittsstudie wurden Seren von allergischen Patienten unterschiedlichen Alters mittels der Mikroarray Technik auf Sensibilisierungen gegenüber >100 Allergen-Komponenten (ImmunoCAP ISAC) untersucht (Melioli et al., 2012). Melioli et al. konnten so zeigen, dass in den ersten drei Lebensjahren im Mittel Sensibilisierungen gegenüber ca. 20-30% der ISAC-Moleküle bestanden. Das Spektrum der Sensibilisierung dehnte sich dann aus, sodass bei 3-6 Jährigen Sensibilisierungen gegen 75% und bei 6-10

Jährigen gegen 88% der ISAC-Moleküle ausgebildet wurden. Mittels der MAS- Kohorte konnte der prospektive Verlauf der Sensibilisierung innerhalb von einzelnen Individuen untersucht werden. So zeigte sich, dass eine Hühnerei- Sensibilisierung im Säuglingsalter bei Kindern mit einer positiven Familienanamnese für atopische Erkrankungen (Hochrisikokinder) einen spezifischen und prädiktiven Marker für eine Sensibilisierung gegenüber inhalativen Allergenen im dritten Lebensjahr darstellte (Nickel et al., 1997). Dies kann als einer der ersten klinischen Hinweise auf ein „Sensitization spreading“ angesehen werden. Anhand derselben Kohorte konnten Matricardi et al. den Verlauf der Sensibilisierung gegenüber inhalativen Allergenen von 0 bis 10 Jahren genauer untersuchen. Es zeigte sich, dass eine neu aufgetretene Sensibilisierung meist als Monosensibilisierung auftrat, welches sich aber dann in den nächsten Verlaufsuntersuchungen dieser Kohorte zu einer Polysensibilisierung in den einzelnen Studienteilnehmern ausdehnte. Der Status einer reinen Monosensibilisierung hielt nur ca. 36 Monate an (Matricardi et al., 2009). Eine weitere interessante Beobachtung zum Verlauf einer Gräsernsensibilisierung und Ausbildung einer Gräserpollenbedingten allergischen Rhinokonjunktivitis konnte in derselben Kohorte Hatzler et al. mittels Komponenten-Diagnostik (ImmunoCAP ISAC) zeigen (Hatzler et al., 2012). Eine Sensibilisierung gegenüber Phleum pratense (Lieschgras) beginnt mit einer Monosensibilisierung meist gegenüber Phl p 1 als Einzelmolekül des Lieschgras, gefolgt von weiteren Oligo-Sensibilisierungen (2-3 Moleküle) und schließlich Polysensibilisierung gegen >3 Moleküle des Lieschgras, welches als „Molecular spreading“ bezeichnet wurde. Interessanterweise konnte in dieser Studie auch gezeigt werden, dass schon Jahre bevor es zu klinischen Symptomen der allergischen Rhinokonjunktivits kam, meist eine leichte Sensibilisierung mit <4kU/l (95%KI: 3,0-5,4kU/l) gegenüber Lieschgras bestand, die dann bei Erkrankungsbeginn deutlich im Mittel auf 13,1kU/l (95%KI 7,8-22,3kU/l) zunahm.

Das Fortschreiten der Sensibilisierung („Sensitization spreading“) und des atopischen Marsches könnte zum Einen durch genetische oder

Umweltfaktoren bedingt sein. Zum Anderen könnte aber auch eine primäre Sensibilisierung ein Th2-Milieu entstehen lassen, wobei T-Zellen spezifisch für die primäre Allergen-Sensibilisierung proliferieren und IL-4 ausschütten, welches dann anschließend als „Bystander“- Immunreaktion eine Immunantwort einer naiven T-Zelle, spezifisch für ein ganz anderes Allergen, so beeinflussen könnte, dass die naive T-Zelle zu einer Th2-Zelle differenziert, B-Zellen aktiviert und einen Immunglobulin- Switch bewirkt, so dass eine weitere Sensibilisierung (=IgE- Produktion) entsteht. In den hier vorliegenden Untersuchungen (**P2**) konnten wir im Mausmodell ohne Einsatz von zusätzlichen Adjuvantien zeigen, dass eine primäre, wiederholte Allergenapplikation eine Sensibilisierung und Allergen-spezifische Th2-Immunantwort auslöste. Dies führte dann dazu, dass bei konsekutiver Applikation eines anderen, nicht-kreuzreaktiven Allergens eine weitere, stärkere Sensibilisierung und stärkere Ausbildung einer Atemwegshyperreagibilität ausgelöst wurde, im Gegensatz zu Mäusen, die keine primäre Sensibilisierung vorher erhielten. Dies war abhängig von der Stärke der primären Th2-Immunantwort, aber unabhängig vom Allergen.

Weitere Hinweise für diese Theorie boten auch andere experimentelle Studien. Eisenbarth et al. transferierten OVA-TCR- spezifische D011.10 CD4+-Th2-Zellen in naive Mäuse. Diese wurden dann entweder gleichzeitig mit OVA und einem nicht verwandten Allergen, dem Bovinen Serum Albumin (BSA), intranasal oder nur mit BSA allein intranasal wiederholt provoziert (Eisenbarth et al., 2004). Mäuse, die beide Allergene gleichzeitig intranasal erhielten, entwickelten vermehrt BSA-spezifische Th2-Zellen und erhöhte BSA-spezifisches IgE- Titer als Mäuse, die nur alleinig BSA intranasal erhielten. Dies sogenannte „Collateral priming“ war abhängig vom produzierten IL-4 der transferierten OVA- spezifischen Th2-Zellen. Albrecht et al konnten auch anhand ihren Untersuchungen postulieren, dass das so lokal produzierte IL-4 einen Einfluss auf die pulmonalen epithelialen Zellen haben könnte, die normalerweise via Zellkontakt die T-Zellproliferation in der Lunge hemmen (Albrecht et al., 2012): Bei lokaler pulmonaler IL-4 Präsenz könnte es zum Aufheben dieser T-Zellsuppression kommen, sodass Allergen-

spezifische T-Zellen gegen gerade andere inhalierte Allergene zur Proliferation angeregt werden (Albrecht et al., 2012). Wenn Mäuse zunächst OVA-TCR- spezifische D011.10 CD4⁺-Th2-Zellen und gleichzeitig naive T-Zellen spezifisch für ein anderes Allergen (HA-TCR-spezifische T-Zellen) erhielten und danach gleichzeitig OVA und das nicht verwandte Allergen, humanes Albumin (HA), in Complete Freund's Adjuvant (CFA) subkutan appliziert bekamen, so wurden durch die gleichzeitige Applikation von OVA OVA-spezifische Th2-Zellen aktiviert und die normalerweise durch CFA stimulierte resultierende Th1- Immunantwort der HA-spezifischen Zellen in eine Th2-Richtung gelenkt (Schipf et al., 2003). Dies war abhängig von der gleichzeitigen Ko-Lokalisation beider spezifischer T-Zellen in der T-Zellregion im Lymphknoten (Schipf et al., 2003). In einem Mausmodell für Nahrungsmittelallergie konnte gezeigt werden, dass es zu einer verstärkten pulmonalen Th2-Immunantwort, einer eosinophilen Entzündung und einer Atemwegshyperreagibilität kam, wenn Mäuse intraperitoneal mit OVA sensibilisiert wurden, im Anschluss daran intragastral wiederholt OVA und überlappend, gleichzeitig intranasal Hausstaubmilbenextrakt erhielten. Dies stand im Gegensatz zu Mäusen, die nur intranasal Hausstaubmilbenextrakt alleinig, ohne gleichzeitige intragastrale OVA-Gaben, erhielten (Brandt et al., 2006).

Einige epidemiologische Studien, wie auch die MAS-Studie, konnten das Fortschreiten von Sensibilisierung zu klinisch relevanter Allergie im Sinne des atopischen Marsches auch zeigen. Es wurde nicht nur beobachtet, dass eine Hühnerei- Sensibilisierung im Säuglingsalter das Risiko einer Sensibilisierung gegenüber inhalativen Allergenen im Kleinkindalter erhöhte (Nickel et al., 1997), sondern es konnte anhand der MAS- Kohorte und weiteren Studien auch gezeigt werden, dass eine frühe persistierende Sensibilisierung und eine zusätzliche Sensibilisierung gegenüber inhalativen Allergenen ein Risiko darstellt, im Schulalter unter Symptomen eines Asthma bronchiales zu leiden (Illi et al., 2001; Sherrill et al., 1999).

Als weitere Hinweise, dass die Schwere der Th2-Immunantwort den nachfolgenden atopischen Marsch beeinflussen kann, können auch klinische

Beobachtungen zählen, die die Schwere einer atopischen Erkrankung mit dem erhöhten Risiko der Ausbildung einer anderen atopischen Erkrankung in Zusammenhang bringen. So konnten Ricci et al. an insgesamt 205 Kindern zeigen, dass Jugendliche, die im Säuglingsalter an einer schweren atopischen Dermatitis litten (gemessen anhand des SCORADs), im Alter von 16 Jahren vermehrt unter Asthma bronchiale litten (Ricci et al., 2006) als Jugendliche, die im Säuglingsalter nur eine milde bis moderate atopische Dermatitis aufwiesen. In der schwedischen longitudinalen Geburtskohorte (BAMSE) konnte anhand von 3301 Kindern gezeigt werden, dass die 13-Jährigen, die an einer moderaten bis schweren atopischen Dermatitis (gemessen anhand des BAMSE Eczema Severity Scores) im Follow-up-Interview litten, auch gleichzeitig signifikant vermehrt eine allergische Rhinokonjunktivitis aufwiesen (45,1%) (Ballardini et al., 2012). Die 13-Jährigen, die nur an einer milden atopischen Dermatitis litten, hatten im Gegensatz dazu nur zu 33% eine Heuschnupfensymptomatik in den letzten 12-Monaten.

3.3 Durch Präventions-Maßnahmen können der Beginn als auch das Fortschreiten des atopischen Marsches verhindert werden

Hypothetisch gibt es drei „immunologische“ Zeitpunkte, an denen eine Intervention stattfinden könnte, um allergische Erkrankungen und das Fortschreiten des atopischen Marsches zu verhindern (siehe Abb. 5): Der erste- auch hypothetisch effektivste- Zeitpunkt wäre vor der Ausbildung einer Sensibilisierung und damit Verhinderung einer Th2-Immunantwort, wie Verhinderung der IL-4- und Allergen-spezifischer IgE-Produktion. Interventionen, die zu diesem Zeitpunkt durchgeführt werden, werden als primäre Präventions-Maßnahmen angesehen und haben das Ziel, die

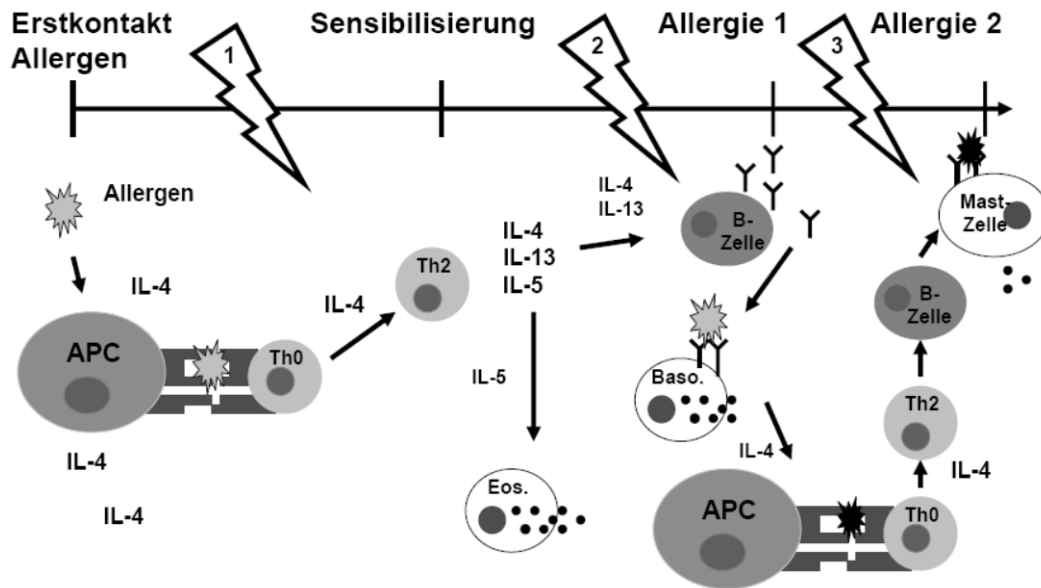


Abb. 5 Schematische Darstellung der Ausbildung einer klinisch relevanten Allergie, des atopischen Marsches und der möglichen Interventionsmöglichkeiten zur primären und sekundären Prävention.

Blitz 1: Intervention vor der Ausbildung einer Sensibilisierung und damit Verhinderung einer Th2-Immunantwort (primäre Prävention). **Blitz 2:** Intervention nach der Ausbildung einer primären Sensibilisierung, aber noch vor der Ausbildung einer klinisch manifesten Allergie (sekundäre Prävention). **Blitz 3:** Intervention nach Ausbildung der ersten klinisch manifesten allergischen Erkrankung vor dem Fortschreiten des atopischen Marsches (sekundäre Prävention).

Ausbildung einer allergischen Erkrankung zu verhindern. Der zweite Zeitpunkt könnte nach der Ausbildung einer primären Sensibilisierung, aber noch vor der Ausprägung einer klinisch manifesten Allergie liegen. Der dritte Zeitpunkt für eine präventive Intervention könnte nach Ausbildung einer klinisch manifesten allergischen Erkrankung, wie z.B. der atopischen Dermatitis, liegen, um das Fortschreiten des atopischen Marsches hin zum Asthma bronchiale zu verhindern. Interventionen, die zu diesen beiden Zeitpunkten durchgeführt werden, werden zur sekundären Prävention gezählt. Als tertiäre Prävention in Bezug auf allergische Erkrankungen stellt

die Verhütung einer Verschlechterung der Krankheit dar. Der Aspekt der tertiären Prävention wird in dem nachfolgenden Kapitel nicht weiter diskutiert.

3.3.1 Primäre und sekundäre Prävention durch Allergenmeidung

In der hier vorgestellten Untersuchung (**P3**) konnte gezeigt werden, dass eine fast vollständige Allergenmeidung zu einer Verhinderung einer primären Allergen-spezifischen Sensibilisierung und anschließender Ausprägung einer atopischen Erkrankung führen kann. Des Weiteren konnte so auch das Fortschreiten des atopischen Marsches aufgehalten werden: Noch vor ca. 15 Jahren war das Risiko für Kinder mit Spina bifida sehr hoch, an einer Latexallergie und auch weiteren atopischen Erkrankungen zu leiden. So konnten wir in der „historischen“ Kontrollgruppe (n=87, Alter im Median 7,9 Jahre), die alle vor 1994- vor Einführung der Latex-freien Operationen und Latex-freien Umgebungsprävention- geboren waren, zeigen, dass 55% dieser Kinder Latex sensibilisiert waren, 37% an einer klinisch relevanten Latexallergie litten, 41% weitere Sensibilisierungen gegenüber anderen inhalativen Allergenen und 35% weitere atopische Erkrankungen aufwiesen. Im Gegensatz dazu wiesen 120 Kinder mit Spina bifida (Alter im Median 6 Jahre), die alle nach 1994 geboren waren, somit Latex-frei operiert worden waren und meist in einer Latexfreien Umgebung groß wurden, deutlich weniger Sensibilisierung gegenüber Latex (5%), Latexallergie (0,8%), Sensibilisierung gegenüber anderen inhalativen Allergenen (21%) und anderen atopischen Erkrankungen (15%) auf, ähnlich zu einer gewichteten Bevölkerungskontrollgruppe.

Die Allergenmeidung als primäre bzw. sekundäre Prävention wurde auch für andere Allergene untersucht. So gibt es viele Interventionsstudien zur Meidung von Hausstaubmilben durch z.B. Verwendung von Hausstaubmilben-dichten Matratzen-Encasings bei Hochrisikokindern (Familienanamnese positiv gegenüber allergischen Erkrankungen) mit widersprüchlichen Ergebnissen (zusammengefasst in (Hamelmann et al., 2007). Zum Beispiel konnten Arshad et al in der SPACE- Kohorte an 242 5-7-jährigen Hochrisikokindern aus England, Griechenland und Litauen, die eine

Sensibilisierung gegenüber inhalativen Allergenen (nicht Hausstaubmilbe) aufwiesen, zeigen, dass eine Hausstaubmilben-Vermeidung nach einem Jahr zu einer reduzierten Hausstaubmilbensensibilisierung im Gegensatz zu der Kontrollgruppe, die keine Allergenmeidung betrieb, führte (Arshad et al., 2002). Im Gegensatz dazu stehen die Ergebnisse der PIAMA- Studie, in der Hochrisikokinder von Geburt an ein Hausstaubmilben-Encasing (n=416), Placebo-Encasing (n=394) oder keine Intervention(n=472) durchführten (Gehring et al., 2012). Nach 8 Jahren konnte kein Unterschied der Gruppen in Bezug auf Prävalenz der Hausstaubmilbensensibilisierung, Sensibilisierung gegenüber anderen Nahrungsmittel- oder inhalativen Allergenen, allergische Rhinokonjunktivitis, Asthma bronchiale oder atopische Dermatitis gefunden werden. Das Ergebnis könnte eventuell damit erklärt werden, dass nur eine inkomplette Reduktion von Hausstaubmilbenallergen in dieser Interventionsstudie stattfand.

Leider weisen die Studien zur Meidung von Tierhaaren als präventive Intervention auch nicht stringente Ergebnisse auf, welches damit zusammenhängen könnte, dass diese Studien meist als mehrfache Interventionsstudien (Meiden von Hausstaubmilben, Tierhaarallergenen und Tabakrauch) durchgeführt wurden (zusammengefasst in (Hamelmann et al., 2007).

Die Meidung von Kuhmilch entweder durch ausschließliches Stillen oder Fütterung von extensiv oder partiell hydrolysiertes Säuglingsformula in den ersten Lebensmonaten könnte auch einen protektiven Effekt zum einen auf die Entstehung von einer Kuhmilchallergie aber auch auf die Ausprägung von anderen atopischen Erkrankungen haben. Obwohl das Stillen viele Vorteile für die Ernährung und Entwicklung des Säuglings generell hat, gibt es nur wenig Studien, die zeigen konnten, dass das Stillen einen primär präventiven Effekt zur Verhinderung einer Nahrungsmittelallergie hat (zusammengefasst in (Muraro et al., 2014). Der präventive Haupteffekt konnte für die Verhinderung der Ausbildung einer atopischen Dermatitis gezeigt werden (z.B. (Laubereau et al., 2004). Robustere Daten zum signifikanten protektiven

Effekt anhand von größeren Studien gibt es allerdings zur Verhinderung von Nahrungsmittelallergien, atopischer Dermatitis und anderen atopischen Erkrankungen, wenn Hochrisikokinder, die nicht gestillt werden konnten, extensiv hydrolysiertes Molke-, Kasein- oder partiell hydrolysierte Säuglingsformula im Gegensatz zu reiner Kuhmilchformulanahrung erhielten (z.B. systemischer review (van Odijk et al., 2003), oder Ergebnisse der GINI-Studie (von Berg et al., 2008)). Diese Erkenntnisse sind sowohl in den deutschen AWMF-S3-Leitlinien (Muche-Borowski C., 2009) und den europäischen Leitlinien zur Allergieprävention (Host et al., 2008) aufgenommen worden.

Bis vor kurzem wurden Eltern von Hochrisikokindern die Empfehlung gegeben, bis zum dritten Lebensjahr hochallergene Nahrungsmittel, wie Erdnüsse oder Hühnerei, in der Ernährung ihrer Kinder zu meiden. In Bezug z.B. auf die Erdnussallergie zeigte sich allerdings in einer englischen Studie, dass Kinder, die eine Erdnussensibilisierung aufwiesen, keine spätere Einführung von Erdnuss in die Diät hatten, als Kinder, die keine Erdnussensibilisierung aufwiesen (Hourihane et al., 2007). Trotz der englischen Regierungs-Empfehlung zur Meidung von Erdnuss in den ersten Lebensjahren von 1998 war die Prävalenz der Erdnussallergie der 4-5 Jährigen unter dieser Empfehlung zu einem Höchststand angestiegen (1,8%) (Hourihane et al., 2007). Eventuell könnte die Empfehlung kontraproduktiv sein, sodass sie eine Toleranzinduktion verhindert. Eine Studie verglich jüdische Kinder in Israel, die schon früh- meist ab dem 6. Lebensmonat hochdosiert Erdnuss zu sich genommen hatten, mit jüdischen Kindern in England, die im ersten Lebensjahr meist Erdnüsse gemieden hatten (Du Toit et al., 2008). Im Gegensatz zur englischen Studienpopulation (1,85%), war die Prävalenz der Erdnussallergie deutlich reduziert in der israelischen Studiengruppe (0,17%). Koplin et al konnte in einer großen australischen Querschnitts-Studie zeigen, dass die spätere Einführung von Hühnerei in die Diät des Kindes im Gegensatz zu einer frühen Einführung von Hühnerei (4. bis 6. Lebensmonat) ein Risiko für eine Entwicklung einer Hühnereiallergie darstellte (Koplin et al., 2010). Ob die frühe, hochdosierte Einführung von

hochpotenten Allergenen wie Erdnuss oder Hühnerei einen protektiven Effekt auf die Entstehung von Nahrungsmittelallergien hat, kann aber erst geklärt werden, wenn die schon großen, laufenden Interventionsstudien dazu abgeschlossen worden sind (wie z.B. LEAP Studie (Du Toit et al., 2013) oder HEAP-Studie, die in unserer Arbeitsgruppe durchgeführt wird).

Eine relativ neue Idee zur Vermeidung einer primären Sensibilisierung beinhaltet eine Verbesserung der Hautbarriere bei Hochrisikokindern noch bevor sich eine atopische Dermatitis und folgend epikutane Sensibilisierungen ausbilden können. Im weiteren Sinne kann dies auch als präventive Allergenmeidung aufgefasst werden. Eine offene Pilot-Studie dazu rekrutierte 22 Hochrisiko-Neonaten, die ab der ersten Lebenswoche für zwei Jahre mit Cetaphil Creme® (Petrolatum- basierte Öl in Wasser Emulsion) mindestens einmal täglich eingecremt wurden (Simpson et al., 2010). Drei von 20 Kindern entwickelte in dem Studienzeitraum eine atopische Dermatitis (15%), deutlich weniger als historische Kontrollgruppen (30-50%). Da dies eine vorläufige, nicht Placebo- kontrollierte Studie darstellt, sind die Ergebnisse auch nur mit Vorsicht zu betrachten. Es werden aber momentan größere Interventionsstudien sowohl in England mit Cetaphil Creme® (Williams et al., 2012) als auch in Australien mit EpiCeram® (Lowe et al., 2012) durchgeführt.

3.3.2 Primäre und sekundäre Prävention durch Immunmodulation

Da die Allergenmeidung nicht stringent für alle Allergene anscheinend eine wirksame Präventionsmaßnahme darstellt, ist die Idee einer Immunmodulation bzw. Toleranzinduktion als Präventionsmaßnahme, die im „Window of Opportunity“ entweder pränatal, direkt postnatal und in der Säuglingszeit eventuell durchgeführt werden kann, sehr verlockend. Angelehnt an die Hygiene-Hypothese und die These zum Mikrobiom (siehe Einleitung, Kapitel 1.1.3.2 Umwelteinflüsse) wurden bislang mehrere, auch doppel-blind Placebo-kontrollierte Studien zur primär-präventiven Gabe von Probiotika und deren Effekt auf die Allergieentstehung durchgeführt (zusammengefasst in

(Pfefferle et al., 2013). Probiotika sind Nahrungsergänzungen mit lebensfähigen Mikroorganismen wie Lactobazillen und Bifidobakterien, die z.B. pränatal Müttern von Hochrisikokindern und/oder postnatal Hochrisikokindern präventiv verabreicht wurden. Eine dieser Studie konnte auch einen immunmodulatorischen Effekt nachweisen: Das Nabelschnur-Plasma von Kindern der Interventionsgruppe beinhaltete höhere IFN- γ Werte als das der Placebo-Gruppe (Prescott et al., 2008). Eine erst kürzlich erscheinende Metaanalyse von 13 randomisierten Studien zu dem präventiven Einsatz von Probiotika zeigte eine deutliche Risikoreduktion (21%) für atopische Dermatitis (Pelucchi et al., 2012). Für andere allergische Erkrankungen konnte dies nicht gezeigt werden. Auch der Einsatz von Präbiotika, wie Frukto- und Galakto-Oligosaccharide, die das Wachstum von schon im Darm befindlichen Mikroorganismen anregen sollen, wurde in vier randomisierten Studien untersucht. Eine Cochrane-Metaanalyse dieser Studien zeigte eine Risikoreduktion für atopische Dermatitis von 30% (Osborn and Sinn, 2013). Eine generelle Empfehlung zur Einnahme von Pro- bzw. Präbiotika in der Schwangerschaft oder postnatal bei Hochrisikokindern wird aber sowohl in Deutschland als auch international (WAO Positionspapier (Fiocchi et al., 2012) im Moment noch nicht gegeben, da all diese Studien nur schwer vergleichbar sind. Das Studiendesign, der Zeitpunkt der Prävention, verwendete Prä- und Probiotika und Studienendpunkte dieser Studien waren sehr unterschiedlich.

Als weitere „Immunstimulanzien“ könnten Bestandteile von abgetöteten Bakterien primär-präventiv auf die Entwicklung von allergischen Erkrankungen wirken. Eigene, hier nicht ausführlich dargestellte Studien im Mausmodell für Atemwegshyperreagibilität konnten einen präventiven Effekt von LPS (Endotoxin=Zellbestandteil von z.B. *Escherichia coli*) zeigen: Die systemische Applikation von LPS (i.p.) vor Sensibilisierung mit OVA (i.p.) bewirkte eine Reduktion der OVA-spezifischen IgE- und Th2-Zytokin-Produktion, als auch der eosinophilen Entzündungsreaktion nach inhalativer OVA-Provokation (Gerhold et al., 2002). Der Effekt war IL-12 abhängig (Gerhold et al., 2002). Des Weiteren konnten wir zeigen, dass eine pränatale

und auch zwingend postnatale inhalative Exposition mit LPS vor OVA-Sensibilisierung und inhalativer OVA-Provokation die OVA-spezifische IgE-Produktion, pulmonale eosinophile Entzündungsreaktion und Atemwegshyperreagibilität reduzierte (Gerhold et al., 2006). Unsere Arbeitsgruppe konnte in einem Rattenmodell zur experimentellen Nahrungsmittelallergie zeigen, dass die gleichzeitige präventive Gabe von Symbioflor® (Bakterienlysat von durch Hitze getötete Gram negative E.coli und Gram positive Streptococcus faecalis) bei Sensibilisierung die Allergenspezifische IgE Produktion und durch orale Provokation ausgelöste allergische intestinale Entzündungsreaktion supprimierte, welches am ehesten durch die erhöhte IL-10 Produktion der T-Zellen der mesenterialen Lymphknoten erklärt werden konnte (Ahrens et al., 2011).

Leider konnte eine doppel-blind Placebo-kontrollierte Studie (PAPS Studie), die in unserer Arbeitsgruppe durchgeführt wurde, keinen Effekt der oralen postnatalen Symbioflor®-Gabe auf die Prävalenz für atopische Dermatitis im 7. Lebensmonat und 3. Lebensjahr (Lau et al., 2012) nachweisen. Es konnte allerdings in einer Subgruppen-Analyse eine signifikante Risikoreduktion für atopische Dermatitis im 7. Lebensmonat in den Kindern festgestellt werden, deren Väter an einer atopischen Erkrankung litten.

H1-Rezeptor-Blocker scheinen immunmodulatorische Wirksamkeit zu haben. So konnte in mehreren *In vitro*-Studien gezeigt werden, dass z.B. Desloratadin, ein Antihistaminikum der zweiten Generation, die Expression vom nukleären Faktor kappa B, somit die Ausschüttung von RANTES, einem Chemokin, welches für die Anlockung von eosinophilen Granulozyten wichtig ist, sowie auch anderen Chemokinen (CXCL8, CXCL10), die Zytokinausschüttung (IL-4, IL-13, IL-3, IL-6, TNF- α) von Mastzellen und basophilen Granulozyten, Histaminausschüttung der Mastzellen und die Expression von interzellulären Adhäsionsmolekülen (wie ICAM-1) von nasalen Epithelzellen hemmt (zusammengefasst in (Canonica and Blaiss, 2011)). So könnte Desloratadin und dessen immunmodulatorische Wirkung einen präventiven Effekt auf die Allergen-vermittelte Sensibilisierung und

Entstehung von allergischen Entzündungen haben. Wir untersuchten diese These anhand eines Mausmodells für Atemwegshyperreagibilität (**P4**). Wie hier dargestellt, konnte die systemische orale Gabe von Desloratadin kurz vor und während der intraperitonealen Sensibilisierung mittels dem Modellallergen Ovalbumin (OVA), die OVA-spezifische systemische Th2-Immunantwort und OVA-spezifische IgG1-Produktion hemmen. Nach inhalativer OVA-Provokation zeigten die Mäuse, die Desloratadin präventiv erhalten hatten und anschließend systemisch sensibilisiert waren, eine verminderte eosinophile pulmonale Entzündungsreaktion und weniger ausgeprägte Atemwegshyperreagibilität als Mäuse, die nur Placebo präventiv mit anschließender Sensibilisierung und inhalativer Provokation erhalten hatten. Dieser Effekt auf die pulmonale eosinophile Entzündungsreaktion war am ehesten vermittelt durch die deutlich verminderte IL-5-Produktion der peribronchialen Lymphknoten-Zellen und damit verminderte Rekrutierung von eosinophilen Granulozyten in des entzündete, pulmonale Gewebe. Ältere kleinere Studien an Hochrisiko-Kindern (Bustos et al., 1995) oder auch Kindern mit atopischer Dermatitis (Iikura et al., 1992), die als primäre Prävention Ketotifen, einem H1-Rezeptor-Blocker der ersten Generation, erhielten, konnten einen präventiven Effekt auf die Entstehung von Asthma bronchiale zeigen. Jedoch bei einer großen multizentrischen, doppel-blind Placebo-kontrollierten Studie, bei der 817 Hochrisiko-Kinder mit atopischer Dermatitis Cetirizin oder Placebo über 18 Monate erhielten, konnte allerdings kein präventiver Effekt für die Verhinderung eines Asthma bronchiale beobachtet werden (ETAC Studie, (Warner, 2001)). Nur bei einer Subgruppe der Kinder, die eine Gräserpollen-Sensibilisierung aufwiesen, konnte ein präventiver Effekt nachgewiesen werden (Warner, 2001), der sich aber in einer Folgestudie nicht reproduzieren ließ (EPAAC Studie, Simons PAI 2007). Klinische Studien zum präventiven Einsatz von Desloratadin sind bislang noch nicht durchgeführt worden.

Das Prinzip der sekundären Prävention durch Immunmodulation einer bestehenden, allergischen Entzündung zum Aufhalten des atopischen Marsches wurde und wird auch noch in mehreren Studien untersucht. So

wird momentan in einer großen longitudinalen Placebo-kontrollierten Interventionsstudie (SAM-Studie) der Effekt von einer frühen anti-entzündlichen Therapie mit lokal appliziertem Pimecrolimus vs Placebo-Creme in Kindern mit atopischer Dermatitis (Alter: 3-18 Monate) untersucht. Es wird vermutet, dass eine bessere Kontrolle der Hautbarriere bei den Kindern, die die Pimecrolimus-Therapie erhalten, erzeugt wird und das damit das Risiko der Entwicklung von epikutanen Sensibilisierungen, einem Asthma bronchiale und anderen atopischen Erkrankungen in dieser Gruppe minimiert wird (Boguniewicz M., 2007). Auch ein präventiver anti-entzündlicher Effekt durch intermittierende oder auch kontinuierliche Inhalation von Steroiden für z.B. über einen Zeitraum von zwei Jahren wurde bei intermittierend an obstruktiven Atembeschwerden leidenden Kleinkindern mit hohem Risiko für die Entwicklung eines Asthma bronchiales untersucht. Leider konnten alle Studien dazu keinen Krankheits-modifizierenden Effekt zeigen. Die Entstehung eines Asthma bronchiale oder Lungenfunktionsverschlechterung konnten nicht durch diese Intervention aufgehoben werden (Guilbert et al., 2006; Murray et al., 2006).

Das Prinzip der Immuntherapie als Intervention zur sekundären Prävention wurde und wird auch in mehreren Studien verfolgt. Eine doppel-blind Placebo- kontrollierten Pilotstudie wurde dazu in Perth, Melbourne und New York vor kurzem durchgeführt (Holt et al., 2013). Es wurden insgesamt 50 Kinder (18-30 Monate alt) mit einer positiven Familienanamnese, atopischer Dermatitis, Sensibilisierung gegenüber Nahrungsmittelallergenen und ohne Sensibilisierung gegenüber inhalativen Allergenen rekrutiert. Sie erhielten für ein Jahr täglich sublingual eine wässrige Mixtur aus löslichen inhalativen Allergenen (Hausstaubmilben (Der p1, Der f1), Katze (Fel d1) und Gräser (Phl p5)) oder Placebo. Es zeigte sich, dass es keinen Unterschied zwischen beiden Gruppen hinsichtlich der Sensibilisierungsrate gegenüber den verabreichten inhalativen Allergenen sowohl nach 6 Monaten als auch nach insgesamt vier Jahren nach Therapiebeginn gab. Außerdem war in beiden Gruppen die Prävalenz für Asthma bronchiale nach vier Jahren gleich. Die Beobachtungen deuteten darauf hin, dass die mukosal verabreichte

Allergendosis eventuell zu niedrig bzw. nicht immunologisch wirksam war. Die weitere Rekrutierung für einen Wirksamkeitsnachweis wurde somit gestoppt. Weitere Studien zu diesem Prinzip mit einer verbesserten Allergenapplikation (z.B. sublinguale Tablette) und höheren verwendeten Allergendosen sind allerdings geplant.

Ein besserer Erfolg für eine sekundäre Prävention konnte für die konventionelle, systemische, subkutane Immuntherapie (SIT) gezeigt werden, bei der wahrscheinlich die höher kumulativ verabreichten Allergendosen die Wirksamkeit erzielten. 205 Kinder (Alter 6-14 Jahre) mit einer saisonalen allergischen Rhinokonjunktivitis und Sensibilisierung gegenüber Gräser- und/oder Birkenpollen erhielten für drei Jahre entweder keine Intervention oder eine systemische subkutane Immuntherapie. Sowohl direkt nach drei Jahren (Moller et al., 2002) als auch nach insgesamt 10 Jahren des follow-ups (Jacobsen et al., 2007) konnte gezeigt werden, dass signifikant weniger Patienten, die eine SIT vor 10 Jahren erhalten hatten, an einem Asthma bronchiale litten (16/64), als Patienten der offenen Kontrollgruppe (24/53). Eine andere Gruppe konnte auch zeigen, dass mittels SIT gegen Hausstaubmilben bei Kindern und jungen Erwachsenen mit Asthma bronchiale und Hausstaubmilben-Monosensibilisierung ein „Sensitization Spreading“ aufgehalten werden konnte (Des Roches et al., 1997). Dieser Effekt war auch nach drei Jahren nach Beendigung der Immuntherapie nachweisbar (Pajno et al., 2001; Purello-D'Ambrosio et al., 2001).

3.4 Durch therapeutische Immunmodulation kann die Ausprägung einer systemischen Th2-Immunantwort und allergischen Reaktion vermindert werden

3.4.1 Klinische Wirksamkeit der spezifischen Immuntherapie

Das Prinzip der Immunmodulation wird schon seit ca. 100 Jahren in der Therapie von allergischen Erkrankungen angewandt. So stellen auch

momentan die Allergen-spezifische subkutane (SCIT) und sublinguale (SLIT) Immuntherapie von allen etablierten Therapieformen für allergische Erkrankungen die einzigen kausalen, Krankheits-modifizierenden Verfahren dar, die die Symptome nachhaltig verbessern und den Krankheitsverlauf beeinflussen können (Calderon et al., 2012). Die Wirksamkeit und das gute Sicherheitsprofil dieser spezifischen Immuntherapie (SIT) sind für allergische Rhinokonjunktivitis und Asthma bronchiale, die durch Pollenallergene oder Hausstaubmilben ausgelöst sind, oder auch für die Insektengift-Anaphylaxie für Erwachsene gezeigt worden (siehe auch Cochrane-Meta-Analysen (Abramson et al., 2010; Boyle et al., 2012; Calderon et al., 2007). So kommt es z.B. bei Patienten mit Heuschnupfen zu einer ca. 30-40%igen Besserung der Symptome (gemessen z.B. am totalen nasalen Symptomscore (TNSS) (Brehler et al., 2013)) nach dreijähriger SCIT relativ zur auch beobachteten Verbesserung unter Placebo-Therapie. Die Wirksamkeit der SIT im Hinblick auf die Reduktion klinischer Symptome zeigte sich auch überlegen zu den rein Symptom-lindernden Therapien wie Anwendung von lokalen Steroiden oder der Gabe von systemischen Antihistaminika (Brehler et al., 2013). Die Cochrane Meta-Analyse zur Insektengift-IT fasste zusammen, dass mit 2,7% deutlich weniger Patienten nach erfolgter SIT systemische Symptome nach Insektenstich aufwiesen als ca. 40% der Patienten, die keine SIT erhielten (Boyle et al., 2012). Kinderstudien zur SCIT wurden bislang häufig nicht Placebo-kontrolliert durchgeführt, da Ethikkommissionen meist die dreijährige subkutane Placebo-Gabe nicht gestatteten. Es gibt aber mittlerweile doppelblind Placebo-kontrollierte, randomisierte pädiatrische Studien zur SLIT (zusammengefasst in (Calderon et al., 2012)), die auch eine mediane Verbesserung von 25-30% der Symptome im Vergleich zur Placebo-Gruppe aufzeigen konnten (z.B. (Wahn et al., 2009) oder (Bufe et al., 2009)). Auch bei Kindern konnte beobachtet werden, dass die SCIT einen Langzeiteffekt auf die Symptomkontrolle bis zu 12 Jahren nach Beendigung der Therapie hat (zusammengefasst in (Calderon et al., 2012)). Außerdem, wie schon erwähnt, kann sie präventiv wirksam sein hinsichtlich des Aufhalten eines „Sensitization spreadings“ und des Fortschreitens des atopischen Marsches von z.B. allergischer Rhinokonjunktivitis hin zum Asthma bronchiale.

3.4.2 Immunmodulatorische Wirkmechanismen der SIT

Die immunmodulatorischen Mechanismen dieser Therapieform sind sehr ausführlich an Patienten untersucht worden, die eine SCIT wegen ihrer Pollen-, Hausstaubmilben- oder Insektengiftallergie erhielten. Obwohl sich IT-Protokolle und verwendete Allergenextrakte stark unterschieden, konnten immer wieder ähnliche immunologische Mechanismen unter Immuntherapie beobachtet werden (zusammengefasst in (Akdis and Akdis, 2014): Es konnte gezeigt werden, dass nach den ersten IT-Gaben es in den ersten Stunden zu einer reduzierten Aktivität der Mastzellen und basophilen Granulozyten mit reduzierter Degranulation kam. Dieser Vorgang wird auch aus immunologischer Sicht als „Desensibilisierung“ bezeichnet. Wahrscheinlich kommt es in dieser Phase zu einer Ausschüttung von Mediatoren in sub-anaphylaktischen Dosen, die zu einer Reduktion der Degranulationsbereitschaft dieser Zellen führt.

Des Weiteren konnte beobachtet werden, dass Tage bzw. Wochen nach Start der IT, sich langsam Allergen-spezifische, induzierbare, regulatorische T-Zellen ausbilden, die durch die Ausschüttung von IL-10 und evt. TGF- β eine Suppression der spezifischen Th2-Zellen bewirken können. Monate nach erfolgter IT konnte in nasalen Biopsien von Patienten in älteren Studien eine vermehrte Expression der IFN- γ mRNA nach nasaler Provokation (Durham et al., 1996) und eine reduzierte IL-5 mRNA-Expression in der Pollenzeit (Wilson et al., 2001) beobachtet werden, was eventuell auf einen Shift der Effektor-T-Zellpopulation von Th2 zu Th1 im Gewebe des Erfolgsorgans hinweist. Eine andere ältere Studie zeigte bei Kindern mit Asthma bronchiale, die eine IT gegen Hausstaubmilben durchgeführt hatten, dass diese weniger periphere Allergen-spezifische CD4⁺IL4⁺-T-Zellen aufwiesen als vor Start der IT. Dies konnte allerdings am ehesten mit einer vermehrten Apoptose dieser Zellen erklärt werden (Tsai et al., 2005). Möbs et al. konnten ab dem zweiten Behandlungsjahr bei Patienten unter Birkenpollenimmuntherapie eine Reduktion der Bet-v-1-spezifischen Th2-Zellen in der Pollenzeit beobachten (Möbs et al., 2012), die auch noch nach zwei Jahren nach Beendigung der Therapie nachweisbar war. Einen Shift zu

Th1 wurde allerdings nicht beobachtet. Diese Studie konnte außerdem IL-10-produzierende Antigen-spezifische Treg-Zellen- allerdings nur zwischen dem dritten und sechsten Monat der Behandlung- vorübergehend nachweisen. Eventuell ist die Proliferationshemmung von Allergen-spezifischen T-Zellen mit der IL-10-vermittelten Blockade der Kostimulation bei Interaktion zwischen dendritischer Zelle und T-Zelle zu erklären. Man geht auch davon aus, dass die IL-10-produzierenden Treg1-Zellen die Funktion von B-Zellen beeinflussen können, so dass es zu einem Immunglobulin-Klassen-Switch in Richtung IgG4 und IgA-Bildung schon nach einigen Wochen kommen kann. Des Weiteren können Treg-Zellen auch auf Gefäß-Endothelzellen und deren „Homing“-Rezeptoren wirken, so dass der Influx von Th2-Zellen oder auch der Effektor-Zellen wie Mastzellen, eosinophile und basophile Granulozyten in das Gewebe supprimiert wird. Dieser reduzierte Influx von Effektor-Zellen konnte auch nach einigen Monaten nach Beginn der IT in nasalen Biopsien von Patienten nach Provokation beobachtet werden.

Klinisch zeigte sich meist in den ersten Monaten ein kurzzeitiger IgE-Anstieg, bevor es zu einem Abfall der spezifischen IgE-Titer kommt, welches mit dem langen Überleben von Gedächtnis-B-Zellen erklärt wird. Die Studie von Möbs et al. konnte allerdings keine signifikante Birkenpollen-IgE-Verminderung unter und nach IT beobachten (Möbs et al., 2012). Möbs et al. als auch mehrere andere Studien konnten aber immer wieder zeigen, dass es während der gesamten IT zu einem kontinuierlichen Anstieg der spezifischen IgG4-Titer kommt. Man glaubt, dass diese spezifischen IgG-Antikörper im Wettbewerb mit IgE stehen und Allergene binden, sodass diese „blockierten“ Allergene nicht mehr zur Verfügung stehen, eine Kreuzvernetzung der zellständigen IgE-Moleküle auszulösen. Möbs et al. konnten zeigen, dass es nach Beendigung der IT auch zu einem erneuten Abfall der spezifischen IgG4-Antikörper kam (Möbs et al., 2012). Es mehren sich auch die Daten im Mausmodell, dass eventuell nach Monaten regulatorische Breg1-Zellen ausgebildet werden, die wiederum IL-10 produzieren können (Amu et al., 2010). Auch nach Monaten nach Beginn der IT konnte wiederholt erst eine

Reduktion der Typ1-Sofortreaktion im Hauttest bei den Patienten beobachtet werden.

3.4.3 Klinische Wirksamkeit der oralen Immuntherapie (OIT)

Es gibt bislang keine kausale Therapie für Erdnuss-allergische Kinder. Vor ca. 20 Jahren wurde die subkutane Immuntherapie als alternative Therapieoption bei Erdnussallergikern untersucht (Nelson et al., 1997; Oppenheimer et al., 1992). Es konnte zwar eine Wirksamkeit dieser Therapie nachgewiesen werden, es kam aber wiederholt zu schweren Nebenwirkungen, sodass relativ schnell Abstand von dieser Therapieform genommen wurde. Vor ca. 10 Jahren kam allerdings die These auf, dass eventuell die orale Immuntherapie (OIT) eine mögliche Behandlungsoption mit verbessertem Wirksamkeits- Nebenwirkungsprofil für diese Patientengruppe darstellen könnte (zusammengefasst in (Trendelenburg et al., 2014)). Das Prinzip beruht auf einer regelmäßigen, täglichen Einnahme des Allergens, welches meist zunächst in einer sehr geringen Dosis eingenommen wird. Alle zwei bis drei Wochen wird dann eine Dosissteigerung durchgeführt, bis der Patient eine Ziel- oder Erhaltungsdosis erreicht hat. Dies würde man klinisch als „Desensibilisierung“ bezeichnen können, wobei der Patient weiterhin täglich das Allergen zu sich nehmen müsste, aber dadurch generell mehr von dem Allergen verträgt und somit z.B. vor Spuren des Allergens geschützt ist.

Mittlerweile sind mehrere auch schon randomisierte, Placebo-kontrollierte größere Studien zur OIT bei Kindern mit Kuhmilch- oder Hühnereiallergie durchgeführt worden (zusammengefasst in (Trendelenburg et al., 2014)), die eine Wirksamkeit dieser Therapieform belegen konnten. Im Gegensatz zu Kindern, die Placebo erhielten hatten, konnte z.B. die maximal tolerierte Dosis unter oraler Provokation bei bis 90% der Kindern mit Kuhmilchallergie, die die Verum-OIT durchgeführt hatten, von vor Start der OIT (ca. 0,03-1,5ml Kuhmilch) auf das ca. 100-1000-Fache (ca. 99-185ml Kuhmilch) angehoben werden. Als weiterer Endpunkt zur Messung der Wirksamkeit einer Desensibilisierung kann auch die Patientenzahl betrachtet werden, die nach

erfolgter OIT keine allergischen Reaktionen mehr auf die verabreichte Höchstdosis des Allergens unter einer oralen Provokation entwickeln. Da sich die verabreichten Höchstdosen der einzelnen Studien z.B. zur Kuhmilch-OIT stark unterschieden, zeigte sich auch eine große Spannweite von 15-90% Erfolgsquote für eine Desensibilisierung in diesen Studien.

Ob man durch dieses neue Behandlungskonzept langfristig eine wirklich persistierende, komplette Toleranz und damit Heilung induzieren kann, sodass die Kinder frei und auch nicht täglich das Allergen zu sich nehmen müssen, ist in den meisten Studien nicht betrachtet worden. Burks et al. wählten allerdings ein entsprechendes Studiendesign aus, in dem 40 Kinder mit Hühnereiallergie eine Hühnerei-OIT für 22 Monate durchführten, danach eine orale Provokation erhielten und dann für ca. 4-6 Wochen keine OIT weiter zu sich nahmen, um dann erneut provoziert zu werden (Burks et al., 2012). Unter laufender OIT waren nach 22 Monaten 75% der Kinder desensibilisiert und zeigten keine Reaktion unter oraler Provokation. Allerdings waren nur 28% der Kinder komplett tolerant und reagierten nicht auf die Höchstdosis bei der oralen Provokation, nachdem sie 4-6 Wochen keine OIT durchgeführt hatten. Die Studie beinhaltete zwar eine Kontrollgruppe, wobei aber diese Patienten am Ende leider keine Provokation erhielten. Eine Studie, die in unserer Arbeitsgruppe durchgeführt wurde, konnte bei etwas jüngeren Kindern mit Hühnerei- und Kuhmilchallergie eine Toleranzinduktion bei 36% der Kinder zeigen, wobei allerdings auch 35% der Kinder der Kontrollgruppe, die keine OIT durchgeführt hatten, keine Reaktion am Ende der Studie bei oraler Provokation zeigten (Staden et al., 2007). Somit ist noch nicht bewiesen, dass die OIT zu einer Toleranzinduktion führen kann.

Die hier dargestellte Studie zur OIT bei Erdnuss-allergischen Kindern stellte eine der ersten Pilotstudien zu diesem Thema dar. Bei 14 von 23 Kindern (61%) mit klinisch relevanter Erdnussallergie konnte die Reaktionsschwelle nach erfolgter Erdnuss-OIT angehoben werden. Vor Start der OIT tolerierten diese 14 Kinder im Median eine maximale Dosis von 48mg Erdnuss-Protein

(ca. 1/3 Erdnuss, Spannweite 5-250mg) bei oraler Provokation. Nach erfolgter OIT tolerierten sie im Median 250mg Erdnuss-Protein (ca.2 Erdnüsse, Spannweite 62,5-1000mg) bei oraler Provokation. Wir wählten in dieser Studie auch ein Studiendesign zur Beurteilung der Toleranzinduktion, welches nach ca. 7 Monaten der OIT einen zweiwöchigen Stopp der Therapie gefolgt von oraler Provokation bei den Kindern vorsah. Drei von 23 Kindern (13%) waren komplett tolerant und reagierten selbst nach einer Pause der OIT von 2 Wochen nicht mehr auf die Höchstdosis von ca. 4 Erdnüssen (=1g Erdnuss-Protein). Da unsere Studie keine Kontrollgruppe beinhaltete, kann auch für die Erdnuss-OIT keine Aussage gemacht werden, ob diese Therapieform eine komplette Toleranz induzieren kann. Diese Studie stellt aber eine „proof of concept“-Studie dar, dass es überhaupt möglich war, bei Patienten mit Erdnussallergie eine OIT durchzuführen und eine Desensibilisierung und Reaktionsschwellen-Anhebung bei manchen Patienten zu bewirken. Dieser „Proof of concept“ konnte mittlerweile an drei weiteren, nicht kontrollierten, aber auch zwei kontrollierten Studien zur OIT bei Erdnuss-allergischen Kindern verifiziert werden (zusammengefasst in (Trendelenburg et al., 2014)). So zeigten erst kürzlich Anagnostou et al, dass bei 39 von 49 Kinder, die eine Erdnuss-OIT erhielten, die Reaktionsschwelle (maximal tolerierte Dosis bei oraler Provokation) von im Median 5mg Erdnuss-Protein vor Studienstart auf 1400mg Erdnuss-Protein nach erfolgter und unter laufender OIT angehoben werden konnte (Anagnostou et al., 2014). Die Reaktionsschwelle der Kontrollgruppe, die während der 6 Monate eine reine Eliminationsdiät weiterhin durchführte, änderte sich mit im Median von 5mg Erdnuss-Protein zwischen Beginn und Ende der Studie nicht. 24 von 49 Kindern (49%) der OIT-Gruppe dieser Studie als auch 79% der Kinder einer anderen Placebo-kontrollierten Studie (Varshney et al., 2011) reagierte auch nicht auf die höchste Dosis der oralen Erdnuss-Provokation nach erfolgter OIT und waren somit desensibilisiert. Beide Studien weisen eine deutlich bessere Wirksamkeit der OIT im Gegensatz zu unseren Ergebnissen auf, welches am ehesten damit erklärt werden kann, dass die OIT in diesen Studien nicht, wie in der hier dargestellten Studie, für einige Wochen unterbrochen wurde.

3.4.4 Verträglichkeit der oralen Immuntherapie (OIT)

Auch wenn, wie schon in den Studien zur subkutanen Immuntherapie, es Hinweise gibt, dass eine OIT zur Desensibilisierung bei Erdnuss-allergischen Kindern führen kann, steht die Risikoabschätzung zwischen Nebenwirkungsrate und Anhebung der Reaktionsschwelle als Desensibilisierungserfolg immer noch auf dem Prüfstand. In der hier vorgestellten Studie haben 4 von 23 Patienten (17%) die Therapie vorzeitig wegen Nebenwirkungen, wie Verschlechterung des schon vorher bestehenden Asthma bronchiales und rezidivierenden Durchfällen, abgebrochen. 3% aller OIT-Gaben waren mit objektivierbaren milde bis moderate Nebenwirkungen assoziiert. Der häufigste Augmentationsfaktor für das Auftreten von allergischen Nebenwirkungen nach OIT- Gabe waren virale oder bakterielle Infekte. 1,3% aller OIT-Gaben waren allerdings mit pulmonalen Symptomen wie pfeifende Atmung, Atemnot und anhaltendem Husten assoziiert. Anagnostou et al. beobachteten, dass die Mehrzahl der Patienten subjektive Symptome wie orales Allergiesyndrom (6,3% von allen OIT-Gaben), Bauchschmerzen oder Übelkeit (2,6%/2,3% von allen OIT-Gaben) aufwiesen (Anagnostou et al., 2014). Es kam aber auch in dieser Studie nach 0,41% der OIT-Gaben bei den Kindern zu pulmonalen Symptomen wie Giemen. Wenn man alle bisher publizierten Studien zur OIT betrachtet, geben die Autoren an, dass 0-20% aller Patienten unter OIT multisystemische allergische Nebenwirkungen erlitten haben. Außerdem geben sie an, dass 35-39 von insgesamt 364 Patienten, die bisher eine OIT durchgeführt hatten, wegen der Nebenwirkungen intramuskulär mit Adrenalin behandelt werden mussten, währenddessen nur ein Patient von 175 der Kontrollgruppen in der Studienzeit Adrenalin benötigte (zusammengefasst in (Trendelenburg et al., 2014). In der hier vorgestellten Studie benötigte keiner der 23 Patienten Adrenalin. Da es bislang auch noch keine Langzeit-Beobachtungsstudien zur OIT gibt, kann auch momentan über die Nebenwirkungsrate einer Langzeittherapie keine Aussage gemacht werden.

3.4.5 Mögliche immunmodulatorische Wirkmechanismen der OIT

In der hier beschriebenen Studie konnten wir erste Hinweise für eine eventuelle Immunmodulation unter OIT auf der T-Zell-Ebene darstellen. Es wurde in den 14 Patienten, die die OIT abgeschlossen hatten, die Zytokinproduktion im Überstand von *in vitro* mit Erdnussextrakt stimulierten PBMCs vor und nach erfolgter OIT gemessen. Im Vergleich zu vor Beginn der Therapie zeigte sich bei allen Patienten eine signifikante, allergenspezifische Reduktion der IL-2, IL-4 und IL-5 Produktion nach OIT. Weitere Zytokine wie IFN- γ , TNF- α und IL-10 waren sowohl vor als auch nach OIT nur sehr gering messbar. Die OIT scheint somit eher eine klonale Anergie zu bewirken als z.B. einen erwarteten Th1-Shift oder Ausbildung von Treg-Zellen mit Erdnuss-spezifischer IL-10-Produktion. Varshney et al konnten auch eine verminderte Produktion von Erdnuss-spezifischen IL-5 und IL-13 im Vergleich zu vor Beginn der Therapie in den Patienten messen, die mittels OIT behandelt worden waren (Varshney et al., 2011). In der Placebo-Gruppe konnte kein Unterschied in der IL-5 und IL-13-Produktion vor und nach Therapie beobachtet werden. Ähnlich zu unserer Studie wiesen die PBMCs der Patienten unter OIT auch keine Erdnuss-spezifische IFN- γ und IL-10-Produktion auf. Nach 9 Monaten unter OIT konnte allerdings ein leichter, transienter Anstieg von TGF- β gemessen werden. Obwohl nur 5 Patienten der OIT-Gruppe dahingehend untersucht wurden, konnten Varshney et al. zeigen, dass diese 5 Patienten im Gegensatz zu vier Patienten der Placebo-Gruppe vermehrt Erdnuss-spezifisch Foxp3^{high}CD4⁺CD25⁺ Treg-Zellen aufwiesen.

Auch auf B-Zell-Ebene scheint eine Immunmodulation stattzufinden. Sowohl in der hier dargestellten Studie, als auch alle anderen Studien zur OIT konnten einen Anstieg der Allergen-spezifischen IgG4-Produktion nach OIT nachweisen (z.B. (Burks et al., 2012; Jones et al., 2009; Varshney et al., 2011)). Sowohl in unserer Untersuchung als auch bei Varshney et al. (Varshney et al., 2011), konnte zunächst nach ca. 7-12 Monaten unter OIT keine Änderung in der Allergen-spezifischen IgE Produktion gemessen

werden. Anagnostou et al. konnten sogar einen signifikanten Anstieg des Allergen-spezifischen IgEs beobachten (Anagnostou et al., 2014). Jedoch andere Gruppen konnten nach einer längeren Zeit unter OIT, z.B. 18 Monate, eine Reduktion der IgE-Werte im Vergleich zu den Vorwerten vor Therapie beobachten (Jones et al., 2009). Ähnlich zu unseren Ergebnissen konnten die meisten Gruppen auch zeigen, dass eine Reduktion des Durchmessers der Allergen-spezifischen Quaddel im Hauttest unter OIT stattfindet (z.B. (Burks et al., 2012; Jones et al., 2009; Varshney et al., 2011)).

Zwei Studien konnten auch einen Effekt der OIT auf Effektorzell-Ebene nachweisen (Burks et al., 2012; Jones et al., 2009). Dazu wurde peripher gewonnenes Blut *in vitro* mit Allergen-Extrakt stimuliert und im Anschluss die Anzahl der aktivierten basophilen Granulozyten (CD63-Hochregulation) nach Stimulation gemessen. Nach OIT konnten deutlich weniger Basophile durch *in vitro*-Stimulation aktiviert werden als vor Beginn der Therapie. Dies konnten allerdings Anagnostou et al. in ihrer Erdnuss-OIT Studie nicht verifizieren (Anagnostou et al., 2014).

4. ZUSAMMENFASSUNG

Die Zunahme von atopischen Erkrankungen in den letzten 50 Jahren in den westlichen Industriestaaten stellt nicht nur für die Betroffenen sondern auch gesundheitsökonomisch für die Gesamtbevölkerung eine große Herausforderung dar. In den letzten Jahrzehnten konnten viele Fortschritte in der Erforschung der molekularen und zellulären Grundlagen für die Entstehung einer Sensibilisierung und allergischen Th2-Entzündungsreaktion und deren Chronifizierung verzeichnet werden.

Durch die hier dargestellten Untersuchungen konnten weitere Erkenntnisse des Zusammenspiels zwischen Sensibilisierung und Allergen-spezifischer Th2-Immunantwort und der klinischen Ausprägung einer allergischen Erkrankung gewonnen werden. Auch wenn es für andere atopische Erkrankungen widersprüchliche Daten gibt, konnten wir zeigen, dass die Stärke der Sensibilisierung und Th2-Immunantwort bei Erdnuss-allergischen Kindern mit der klinischen Ausprägung der Erdnussallergie korreliert. Dazu wurde als Ausdruck der klinischen Ausprägung der Erdnussallergie die Reaktionsschwelle mittels eines neuen, modifizierten Protokolls für orale Provokation bestimmt. Je höher die Sensibilisierung, Th2-Immunantwort und Aktivierung der Effektorzellen ausgeprägt war, desto niedriger war die Reaktionsschwelle der Patienten unter Provokation. Somit können Biomarker der Sensibilisierung und Th2-Immunantwort bei Erdnussallergikern als Marker für die Schwere der Erkrankung angesehen werden.

Viele epidemiologische Studien, besonders im Kindesalter, konnten zeigen, dass es zu einem Fortschreiten der allergischen Erkrankungen im Sinne eines „atopischen Marsches“ kommen kann. Die Gründe dafür sind noch unklar. Unsere hier dargestellten Untersuchungen im Mausmodell geben weitere Hinweise für das Vorliegen des „atopischen Marsches“ und unterstützten auch die These des „Sensitization spreadings“. Wir konnten zeigen, dass es durch eine Erstsensibilisierung zu einer verstärkten

Zweitsensibilisierung und Ausprägung einer klinisch relevanten Allergie kommen kann. Dieses Phänomen war abhängig von der Stärke der ersten Sensibilisierung/Th2-Immunantwort und unabhängig von dem Allergen, welches die primäre Sensibilisierung ausmachte. Im „humanen Modell“ bei Kindern mit Spina bifida konnten wir dieses Phänomen auch indirekt beweisen. Durch das alleinige Meiden des primären Allergens wie z.B. Latex konnte zum einen die Latexallergie bei Kindern mit Spina bifida verhindert werden, zum anderen konnte aber auch das Fortschreiten von weiteren Sensibilisierungen und die Entwicklung anderer atopischer Erkrankungen durch die latexfreie Prophylaxe verhindert werden. Somit scheint es wahrscheinlich, dass eine primäre Th2-Immunantwort alle weiteren Schritte des „atopischen Marsches“ im Sinne eines Circulus vitiosus triggert. Alle Präventionsstrategien müssten also vor dieser „Initialzündung“ greifen.

Seit ca. 20 Jahren werden unterschiedlichste Präventionsmaßnahmen untersucht, mit oft nur enttäuschenden Ergebnissen. Allergenmeidung als präventive Maßnahme hat einen Stellenwert in der primären Prävention, wenn das Allergen nahezu komplett gemieden werden kann, wie wir am „humanen Modell“ der Latexallergie bei Spina bifida Kindern zeigen konnten.

Auch die einzelnen Interventionen der primären Prävention, die eine Immunmodulation vorsehen, wie z.B. hier dargestellt im Mausmodell die präventive Gabe von H1-R-Antagonisten oder der Einsatz von Prä- und Probiotika vor bzw. während des Sensibilisierungsvorganges, scheinen als präventive Einzelmaßnahme bei Menschen nicht ausreichend, eine Sensibilisierung und Th2-Immunantwort aufzuhalten. Es wird außerdem postuliert, dass es wohl ein immunologisches „Window of Opportunity“ gibt, in dem man direkt nach Geburt das physiologisch vorliegende Th2-Milieu modulieren könnte. Das genaue Zeitfenster dafür ist noch nicht bekannt. Maßnahmen, die diese Modulation versuchen, sollten sehr früh im Säuglingsalter- wenn nicht gar schon *in utero*- begonnen werden. Die meisten Interventionsstudien zur primären Prävention wurden bislang allerdings erst später und damit eventuell zu spät durchgeführt. Als einzige

effektive sekundäre Präventionsmaßnahme, den „atopischen Marsch“ bei schon vorhandener allergischer Erkrankung aufzuhalten, hat sich bislang die spezifische Immuntherapie (SIT) gezeigt. Sie verhindert wahrscheinlich durch einen „Bystander“-Effekt und Bildung von regulatorischen T-Zellen oder anderen tolerogenen, immunmodulatorischen Effekten ein „Sensitization spreading“ und die Ausbildung von weiteren atopischen Erkrankungen.

Die SIT wird aber nicht nur als sekundäre Prävention im Kindesalter eingesetzt, sondern wird seit ca. 100 Jahren hauptsächlich auch als Therapiemaßnahme bei atopischen Erkrankungen eingesetzt. Die hier vorgelegte Arbeit zeigt nun auch ein Beispiel für eine andere Form der therapeutischen Immuntherapie- die oralen Immuntherapie (OIT). Die Wirksamkeit der OIT konnte hier anhand einer nicht-kontrollierten Pilotstudie an Erdnuss-allergischen Kindern dargestellt werden. Die klinische Wirksamkeit scheint mit einer Immunmodulation der Th2-Immunantwort einherzugehen. Auch andere publizierte Daten zeigen, dass die OIT eine Allergen-spezifische T-Zell-Anergie und auf B-Zell-Ebene einen Immunglobulin-Klassen-Switch auslöst. Andere Formen der Immuntherapie, wie die intralymphatische oder auch epikutane Applikation des Allergenextraktes, werden momentan international untersucht und zeigen erste vielversprechende Ergebnisse. Um aber sowohl die immunmodulatorischen Mechanismen als auch die Risikoabschätzung zwischen Wirksamkeit und Nebenwirkungsrate genauer zu untersuchen, sind noch bei allen neuen Formen der Immuntherapie größere, multizentrische, Placebo-kontrollierte als auch Langzeit-Beobachtungsstudien nötig. Unter der Federführung unserer Arbeitsgruppe wird somit in Deutschland momentan eine multizentrische, Placebo-kontrollierte Studie zur OIT bei Erdnuss-allergischen Kindern als auch deren Langzeitbeobachtung durchgeführt.

5. LITERATURANGABEN

Abramson, M. J., Puy, R. M., and Weiner, J. M. (2010). Injection allergen immunotherapy for asthma. *Cochrane Database Syst Rev*, CD001186.

Ahrens, B., Quarcoo, D., Buhner, S., Matricardi, P. M., and Hamelmann, E. (2011). Oral administration of bacterial lysates attenuates experimental food allergy. *Int Arch Allergy Immunol* 156, 196-204.

Akdis, M., and Akdis, C. A. (2014). Mechanisms of allergen-specific immunotherapy: multiple suppressor factors at work in immune tolerance to allergens. *J Allergy Clin Immunol* 133, 621-631.

Akei, H. S., Brandt, E. B., Mishra, A., Strait, R. T., Finkelman, F. D., Warriar, M. R., Hershey, G. K., Blanchard, C., and Rothenberg, M. E. (2006). Epicutaneous aeroallergen exposure induces systemic TH2 immunity that predisposes to allergic nasal responses. *J Allergy Clin Immunol* 118, 62-69.

Albrecht, M., Arnhold, M., Lingner, S., Mahapatra, S., Bruder, D., Hansen, G., and Dittrich, A. M. (2012). IL-4 attenuates pulmonary epithelial cell-mediated suppression of T cell priming. *PLoS One* 7, e45916.

Amu, S., Saunders, S. P., Kronenberg, M., Mangan, N. E., Atzberger, A., and Fallon, P. G. (2010). Regulatory B cells prevent and reverse allergic airway inflammation via FoxP3-positive T regulatory cells in a murine model. *J Allergy Clin Immunol* 125, 1114-1124 e1118.

Anagnostou, K., Islam, S., King, Y., Foley, L., Pasea, L., Bond, S., Palmer, C., Deighton, J., Ewan, P., and Clark, A. (2014). Assessing the efficacy of oral immunotherapy for the desensitisation of peanut allergy in children (STOP II): a phase 2 randomised controlled trial. *Lancet* 383, 1297-1304.

Arshad, S. H., Bojarskas, J., Tsitoura, S., Matthews, S., Mealy, B., Dean, T., Karmaus, W., Frischer, T., Kuehr, J., and Forster, J. (2002). Prevention of sensitization to house dust mite by allergen avoidance in school age children: a randomized controlled study. *Clin Exp Allergy* 32, 843-849.

Asher, M. I., Montefort, S., Bjorksten, B., Lai, C. K., Strachan, D. P., Weiland, S. K., and Williams, H. (2006). 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* 368, 733-743.

Asher, M. I., Stewart, A. W., Mallol, J., Montefort, S., Lai, C. K., Ait-Khaled, N., and Odhiambo, J. (2010). Which population level environmental factors are associated with asthma, rhinoconjunctivitis and eczema? Review of the ecological analyses of ISAAC Phase One. *Respir Res* 11, 8.

Ballardini, N., Kull, I., Soderhall, C., Lilja, G., Wickman, M., and Wahlgren, C. F. (2012). Eczema severity in preadolescent children and its relation to sex, filaggrin mutations, asthma, rhinitis, aggravating factors and topical treatment: a report from the BAMSE birth cohort. *Br J Dermatol* 168, 588-594.

Benhamou, A. H., Zamora, S. A., and Eigenmann, P. A. (2008). Correlation between specific immunoglobulin E levels and the severity of reactions in egg allergic patients. *Pediatr Allergy Immunol* 19, 173-179.

- Bergmann, R. L., Bergmann, K. E., Lau-Schadensdorf, S., Luck, W., Dannemann A., Bauer C.P., Dorsch W., Forster J., Schmidt E., Schulz J., and Wahn U. (1994). Atopic diseases in infancy. The German multicenter atopy study (MAS-90). *Pediatr Allergy Immunol* 5, 19-25.
- Bergmann, R. L., Edenharter, G., Bergmann, K. E., Forster, J., Bauer, C. P., Wahn, V., Zepp, F., and Wahn, U. (1998). Atopic dermatitis in early infancy predicts allergic airway disease at 5 years. *Clin Exp Allergy* 28, 965-970.
- Bergmann, R. L., Edenharter, G., Bergmann, K. E., Guggenmoos-Holzmann, I., Forster, J., Bauer, C. P., Wahn, V., Zepp, F., and Wahn, U. (1997). Predictability of early atopy by cord blood-IgE and parental history. *Clin Exp Allergy* 27, 752-760.
- Bisgaard, H., Simpson, A., Palmer, C. N., Bonnelykke, K., McLean, I., Mukhopadhyay, S., Phipper, C. B., Halkjaer, L. B., Lipworth, B., Hankinson, J., *et al.* (2008). Gene-environment interaction in the onset of eczema in infancy: filaggrin loss-of-function mutations enhanced by neonatal cat exposure. *PLoS Med* 5, e131.
- Bjorksten, B., Clayton, T., Ellwood, P., Stewart, A., and Strachan, D. (2008). Worldwide time trends for symptoms of rhinitis and conjunctivitis: Phase III of the International Study of Asthma and Allergies in Childhood. *Pediatr Allergy Immunol* 19, 110-124.
- Blumchen, K., Kallinich, T., and Hamelmann, E. (2001). Interleukin-5: a novel target for asthma therapy. *Expert Opin Biol Ther* 1, 433-453.
- Bocking, C., Renz, H., and Pfefferle, P. I. (2012). [Prevalence and socio-economic relevance of allergies in Germany]. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz* 55, 303-307.
- Boguniewicz M., S. L., Leung D., Hultsch T., Spergel J., (2007). The allergic profile of infants in the SAM study: a large longitudinal study of development of asthma and allergies in patients with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 119, s209.
- Bousquet, J., Khaltaev, N., Cruz, A. A., Denburg, J., Fokkens, W. J., Togias, A., Zuberbier, T., Baena-Cagnani, C. E., Canonica, G. W., van Weel, C., *et al.* (2008). Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) 2008 update (in collaboration with the World Health Organization, GA(2)LEN and AllerGen). *Allergy* 63 *Suppl* 86, 8-160.
- Boyle, R. J., Elremeli, M., Hockenhull, J., Cherry, M. G., Bulsara, M. K., Daniels, M., and Oude Elberink, J. N. (2012). Venom immunotherapy for preventing allergic reactions to insect stings. *Cochrane Database Syst Rev* 10, CD008838.
- Brandt, E. B., Scribner, T. A., Akei, H. S., and Rothenberg, M. E. (2006). Experimental gastrointestinal allergy enhances pulmonary responses to specific and unrelated allergens. *J Allergy Clin Immunol* 118, 420-427.
- Braun-Fahrlander, C., Riedler, J., Herz, U., Eder, W., Waser, M., Grize, L., Maisch, S., Carr, D., Gerlach, F., Bufe, A., *et al.* (2002). Environmental exposure to endotoxin and its relation to asthma in school-age children. *N Engl J Med* 347, 869-877.
- Brehler, R., Klimek, L., Kopp, M. V., and Christian Virchow, J. (2013). Specific immunotherapy-indications and mode of action. *Dtsch Arztebl Int* 110, 148-158.
- Brown, S. J., Asai, Y., Cordell, H. J., Campbell, L. E., Zhao, Y., Liao, H., Northstone, K., Henderson, J., Alizadehfar, R., Ben-Shoshan, M., *et al.* (2011). Loss-of-function variants in the filaggrin gene are a significant risk factor for peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol* 127, 661-667.

- Bufe, A., Eberle, P., Franke-Beckmann, E., Funck, J., Kimmig, M., Klimek, L., Knecht, R., Stephan, V., Tholstrup, B., Weisshaar, C., and Kaiser, F. (2009). Safety and efficacy in children of an SQ-standardized grass allergen tablet for sublingual immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 123, 167-173 e167.
- Burks, A. W., Jones, S. M., Wood, R. A., Fleischer, D. M., Sicherer, S. H., Lindblad, R. W., Stablein, D., Henning, A. K., Vickery, B. P., Liu, A. H., *et al.* (2012). Oral immunotherapy for treatment of egg allergy in children. *N Engl J Med* 367, 233-243.
- Burney, P. G., Chinn, S., and Rona, R. J. (1990). Has the prevalence of asthma increased in children? Evidence from the national study of health and growth 1973-86. *Bmj* 300, 1306-1310.
- Bustos, G. J., Bustos, D., Bustos, G. J., and Romero, O. (1995). Prevention of asthma with ketotifen in preasthmatic children: a three-year follow-up study. *Clin Exp Allergy* 25, 568-573.
- Calderon, M. A., Alves, B., Jacobson, M., Hurwitz, B., Sheikh, A., and Durham, S. (2007). Allergen injection immunotherapy for seasonal allergic rhinitis. *Cochrane Database Syst Rev*, CD001936.
- Calderon, M. A., Gerth van Wijk, R., Eichler, I., Matricardi, P. M., Varga, E. M., Kopp, M. V., Eng, P., Niggemann, B., Nieto, A., Valovirta, E., *et al.* (2012). Perspectives on allergen-specific immunotherapy in childhood: an EAACI position statement. *Pediatr Allergy Immunol* 23, 300-306.
- Canonica, G. W., and Blaiss, M. (2011). Antihistaminic, anti-inflammatory, and antiallergic properties of the nonsedating second-generation antihistamine desloratadine: a review of the evidence. *World Allergy Organ J* 4, 47-53.
- Carlsten, C., Dimich-Ward, H., Ferguson, A., Watson, W., Rousseau, R., Dybuncio, A., Becker, A., and Chan-Yeung, M. (2013). Atopic dermatitis in a high-risk cohort: natural history, associated allergic outcomes, and risk factors. *Ann Allergy Asthma Immunol* 110, 24-28.
- Casale, T. B., Condemni, J., LaForce, C., Nayak, A., Rowe, M., Watrous, M., McAlary, M., Fowler-Taylor, A., Racine, A., Gupta, N., *et al.* (2001). Effect of omalizumab on symptoms of seasonal allergic rhinitis: a randomized controlled trial. *Jama* 286, 2956-2967.
- Celik-Bilgili, S., Mehl, A., Verstege, A., Staden, U., Nocon, M., Beyer, K., and Niggemann, B. (2005). The predictive value of specific immunoglobulin E levels in serum for the outcome of oral food challenges. *Clin Exp Allergy* 35, 268-273.
- Clarke, A. H., Thomas, W. R., Rolland, J. M., Dow, C., and O'Brien, R. M. (1999). Murine allergic respiratory responses to the major house dust mite allergen Der p 1. *Int Arch Allergy Immunol* 120, 126-134.
- Coffman, R. L. (2006). Origins of the T(H)1-T(H)2 model: a personal perspective. *Nat Immunol* 7, 539-541.
- Cookson, W., Moffatt, M., and Strachan, D. P. (2011). Genetic risks and childhood-onset asthma. *J Allergy Clin Immunol* 128, 266-270; quiz 271-262.
- Cruz, A. A., Popov, T., Pawankar, R., Annesi-Maesano, I., Fokkens, W., Kemp, J., Ohta, K., Price, D., and Bousquet, J. (2007). Common characteristics of upper and lower airways in rhinitis and asthma: ARIA update, in collaboration with GA(2)LEN. *Allergy* 62 Suppl 84, 1-41.

- Dang, T. D., Tang, M., Choo, S., Licciardi, P. V., Koplin, J. J., Martin, P. E., Tan, T., Gurrin, L. C., Ponsonby, A. L., Tey, D., *et al.* (2012). Increasing the accuracy of peanut allergy diagnosis by using Ara h 2. *J Allergy Clin Immunol* 129, 1056-1063.
- Des Roches, A., Paradis, L., Menardo, J. L., Bouges, S., Daures, J. P., and Bousquet, J. (1997). Immunotherapy with a standardized *Dermatophagoides pteronyssinus* extract. VI. Specific immunotherapy prevents the onset of new sensitizations in children. *J Allergy Clin Immunol* 99, 450-453.
- Dharmage, S. C., Lowe, A. J., Matheson, M. C., Burgess, J. A., Allen, K. J., and Abramson, M. J. (2013). Atopic dermatitis and the atopic march revisited. *Allergy* 69, 17-27.
- Di Gioacchino, M., Cavallucci, E., Di Stefano, F., Verna, N., Ramondo, S., Ciuffreda, S., Riccioni, G., and Boscolo, P. (2000). Influence of total IgE and seasonal increase of eosinophil cationic protein on bronchial hyperreactivity in asthmatic grass-sensitized farmers. *Allergy* 55, 1030-1034.
- Du Toit, G., Katz, Y., Sasieni, P., Meshier, D., Maleki, S. J., Fisher, H. R., Fox, A. T., Turcanu, V., Amir, T., Zadik-Mnuhin, G., *et al.* (2008). Early consumption of peanuts in infancy is associated with a low prevalence of peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol* 122, 984-991.
- Du Toit, G., Roberts, G., Sayre, P. H., Plaut, M., Bahnson, H. T., Mitchell, H., Radulovic, S., Chan, S., Fox, A., Turcanu, V., and Lack, G. (2013). Identifying infants at high risk of peanut allergy: the Learning Early About Peanut Allergy (LEAP) screening study. *J Allergy Clin Immunol* 131, 135-143 e131-112.
- Durham, S. R., Ying, S., Varney, V. A., Jacobson, M. R., Sudderick, R. M., Mackay, I. S., Kay, A. B., and Hamid, Q. A. (1996). Grass pollen immunotherapy inhibits allergen-induced infiltration of CD4+ T lymphocytes and eosinophils in the nasal mucosa and increases the number of cells expressing messenger RNA for interferon-gamma. *J Allergy Clin Immunol* 97, 1356-1365.
- Edfors-Lubs, M. L. (1971). Allergy in 7000 twin pairs. *Acta Allergol* 26, 249-285.
- Ege, M. J., Bieli, C., Frei, R., van Strien, R. T., Riedler, J., Ublagger, E., Schram-Bijkerk, D., Brunekreef, B., van Hage, M., Scheynius, A., *et al.* (2006). Prenatal farm exposure is related to the expression of receptors of the innate immunity and to atopic sensitization in school-age children. *J Allergy Clin Immunol* 117, 817-823.
- Ege, M. J., Mayer, M., Normand, A. C., Genuneit, J., Cookson, W. O., Braun-Fahrlander, C., Heederik, D., Piarroux, R., and von Mutius, E. (2011). Exposure to environmental microorganisms and childhood asthma. *N Engl J Med* 364, 701-709.
- Eigenmann, P. A., Sicherer, S. H., Borkowski, T. A., Cohen, B. A., and Sampson, H. A. (1998). Prevalence of IgE-mediated food allergy among children with atopic dermatitis. *Pediatrics* 101, E8.
- Eisenbarth, S. C., Zhadkevich, A., Ranney, P., Herrick, C. A., and Bottomly, K. (2004). IL-4-dependent Th2 collateral priming to inhaled antigens independent of Toll-like receptor 4 and myeloid differentiation factor 88. *J Immunol* 172, 4527-4534.
- Eller, E., Hansen, T. K., and Bindselev-Jensen, C. (2012). Clinical thresholds to egg, hazelnut, milk and peanut: results from a single-center study using standardized challenges. *Ann Allergy Asthma Immunol* 108, 332-336.
- Ellwood, P., Asher, M. I., Garcia-Marcos, L., Williams, H., Keil, U., Robertson, C., and Nagel, G. (2013). Do fast foods cause asthma, rhinoconjunctivitis and eczema? Global findings from

the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) phase three. *Thorax* 68, 351-360.

Filipiak-Pittroff, B., Schnopp, C., Berdel, D., Naumann, A., Sedlmeier, S., Onken, A., Rodriguez, E., Folster-Holst, R., Baurecht, H., Ollert, M., *et al.* (2011). Predictive value of food sensitization and filaggrin mutations in children with eczema. *J Allergy Clin Immunol* 128, 1235-1241 e1235.

Fiocchi, A., Burks, W., Bahna, S. L., Bielory, L., Boyle, R. J., Cocco, R., Dreborg, S., Goodman, R., Kuitunen, M., Haahtela, T., *et al.* (2012). Clinical Use of Probiotics in Pediatric Allergy (CUPPA): A World Allergy Organization Position Paper. *World Allergy Organ J* 5, 148-167.

Flinterman, A. E., van Hoffen, E., den Hartog Jager, C. F., Koppelman, S., Pasmans, S. G., Hoekstra, M. O., Bruijnzeel-Koomen, C. A., Knulst, A. C., and Knol, E. F. (2007). Children with peanut allergy recognize predominantly Ara h2 and Ara h6, which remains stable over time. *Clin Exp Allergy* 37, 1221-1228.

Gehring, U., de Jongste, J. C., Kerkhof, M., Oldewening, M., Postma, D., van Strien, R. T., Wijga, A. H., Willers, S. M., Wolse, A., Gerritsen, J., *et al.* (2012). The 8-year follow-up of the PIAMA intervention study assessing the effect of mite-impermeable mattress covers. *Allergy* 67, 248-256.

Gerhold, K., Avagyan, A., Seib, C., Frei, R., Steinle, J., Ahrens, B., Dittrich, A. M., Blumchen, K., Lauener, R., and Hamelmann, E. (2006). Prenatal initiation of endotoxin airway exposure prevents subsequent allergen-induced sensitization and airway inflammation in mice. *J Allergy Clin Immunol* 118, 666-673.

Gerhold, K., Blumchen, K., Bock, A., Seib, C., Stock, P., Kallinich, T., Lohning, M., Wahn, U., and Hamelmann, E. (2002). Endotoxins prevent murine IgE production, T(H)2 immune responses, and development of airway eosinophilia but not airway hyperreactivity. *J Allergy Clin Immunol* 110, 110-116.

Grabenhenrich, L. B., Gough, H., Reich, A., Eckers, N., Zepp, F., Nitsche, O., Forster, J., Schuster, A., Schramm, D., Bauer, C. P., *et al.* (2014). Early-life determinants of asthma from birth to age 20 years: A German birth cohort study. *J Allergy Clin Immunol*.

Greisner, W. A., 3rd, Settipane, R. J., and Settipane, G. A. (1998). Co-existence of asthma and allergic rhinitis: a 23-year follow-up study of college students. *Allergy Asthma Proc* 19, 185-188.

Gruber, C., Illi, S., Plieth, A., Sommerfeld, C., and Wahn, U. (2002). Cultural adaptation is associated with atopy and wheezing among children of Turkish origin living in Germany. *Clin Exp Allergy* 32, 526-531.

Gruzieva, O., Gehring, U., Aalberse, R., Agius, R., Beelen, R., Behrendt, H., Bellander, T., Birk, M., de Jongste, J. C., Fuertes, E., *et al.* (2014). Meta-analysis of air pollution exposure association with allergic sensitization in European birth cohorts. *J Allergy Clin Immunol* 133, 767-776 e767.

Guilbert, T. W., Morgan, W. J., Zeiger, R. S., Mauger, D. T., Boehmer, S. J., Szefer, S. J., Bacharier, L. B., Lemanske, R. F., Jr., Strunk, R. C., Allen, D. B., *et al.* (2006). Long-term inhaled corticosteroids in preschool children at high risk for asthma. *N Engl J Med* 354, 1985-1997.

Gustafsson, D., Sjöberg, O., and Foucard, T. (2000). Development of allergies and asthma in infants and young children with atopic dermatitis--a prospective follow-up to 7 years of age. *Allergy* 55, 240-245.

- Hamelmann, E., Beyer, K., Gruber, C., Lau, S., Matricardi, P. M., Nickel, R., Niggemann, B., and Wahn, U. (2007). Primary prevention of allergy: avoiding risk or providing protection? *Clin Exp Allergy* 38, 233-245.
- Hatzler, L., Panetta, V., Lau, S., Wagner, P., Bergmann, R. L., Illi, S., Bergmann, K. E., Keil, T., Hofmaier, S., Rohrbach, A., *et al.* (2012). Molecular spreading and predictive value of preclinical IgE response to *Phleum pratense* in children with hay fever. *J Allergy Clin Immunol* 130, 894-901 e895.
- Hill, D. J., Hosking, C. S., de Benedictis, F. M., Oranje, A. P., Diepgen, T. L., and Bauchau, V. (2008). Confirmation of the association between high levels of immunoglobulin E food sensitization and eczema in infancy: an international study. *Clin Exp Allergy* 38, 161-168.
- Holt, P. G., Sly, P. D., Sampson, H. A., Robinson, P., Loh, R., Lowenstein, H., Calatroni, A., and Sayre, P. (2013). Prophylactic use of sublingual allergen immunotherapy in high-risk children: a pilot study. *J Allergy Clin Immunol* 132, 991-993 e991.
- Host, A., Halken, S., Muraro, A., Dreborg, S., Niggemann, B., Aalberse, R., Arshad, S. H., von Berg, A., Carlsen, K. H., Duschen, K., *et al.* (2008). Dietary prevention of allergic diseases in infants and small children. *Pediatr Allergy Immunol* 19, 1-4.
- Hourihane, J. O., Aiken, R., Briggs, R., Gudgeon, L. A., Grimshaw, K. E., DunnGalvin, A., and Roberts, S. R. (2007). The impact of government advice to pregnant mothers regarding peanut avoidance on the prevalence of peanut allergy in United Kingdom children at school entry. *J Allergy Clin Immunol* 119, 1197-1202.
- Hourihane, J. O., Grimshaw, K. E., Lewis, S. A., Briggs, R. A., Trewin, J. B., King, R. M., Kilburn, S. A., and Warner, J. O. (2005). Does severity of low-dose, double-blind, placebo-controlled food challenges reflect severity of allergic reactions to peanut in the community? *Clin Exp Allergy* 35, 1227-1233.
- Iikura, Y., Naspitz, C. K., Mikawa, H., Talaricoficho, S., Baba, M., Sole, D., and Nishima, S. (1992). Prevention of asthma by ketotifen in infants with atopic dermatitis. *Ann Allergy* 68, 233-236.
- Illi, S., von Mutius, E., Lau, S., Nickel, R., Gruber, C., Niggemann, B., and Wahn, U. (2004). The natural course of atopic dermatitis from birth to age 7 years and the association with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 113, 925-931.
- Illi, S., von Mutius, E., Lau, S., Nickel, R., Niggemann, B., Sommerfeld, C., and Wahn, U. (2001). The pattern of atopic sensitization is associated with the development of asthma in childhood. *J Allergy Clin Immunol* 108, 709-714.
- Illi, S., von Mutius, E., Lau, S., Niggemann, B., Gruber, C., and Wahn, U. (2006). Perennial allergen sensitisation early in life and chronic asthma in children: a birth cohort study. *Lancet* 368, 763-770.
- ISAAC, Steering, and committee (1998). Worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and atopic eczema: ISAAC. The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Steering Committee. *Lancet* 351, 1225-1232.
- Ishizaka, K., Ishizaka, T., and Hornbrook, M. M. (1966). Physicochemical properties of reaginic antibody. V. Correlation of reaginic activity with gamma-E-globulin antibody. *J Immunol* 97, 840-853.
- Jacobsen, L., Niggemann, B., Dreborg, S., Ferdousi, H. A., Halken, S., Host, A., Koivikko, A., Norberg, L. A., Valovirta, E., Wahn, U., and Moller, C. (2007). Specific immunotherapy has

long-term preventive effect of seasonal and perennial asthma: 10-year follow-up on the PAT study. *Allergy* 62, 943-948.

Jang, J., Gary Chan, K. C., Huang, H., and Sullivan, S. D. (2013). Trends in cost and outcomes among adult and pediatric patients with asthma: 2000-2009. *Ann Allergy Asthma Immunol* 111, 516-522.

Johansson, S. G., and Bennich, H. (1967). Immunological studies of an atypical (myeloma) immunoglobulin. *Immunology* 13, 381-394.

Johansson, S. G., Bieber, T., Dahl, R., Friedmann, P. S., Lanier, B. Q., Lockey, R. F., Motala, C., Ortega Martell, J. A., Platts-Mills, T. A., Ring, J., *et al.* (2004). Revised nomenclature for allergy for global use: Report of the Nomenclature Review Committee of the World Allergy Organization, October 2003. *J Allergy Clin Immunol* 113, 832-836.

Jones, S. M., Pons, L., Roberts, J. L., Scurlock, A. M., Perry, T. T., Kulis, M., Shreffler, W. G., Steele, P., Henry, K. A., Adair, M., *et al.* (2009). Clinical efficacy and immune regulation with peanut oral immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 124, 292-300, 300 e291-297.

Karasuyama, H., Mukai, K., Tsujimura, Y., and Obata, K. (2009). Newly discovered roles for basophils: a neglected minority gains new respect. *Nat Rev Immunol* 9, 9-13.

Keil, T., Bockelbrink, A., Reich, A., Hoffmann, U., Kamin, W., Forster, J., Schuster, A., Willich, S. N., Wahn, U., and Lau, S. (2010). The natural history of allergic rhinitis in childhood. *Pediatr Allergy Immunol* 21, 962-969.

Koplin, J. J., Osborne, N. J., Wake, M., Martin, P. E., Gurrin, L. C., Robinson, M. N., Tey, D., Slaa, M., Thiele, L., Miles, L., *et al.* (2010). Can early introduction of egg prevent egg allergy in infants? A population-based study. *J Allergy Clin Immunol* 126, 807-813.

Kovac, K., Dodig, S., Tjesic-Drinkovic, D., and Raos, M. (2007). Correlation between asthma severity and serum IgE in asthmatic children sensitized to *Dermatophagoides pteronyssinus*. *Arch Med Res* 38, 99-105.

Kulig, M., Bergmann, R., Klettke, U., Wahn, V., Tacke, U., and Wahn, U. (1999a). Natural course of sensitization to food and inhalant allergens during the first 6 years of life. *J Allergy Clin Immunol* 103, 1173-1179.

Kulig, M., Luck, W., Lau, S., Niggemann, B., Bergmann, R., Klettke, U., Guggenmoos-Holzmann, I., and Wahn, U. (1999b). Effect of pre- and postnatal tobacco smoke exposure on specific sensitization to food and inhalant allergens during the first 3 years of life. Multicenter Allergy Study Group, Germany. *Allergy* 54, 220-228.

Laske, N., and Niggemann, B. (2004). Does the severity of atopic dermatitis correlate with serum IgE levels? *Pediatr Allergy Immunol* 15, 86-88.

Lau, S., Gerhold, K., Zimmermann, K., Ockeloen, C. W., Rossberg, S., Wagner, P., Sulser, C., Bunikowski, R., Witt, I., Wauer, J., *et al.* (2012). Oral application of bacterial lysate in infancy decreases the risk of atopic dermatitis in children with 1 atopic parent in a randomized, placebo-controlled trial. *J Allergy Clin Immunol* 129, 1040-1047.

Lau, S., Illi, S., Sommerfeld, C., Niggemann, B., Bergmann, R., von Mutius, E., and Wahn, U. (2000). Early exposure to house-dust mite and cat allergens and development of childhood asthma: a cohort study. Multicentre Allergy Study Group. *Lancet* 356, 1392-1397.

Laubereau, B., Brockow, I., Zirngibl, A., Koletzko, S., Gruebl, A., von Berg, A., Filipiak-Pittroff, B., Berdel, D., Bauer, C. P., Reinhardt, D., *et al.* (2004). Effect of breast-feeding on

the development of atopic dermatitis during the first 3 years of life--results from the GINI-birth cohort study. *J Pediatr* 144, 602-607.

Ling, E. M., Smith, T., Nguyen, X. D., Pridgeon, C., Dallman, M., Arbery, J., Carr, V. A., and Robinson, D. S. (2004). Relation of CD4+CD25+ regulatory T-cell suppression of allergen-driven T-cell activation to atopic status and expression of allergic disease. *Lancet* 363, 608-615.

Liu, Y. J. (2007). Thymic stromal lymphopoietin and OX40 ligand pathway in the initiation of dendritic cell-mediated allergic inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 120, 238-244; quiz 245-236.

Loibichler, C., Pichler, J., Gerstmayr, M., Bohle, B., Kisst, H., Urbanek, R., and Szepfalusi, Z. (2002). Materno-fetal passage of nutritive and inhalant allergens across placentas of term and pre-term deliveries perfused in vitro. *Clin Exp Allergy* 32, 1546-1551.

Loss, G., Bitter, S., Wohlgensinger, J., Frei, R., Roduit, C., Genuneit, J., Pekkanen, J., Roponen, M., Hirvonen, M. R., Dalphin, J. C., *et al.* (2012). Prenatal and early-life exposures alter expression of innate immunity genes: the PASTURE cohort study. *J Allergy Clin Immunol* 130, 523-530 e529.

Lowe, A. J., Tang, M. L., Dharmage, S. C., Varigos, G., Forster, D., Gurrin, L. C., Robertson, C. F., Abramson, M. J., Allen, K. J., and Su, J. (2012). A phase I study of daily treatment with a ceramide-dominant triple lipid mixture commencing in neonates. *BMC Dermatol* 12, 3.

Malmberg, L. P., Saarinen, K. M., Pelkonen, A. S., Savilahti, E., and Makela, M. J. (2010). Cow's milk allergy as a predictor of bronchial hyperresponsiveness and airway inflammation at school age. *Clin Exp Allergy* 40, 1491-1497.

Marenholz, I., Nickel, R., Ruschendorf, F., Schulz, F., Esparza-Gordillo, J., Kerscher, T., Gruber, C., Lau, S., Worm, M., Keil, T., *et al.* (2006). Filaggrin loss-of-function mutations predispose to phenotypes involved in the atopic march. *J Allergy Clin Immunol* 118, 866-871.

Matricardi, P. M., Bockelbrink, A., Keil, T., Gruber, C., Niggemann, B., Hamelmann, E., Wahn, U., and Lau, S. (2009). Dynamic evolution of serum immunoglobulin E to airborne allergens throughout childhood: results from the Multi-Centre Allergy Study birth cohort. *Clin Exp Allergy* 39, 1551-1557.

McNally, N. J., Phillips, D. R., and Williams, H. C. (1998). The problem of atopic eczema: aetiological clues from the environment and lifestyles. *Soc Sci Med* 46, 729-741.

Melioli, G., Marcomini, L., Agazzi, A., Bazurro, G., Tosca, M., Rossi, G. A., Minale, P., Rossi, R., Reggiardo, G., Canonica, G. W., and Passalacqua, G. (2012). The IgE repertoire in children and adolescents resolved at component level: a cross-sectional study. *Pediatr Allergy Immunol* 23, 433-440.

Mobs, C., Ipsen, H., Mayer, L., Slotosch, C., Petersen, A., Wurtzen, P. A., Hertl, M., and Pfutzner, W. (2012). Birch pollen immunotherapy results in long-term loss of Bet v 1-specific TH2 responses, transient TR1 activation, and synthesis of IgE-blocking antibodies. *J Allergy Clin Immunol* 130, 1108-1116 e1106.

Moller, C., Dreborg, S., Ferdousi, H. A., Halken, S., Host, A., Jacobsen, L., Koivikko, A., Koller, D. Y., Niggemann, B., Norberg, L. A., *et al.* (2002). Pollen immunotherapy reduces the development of asthma in children with seasonal rhinoconjunctivitis (the PAT-study). *J Allergy Clin Immunol* 109, 251-256.

Muche-Borowski C., K. M., Reese I., Sitter H., Werfel T., Schäfer T., (2009). S3-Leitlinie Allergieprävention-Update 2009. *Allergo J* 18, 332-341.

- Muehleisen, B., and Gallo, R. L. (2013). Vitamin D in allergic disease: shedding light on a complex problem. *J Allergy Clin Immunol* 131, 324-329.
- Muraro, A., Halken, S., Arshad, S. H., Beyer, K., Dubois, A. E., Du Toit, G., Eigenmann, P. A., Grimshaw, K. E., Hoest, A., Lack, G., *et al.* (2014). EAACI Food Allergy and Anaphylaxis Guidelines. Primary prevention of food allergy. *Allergy* 69, 590-601.
- Murray, C. S., Woodcock, A., Langley, S. J., Morris, J., and Custovic, A. (2006). Secondary prevention of asthma by the use of Inhaled Fluticasone propionate in Wheezy INfants (IFWIN): double-blind, randomised, controlled study. *Lancet* 368, 754-762.
- Nelson, H. S., Lahr, J., Rule, R., Bock, A., and Leung, D. (1997). Treatment of anaphylactic sensitivity to peanuts by immunotherapy with injections of aqueous peanut extract. *J Allergy Clin Immunol* 99, 744-751.
- Nickel, R., Illi, S., Lau, S., Sommerfeld, C., Bergmann, R., Kamin, W., Forster, J., Schuster, A., Niggemann, B., and Wahn, U. (2005). Variability of total serum immunoglobulin E levels from birth to the age of 10 years. A prospective evaluation in a large birth cohort (German Multicenter Allergy Study). *Clin Exp Allergy* 35, 619-623.
- Nickel, R., Kulig, M., Forster, J., Bergmann, R., Bauer, C. P., Lau, S., Guggenmoos-Holzmann, I., and Wahn, U. (1997). Sensitization to hen's egg at the age of twelve months is predictive for allergic sensitization to common indoor and outdoor allergens at the age of three years. *J Allergy Clin Immunol* 99, 613-617.
- Nickelsen, J. A., Georgitis, J. W., and Reisman, R. E. (1986). Lack of correlation between titers of serum allergen-specific IgE and symptoms in untreated patients with seasonal allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol* 77, 43-48.
- Oppenheimer, J. J., Nelson, H. S., Bock, S. A., Christensen, F., and Leung, D. Y. (1992). Treatment of peanut allergy with rush immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 90, 256-262.
- Osborn, D. A., and Sinn, J. K. (2013). Probiotics in infants for prevention of allergy. *Cochrane Database Syst Rev* 3, CD006474.
- Osterballe, M., and Bindslev-Jensen, C. (2003). Threshold levels in food challenge and specific IgE in patients with egg allergy: is there a relationship? *J Allergy Clin Immunol* 112, 196-201.
- Ozdemir, C., Akdis, M., and Akdis, C. A. (2010). T-cell response to allergens. *Chem Immunol Allergy* 95, 22-44.
- Pajno, G. B., Barberio, G., De Luca, F., Morabito, L., and Parmiani, S. (2001). Prevention of new sensitizations in asthmatic children monosensitized to house dust mite by specific immunotherapy. A six-year follow-up study. *Clin Exp Allergy* 31, 1392-1397.
- Palmer, C. N., Irvine, A. D., Terron-Kwiatkowski, A., Zhao, Y., Liao, H., Lee, S. P., Goudie, D. R., Sandilands, A., Campbell, L. E., Smith, F. J., *et al.* (2006). Common loss-of-function variants of the epidermal barrier protein filaggrin are a major predisposing factor for atopic dermatitis. *Nat Genet* 38, 441-446.
- Pawankar, R., Mori, S., Ozu, C., and Kimura, S. (2011). Overview on the pathomechanisms of allergic rhinitis. *Asia Pac Allergy* 1, 157-167.
- Pearce, N., Ait-Khaled, N., Beasley, R., Mallol, J., Keil, U., Mitchell, E., and Robertson, C. (2007). Worldwide trends in the prevalence of asthma symptoms: phase III of the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). *Thorax* 62, 758-766.

- Peat, J. K., van den Berg, R. H., Green, W. F., Mellis, C. M., Leeder, S. R., and Woolcock, A. J. (1994). Changing prevalence of asthma in Australian children. *Bmj* 308, 1591-1596.
- Peeters, K. A., Koppelman, S. J., van Hoffen, E., van der Tas, C. W., den Hartog Jager, C. F., Penninks, A. H., Hefle, S. L., Buijnzeel-Koomen, C. A., Knol, E. F., and Knulst, A. C. (2007). Does skin prick test reactivity to purified allergens correlate with clinical severity of peanut allergy? *Clin Exp Allergy* 37, 108-115.
- Pelucchi, C., Chatenoud, L., Turati, F., Galeone, C., Moja, L., Bach, J. F., and La Vecchia, C. (2012). Probiotics supplementation during pregnancy or infancy for the prevention of atopic dermatitis: a meta-analysis. *Epidemiology* 23, 402-414.
- Penders, J., Gerhold, K., Stobberingh, E. E., Thijs, C., Zimmermann, K., Lau, S., and Hamelmann, E. (2013). Establishment of the intestinal microbiota and its role for atopic dermatitis in early childhood. *J Allergy Clin Immunol* 132, 601-607 e608.
- Pfefferle, P. I., Buchele, G., Blumer, N., Roponen, M., Ege, M. J., Krauss-Etschmann, S., Genuneit, J., Hyvarinen, A., Hirvonen, M. R., Lauener, R., *et al.* (2010). Cord blood cytokines are modulated by maternal farming activities and consumption of farm dairy products during pregnancy: the PASTURE Study. *J Allergy Clin Immunol* 125, 108-115 e101-103.
- Pfefferle, P. I., Prescott, S. L., and Kopp, M. (2013). Microbial influence on tolerance and opportunities for intervention with prebiotics/probiotics and bacterial lysates. *J Allergy Clin Immunol* 131, 1453-1463; quiz 1464.
- Prescott, S. L., Wickens, K., Westcott, L., Jung, W., Currie, H., Black, P. N., Stanley, T. V., Mitchell, E. A., Fitzharris, P., Siebers, R., *et al.* (2008). Supplementation with *Lactobacillus rhamnosus* or *Bifidobacterium lactis* probiotics in pregnancy increases cord blood interferon-gamma and breast milk transforming growth factor-beta and immunoglobulin A detection. *Clin Exp Allergy* 38, 1606-1614.
- Purello-D'Ambrosio, F., Gangemi, S., Merendino, R. A., Isola, S., Puccinelli, P., Parmiani, S., and Ricciardi, L. (2001). Prevention of new sensitizations in monosensitized subjects submitted to specific immunotherapy or not. A retrospective study. *Clin Exp Allergy* 31, 1295-1302.
- Reinhold, T., Ostermann, J., Thum-Oltmer, S., and Bruggenjurgen, B. (2013). Influence of subcutaneous specific immunotherapy on drug costs in children suffering from allergic asthma. *Clin Transl Allergy* 3, 30.
- Ricci, G., Patrizi, A., Baldi, E., Menna, G., Tabanelli, M., and Masi, M. (2006). Long-term follow-up of atopic dermatitis: retrospective analysis of related risk factors and association with concomitant allergic diseases. *J Am Acad Dermatol* 55, 765-771.
- Riedler, J., Braun-Fahrlander, C., Eder, W., Schreuer, M., Waser, M., Maisch, S., Carr, D., Schierl, R., Nowak, D., and von Mutius, E. (2001). Exposure to farming in early life and development of asthma and allergy: a cross-sectional survey. *Lancet* 358, 1129-1133.
- Ring, J., Bachert, C., Bauer, C. P., and Czech, W. (2010). *Weißbuch Allergie in Deutschland*. München: Springer Medizin 3. Auflage.
- Rochat, M. K., Illi, S., Ege, M. J., Lau, S., Keil, T., Wahn, U., and von Mutius, E. (2010). Allergic rhinitis as a predictor for wheezing onset in school-aged children. *J Allergy Clin Immunol* 126, 1170-1175 e1172.
- Rolinck-Werninghaus, C., Keil, T., Kopp, M., Zielen, S., Schauer, U., von Berg, A., Wahn, U., and Hamelmann, E. (2008). Specific IgE serum concentration is associated with symptom severity in children with seasonal allergic rhinitis. *Allergy* 63, 1339-1344.

- Rolinck-Werninghaus, C., Niggemann, B., Grabenhenrich, L., Wahn, U., and Beyer, K. (2012). Outcome of oral food challenges in children in relation to symptom-eliciting allergen dose and allergen-specific IgE. *Allergy* 67, 951-957.
- Rottem, M., Szyper-Kravitz, M., and Shoenfeld, Y. (2005). Atopy and asthma in migrants. *Int Arch Allergy Immunol* 136, 198-204.
- Sakai, K., Yokoyama, A., Kohno, N., and Hiwada, K. (1999). Effect of different sensitizing doses of antigen in a murine model of atopic asthma. *Clin Exp Immunol* 118, 9-15.
- Schipf, A., Heilmann, A., Boue, L., Mossmann, H., Brocker, T., and Rocken, M. (2003). Th2 cells shape the differentiation of developing T cell responses during interactions with dendritic cells in vivo. *Eur J Immunol* 33, 1697-1706.
- Schlaud, M., Atzpodien, K., and Thierfelder, W. (2007). [Allergic diseases. Results from the German Health Interview and Examination Survey for Children and Adolescents (KiGGS)]. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz* 50, 701-710.
- Schmitz, R., Atzpodien, K., and Schlaud, M. (2012). Prevalence and risk factors of atopic diseases in German children and adolescents. *Pediatr Allergy Immunol* 23, 716-723.
- Scholtens, S., Postma, D. S., Moffatt, M. F., Panasevich, S., Granell, R., Henderson, A. J., Melen, E., Nyberg, F., Pershagen, G., Jarvis, D., *et al.* (2013). Novel childhood asthma genes interact with in utero and early-life tobacco smoke exposure. *J Allergy Clin Immunol* 133, 885-888.
- Schulze, J., Reinmuller, W., Herrmann, E., Rosewich, M., Rose, M. A., and Zielen, S. (2013). Bronchial allergen challenges in children - safety and predictors. *Pediatr Allergy Immunol* 24, 19-27.
- Sherrill, D., Stein, R., Kurzius-Spencer, M., and Martinez, F. (1999). On early sensitization to allergens and development of respiratory symptoms. *Clin Exp Allergy* 29, 905-911.
- Sicherer, S. H., Furlong, T. J., Maes, H. H., Desnick, R. J., Sampson, H. A., and Gelb, B. D. (2000a). Genetics of peanut allergy: a twin study. *J Allergy Clin Immunol* 106, 53-56.
- Sicherer, S. H., Morrow, E. H., and Sampson, H. A. (2000b). Dose-response in double-blind, placebo-controlled oral food challenges in children with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 105, 582-586.
- Simpson, E. L., Berry, T. M., Brown, P. A., and Hanifin, J. M. (2010). A pilot study of emollient therapy for the primary prevention of atopic dermatitis. *J Am Acad Dermatol* 63, 587-593.
- Somville, M. A., Machiels, J., Gilles, J. G., and Saint-Remy, J. M. (1989). Seasonal variation in specific IgE antibodies of grass-pollen hypersensitive patients depends on the steady state IgE concentration and is not related to clinical symptoms. *J Allergy Clin Immunol* 83, 486-494.
- Spergel, J. M. (2010). From atopic dermatitis to asthma: the atopic march. *Ann Allergy Asthma Immunol* 105, 99-106; quiz 107-109, 117.
- Spergel, J. M., Mizoguchi, E., Brewer, J. P., Martin, T. R., Bhan, A. K., and Geha, R. S. (1998). Epicutaneous sensitization with protein antigen induces localized allergic dermatitis and hyperresponsiveness to methacholine after single exposure to aerosolized antigen in mice. *J Clin Invest* 101, 1614-1622.

- Spergel, J. M., and Paller, A. S. (2003). Atopic dermatitis and the atopic march. *J Allergy Clin Immunol* 112, S118-127.
- Staden, U., Rolinck-Werninghaus, C., Brewe, F., Wahn, U., Niggemann, B., and Beyer, K. (2007). Specific oral tolerance induction in food allergy in children: efficacy and clinical patterns of reaction. *Allergy* 62, 1261-1269.
- Strachan, D. P. (1989). Hay fever, hygiene, and household size. *Bmj* 299, 1259-1260.
- Taylor, B., Wadsworth, J., Wadsworth, M., and Peckham, C. (1984). Changes in the reported prevalence of childhood eczema since the 1939-45 war. *Lancet* 2, 1255-1257.
- Till, S., Dickason, R., Huston, D., Humbert, M., Robinson, D., Larche, M., Durham, S., Kay, A. B., and Corrigan, C. (1997). IL-5 secretion by allergen-stimulated CD4⁺ T cells in primary culture: relationship to expression of allergic disease. *J Allergy Clin Immunol* 99, 563-569.
- Trendelenburg, V., Beyer, K., and Blumchen, K. (2014). Efficacy and safety balance of oral and sublingual immunotherapy in food allergy. Current treatment options in allergy *in press*.
- Tsai, Y. G., Chien, J. W., Chen, W. L., Shieh, J. J., and Lin, C. Y. (2005). Induced apoptosis of TH2 lymphocytes in asthmatic children treated with Dermatophagoides pteronyssinus immunotherapy. *Pediatr Allergy Immunol* 16, 602-608.
- Turcanu, V., Maleki, S. J., and Lack, G. (2003). Characterization of lymphocyte responses to peanuts in normal children, peanut-allergic children, and allergic children who acquired tolerance to peanuts. *J Clin Invest* 111, 1065-1072.
- Valenta, R., Ball, T., Focke, M., Linhart, B., Mothes, N., Niederberger, V., Spitzauer, S., Swoboda, I., Vrtala, S., Westritschnig, K., and Kraft, D. (2004). Immunotherapy of allergic disease. *Adv Immunol* 82, 105-153.
- van den Biggelaar, A. H., Rodrigues, L. C., van Ree, R., van der Zee, J. S., Hoeksma-Kruize, Y. C., Souverein, J. H., Missinou, M. A., Borrmann, S., Kremsner, P. G., and Yazdanbakhsh, M. (2004). Long-term treatment of intestinal helminths increases mite skin-test reactivity in Gabonese schoolchildren. *J Infect Dis* 189, 892-900.
- van den Biggelaar, A. H., van Ree, R., Rodrigues, L. C., Lell, B., Deelder, A. M., Kremsner, P. G., and Yazdanbakhsh, M. (2000). Decreased atopy in children infected with *Schistosoma haematobium*: a role for parasite-induced interleukin-10. *Lancet* 356, 1723-1727.
- van der Hulst, A. E., Klip, H., and Brand, P. L. (2007). Risk of developing asthma in young children with atopic eczema: a systematic review. *J Allergy Clin Immunol* 120, 565-569.
- van der Zee, T., Dubois, A., Kerkhof, M., van der Heide, S., and Vlieg-Boerstra, B. (2011). The eliciting dose of peanut in double-blind, placebo-controlled food challenges decreases with increasing age and specific IgE level in children and young adults. *J Allergy Clin Immunol* 128, 1031-1036.
- van Odiijk, J., Kull, I., Borres, M. P., Brandtzaeg, P., Edberg, U., Hanson, L. A., Host, A., Kuitunen, M., Olsen, S. F., Skerfving, S., *et al.* (2003). Breastfeeding and allergic disease: a multidisciplinary review of the literature (1966-2001) on the mode of early feeding in infancy and its impact on later atopic manifestations. *Allergy* 58, 833-843.
- Vandezande, L. M., Wallaert, B., Desreumaux, P., Tsicopoulos, A., Lamblin, C., Tonnel, A. B., and Janin, A. (1999). Interleukin-5 immunoreactivity and mRNA expression in gut mucosa from patients with food allergy. *Clin Exp Allergy* 29, 652-659.

- Varshney, P., Jones, S. M., Scurlock, A. M., Perry, T. T., Kemper, A., Steele, P., Hiegel, A., Kamilaris, J., Carlisle, S., Yue, X., *et al.* (2011). A randomized controlled study of peanut oral immunotherapy: clinical desensitization and modulation of the allergic response. *J Allergy Clin Immunol* *127*, 654-660.
- Vercelli, D. (2008). Discovering susceptibility genes for asthma and allergy. *Nat Rev Immunol* *8*, 169-182.
- Virchow, J. C., Jr., Holscher, U., and Virchow, C., Sr. (1992). Sputum ECP levels correlate with parameters of airflow obstruction. *Am Rev Respir Dis* *146*, 604-606.
- von Berg, A., Filipiak-Pittroff, B., Kramer, U., Link, E., Bollrath, C., Brockow, I., Koletzko, S., Grubl, A., Heinrich, J., Wichmann, H. E., *et al.* (2008). Preventive effect of hydrolyzed infant formulas persists until age 6 years: long-term results from the German Infant Nutritional Intervention Study (GINI). *J Allergy Clin Immunol* *121*, 1442-1447.
- von Mutius, E., Martinez, F. D., Fritzschn, C., Nicolai, T., Roell, G., and Thiemann, H. H. (1994). Prevalence of asthma and atopy in two areas of West and East Germany. *Am J Respir Crit Care Med* *149*, 358-364.
- von Mutius, E., and Vercelli, D. (2010). Farm living: effects on childhood asthma and allergy. *Nat Rev Immunol* *10*, 861-868.
- von Mutius, E., Weiland, S. K., Fritzschn, C., Duhme, H., and Keil, U. (1998). Increasing prevalence of hay fever and atopy among children in Leipzig, East Germany. *Lancet* *351*, 862-866.
- Wahn, U. (2011). The significance of environmental exposure on the progression of allergic diseases. *Allergy* *66 Suppl 95*, 7-9.
- Wahn, U., Lau, S., Bergmann, R., Kulig, M., Forster, J., Bergmann, K., Bauer, C. P., and Guggenmoos-Holzmann, I. (1997). Indoor allergen exposure is a risk factor for sensitization during the first three years of life. *J Allergy Clin Immunol* *99*, 763-769.
- Wahn, U., Tabar, A., Kuna, P., Halken, S., Montagut, A., de Beaumont, O., and Le Gall, M. (2009). Efficacy and safety of 5-grass-pollen sublingual immunotherapy tablets in pediatric allergic rhinoconjunctivitis. *J Allergy Clin Immunol* *123*, 160-166 e163.
- Wang, M., Karlsson, C., Olsson, C., Adlerberth, I., Wold, A. E., Strachan, D. P., Martriacardi, P. M., Aberg, N., Perkin, M. R., Tripodi, S., *et al.* (2008). Reduced diversity in the early fecal microbiota of infants with atopic eczema. *J Allergy Clin Immunol* *121*, 129-134.
- Warner, J. O. (2001). A double-blinded, randomized, placebo-controlled trial of cetirizine in preventing the onset of asthma in children with atopic dermatitis: 18 months' treatment and 18 months' posttreatment follow-up. *J Allergy Clin Immunol* *108*, 929-937.
- Weidinger, S., Illig, T., Baurecht, H., Irvine, A. D., Rodriguez, E., Diaz-Lacava, A., Klopp, N., Wagenpfeil, S., Zhao, Y., Liao, H., *et al.* (2006). Loss-of-function variations within the filaggrin gene predispose for atopic dermatitis with allergic sensitizations. *J Allergy Clin Immunol* *118*, 214-219.
- Weiland, S. K., Husing, A., Strachan, D. P., Rzehak, P., and Pearce, N. (2004). Climate and the prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinitis, and atopic eczema in children. *Occup Environ Med* *61*, 609-615.
- Weinmann, S., Kamtsiuris, P., Henke, K. D., Wickman, M., Jenner, A., and Wahn, U. (2003). The costs of atopy and asthma in children: assessment of direct costs and their determinants in a birth cohort. *Pediatr Allergy Immunol* *14*, 18-26.

Wensing, M., Penninks, A. H., Hefle, S. L., Koppelman, S. J., Bruijnzeel-Koomen, C. A., and Knulst, A. C. (2002). The distribution of individual threshold doses eliciting allergic reactions in a population with peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol* *110*, 915-920.

Werfel, T. (2009). The role of leukocytes, keratinocytes, and allergen-specific IgE in the development of atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* *129*, 1878-1891.

Williams, H., Stewart, A., von Mutius, E., Cookson, W., and Anderson, H. R. (2008). Is eczema really on the increase worldwide? *J Allergy Clin Immunol* *121*, 947-954 e915.

Williams, H. C., Chalmers, J. R., and Simpson, E. L. (2012). Prevention of atopic dermatitis. *F1000 Med Rep* *4*, 24.

Wilson, D. R., Nouri-Aria, K. T., Walker, S. M., Pajno, G. B., O'Brien, F., Jacobson, M. R., Mackay, I. S., and Durham, S. R. (2001). Grass pollen immunotherapy: symptomatic improvement correlates with reductions in eosinophils and IL-5 mRNA expression in the nasal mucosa during the pollen season. *J Allergy Clin Immunol* *107*, 971-976.

Ziegler, S. F., and Artis, D. (2010). Sensing the outside world: TSLP regulates barrier immunity. *Nat Immunol* *11*, 289-293.

DANKSAGUNG

Mein besonderer Dank gilt als erstes der Fakultät der Charité Universitätsmedizin Berlin, die mir zwischen 8/2008 und 12/2010 ein Rahel-Hirsch-Habilitationsstipendium gewährte. Mit diesem Stipendium konnte ich zum Einen, die schon begonnene Pilotstudie zur oralen Immuntherapie bei Erdnuss-allergischen Kindern zum Abschluss bringen und zum Anderen gleichzeitig eine neue, größere, multizentrische, randomisierte, Placebo-kontrollierte Studie zu diesem Thema durchführen.

Als nächstes möchte ich mich bei Herrn Professor Ulrich Wahn bedanken, der mich sowohl in meiner klinischen Ausbildung als auch in meiner Forschungstätigkeit als Direktor der Klinik für Pädiatrie mit Schwerpunkt Pneumologie und Immunologie bis zu seiner Pensionierung und darüber hinaus unterstützt hat. Außerdem gilt mein Dank allen Mitarbeitern und ehemaligen Mitarbeitern der Abteilung und allen Kooperationspartnern, die mich auf diesem Weg immer wieder wohlwollend bestärkt haben. Insbesondere möchte ich mich bei Herrn Professor Eckard Hamelmann für die vielen Stunden der kritischen aber auch begeisterten Betrachtung meiner Forschungsdaten bedanken. Die ersten Arbeiten dieser Habilitation im Bereich der Grundlagenforschung wurden unter seiner Leitung durchgeführt. Ganz besonderen und speziellen Dank gilt auch meinem selbsternannten Mentor, Herrn Professor Bodo Niggemann, der nicht nur als Funktion des Oberarztes meine gesamte klinische Ausbildung mit geprägt hat, sondern der auch durch sein fortwährendes Nachfragen, stetige geduldige Beantwortung meiner Fragen, Ideensortierung und Strukturierung meines Denkens diese Arbeit überhaupt nur möglich gemacht hat. Ganz großer Dank gilt aber auch Frau Professor Kirsten Beyer, die besonders in den letzten Jahren, während unserer gemeinsamen Forschungstätigkeit im Bereich der Nahrungsmittelallergie, mit viel Energie, Begeisterung, Beistand und Aufmunterung an meiner Seite stand und nun auch diese endgültige Arbeit betreut.

Ich möchte mich außerdem bei Imke Witt, Marcus Schwede, Paula Lapilova, Helen Ulbricht, John Beschorner, Alena Beder und Valerie Trendelenburg bedanken, die diese hier dargestellten Untersuchungen mit ihrer Ausdauer und einfach hervorragenden Arbeit als Doktoranden tatkräftig unterstützt haben. Natürlich möchte ich mich auch bei allen Eltern und deren Kindern mit Spina bifida oder Erdnussallergie bedanken, die an den klinischen Studien teilgenommen haben. Danken möchte ich auch Frau Professor Susanne Lau, die diese Arbeit Korrektur gelesen hat.

Mein ganz besonderer, inniger Dank gilt zu guter Letzt all meinen Freunden, meinem Freund und meiner Familie, besonders meinen Eltern, die sich meine zahllosen Geschichten, Zweifel aber auch Begeisterungsschübe für meine Forschungsarbeit jederzeit geduldig anhörten und mich in meinem Vorhaben der Habilitation in allen Lebenslagen immer wieder unterstützen.

EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNGEN

Erklärung

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

Hiermit erkläre ich, dass

- 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.

.....

Datum Unterschrift