

Universität Potsdam  
Institut für Ernährungswissenschaft  
Abteilung Biochemie der Ernährung

---

# **Therapie der Erdnussallergie durch orale Immuntherapie – eine randomisierte Placebo-kontrollierte Studie**

## **Dissertation**

zur Erlangung des akademischen Grades

„doctor rerum naturalium“ (Dr. rer. nat.)

in der Wissenschaftsdisziplin „experimentelle Ernährungsmedizin“

eingereicht an der  
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät  
der Universität Potsdam

**von**

**Valérie Trendelenburg**

Geboren am 15.11.1984 in Heidelberg

Potsdam, Februar 2017

Dieses Werk ist unter einem Creative Commons Lizenzvertrag lizenziert:  
Namensnennung – Keine kommerzielle Nutzung – Keine Bearbeitung 4.0 International  
Um die Bedingungen der Lizenz einzusehen, folgen Sie bitte dem Hyperlink:  
<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

**Gutachter:**

Prof. Dr. Kirsten Beyer  
Klinik für Pädiatrie m.S. Pneumologie und Immunologie, Universitätsmedizin Charité Berlin, Berlin

Prof. Dr. Gerhard Paul Püschel  
Abteilung Biochemie der Ernährung, Institut für Ernährungswissenschaft, Universität Potsdam,  
Potsdam-Rehbrücke

Prof. Dr. Matthias Kopp  
Klinik für Kinder- und Jugendmedizin, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Lübeck

Online veröffentlicht auf dem  
Publikationsserver der Universität Potsdam:  
URN [urn:nbn:de:kobv:517-opus4-403557](http://nbn-resolving.de/urn:nbn:de:kobv:517-opus4-403557)  
<http://nbn-resolving.de/urn:nbn:de:kobv:517-opus4-403557>

# Inhaltsverzeichnis

<b>Inhaltsverzeichnis</b> .....	<b>I</b>
<b>Abkürzungsverzeichnis</b> .....	<b>V</b>
<b>Tabellenverzeichnis</b> .....	<b>VII</b>
<b>Abbildungsverzeichnis</b> .....	<b>IX</b>
<b>Zusammenfassung</b> .....	<b>XI</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>XIII</b>
<b>1 Einleitung</b> .....	<b>1</b>
1.1 Epidemiologie der Erdnussallergie .....	1
1.2 Pathophysiologie der Erdnussallergie .....	2
1.2.1 Mechanismen der Allergieentstehung .....	2
1.2.2 Mechanismen der oralen Toleranz .....	5
1.2.3 Ursachen einer gestörten oralen Toleranz .....	6
1.3 Charakteristika der Erdnussallergie .....	8
1.3.1 Allergene der Erdnuss .....	8
1.3.2 Klinische Charakteristika der Erdnussallergie .....	9
1.4 Diagnostik der Erdnussallergie .....	10
1.4.1 Testverfahren zum Nachweis einer Sensibilisierung .....	11
1.4.2 Nahrungsmittelprovokation zum Nachweis einer klinischen Relevanz .....	11
1.4.3 Prädiktoren für eine klinisch relevante Erdnussallergie .....	12
1.5 Aktuelles Management der Erdnussallergie .....	12
1.6 Zukünftige kausale Therapiemöglichkeiten .....	14
1.6.1 Spezifische Immuntherapie .....	14
1.6.2 Spezifische Immuntherapie bei Nahrungsmittelallergien .....	14
1.6.3 Prinzip der oralen Immuntherapie bei Nahrungsmittelallergien .....	15
1.6.4 Klinische Studien zur oralen Immuntherapie bei Nahrungsmittelallergien .....	16
1.7 Zielstellung .....	21
1.7.1 Primärer Endpunkt .....	22
1.7.2 Sekundäre Endpunkte .....	22
<b>2 Methoden</b> .....	<b>23</b>
2.1 Patientenkollektiv .....	23

---

2.1.1	Rekrutierung.....	23
2.1.2	Ein- und Ausschlusskriterien .....	23
2.2	Studiendesign .....	24
2.2.1	Screeningvisite (V0).....	24
2.2.2	Eingangvisite (V1) .....	25
2.2.3	Randomisierung .....	25
2.2.4	Steigerungsvisiten (V2.1- V2.x) .....	26
2.2.5	Abschlussvisite (V3).....	27
2.3	Anamnese und klinische Untersuchungsmethoden .....	29
2.3.1	Anamnese und körperliche Untersuchung .....	29
2.3.2	Einschätzung des Verlaufs des Asthma bronchiale .....	29
2.3.3	Einschätzung des Verlaufs der allergischen Rhinokonjunktivitis .....	29
2.3.4	Einschätzung der atopischen Dermatitis.....	29
2.3.5	Hautpricktest.....	30
2.3.6	Orale Provokation mit Erdnuss .....	30
2.4	In vitro Untersuchungen .....	33
2.4.1	Blutentnahme.....	33
2.4.2	Materialien .....	33
2.4.3	Bestimmung hämatologischer und klinisch-chemischer Parameter .....	37
2.4.4	Antikörperbestimmung im Serum.....	37
2.4.5	Herstellung des Erdnussextraktes.....	39
2.4.6	Basophilenaktivierungstest.....	40
2.4.7	T-Zell-Stimulation und Zytokinnachweis.....	45
2.5	Studiennahrung.....	48
2.5.1	Herstellung .....	48
2.5.2	Analyse der Studiennahrung hinsichtlich Mikrobiologie und Proteingehalt .....	50
2.5.3	Zubereitung der verzehrfertigen Studiennahrung.....	51
2.6	Standardisierte Vorgehensweise bei Nebenwirkungen.....	52
2.6.1	Nebenwirkungen.....	52
2.6.2	Dosisreduktion .....	54
2.6.3	Vorzeitiger Studienausschluss.....	55
2.7	Fragebögen zur Lebensqualität und Therapiebelastung.....	55
2.7.1	Erfassung der Lebensqualität .....	55
2.7.2	Erfassung der Therapiebelastung.....	56
2.8	Statistische Auswertung.....	56
2.8.1	Fallzahlschätzung .....	56
2.8.2	Datenanalyseprinzip - Studienpopulation der Auswertung.....	57

---

2.8.3	Statistische Auswertung.....	58
<b>3</b>	<b>Ergebnisse.....</b>	<b>59</b>
3.1	Studienkollektiv.....	59
3.1.1	Studieneinschluss und Studienverlauf.....	59
3.1.2	Anamnestische und klinische Charakteristika.....	60
3.1.3	Immunologische Charakteristika.....	63
3.1.4	Lebensqualität zu Studienbeginn.....	64
3.2	Klinische Wirksamkeit der oralen Immuntherapie.....	65
3.2.1	Primärer Endpunkt- „partielle Desensibilisierung“.....	65
3.2.2	Sekundäre Endpunkte.....	67
3.3	Sicherheit der oralen Immuntherapie.....	75
3.3.1	Studienabbruch wegen Nebenwirkungen.....	75
3.3.2	Nebenwirkungen.....	76
3.3.3	Häufigkeit von Dosisreduktion und Infekt-Schemata.....	83
3.3.4	Schwerwiegende unerwünschte Ereignisse (SAEs).....	84
3.3.5	Akzidentelle Reaktionen.....	84
3.3.6	Verlauf parallel bestehender atopischer Erkrankungen.....	88
3.3.7	Laborchemische Sicherheitsparameter.....	89
3.4	Immunologische Veränderungen unter oraler Immuntherapie.....	90
3.4.1	Veränderungen auf B-Zell-Ebene.....	90
3.4.2	Veränderung auf Effektor-Zell-Ebene.....	92
3.4.3	Veränderungen auf T-Zell Ebene.....	96
3.5	Lebensqualität und Therapiebelastung unter oraler Immuntherapie.....	99
3.5.1	Lebensqualität.....	99
3.5.2	Therapiebelastung.....	102
<b>4</b>	<b>Diskussion.....</b>	<b>105</b>
4.1	Studienkollektiv und Studiendesign.....	105
4.1.1	Studienkollektiv.....	105
4.1.2	Studiendesign.....	106
4.1.3	Studiennahrung.....	107
4.1.4	Vergleich mit bisher publizierten Studien zur oralen Immuntherapie mit Erdnuss.....	108
4.2	Klinische Wirksamkeit der oralen Immuntherapie.....	109
4.2.1	Erfolgreiche Desensibilisierung.....	109
4.2.2	Weniger akzidentielle Reaktionen bei Patienten der Verumgruppe.....	114
4.2.3	Therapie-Non-Responder.....	115

---

4.2.4	Natürlicher Verlauf der Erdnussallergie bei Patienten der Placebogruppe.....	116
4.3	Sicherheit der oralen Immuntherapie.....	117
4.3.1	Ähnliches Sicherheitsprofil in der Verum- und Placebogruppe .....	117
4.3.2	Einteilung der Symptome nach zeitlichem Auftreten .....	123
4.3.3	Symptome unter Placebo.....	124
4.4	Immunologische Veränderungen unter oraler Immuntherapie .....	125
4.4.1	Veränderungen auf B-Zell-Ebene .....	125
4.4.2	Veränderungen auf Effektor-Zell-Ebene .....	126
4.4.3	Veränderung auf T-Zell-Ebene .....	129
4.4.4	Zusammenfassung möglicher Immunmechanismen der oralen Immuntherapie.	132
4.5	Lebensqualität und Therapiebelastung unter oraler Immuntherapie .....	133
4.5.1	Lebensqualität.....	133
4.5.2	Therapiebelastung.....	135
4.6	Fazit und Ausblick.....	137
4.6.1	Ist die orale Immuntherapie bei Erdnussallergie reif für die Praxis? .....	137
4.6.2	Toleranzinduktion durch langfristige orale Immuntherapie? .....	139
4.6.3	Mögliche weitere zukünftige Formen der Immuntherapie bei Erdnussallergie ...	141
4.6.4	Schlussfolgerung .....	143
	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>144</b>
	<b>Anhang .....</b>	<b>159</b>
	<b>Danksagung.....</b>	<b>196</b>
	<b>Curriculum Vitae.....</b>	<b>197</b>
	<b>Eidesstattliche Erklärung.....</b>	<b>198</b>

## Abkürzungsverzeichnis

AE	Adverse Event
APC	Antigen-präsentierende Zellen
Ara h	<i>Arachis hypogea</i> (Erdnuss)
ARK	Allergische Rhinokonjunktivitis
BAT	Basophilenaktivierungstest
BoT	Burden of Treatment
BSA	Bovine Serum Albumin
CBA	Cytometric Bead Array
CD	Cluster of Differentiation
CDmax	Maximale Basophilenaktivierung nach Allergenstimulation
DBPCF	Double blind, Placebo-controlled Food Challenge (Doppelblinde, Placebo-kontrollierte Nahrungsmittelprovokation)
DGAKI	Deutsche Gesellschaft für Allergologie und klinische Immunologie
DMSO	Dimethylsulfoxid
EAACI	European Academy of Allergy and Clinical Immunology
ED	Eliciting Dose
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
EP	Erhaltungsphase
EPIT	Epikutane Immuntherapie
FACS	Fluorescence Activated Cell Sorting
FAQLQ	Food Allergy Quality of Life Questionnaires
FcεRI	Hochaffiner Rezeptor für Immunglobulin E
FEIA	Fluoreszenz Enzym Immunoassay
fMLP	N-Formyl-Methionyl-Leucyl-Phenylalanin
FoxP3	Forkead box P3
FSC	Forward Scatter
GALT	Gut Associated Lymphoid Tissue
GIT	Gastrointestinaltrakt
γGT	γ-Glutamyltransferase
GOT	Glutamat-Oxalazetat-Aminotransferase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
i.m.	intramuskulär
INF-γ	Interferon γ
IT	Immuntherapie
iTreg	Induzierte regulatorische T-Zelle
ITT	Intention to treat
i.v.	intra venös

---

LQ	Lebensqualität
LTP	Lipid Transfer Protein
MHC II	Haupt-Hitsokompatibilitätskomplex II
MID	Minimal Important Difference
n.s.	nicht signifikant
OAS	Orales Allergiesyndrom
OFC	Open Food Challenge (offene Nahrungsmittelprovokation)
OIT	Orale Immuntherapie
OX40L	OX40-Ligand
PAF	Plättchenaktivierender Faktor
PBS	Phosphate buffered saline
PBMCs	Peripheral Mononuclear Blood Ccells
PEF	Peak Expiratory Flow
PHA	Phytohämagglutinin
PP	Per protocol
SAE	Severe Adverse Event (Schwerwiegendes unerwünschtes Ereignis)
SCIT	Subkutane Immuntherapie
SCORAD	Scoring Atopic Dermatitis (System zur Schweregradeinteilung einer atopischen Dermatitis)
slg	Allergenspezifisches Immunglobulin
SIT	Spezifische Immuntherapie
SLIT	Sublinguale Immuntherapie
SOP	Standard Operating Procedure (Standardisierte Handlungsanweisung)
SP	Steigerungsphase
SPT	Skin Prick Test (Hautpricktest)
SSC	Side Scatter
TGF- $\beta$	Transforming Growth Factor $\beta$
Th-Zellen	T-Helfer Zellen
TNF- $\alpha$	Tumor Nekrose Faktor $\alpha$
Treg	Regulatorische T-Zellen
V.a.	Verdacht auf
V	Visite
WHO	World Health Organisation

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1.1: Verschiedene Parameter zur Erfassung der klinischen Wirksamkeit der oralen Immuntherapie (OIT) bei Nahrungsmittelallergien.....	17
Tabelle 2.1: Schema für Start- und Zieldosis der oralen Immuntherapie (OIT) abhängig von der Reaktionsdosis unter oraler Provokation zum Zeitpunkt der Eingangsvisite.....	27
Tabelle 2.2: Schema der Dosissteigerungen der Studiennahrung unter oraler Immuntherapie (OIT). .....	28
Tabelle 2.3: Übersicht der Titrationsstufen der oralen Provokation mit Erdnuss. ....	31
Tabelle 2.4: Einteilung allergischer Symptome nach betroffenem Organsystem und Schweregrad (modifiziert nach [174, 175]). ....	32
Tabelle 2.5: Zutaten und jeweilige Gewichtsanteile der drei verschiedenen Rezepturen der Studiennahrung für die orale Immuntherapie. ....	49
Tabelle 2.6: Einteilung von Nebenwirkungen nach Objektivierbarkeit und betroffenem Organsystem.....	53
Tabelle 3.1: Demographische und anamnestische Daten der Patienten zu Studienbeginn (V1). ...	61
Tabelle 3.2: Ergebnisse der oralen Provokation mit Erdnuss zu Studienbeginn (V1). ....	62
Tabelle 3.3: Immunologische Charakteristika der Patienten zu Studienbeginn (V1). ....	64
Tabelle 3.4: Ergebnisse der Fragebögen zur Lebensqualität zu Studienbeginn (V1). ....	65
Tabelle 3.5: <i>Primärer klinischer Endpunkt I. „Partielle Desensibilisierung“</i> .....	66
Tabelle 3.6: <i>Primärer klinischer Endpunkt II. Neue „partielle Desensibilisierung“</i> .....	66
Tabelle 3.7: <i>„Vollständige Desensibilisierung“</i> .....	67
Tabelle 3.8: Schweregrad (SG) unter Provokation vor und nach oraler Immuntherapie (OIT) bei Patienten der Verumgruppe (Per Protocol-Studienpopulation). ....	70
Tabelle 3.9: Schweregrad (SG) unter Provokation vor und nach oraler Immuntherapie (OIT) bei Patienten der Placebogruppe (Per Protocol-Studienpopulation). ....	70
Tabelle 3.10: Vorkommen schwerer Reaktionen unter oraler Provokation mit Erdnuss nach oraler Immuntherapie (OIT) bei Patienten der Verum- und Placebogruppe.....	72
Tabelle 3.11: Zeitlicher Verlauf der oralen Immuntherapie (OIT) der Patienten der Verum- und Placebogruppe (Per Protocol- Studienpopulation). ....	73
Tabelle 3.12: Nebenwirkungen unter oraler Immuntherapie (OIT) bei Patienten der Verum- und Placebogruppe.....	77
Tabelle 3.13: Anzahl an Patienten mit subjektiven zeitlich assoziierten Nebenwirkungen der Verum- und Placebogruppe unter oraler Immuntherapie (OIT). ....	79
Tabelle 3.14: Anzahl an Patienten mit objektiven zeitlich assoziierten Nebenwirkungen der Verum- und Placebogruppe unter oraler Immuntherapie (OIT). ....	80
Tabelle 3.15: Medikamentöse Behandlung von objektiven zeitlich assoziierten Nebenwirkungen unter oraler Immuntherapie (OIT) bei Patienten der Verum- und Placebogruppe. ....	82
Tabelle 3.16: Augmentationsfaktoren bei objektiven, zeitlich assoziierten Nebenwirkungen unter oraler Immuntherapie (OIT). ....	82

Tabelle 3.17: Details zu schwerwiegenden unerwünschten Ereignissen (SAEs) im Laufe der oralen Immuntherapie (OIT).....	85
Tabelle 3.18: Details zu allergischen Reaktionen nach Verdacht auf einen akzidentellen Erdnussverzehr im Laufe der oralen Immuntherapie (OIT).....	86
Tabelle 3.19: Parameter des Blutbildes nach oraler Immuntherapie (OIT) bei Patienten der Verum- und Placebogruppe (Per-Protocol-Studienpopulation).....	89
Tabelle 3.20: Parameter der klinischen Chemie nach oraler Immuntherapie (OIT) bei Patienten der Verum- und Placebogruppe (Per-Protocol-Studienpopulation).....	89
Tabelle 3.21: Ergebnisse des Fragebogens zur Therapiebelastung (BoT) unter oraler Immuntherapie (OIT).....	104
Tabelle 4.1: Übersicht über Design und Protokoll bisher publizierte Studien zur oralen Immuntherapie (OIT) mit Erdnuss bei Kindern.....	110
Tabelle 4.2: Übersicht der Ergebnisse zur klinischen Wirksamkeit bisher publizierte Studien zur oralen Immuntherapie (OIT) mit Erdnuss bei Kindern.....	111
Tabelle 4.3: Übersicht der Ergebnisse zur Sicherheit bisher publizierter Studien zur oralen Immuntherapie (OIT) mit Erdnuss bei Kindern.....	121
Tabelle A.1: Blutparameter der Patienten zu Studienbeginn (V1).....	179
Tabelle A.2: Übersicht über alle randomisierten Patienten, bei denen ein vorzeitiger Studienabbruch der oralen Immuntherapie (OIT) erfolgte (n=10).....	180
Tabelle A.3: Maximal tolerierten Erdnusssdosis unter Provokation vor und nach oraler Immuntherapie (OIT) sowie Start- und Erhaltungsdosis der OIT bei Patienten der Verumgruppe.....	181
Tabelle A.4: Maximal tolerierten Erdnusssdosis unter Provokation vor und nach oraler Immuntherapie (OIT) sowie Start- und Erhaltungsdosis der OIT bei Patienten der Placebogruppe.....	182
Tabelle A.5: Anzahl an oralen Immuntherapie (OIT)-Gaben, die mit subjektiven zeitlich assoziierten Nebenwirkungen einhergingen in der Verum- und Placebogruppe.....	184
Tabelle A.6: Anzahl an oralen Immuntherapie (OIT)-Gaben, die mit objektiven zeitlich assoziierten Nebenwirkungen einhergingen in der Verum- und Placebogruppe.....	185
Tabelle A.7: Anzahl an Patienten mit zeitlich nicht assoziierten Nebenwirkungen der Verum- und Placebogruppe unter oraler Immuntherapie (OIT).....	188
Tabelle A.8: Anzahl an oralen Immuntherapie (OIT)-Gaben, die mit zeitlich nicht assoziierten Nebenwirkungen einhergingen in der Verum- und Placebogruppe.....	190
Tabelle A. 9: Medikamentöse Behandlung von zeitlich nicht assoziierten Nebenwirkungen unter oraler Immuntherapie (OIT) bei Patienten der Verum- und Placebogruppe.....	192
Tabelle A.10: Zytokinproduktion nach in vitro Stimulation von PBMCs mit RPMI-Medium allein vor oraler Immuntherapie bei Patienten der Verum- und Placebogruppe.....	195
Tabelle A.11: Zytokinproduktion nach in vitro Stimulation von PBMCs mit RPMI-Medium allein nach oraler Immuntherapie bei Patienten der Verum- und Placebogruppe.....	195

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1.1: Vereinfachtes Schema der Sensibilisierungs- und Effektorphase bei der Entwicklung einer Erdnussallergie (rote Pfeile).....	3
Abbildung 1.2: Empfohlene Stufendiagnostik bei Verdacht auf eine Erdnussallergie (nach [97])..	10
Abbildung 1.3: Prinzip der oralen Immuntherapie (OIT) bei Nahrungsmittelallergien. Im Laufe der Steigerungsphase wird die OIT-Dosis langsam gesteigert.....	16
Abbildung 2.1: Schematischer Ablauf der prospektiven, randomisierten, doppelblinden, Placebo-kontrollierten Studie zur oralen Immuntherapie (OIT). .....	24
Abbildung 2.2: Prinzip des Basophilenaktivierungstest .....	40
Abbildung 2.3: Schematischer Aufbau eines Durchflusszytometers (vereinfachte Darstellung; modifiziert nach [187]). .....	41
Abbildung 2.4: Beispielhafter Dot-Plot der FSC- und SSC-Signale einer lysierten Vollblutprobe (modifiziert [188]).....	42
Abbildung 2.5: Identifikation aktivierter basophiler Granulozyten am Durchflusszytometer (FACSCanto II) durch Gating an Dot-Plot- oder Histogrammdarstellungen unter Verwendung der FACSDiva Software. ....	44
Abbildung 3.1: CONSORT-Flussdiagramm zum Verlauf der Studienphasen (Rekrutierung, Zuordnung der Intervention, Beobachtung und Datenanalyse) der randomisierten, Placebo-kontrollierten Studie zur oralen Immuntherapie (OIT) mit Erdnuss (laut CONSORT-Statement für klinische Studien [205]). .....	59
Abbildung 3.2: Maximal tolerierte Erdnussdosis unter Provokation vor und nach oraler Immuntherapie (OIT) bei Patienten der Verum- und Placebogruppe (Per Protocol-Studienpopulation).....	68
Abbildung 3.3: Maximal tolerierte Erdnussdosis unter Provokation vor und nach oraler Immuntherapie (OIT) bei Patienten der Verum- und Placebogruppe (Per Protocol-Studienpopulation).....	69
Abbildung 3.4: Schweregrad der Reaktion für jede Dosisstufe unter Provokation nach oraler Immuntherapie (OIT) für Patienten der Verum- und Placebogruppe (Per Protocol-Studienpopulation).....	71
Abbildung 3.5: Steigerung der Dosis unter oraler Immuntherapie (OIT). Gezeigt sind Start- und Erhaltungsdosis (Erdnuss bzw. Placebo (mg)) der OIT der Patienten der Verum- und Placebogruppe (Per Protocol-Studienpopulation). .....	74
Abbildung 3.6: Häufigkeit zeitlich assoziierte Nebenwirkungen unter oraler Immuntherapie (OIT) bei Patienten der Verum- und Placebogruppe.....	78
Abbildung 3.7: Verlauf des Krankheitsbildes gleichzeitig bestehender atopischer Erkrankungen unter oraler Immuntherapie bei Patienten der Verum- und Placebogruppe (Per-Protocol Studienpopulation).....	88
Abbildung 3.8: Immunglobulin-Level vor und nach oraler Immuntherapie (OIT) bei Patienten der Verum- und Placebogruppe (Per Protocol- Studienpopulation). .....	91
Abbildung 3.9: Verhältnis von Immunglobulin-Leveln vor und nach oraler Immuntherapie (OIT) bei Patienten der Verum- und Placebogruppe (Per Protocol- Studienpopulation). .....	92

Abbildung 3.10: Erdnusspezifischer Quaddeldurchmesser im Hautpricktest vor und nach oraler Immuntherapie (OIT) bei Patienten der Verum- und Placebogruppe (Per Protocol-Studienpopulation).....	93
Abbildung 3.11: CD63-Expression von basophilen Granulozyten vor und nach oraler Immuntherapie (OIT) bei Patienten der Verum- (n=23) und Placebogruppe (n=21).....	94
Abbildung 3.12: CD63-Expression von basophilen Granulozyten vor und nach oraler Immuntherapie (OIT) bei Patienten der Verum- (n=23) und Placebogruppe (n=21) nach Stimulation mit vier verschiedenen Erdnussextraktkonzentrationen.....	95
Abbildung 3.13: Sekretion von INF- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ (Th1-spezifisch) und IL-2 nach Stimulation mit PHA vor und nach oraler Immuntherapie (OIT) bei Patienten der Verum-(n=23) und Placebogruppe (n=21).....	96
Abbildung 3.14: Sekretion von IL-4, IL-5 (Th2-spezifisch) und IL-10 nach Stimulation mit PHA vor und nach oraler Immuntherapie (OIT) bei Patienten der Verum-(n=23) und Placebogruppe (n=21). .....	97
Abbildung 3.15: Sekretion von INF- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ (Th1-spezifisch) und IL-2 nach Stimulation mit Erdnussextrakt vor und nach oraler Immuntherapie (OIT) bei Patienten der Verum-(n=23) und Placebogruppe (n=21). ....	98
Abbildung 3.16: Sekretion von IL-4, IL-5 (Th2-spezifisch) und IL-10 nach Stimulation mit Erdnussextrakt vor und nach oraler Immuntherapie (OIT) bei Patienten der Verum-(n=23) und Placebogruppe (n=21). ....	99
Abbildung 3.17: Gesamtscore der Lebensqualität (LQ) vor und nach oraler Immuntherapie (OIT). .....	100
Abbildung 3.18: Veränderung der Lebensqualität (LQ) nach einzelnen Domänen unter oraler Immuntherapie (OIT).....	101
Abbildung 3.19: Ergebnisse des Fragebogens zur Therapiebelastung (BoT) unter oraler Immuntherapie (OIT).....	103
Abbildung A.1: Anzahl an Patienten mit zeitlich assoziierten objektiven und subjektiven Nebenwirkungen nach betroffenen Organsystemen der Verum- und Placebogruppe unter oraler Immuntherapie (OIT).....	187
Abbildung A.2: CD63-Expression von basophilen Granulozyten nach Stimulation mit und ohne Zusatz von IL-3 (2ng/ml) im jeweiligen Stimulationsmedium bei sieben Patienten zum Zeitpunkt der Abschlussvisite. ....	193
Abbildung A.3: Kurvenverlauf und maximale CD63-Expression von basophilen Granulozyten nach Stimulation mit verschiedenen Erdnusskonzentrationen mit und ohne Zusatz von IL-3 (2ng/ml) bei sieben Patienten zum Zeitpunkt der Abschlussvisite. ....	194

---

## Zusammenfassung

**Einleitung:** Die Erdnussallergie zählt zu den häufigsten Nahrungsmittelallergien im Kindesalter. Bereits kleine Mengen Erdnuss können zu schweren allergischen Reaktionen führen. Erdnuss ist der häufigste Auslöser einer lebensbedrohlichen Anaphylaxie bei Kindern und Jugendlichen. Im Gegensatz zu anderen frühkindlichen Nahrungsmittelallergien entwickeln Patienten mit einer Erdnussallergie nur selten eine natürliche Toleranz. Daher müssen Patienten häufig ihr Leben lang Erdnuss strikt in der Ernährung meiden und für den Fall einer allergischen Reaktion nach akzidentellem Erdnussverzehr stets Notfallmedikamente mit sich führen. Dies schränkt die Lebensqualität der Patienten ein. Seit mehreren Jahren wird daher an kausalen Therapiemöglichkeiten für Erdnussallergiker, insbesondere an der oralen Immuntherapie (OIT), geforscht. Erste kleinere Studien zur OIT bei Erdnussallergie zeigten erfolgsversprechende Ergebnisse. Im Rahmen einer randomisierten, doppelblind, Placebo-kontrollierten Studie mit größerer Fallzahl werden in der vorliegenden Arbeit die klinische Wirksamkeit und Sicherheit dieser Therapieoption bei Kindern mit Erdnussallergie genauer evaluiert. Des Weiteren werden immunologische Veränderungen sowie die Lebensqualität und Therapiebelastung unter OIT untersucht.

**Methoden:** Kinder zwischen 3-18 Jahren mit einer IgE-vermittelten Erdnussallergie wurden in die Studie eingeschlossen, auch Kinder mit Asthma bronchiale oder einer anaphylaktischen Reaktion auf Erdnuss in der Vergangenheit konnten an der Studie teilnehmen. Vor Beginn der OIT wurde eine orale Provokation mit Erdnuss durchgeführt. Die Patienten wurden 1:1 randomisiert und entsprechend der Verum- oder Placebogruppe zugeordnet. Begonnen wurde mit 2-120 mg Erdnuss bzw. Placebo pro Tag, abhängig von der Reaktionsdosis bei der oralen Provokation. Zunächst wurde die tägliche OIT-Dosis alle zwei Wochen über etwa 14 Monate langsam bis zu einer Erhaltungsdosis von mindestens 500 mg Erdnuss (= 125 mg Erdnussprotein, ~ 1 kleine Erdnuss) bzw. Placebo gesteigert. Die maximal erreichte Dosis wurde dann über zwei Monate täglich zu Hause verabreicht. Im Anschluss erfolgte erneut eine orale Provokation mit Erdnuss. Der primäre Endpunkt der Studie war die Anzahl an Patienten der Verum- und Placebogruppe, die unter oraler Provokation nach OIT  $\geq 1200$  mg Erdnuss vertrugen (= „partielle Desensibilisierung“). Sowohl vor als auch nach OIT wurde ein Hautpricktest mit Erdnuss durchgeführt und erdnusspezifisches IgE und IgG<sub>4</sub> im Serum bestimmt. Außerdem wurden die Basophilenaktivierung sowie die Ausschüttung von T-Zell-spezifischen Zytokinen nach Stimulation mit Erdnuss in vitro gemessen. Anhand von Fragebögen wurde die Lebensqualität vor und nach OIT sowie die Therapiebelastung während OIT erfasst.

**Ergebnisse:** 62 Patienten wurden in die Studie eingeschlossen und randomisiert. Nach etwa 16 Monaten unter OIT zeigten 74,2% (23/31) der Patienten der Verumgruppe und nur 16,1% (5/31) der Placebogruppe eine „partielle Desensibilisierung“ gegenüber Erdnuss ( $p < 0,001$ ). Im Median vertrugen Patienten der Verumgruppe 4000 mg Erdnuss (~8 kleine Erdnüsse) unter der Provokation nach OIT wohingegen Patienten der Placebogruppe nur 80 mg Erdnuss (~1/6 kleine Erdnuss) vertrugen ( $p < 0,001$ ). Fast die Hälfte der Patienten der Verumgruppe (41,9%) tolerierten die Höchstdosis von 18 g Erdnuss unter Provokation („komplette Desensibilisierung“). Es zeigte sich ein vergleichbares Sicherheitsprofil unter Verum- und Placebo-OIT in Bezug auf objektive Nebenwirkungen. Unter Verum-OIT kam es jedoch signifikant häufiger zu subjektiven Nebenwirkungen wie oralem Juckreiz oder Bauchschmerzen im Vergleich zu Placebo (3,7% der Verum-OIT-Gaben vs. 0,5% der Placebo-OIT-Gaben,  $p < 0,001$ ). Drei Kinder der Verumgruppe (9,7%) und sieben Kinder der Placebogruppe (22,6%) beendeten die Studie vorzeitig, je zwei Patienten beider Gruppen aufgrund von Nebenwirkungen. Im Gegensatz zu Placebo, zeigten sich unter Verum-OIT signifikante immunologische Veränderungen. So kam es zu einer Abnahme des erdnusspezifischen Quaddeldurchmessers im Hautpricktest, einem Anstieg der erdnusspezifischen IgG<sub>4</sub>-Werte im Serum sowie zu einer verminderten erdnusspezifischen Zytokinsekretion, insbesondere der Th2-spezifischen Zytokine IL-4 und IL-5. Hinsichtlich der erdnusspezifischen IgE-Werte sowie der erdnusspezifischen Basophilenaktivierung zeigten sich hingegen keine Veränderungen unter OIT. Die Lebensqualität von Kindern der Verumgruppe war nach OIT signifikant verbessert, jedoch nicht bei Kindern der Placebogruppe. Während der OIT wurde die Therapie von fast allen Kindern (82%) und Müttern (82%) als positiv bewertet (= niedrige Therapiebelastung).

**Diskussion:** Die Erdnuss-OIT führte bei einem Großteil der erdnussallergischen Kinder zu einer Desensibilisierung und einer deutlich erhöhten Reaktionsschwelle auf Erdnuss. Somit sind die Kinder im Alltag vor akzidentellen Reaktionen auf Erdnuss geschützt, was die Lebensqualität der Kinder deutlich verbessert. Unter den kontrollierten Studienbedingungen zeigte sich ein akzeptables Sicherheitsprofil, mit vorrangig milder Symptomatik. Die klinische Desensibilisierung ging mit Veränderungen auf immunologischer Ebene einher. Langzeitstudien zur Erdnuss-OIT müssen jedoch abgewartet werden, um die klinische und immunologische Wirksamkeit hinsichtlich einer möglichen langfristigen oralen Toleranzinduktion sowie die Sicherheit unter langfristiger OIT zu untersuchen, bevor das Therapiekonzept in die Praxis übertragen werden kann.

## Abstract

**Background:** Peanut allergy is one of the most common food allergies in childhood. Even very small amounts of peanut can elicit severe allergic reactions in patients. Peanut is the most common cause of life-threatening anaphylaxis in children and adolescents. A natural oral tolerance development in patients with peanut allergy is rare when compared to other food allergies in early childhood. Therefore, patients have to strictly avoid peanut in their diet, often for a lifetime, and are advised to carry emergency medications at all times in case of an allergic reaction after an accidental peanut consumption. This impairs the patient's quality of life. Over the last years, a lot of research has been conducted on causal treatment options for food allergy, especially on oral immunotherapy (OIT). First small trials on OIT for peanut allergy with small sample size showed promising results. This randomized, double blind, placebo-controlled study with a larger sample size aims to investigate the clinical efficacy and safety of this treatment option in children with peanut allergy. In addition, effects of OIT on immunological parameters and the quality of life as well as the burden of treatment will be examined.

**Methods:** Children aged 3-18 years with IgE-mediated peanut allergy were included in the study, also children with asthma or a history of anaphylaxis to peanut could participate in the study. Before starting OIT an oral food challenge with peanut was performed. Patients were randomly assigned (1:1) to receive verum- or placebo-OIT. Depending on the eliciting dose during the oral food challenge, OIT started with 2-120 mg peanut or placebo on a daily basis. OIT-doses were gradually increased every two weeks up to a maintenance dose of at least 500 mg peanut (= 125 mg peanut protein, ~1 small peanut) or placebo over a period of approximately 14 months. After reaching the highest dose, patients ingested the dose daily for two months at home followed by a repeated oral food challenge with peanut. The primary endpoint of the study was the proportion of patients in the verum- and placebo group tolerating  $\geq 1200$  mg peanut at final food challenge after OIT (= „partial desensitization“). Before and after OIT a skin prick test (SPT) with peanut was conducted and peanut-specific IgE and IgG<sub>4</sub>-levels were measured in serum. In addition, mechanistic studies on basophil reactivity and cytokine production of T-cells were performed after stimulation with peanut in vitro. Disease-specific questionnaires were used to measure quality of life before and after OIT and burden of treatment during OIT.

**Results:** 62 patients were included in the study and randomized. After a median of 16 months on OIT 74.2% (23/32) of peanut OIT subjects and only 16.1% (5/31) of placebo subjects showed a partial desensitization to peanut ( $p < 0,001$ ). During oral food challenge after OIT, peanut OIT patients tolerated a median dose of 4000 mg peanut (~8 small peanuts) whereas placebo subjects

tolerated only 80 mg peanut (~1/6 small peanut) ( $p < 0.001$ ). Almost half of the peanut OIT subjects (41.9%) tolerated the highest dose of 18 g peanut during final food challenge (= „complete desensitization“). There was a comparable safety profile during verum and placebo OIT regarding objective adverse events. However, subjective symptoms as oral pruritus or abdominal pain occurred significantly more often during verum OIT compared to placebo (3.7% of verum OIT-doses vs. 0.52% of placebo OIT-doses,  $p < 0.001$ ). Three peanut OIT subjects (9.7%) and seven placebo subjects (22.6%) discontinued the study, two subjects of each group due to allergic side effects. In contrast to placebo, significant immunological changes could be shown during verum OIT with a reduction in peanut-specific SPT wheal size, an increase in peanut-specific IgG<sub>4</sub>-serum levels and a decrease in peanut-specific cytokine production, especially of Th2-specific cytokines IL-4 and IL-5. With regard to peanut-specific IgE levels and peanut-specific basophil reactivity, no changes were observed during OIT. Quality of life in peanut OIT children significantly improved after treatment but not in placebo. During OIT almost all children (82%) and mothers (82%) were positive about this treatment option (= low burden of treatment).

**Discussion:** Peanut-OIT successfully induced desensitization in most of the peanut-allergic children with a marked increase in the threshold to peanut. Consequently, children will be protected from accidental reaction to peanut in everyday life, leading to a significant improvement of their quality of life. OIT showed an acceptable safety profile under strict conditions of this clinical trial, with mainly mild symptoms. Clinical desensitization came along with immunological changes. However, long-term studies on peanut OIT are warranted, in order to investigate the clinical and immunological efficacy regarding a possible long-term oral tolerance induction as well as long-term safety, before this treatment option may be implemented as part of routine practice.

# 1 Einleitung

## 1.1 Epidemiologie der Erdnussallergie

Nahrungsmittelallergien gehören zu den häufigsten Erkrankungen im Kindesalter mit Prävalenzraten von 4–8% in Industrieländern [1, 2]. Häufige Auslöser sind dabei Kuhmilch, Hühnerei, Erdnuss, Schalenfrüchte, Soja, Weizen, Fisch und Meeresfrüchte [2]. Nahrungsmittelallergien treten vorrangig im frühen Kindesalter auf, besonders häufig sind Kindern mit einer atopischen Dermatitis betroffen [3, 4]. Kinder, bei denen mindestens ein Elternteil oder Geschwisterkind an einer atopischen Erkrankung leidet (Asthma bronchiale, allergische Rhinokonjunktivitis oder atopisches Ekzem), haben ein erhöhtes Risiko eine Nahrungsmittelallergie zu entwickeln [5]. Das Risiko im Laufe der Kindheit an Asthma bronchiale oder einer allergischen Rhinokonjunktivitis zu erkranken, ist bei Kindern mit einer atopischen Dermatitis und/oder Nahrungsmittelallergie erhöht [6, 7]. Man spricht daher auch von einem „atopischen Marsch“ [8].

Daten zur Prävalenz der Erdnussallergie aus den USA, Großbritannien und Australien liegen zwischen 1-3% [1, 9, 10]. In einer Metaanalyse, die Studien europäischer Länder zur Prävalenz von Nahrungsmittelallergien aus den Jahren 2000-2012 auswertete, lag die Prävalenz einer durch einen Arzt diagnostizierten Erdnussallergie bei 1,6% [2]. Aktuelle Daten zur Prävalenz der Erdnussallergie im frühen Kindesalter in Deutschland und Europa werden derzeit im Rahmen der EuroPrevall-Studie ausgewertet [11]. Seit mehreren Jahren stehen Nahrungsmittelallergien und -unverträglichkeiten zunehmend im Fokus des öffentlichen Bewusstseins. Viele Menschen glauben an einer Nahrungsmittelunverträglichkeit zu leiden. So zeigte eine Untersuchung in Berlin aus dem Jahre 2004, dass 35% aller Befragten angaben, an einer Unverträglichkeit gegen ein Nahrungsmittel zu leiden. Ergebnisse klinischer Untersuchungen eines Großteils dieser Teilnehmer zeigten, dass Reaktionen auf Nahrungsmittel bei nur 3,6% der Teilnehmer im Rahmen einer oralen Provokation bestätigt werden konnten [12]. Jedoch scheint die Häufigkeit von Nahrungsmittelallergien, insbesondere der Erdnussallergie, in Industrieländern zuzunehmen. Im Rahmen von zwei großen Telefonsurveys in den USA, bei denen Eltern zum Vorliegen einer Erdnussallergie bei ihrem Kind befragt wurden, stieg die Prävalenz von 0,6% im Jahre 1997 auf 2,1% im Jahre 2008 [10]. In Großbritannien wurde die Häufigkeit einer Erdnussallergie bei Kindern zwischen 3-4 Jahren in drei verschiedenen Geburtskohorten im Jahre 1989, 1994 und 2004 untersucht [13, 14]. Zur Diagnosesicherung wurden Kinder mit Verdacht auf eine Erdnussallergie mit Erdnuss provoziert. Die Prävalenz stieg von 0,5% im Jahre 1989 auf 1,2% im Jahre 2004 an. Die Ursache hierfür sowie für die generelle Zunahme von atopischen Erkrankungen in Industrie- aber auch Schwellenländern ist noch nicht geklärt (siehe Kapitel 1.2.3).

## 1.2 Pathophysiologie der Erdnussallergie

### 1.2.1 Mechanismen der Allergieentstehung

Ursache für die Entstehung einer Nahrungsmittelallergie ist das Fehlen oder der Zusammenbruch der oralen Toleranz gegenüber dem entsprechenden Allergen. Bei allergischen Erkrankungen kommt es daher zu einer pathologischen Überschussreaktion des adaptiven Immunsystems, wobei die Reaktion spezifisch gegen normalerweise harmlose Stoffe der Umwelt wie Nahrungsmittelproteine gerichtet ist. Charakterisiert ist dies bei der Erdnussallergie, wie generell bei Nahrungsmittelallergien des Typ I, durch eine spezifische IgE-Antwort [15]. Als Ursache wird eine Verschiebung des Gleichgewichts von T-Helferzellen des Typ 1 (Th 1) und des Typ 2 (Th2) in Richtung einer Th2-Antwort und parallel eine eingeschränkte regulatorische Immunsuppression vermutet [16]. Die Pathophysiologie IgE-vermittelter Nahrungsmittelallergien verläuft in zwei Phasen, der Sensibilisierungs- und Effektorphase.

#### Sensibilisierungsphase

Bei Erstkontakt mit dem Nahrungsmittelprotein kommt es zunächst zu einer allergischen Sensibilisierung. Gelangt das Allergen nach oraler Aufnahme in das gastrointestinale Lumen und passagiert dort die Epithelzellschicht, kann es von dendritische Zellen als professionelle Antigen-präsentierende Zellen (APC) aufgenommen werden [17]. Derzeit wird nicht nur die orale sondern auch kutane Route für den Sensibilisierungsprozess insbesondere bei Kindern mit Ekzem und einer gestörten Hautbarrierefunktion diskutiert. Dabei gelangt das Allergen nach Hautkontakt in die Epidermis und kann dort von Langerhans Zellen als APC aufgenommen werden [18]. Das Allergen wird von den APC internalisiert und als Peptidfragment anschließend auf der Oberfläche über den Haupt-Histokompatibilitätskomplex (MHC)-II präsentiert (Abbildung 1.1). Die somit aktivierten dendritischen Zellen wandern in die mesenterialen Lymphknoten ein und können dort mit naiven CD4<sup>+</sup>-T-Zellen (Th0) in Kontakt treten [19]. Über die Bindung des MHC-II-Antigen-Komplexes mit dem T-Zell-Rezeptor und nach weiteren Co-stimulierenden Signalen wie der Expression bestimmter Liganden werden Th0-Zellen aktiviert. Je nach vorherrschendem Zytokinmilieu erfolgt dann eine Differenzierung in unterschiedliche allergenspezifische Th-Zellpopulationen. Bei der Ausbildung einer Sensibilisierung kommt es dabei unter Anwesenheit von IL-4 zu einer Differenzierung und klonalen Expansion allergenspezifischer Th2-Zellen [20]. Aktivierte Th2-Zellen treten mit B-Lymphozyten in Kontakt. Die Sekretion der Th2-spezifischen Zytokine IL-4 und IL-13 induziert eine Proliferation der B-Zellen und deren Differenzierung zu IgE-sezernierenden Plasmazellen (IgE-Isotypenwechsel) sowie eine Ausbildung von B- Gedächtniszellen [20]. Allergenspezifische IgE Antikörper (sIgE) bindet dann an den hochaffinen IgE-Rezeptor (Fc<sub>ε</sub>RI), der sich auf der Zelloberfläche von gewebständigen Mastzellen der Haut und Schleimhäute sowie von im

peripheren Blut zirkulierenden basophilen Granulozyten befindet [15]. Die Sensibilisierung gegen ein Allergen verläuft klinisch symptomfrei, ist jedoch die Voraussetzung für das Auslösen einer Sofortreaktion auf ein Nahrungsmittel. Wodurch es zu der beschriebenen spezifischen Th2-Antwort nach Allergenpräsentation kommt, ist noch nicht ausreichend geklärt. Daten weisen darauf hin, dass die Expression spezifischer Oberflächenmarker wie OX40L auf dendritischen Zellen und anschließendem Zell-Zell-Kontakt mit  $CD4^+$ -T-Zellen eine Th2-Immunantwort begünstigt [17]. Eine relevante Quelle für IL-4 als begünstigendes Co-Stimulanz für eine Th-2 Differenzierung naiver  $CD4^+$ -Zellen stellen möglicherweise basophile Granulozyten dar [21, 22].

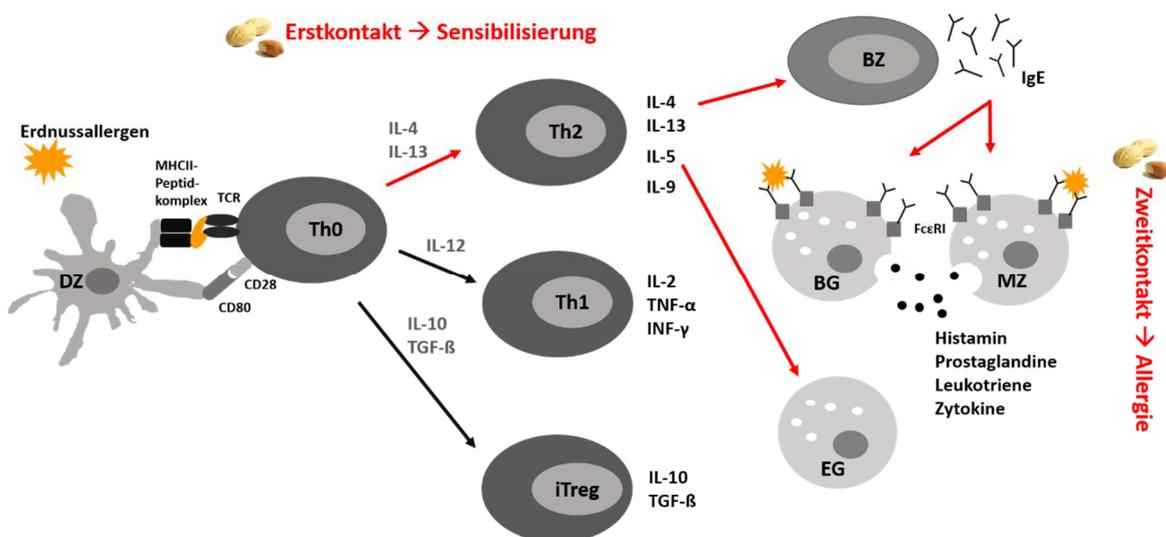


Abbildung 1.1: Vereinfachtes Schema der Sensibilisierungs- und Effektorphase bei der Entwicklung einer Erdnussallergie (rote Pfeile). BG= basophile Granulozyten, DZ= dendritische Zelle, EG= eosinophile Granulozyten, FcεRI= hochaffiner IgE-Rezeptor, IgE= Immunglobulin E- Antikörper, IL= Interleukin, INF-γ= Interferon γ, MHC-II= Haupt-Histokompatibilitätskomplex II, MZ= Mastzelle, TCR= T-Zell Rezeptor, TGF-β= Transforming Growth Factor β, TNF-α= Tumor-Nekrose-Factor α, Th0= naive  $CD4^+$ -T-Zelle, Th1= T-Helferzellen Typ 1, Th2= T-Helferzellen Typ 2, iTreg= induzierte regulatorische T-Zelle.

### Effektorphase

Erst nach erneutem Allergenkontakt kann es bei einer bestehenden Sensibilisierung gegen ein Nahrungsmittel zu einer Manifestation der klinischen Symptomatik kommen (Abbildung 1.1). Das Allergen wird dabei von zellgebundenem sIgE auf Mastzellen oder basophilen Granulozyten erkannt und gebunden. Durch Quervernetzung und Aggregation zweier IgE-Moleküle, und somit der FcεRI, wird eine intrazellulären Signalkaskade ausgelöst, die zur Aktivierung der Effektorzellen und Ausschüttung verschiedener Entzündungsmediatoren führt. Dazu gehören präformierte oder neu synthetisierte proinflammatorische und vasoaktive Mediatoren wie Histamin, Lipidmediatoren wie PAF, Prostaglandine sowie diverse Chemokine und Zytokine, wie IL-4, IL-5 und IL-3 [15]. Diese Mediatoren haben spezifische Wirkung auf unterschiedliche Zielorgane und führen bei Patienten zu typischen lokalen oder systemischen allergischen Soforttypreaktionen (siehe Kapitel 1.3.2). IL-4

und IL-13 regen außerdem B-Zellen zur weiteren IgE-Sekretion an und stimulieren zusätzlich eine Differenzierung von Th0- zu Th2-Zellen, wodurch erneut ein Th2-Shift der zellulären Immunantwort gefördert wird. IL-5 stimuliert zudem eine Reifung und Aktivierung eosinophiler Granulozyten [23].

### **Differenzierung CD4<sup>+</sup>-T-Zellen und deren Zytokinproduktion**

Voraussetzung für die Bildung von IgE ist ein Shift der CD4<sup>+</sup>-T-Zellpopulation in Richtung Th2-Zellen. Bei den Th-Zellen unterscheidet man zwei Subpopulationen Th1- und Th2-Zellen, die sich aufgrund ihres charakteristischen Zytokinprofils unterteilen lassen [24]. Zu den CD4<sup>+</sup>-T-Zellen zählen neben den Th-Zellen auch regulatorische T-Zellen (Treg-Zellen). Das vorherrschende Zytokinmilieu beeinflusst maßgeblich in welche Richtung dieser CD4<sup>+</sup>-T-Zellpopulationen naive T-Zellen nach Allergenpräsentation durch APCs differenzieren (Abbildung 1.1). Eine Differenzierung von Th0- zu Th1-Zellen geschieht unter Anwesenheit von IL-12 [20]. Th1-Zellen sind vorrangig bei der zellvermittelten Immunantwort involviert und sind charakterisiert durch die Ausschüttung von IFN- $\gamma$ , IL-2 und TNF- $\alpha$ . Sie spielen vorrangig bei der Abwehr intrazellulärer Erreger im Rahmen bakterieller oder viraler Infekte eine Rolle. IL-2 führt als autokriner Wachstumsfaktor hauptsächlich zur Aktivierung und Proliferation von T-Lymphozyten und wird auch von anderen CD4<sup>+</sup>-T-Zellen ausgeschüttet [25-27]. Die Ausbildung zu Th2-Zellen wird dagegen maßgeblich durch die Anwesenheit von IL-4 stimuliert. Th2-Zellen sezernieren IL-4, IL-5, IL-9, IL-10 und IL-13 und sind vorrangig an der humoralen Immunantwort beteiligt [20, 28]. Sie sind bei der Abwehr von Parasiten involviert und hauptverantwortliche Akteure der allergischen Immunantwort. IL-4 regt dabei B-Lymphozyten zur Bildung von IgE-Antikörpern an und IL-5 induziert und aktiviert eosinophile Granulozyten [25]. Zusätzlich beeinflussen die sezernierten Zytokine von Th1- und Th2-Zellen wechselseitig eine Differenzierung des jeweils anderen Subtypen. So inhibiert das von Th1-sezernierte IFN- $\gamma$  eine Th2-Proliferation, dagegen hemmt das von Th2-Zellen sezernierte IL-4 die Ausbildung von Th1-Zellen [24]. Diese gegenseitige Hemmung scheint eine wichtige Rolle in der Immunregulation zu spielen. Einen weiteren wichtigen Stellenwert bei der Immunregulation haben die Treg-Zellen [29]. Unter Anwesenheit von TGF- $\beta$  und IL-10 können naive CD4<sup>+</sup>-T-Zellen auch zu allergenspezifischen Treg-Zellen differenzieren. Die von ihnen ausgeschütteten Zytokine TGF- $\beta$  und IL-10 haben ebenfalls einen regulierenden Einfluss auf die Th1- und Th2-Immunantwort [30]. Für gewöhnlich herrscht im Körper eine Balance zwischen der Ausbildung der verschiedenen T-Zellpopulationen, was zum einen eine ausreichende Immunabwehr gegenüber Pathogenen und zum anderen eine Unterdrückung überschießender Immunantworten ermöglicht. Bei Nahrungsmittelallergikern ist dieses Gleichgewicht gestört und es liegt im Vergleich zu Gesunden eine Th2-Polarisation vor [31, 32]. Bei Patienten mit Erdnussallergie konnte gezeigt werden, dass nach in vitro Stimulation von peripheren mononukleären Zellen des Blutes (PBMCs) mit Erdnuss eine Th2-gerichtete Immunantwort ausgelöst wird [32-34]. So konnten Turcano et al. bei

Erdnussallergikern erdnusspezifische T-Zellen identifizieren, die vorrangig ein Th2-Zytokinprofil aufwiesen (IL-4<sup>hoch</sup>, IL-5<sup>hoch</sup>, IFN- $\gamma$ <sup>niedrig</sup>) [32]. Dagegen zeigte sich, dass bei Kindern, die eine Toleranz gegenüber Erdnuss entwickelt hatten, sowie bei gesunden Kindern ein Th1-gerichtetes Zytokinprofil dominierte (IFN- $\gamma$ <sup>hoch</sup>, TNF- $\alpha$ <sup>hoch</sup>, IL-4<sup>niedrig</sup>, IL-5<sup>niedrig</sup>, IL-13<sup>niedrig</sup>) [32].

### 1.2.2 Mechanismen der oralen Toleranz

Der Gastrointestinaltrakt wird täglich mit einer Vielzahl von Nahrungsmittelproteinen konfrontiert. Jedoch reagieren nur wenige Menschen allergisch auf bestimmte Nahrungsmittelproteine, da in der Regel das darmassoziierte lymphatische Gewebe (GALT „gut associated lymphoid tissue“) eine humorale und zelluläre Immunantwort auf eigentlich für den Körper harmlose Antigene, nach vorheriger oraler Exposition, aktiv unterdrückt. Dieser Prozess wird als orale Toleranz bezeichnet [35]. Verschiedene Komponenten des angeborenen und adaptiven Immunsystems spielen bei der Ausbildung und Aufrechterhaltung der oralen Toleranz eine Rolle. Schon bevor Nahrungsmittelproteine in das Darmlumen gelangen, kann deren allergenes Potential bereits durch den vorherrschenden niedrigen pH-Wert im Magen und enzymatische Verdauungsprozesse herabgesetzt werden, indem beispielsweise konformatorische Epitope des Allergens zerstört werden [36]. Im Darmlumen angelangt, stellt als erstes die epitheliale Barriere als physikalische Grenze einen Schutz vor Fremdkörpern dar [37]. Ein weiterer Schutzmechanismus ist die sogenannte Immunexklusion im Darmlumen durch sekretorisches IgA (sIgA), das durch Plasmazellen der Lamina propria sezerniert wird [17, 28]. Allergene können durch sIgA gebunden werden und somit am Eindringen in die Mukosa gehindert werden. Die wohl entscheidendste Rolle bei der Ausbildung und Aufrechterhaltung der peripheren oralen Toleranz scheint das adaptive Immunsystem durch Immunsuppression auf T-Zell-Ebene zu spielen [38]. Ein Mechanismus hierfür stellt die klonale Anergie (=immunologische Nicht-Reaktivität) oder Deletion (=Apoptose) spezifischer T-Effektorzellen dar [35, 39]. Zur Ausbildung einer Anergie kommt es beispielsweise, wenn die T-Zell-Aktivierung bei Interaktion mit APCs aufgrund fehlender costimulierender Signale unvollständig verläuft. Im anergen Zustand kommt es weder zu einer Proliferation noch Differenzierung der T-Zellen mit entsprechender Zytokinausschüttung. Der Zustand klonaler Anergie ist mit einer ausbleibenden Immunantwort der Zelle auf das entsprechende Allergen auch nach wiederholter, adäquater Allergenstimulation sowie einer signifikant erniedrigten Produktion und Sekretion von IL-2 assoziiert [40]. Im Mausmodell konnte man nach Exposition mit einer hohen Allergendosis eine Anergie bzw. Deletion allergenspezifischer T-Effektorzellen beobachten, daher wird dieser Mechanismus auch als „high dose tolerance“ bezeichnet [35, 41]. Auch die bereits oben erwähnte gegenseitige Hemmung der Th-1 und Th-2 Immunantwort liefert einen Beitrag zur Aufrechterhaltung der oralen Toleranz gegenüber Nahrungsmittelallergenen. Eine Polarisation in Th-1 Richtung und anschließende Ausschüttung von INF- $\gamma$  hemmt die Differenzierung in Th2-Zellen

aus naiven T-Zellen. Den größten Einfluss auf die Entstehung oraler Toleranz scheinen jedoch die regulatorische T-Zellen (Treg) durch aktive Immunsuppression zu haben. Treg-Zellen sind durch die Expression des Transkriptionsfaktors Forkhead-Box-Protein P3 (Foxp3) charakterisiert. Ein Defekt des FoxP3-Gens und eine damit einhergehende verminderte Anzahl und Funktion von Treg-Zellen ist mit schwerer Immundefizienz und Autoimmunreaktionen assoziiert [42]. Treg-Zellen kommen zum einen als natürlich vorkommende CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg-Zellen, die im Rahmen der T-Zelldifferenzierung im Thymus gebildet werden, vor. Zum anderen können wie bereits erwähnt allergenspezifische Treg-Zellen (iTreg) unter Anwesenheit von IL-10 und TGF- $\beta$  auch aus naiven T-Zellen induziert werden. Im Rahmen der oralen Toleranzentwicklung wird den iTreg derzeit die entscheidendste Rolle zugesprochen. Im Mausmodell konnte durch wiederholte Exposition mit niedrigen Allergendosen eine Induktion von iTreg mit parallel einhergehender oraler Toleranz beobachtet werden [35]. Der Mechanismus der aktiven Immunsuppression über iTreg-Zellen wird in der Literatur daher auch als „low dose tolerance“ bezeichnet [41]. Durch Sekretion der Zytokine IL-10 und TGF- $\beta$  oder Zell-Zell-Kontakte können Treg-Zellen die Ausbildung einer allergenspezifischen Immunantwort unterdrücken. Sie hemmen die Differenzierung naiver T-Zellen sowohl in Th1- als auch Th2-Effektorzellen und somit deren Sekretion proinflammatorischer Zytokine und die IgE-Produktion durch B-Zellen. Die Rolle allergenspezifischer Treg bei der oralen Toleranz in Bezug auf Nahrungsmittelallergien wurde bereits auch in klinischen Studien untersucht. So konnte bei Kindern mit nicht-IgE-vermittelter Kuhmilchallergie gezeigt werden, dass Kinder mit einer natürlichen Toleranzentwicklung eine höhere Anzahl zirkulierender CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg-Zellen aufwiesen, als Kinder mit noch bestehender Kuhmilchallergie oder gesunde Kinder [43, 44].

### **1.2.3 Ursachen einer gestörten oralen Toleranz**

Verschiedene Faktoren können Einfluss auf die Ausbildung einer oralen Toleranz oder Allergie gegenüber Nahrungsmitteln haben. Zum einen scheinen Eigenschaften des Allergens selbst einen Einfluss auf die Ausbildung einer Nahrungsmittelallergie zu haben. Gemeinsame Charakteristika von allergen wirkenden Nahrungsmittelproteinen sind ein kleines Molekulargewicht zwischen 10-70 kDa, eine Glykolysierung, Wasserlöslichkeit und Stabilität gegenüber Hitze und enzymatischer Verdauung [45]. Diese Eigenschaften können eine Aufnahme des intakten Allergens im Gastrointestinaltrakt begünstigen [15]. Allergene der Erdnuss, insbesondere die Samenspeicherproteine, weisen eine besonders hohe Stabilität gegenüber Hitze, extremen pH-Werten und enzymatischer Verdauung auf [46, 47]. Als weiteren Mechanismus für eine Nichtausbildung der oralen Toleranz sowie auch als Ursache für die Zunahme atopischer Erkrankungen in Industrieländern wird die Hygienehypothese diskutiert [48]. Dabei wird vermutet, dass es durch erhöhte Hygienemaßnahmen und einen zunehmenden Gebrauch von Antibiotika zu einer verringerten Konfrontation mit Pathogenen im Säuglings- und Kindesalter kommt, wodurch

das GALT in geringerem Maße aktiviert und stimuliert wird. Dies könnte zu einer Verschiebung des oben beschriebenen Gleichgewichts auf T-Zell-Ebene führen [49]. Zum anderen gibt es für die erhöhte Produktion von IgE-Antikörpern nach Exposition mit bereits niedrigen Allergenmengen eine genetische Veranlagung die als Atopie bezeichnet wird [50]. Auch eine gestörte epitheliale Barrierfunktion der Haut bzw. des Gastrointestinaltrakts können Ursachen einer gestörten oralen Toleranz sein. Liegt eine erhöhte Permeabilität des Darmepithels vor, kann es zu einer gesteigerten Allergenaufnahme kommen. Bei Säuglingen und Kleinkindern ist die Darmbarriere noch nicht voll entwickelt, was bei der erhöhten Prävalenz von Nahrungsmittelallergien in den ersten Lebensjahren eine Rolle spielen könnte [51]. Zum Zeitpunkt der ersten Reaktion auf Erdnuss sind viele Kinder im Säuglings- oder frühen Kleinkindalter und in etwa 80% der Fälle treten Reaktionen gegen Erdnuss nach dem ersten wissentlichen oralen Kontakt auf [52, 53]. Bereits im frühen Säuglingsalter kann eine Sensibilisierung gegen Erdnuss nachgewiesen werden, vor allem bei Kindern mit einer atopischen Dermatitis [54, 55]. Daher werden neben einer oralen Exposition durch direkten Verzehr von Erdnuss im frühen Kindesalter, auch weitere Möglichkeiten einer Sensibilisierung diskutiert. Neben einer Allergenexposition im Laufe der Schwangerschaft oder Stillzeit über die Plazenta bzw. die Muttermilch [56, 57], wird derzeit vorrangig die Möglichkeit einer kutanen Sensibilisierungsrouten diskutiert. Erste Hinweise darauf lieferte eine Studie von Fox et al., die zeigte, dass der Verzehr von Erdnuss im Haushalt positiv mit der Entwicklung einer Erdnussallergie im Kindesalter assoziiert war [58]. Erdnussprotein konnte außerdem im Hausstaub des Essbereichs und von Betten nachgewiesen werden [59, 60]. Möglicherweise können Allergene, insbesondere bei gestörter Hautbarrierefunktion im Rahmen einer atopischen Dermatitis, daher zu einer Sensibilisierung über Langerhansche Zellen der Epidermis führen. Diese mögliche Sensibilisierungsrouten steht mit den Daten im Einklang, dass Nahrungsmittelsensibilisierungen und -allergien vermehrt bei Kindern mit atopischer Dermatitis auftreten. Es konnte gezeigt werden, dass das Auftreten einer atopischen Dermatitis mit einem genetischen Defekt im Filaggrin-Gen assoziiert ist [61]. Kürzlich zeigten Studien außerdem einen Zusammenhang des Filaggrin-Gendefekts und dem Auftreten einer Erdnussallergie [62, 63]. Neben der Route werden auch der Zeitpunkt und die Dosis der primären Allergenexposition in Bezug auf eine gestörte oder greifende orale Toleranz diskutiert. Da sich hinsichtlich der Prävalenzraten der Erdnussallergie große länderspezifische Unterschiede zeigen, wurde vermutet, dass dabei unterschiedliche Ernährungsgewohnheiten eine Rolle spielen könnten. In einer Studie aus dem Jahre 2008, wurden jüdische Kinder aus Großbritannien und Israel hinsichtlich der Prävalenz der Erdnussallergie und des Erdnusskonsums im frühen Kindesalter verglichen [64]. Die Prävalenzrate der Erdnussallergie lag bei Schulkindern in Israel bei 0,17% und in Großbritannien bei 1,85% ( $p < 0,01$ ). Währenddessen verzehrten Kinder in Israel schon im ersten Lebensjahr im Median um die 7 g Erdnussprotein pro Woche, wohingegen in

Großbritannien entsprechend der damaligen Präventionsleitlinien Erdnuss strikt gemieden wurde. Es wurde daher vermutet, dass eine frühzeitige orale Exposition mit Erdnuss möglicherweise zur Induktion einer oralen Toleranz führen kann. In einer großen randomisierten Interventionsstudie aus Großbritannien wurde dies nun kürzlich prospektiv bei Kindern mit schwerer atopischer Dermatitis und/oder einer Hühnereiallergie untersucht [65]. In diesem Risikokollektiv konnte gezeigt werden, dass die frühe Gabe von Erdnuss zwischen 4-11 Monaten das Risiko für die Entwicklung einer Erdnussallergie deutlich senken kann. Um entsprechende Präventionsempfehlungen für andere Länder ableiten zu können, sind jedoch noch weitere Studien nötig.

### **1.3 Charakteristika der Erdnussallergie**

Erdnuss (*Arachis hypogea*) gehört wie Soja oder Linse zu den Hülsenfrüchten. Häufig wird Erdnuss in der asiatischen Küche eingesetzt, wird aber auch zunehmend in westlichen Industrieländern in gerösteter Form z.B. als Erdnussflips oder Erdnussbutter konsumiert. Mit einem Gehalt von etwa 26% ist die Erdnuss ein proteinreiches Nahrungsmittel [66, 67].

#### **1.3.1 Allergene der Erdnuss**

Mehrere Proteine der Erdnuss konnten als Allergene identifiziert werden, sie lassen sich aufgrund ähnlicher Sequenzen und Strukturen in verschiedene Proteinfamilien einteilen und unterscheiden sich in ihren molekularen Eigenschaften. Es konnte gezeigt werden, dass abhängig vom Alter und der geographischen Herkunft der Patienten sowie dem Schweregrad der Symptomatik verschiedene Allergene der Erdnuss eine Rolle spielen [68]. Vorrangig handelt es sich bei den Erdnussallergenen um Samenspeicherproteine (Ara h 1, 2, 3 und 6), diese zeichnen sich durch eine hohe Stabilität gegenüber Hitze und gastrischer Verdauung aus [47, 69]. Säuglinge und Kinder mit einer „primären“ Erdnussallergie mit den typischen Soforttypreaktionen sind in der Regel gegen stabile Allergene, wie die Samenspeicherproteine, sensibilisiert [55, 70, 71]. Eine primäre erworbene Nahrungsmittelallergie ist dadurch gekennzeichnet, dass Nahrungsmittelallergene das sensibilisierende Agens sind und eine Sensibilisierung z.B. durch den ersten oralen Verzehr von Erdnuss oder durch den Kontakt mit Erdnussprotein im Hausstaub bei Kindern mit gestörter Barrierefunktion der Haut bei Ekzem erfolgt [51, 59, 60, 72-74]. Das Rösten von Erdnüssen führt zu einer erhöhten Allergenität. Bei Einwirkung von Hitze kommt es wahrscheinlich im Rahmen der Maillardreaktion zur Modifizierung der Samenspeicherproteine der Erdnuss, was zu einer Bildung neuer IgE-Bindestellen führt [46, 75]. Dagegen sind andere Allergene der Erdnuss, z.B. das PR-10 Protein Ara h 8 und das Profilin Ara h 5 hitzelabile Proteine [76, 77]. Erwachsene und Jugendliche Patienten mit Birkenpollenallergie zeigen vorrangig eine Sensibilisierung gegen Ara h 8, ein

Homolog des Majorallergens der Birkenpollen Bet v 1 (*Betula verrucosa*) [68, 76, 78]. Man spricht daher von einer sekundären Nahrungsmittelallergie, auch „Pollen-assoziierte“ Nahrungsmittelallergie genannt. In diesem Fall besteht die Sensibilisierung nicht direkt gegen das Nahrungsmittelallergen, sondern aufgrund einer Protein-Strukturhomologie bereits vorliegender Sensibilisierungen gegen Inhalationsallergene. Diese Kreuzsensibilisierung ist klinisch oft nicht relevant bzw. es kommt meist nur zu oralen Allergiesymptomen nach Verzehr von Erdnuss [68]. Bei den kreuzreaktiven Allergenkomponenten handelt es sich meist um hitzelabile Proteine, so dass die erhitzte Form des Nahrungsmittels in der Regel vertragen wird.

### 1.3.2 Klinische Charakteristika der Erdnussallergie

Die Erdnussallergie gehört zu den typischen IgE-vermittelten Nahrungsmittelallergien mit Soforttypreaktionen [79]. Reaktionen treten dabei häufig unmittelbar und in der Regel bis zu zwei Stunden nach Verzehr auf [80]. Allergische Reaktionen auf Erdnuss können verschiedene Organsysteme betreffen und unterschiedlich schwer verlaufen. Symptome können isoliert an einem oder an mehreren Organsystemen gleichzeitig auftreten. Das am häufigsten betroffene Organ ist die Haut, mit Symptomen wie Juckreiz, Urtikaria oder Angioödem [52, 81]. Häufig sind auch die oberen und unteren Atemwege oder der Gastrointestinaltrakt und seltener das Herz-Kreislaufsystem involviert. Dabei kann es z.B. zu Erbrechen, Diarrhoe, Rhinokonjunktivitis, Husten bis hin zu pfeifender Atmung, Atemnot oder Bewusstseinsverlust kommen. Die Erdnussallergie zeichnet sich häufig durch eine besonders schwere klinische Symptomatik aus, im Ernstfall mit lebensbedrohlichem Verlauf [82]. So gehört Erdnuss zu den hauptverantwortlichen Auslösern lebensbedrohlicher anaphylaktischer Reaktionen im Kindesalter [83, 84]. Eine Anaphylaxie stellt die schwerste Form einer allergischen Reaktion dar, bei der mindestens zwei Organsysteme und/oder die unteren Atemwege oder das Herz-Kreislaufsystem involviert sind, und wird als „schwere, lebensbedrohliche systemische Überempfindlichkeitsreaktion“ definiert [85]. Ein besonders hohes Risiko für anaphylaktische Reaktionen besteht bei erdnussallergischen Patienten mit einem parallel bestehenden Asthma bronchiale [86]. Daten aus dem deutschsprachigen Anaphylaxieregister zeigen, dass 23% der dort registrierten nahrungsmittelinduzierten Anaphylaxie-Fälle bei Kindern und Jugendlichen auf Erdnuss zurückzuführen sind [83]. In den USA sind etwa 60% der nahrungsmittelinduzierten Anaphylaxien mit tödlichem Ausgang durch Erdnuss bedingt [87]. Bereits kleinste Mengen können bei Patienten mit einer Erdnussallergie zu allergischen Reaktionen führen. In einer Studie mit 225 Erdnussallergikern zeigten unter oraler Provokation mit Erdnuss bereits 10% der Patienten allergische Reaktionen auf eine Dosis unter 5 mg Erdnussprotein [54]. Taylor et al. berechnete auf Basis von über 200 positiven oralen Provokationstestungen mit Erdnuss einen ED05-Wert (kleinste Menge an Erdnuss, die bei 5% der Erdnussallergikern objektive allergische Reaktionen auslöst) von 7,5 mg Erdnuss (= ~1,9 mg

Erdnussprotein) [88]. Allergische Reaktionen nach unbeabsichtigtem Verzehr von Erdnuss sind häufig. Studien aus den USA, Kanada und England zur Häufigkeit akzidenteller Reaktionen auf Erdnuss bei großen Studienkollektiven erdnussallergischer Kinder zeigen jährliche Inzidenzraten akzidenteller Reaktionen von 12-55% [89-92].

Im Gegensatz zu anderen frühkindlichen Nahrungsmittelallergien wie der Kuhmilch- oder Hühnereiallergie, die eine gute Prognose für eine natürliche, spontane orale Toleranzentwicklung haben, bleibt die Erdnussallergie meist lebenslang bestehen. So zeigen aktuelle Daten aus Europa, dass 57% bzw. 50% der Kinder ihre Kuhmilch- bzw. Hühnereiallergie im Laufe von einem Jahr verlieren [93, 94]. Daten zur Erdnussallergie aus den USA und Australien weisen dagegen darauf hin, dass nur 22% der Kinder mit Erdnussallergie im Laufe von drei Jahren eine orale Toleranz entwickeln [95, 96].

## 1.4 Diagnostik der Erdnussallergie

Das diagnostische Vorgehen bei dem Verdacht auf eine Erdnussallergie erfolgt, wie bei allen IgE-vermittelten Nahrungsmittelallergien, nach einem mehrstufigen Prozess (Abbildung 1.2) [97]. Grundlage ist ein ausführliches Anamnesegespräch, wobei unter anderem Informationen über den möglichen Auslöser, den Zeitverlauf der Reaktion, die Symptome sowie deren Schweregrad erhoben werden. Des Weiteren wird getestet, ob eine Sensibilisierung gegen Erdnuss besteht. Hierfür wird entweder erdnusspezifisches IgE im Serum bestimmt oder ein Hautpricktest mit Erdnuss durchgeführt. Liegt eine Sensibilisierung vor und ereignete sich kürzlich eine klare allergische Soforttypreaktion, die eindeutig auf Erdnuss zurückzuführen war, wird in der Regel kein weiteres Testverfahren durchgeführt [97, 98]. Falls jedoch eine klare Anamnese fehlt, Erdnuss noch nie wissentlich verzehrt wurde oder die Reaktion auf Erdnuss lange Zeit zurück liegt, sollte eine orale Provokation mit Erdnuss durchgeführt werden, um die klinische Relevanz zu überprüfen.

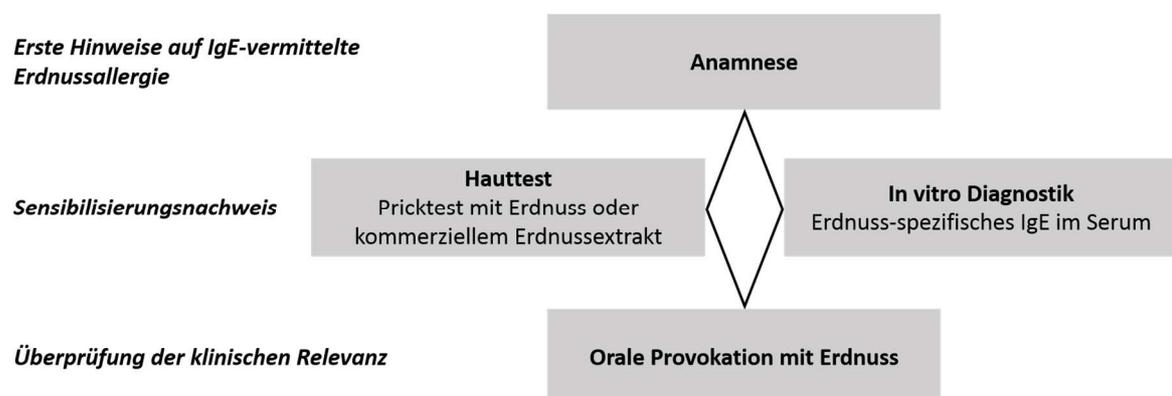


Abbildung 1.2: Empfohlene Stufendiagnostik bei Verdacht auf eine Erdnussallergie (nach [97]).

### **1.4.1 Testverfahren zum Nachweis einer Sensibilisierung**

Der Nachweis einer Sensibilisierung gegen Nahrungsmittel erfolgt entweder im Rahmen einer in-vitro-Diagnostik, der Messung von nahrungsmittelspezifischen IgE im Serum, oder mit einem Hautpricktest [97]. Neben der Bestimmung von sIgE gegen das Gesamtproteinextrakt von Erdnuss, ist es auch möglich sIgE gegen die einzelnen Allergenkomponenten der Erdnuss zu bestimmen. Die Bestimmung von sIgG<sub>4</sub> wird für die Diagnostik von Nahrungsmitteln nicht empfohlen, da es vielmehr als Marker einer natürlichen Immunantwort auf eine wiederholte Allergenexposition angesehen wird und möglicherweise eher Hinweise auf eine orale Toleranz geben kann [99]. Beim Hautpricktest wird der Sensibilisierungsgrad anhand der Hautreagibilität durch an Mastzellen der Haut gebundenes sIgE erfasst. Dabei wird entweder kommerzieller Erdnussextrakt oder geröstete ganze Erdnuss mit einer Prick-Lanzette in die oberste Hautschicht gebracht und anschließend die Größe der entstandenen Quaddel im Vergleich zu einer Positiv- und Negativkontrolle beurteilt [100].

### **1.4.2 Nahrungsmittelprovokation zum Nachweis einer klinischen Relevanz**

Eine Sensibilisierung gegen Erdnuss bedeutet jedoch nicht zwangsläufig, dass der Patient nach dem Verzehr von Erdnuss klinische Symptome entwickeln muss. Zum Nachweis einer klinischen Relevanz stellt eine doppelblind, Placebo-kontrollierte Nahrungsmittelprovokation (DBPCFC) den diagnostischen Goldstandard dar [97, 101]. Das Nahrungsmittel (Verum) oder Placebo werden dabei in randomisierter Reihenfolge an verschiedenen Tagen verabreicht, wobei weder der behandelnde Arzt noch der Patient und die Eltern über diese Reihenfolge Bescheid wissen. Orale Provokationen erfolgen stets unter ärztlicher Aufsicht. Aus Sicherheitsgründen wird im Rahmen der Provokation das Allergen in titrierter Form, z.B. als halb-logarithmische Steigerung, verabreicht, um das Risiko für schwere Reaktionen zu vermindern [101]. Das Allergen wird in einer Matrix z.B. Apfelmus verabreicht, die den Geschmack und das Aussehen des Allergens verblindet. Zwischen den einzelnen Titrationsstufen wird in der Regel ein zeitlicher Abstand von mindestens 30 Minuten eingehalten [97, 101]. Die im Laufe der Provokation zu verabreichende Gesamtdosis sollte in etwa einer üblichen altersentsprechenden Verzehrsmenge entsprechen, z.B. eine Hand voll Erdnüsse. Eine Provokation wird als positiv bewertet und abgebrochen, sobald objektive klinische Symptome auftreten. Falls es im Rahmen der titrierten Gaben zu keiner oder einer nicht eindeutig objektiv zu bewertenden Reaktion bei dem Patienten kommt, sollte die kumulative Dosis als Einzeldosis verabreicht werden. Dies ist wichtig, da etwa 10% der Kinder mit einer Nahrungsmittelallergie erst auf diese einmalige Gabe der Gesamtdosis reagieren [102]. Mit Hilfe der titrierten Gaben kann nur bedingt ein individueller Schwellenwert bei den Patienten bestimmt werden. Es konnte gezeigt werden, dass die Dosis, auf die Patienten mit Erdnussallergie unter oraler Provokation reagieren, teilweise großen Schwankungen unterliegt [103]. Außerdem scheint die Reaktionsschwelle auch

durch sogenannte Augmentationsfaktoren wie vorliegende Infekte, körperliche Aktivität oder Stress beeinflussbar zu sein [104]. Aufgrund dessen wird allen Patienten mit positiver Provokation die strikte Meidung von Erdnuss in der Ernährung empfohlen. Die klinische Relevanz sollte in regelmäßigen Abständen, bei Erdnuss etwa alle drei bis fünf Jahre, durch eine erneute Provokation überprüft werden, um unnötig einschränkende Eliminationsdiäten ggf. vermeiden zu können.

### **1.4.3 Prädiktoren für eine klinisch relevante Erdnussallergie**

Eine orale Provokation ist einerseits der Goldstandard zum Nachweis einer klinischen Relevanz bei Verdacht auf eine Erdnussallergie, andererseits ist die Provokation mit Erdnuss zeitintensiv und birgt das Risiko für schwere anaphylaktische Reaktionen. Daher werden neue Ansätze verfolgt, mit dem Ziel Marker zu finden, um frühzeitig und ohne orale Provokation sensibilisierte Patienten mit klinischer Relevanz von solchen mit einer oralen Toleranz unterscheiden zu können [70, 71]. Es konnte gezeigt werden, dass der Grad der Sensibilisierung gegen Erdnuss, also ein hohes sIgE oder ein großer Quaddeldurchmesser, mit dem Vorliegen einer klinischen Relevanz assoziiert ist [105, 106]. Derzeit wird versucht mit Hilfe der molekularen Allergiediagnostik, also der Bestimmung von Einzelallergenen, eine bessere Vorhersage über die klinische Relevanz sowie die Reaktionsschwere treffen zu können. Dabei konnten bei Kindern mit Erdnussallergie vor allem die Samenspeicherproteine Ara h 2 und Ara h 6 mit dem Auftreten von systemischen Reaktionen assoziiert werden [70, 71, 98, 107]. Auf Basis von Provokationsdaten von über 200 Kindern mit einer Sensibilisierung gegen Erdnuss, konnte kürzlich gezeigt werden, dass sIgE-Level gegen Ara h 2  $>42,2$  kU/l mit einer 95%-Wahrscheinlichkeit mit einer klinisch relevanten Erdnussallergie assoziiert sind [71].

## **1.5 Aktuelles Management der Erdnussallergie**

Bislang gibt es noch keine kausale Therapiemöglichkeit für Patienten mit einer Erdnussallergie. Daher ist nach wie vor die wichtigste „therapeutische“ Maßnahme für alle Nahrungsmittelallergiker das strikte Meiden des allergieauslösenden Nahrungsmittels [108]. Hierfür ist eine ausführliche und individuelle Beratung durch eine allergologisch erfahrene Ernährungsfachkraft wichtig. Bei der Eliminationsdiät muss das Nahrungsmittel an sich und dessen Bestandteile, die in verarbeiteten Lebensmitteln enthalten sein können, gemieden werden. Studien bei Erdnuss- und Nussallergikern konnten zeigen, dass nach aktivem Tertiärmanagement mit professioneller wiederholter Ernährungsberatung der Familien das Risiko für zukünftige, akzidentelle Reaktionen deutlich verringert werden konnte [92, 109]. Erdnuss muss im Rahmen der EU-Lebensmittelinformationsverordnung als eines von insgesamt 14 Nahrungsmitteln, die Allergien oder Unverträglichkeiten auslösen können, verpflichtend auf der Verpackung von vorverpackter

Ware gekennzeichnet werden, sobald es als Zutat eingesetzt wurde [110]. Lose Ware, z.B. Produkte aus der Bäckerei oder das Essen im Restaurant, ist bei Erdnussallergikern ein häufiger Auslöser akzidenteller Reaktionen [111]. Seit Dezember 2014 gilt die verpflichtende Allergenkennzeichnung auch für lose Ware [110]. Einen großen Stolperstein bei der Durchführung einer strikten Eliminationsdiät für Erdnussallergiker stellt der Umgang mit sogenannten „Spurenhinweisen“ auf Verpackungen dar. Im Gegensatz zu allergenen Zutaten, gibt es für unbeabsichtigte Allergenkontaminationen, die z.B. im Laufe des Produktions- oder Verpackungsprozesses entstehen können, bisher keine gesetzliche Regelung. Jedoch können Hersteller im Falle einer allergischen Reaktion aufgrund einer Kontamination haftbar gemacht werden. Auf einer Vielzahl von Produkten, wie Keksen, Müsli oder Fertiggerichten, finden sich daher Warnhinweise in unterschiedlichen Formulierungen über möglicherweise enthaltene Kontaminationen mit Erdnuss [112, 113]. Diese freiwilligen Warnhinweise geben allerdings keinen sicheren Rückschluss, ob Erdnuss tatsächlich enthalten ist und falls ja in welcher Menge [114-116]. Patienten mit Erdnussallergie wird daher aus Sicherheitsgründen der Verzicht von Produkten mit sogenannter „Spurenkennzeichnung“ empfohlen, wodurch sie in ihrer Lebensmittelauswahl, insbesondere von verarbeiteten Lebensmitteln, stark eingeschränkt sind.

Trotz Ernährungsberatung und guter Vermeidungsstrategien, kommt es sehr häufig zu einem akzidentellen Verzehr von Erdnuss, der zu schweren Reaktionen führen kann [82, 91, 117]. Anaphylaktische Reaktionen treten dabei häufig auch an öffentlichen Orten, in der Schule oder im Kindergarten auf [83, 108]. Patienten werden daher mit entsprechenden Medikamenten zur Selbstmedikation ausgestattet [108]. Da Erdnussallergiker ein besonders hohes Risiko für systemische und anaphylaktische Reaktionen haben, sollten sie für den Notfall stets einen Adrenalin-Autoinjektor mit sich zu führen [104, 108] und des weiteren Antihistaminika, Glukokortikoide und ggf. ein inhalatives  $\beta_2$ -Sympathomimetikum.

Einen weiteren Baustein für ein erfolgreiches Management der Erdnussallergie stellt die Teilnahme betroffener Familien an einer Anaphylaxieschulung dar. Im Rahmen dieser Schulung werden Eltern und Kinder mit den richtigen Verhaltensweisen und dem selbstständigen Umgang mit den Notfallmedikamenten bei beginnender Anaphylaxie vertraut gemacht und Risikofaktoren alltäglicher und besonderer Ernährungssituationen gemeinsam identifiziert [118]. Evaluationen dieser und ähnlicher Konzepte in Großbritannien konnten zeigen, dass Patienten nach der Schulung ein verbessertes Verhalten in Notfallsituationen aufwiesen und auch das Risiko zukünftiger akzidenteller Reaktionen reduziert werden kann [92, 118].

Patienten und deren Familien sind durch das Einhalten der strengen Eliminationsdiät sehr stark in ihrem Alltag eingeschränkt. Die Angst vor einem akzidentellen Erdnussverzehr mit nachfolgenden

möglicherweise lebensbedrohlichen Reaktionen sowie das ständige Mitführen des Notfallsets werden als große Belastung empfunden [119-122]. Studien zeigen, dass Nahrungsmittelallergiker eine höhere Einschränkung in der generellen Lebensqualität aufzeigen im Vergleich zur gesunden Bevölkerung [123]. Verglichen mit Kindern mit anderen chronischen Erkrankungen wie Diabetes Mellitus oder rheumatischen Erkrankungen, zeigten Kinder mit einer Erdnussallergie und deren Eltern im sozialen Alltag eine deutlichere Einschränkung und einer schlechteren Lebensqualität [121, 124, 125]. Die Durchführung einer Nahrungsmittelprovokation, unabhängig von deren Ausgang, verbessert die Lebensqualität der Patienten [126, 127].

## **1.6 Zukünftige kausale Therapiemöglichkeiten**

Zurzeit gibt es keine kausale Therapieoption für Patienten mit Erdnussallergie. In den letzten Jahren wurde jedoch zunehmend an neuartigen therapeutischen Behandlungskonzepten für die Nahrungsmittelallergie geforscht. Dabei wurden zum einen allergenunspezifische Therapieoptionen bei Erdnussallergie wie die Behandlung mit humanen Anti-IgE-Antikörpern [128, 129] oder chinesischen Heilkräutern [130, 131] verfolgt. Es zeigten sich dabei erste spannende Ergebnisse, jedoch wurden diese bisher nur in vitro, in Mausmodellen oder in ersten Pilot- bzw. Phase I-Studien mit kleinem Patientenkollektiv untersucht. Zum anderen wurde zunehmend an allergenspezifischen Therapiemöglichkeiten geforscht, die meisten größeren klinischen Studien wurden hierbei zur spezifischen Immuntherapie (SIT) mit nativen Nahrungsmitteln durchgeführt.

### **1.6.1 Spezifische Immuntherapie**

Die SIT wird seit vielen Jahren erfolgreich in der Therapie allergischer Erkrankungen, wie Insektengiftallergie, allergischer Rhinokonjunktivitis oder Asthma bronchiale, ausgelöst durch Hausstaubmilben oder Pollenallergene, angewandt [132]. Hierbei wird das jeweilige Allergen meistens subkutan (subkutane Immuntherapie = SCIT) oder auch sublingual (sublinguale Immuntherapie = SLIT) verabreicht. Diese Form der SIT stellt bezüglich der oben genannten Erkrankungen aufgrund der guten Wirksamkeit und des sicheren Nebenwirkungsprofils in der klinischen Routine bereits ein etabliertes Behandlungskonzept dar [132].

### **1.6.2 Spezifische Immuntherapie bei Nahrungsmittelallergien**

Auch das Konzept der SIT bei Nahrungsmittelallergien ist bereits seit über 100 Jahren bekannt. 1908 berichtete Schofield erstmals über eine erfolgreiche orale Immuntherapie (OIT) bei einem Jungen mit Hühnereiallergie [133]. Einzelne erfolgreiche Fallberichte zur oralen Immuntherapie wurden im Verlauf bei verschiedenen Nahrungsmittelallergien und auch bei Erdnussallergie publiziert [134-138]. Im Rahmen von klinischen Studien wurde vor etwa 20 Jahren erstmals nach dem Vorbild der bereits etablierten SIT für Aeroallergene eine konventionelle, subkutane Immuntherapie mit

Erdnussextrakt als kausale Behandlungsmöglichkeit bei Erdnussallergie untersucht. In zwei kleinen doppelblind, Placebo-kontrollierten Studien konnte dabei eine gute Wirksamkeit bei Patienten mit Erdnussallergie gezeigt werden: die Patienten der Verumgruppe wiesen nach Therapie unter oraler Provokation mit Erdnuss weniger Symptome und eine erhöhte Reaktionsschwelle auf [139, 140]. Jedoch kam es unter Verum-SCIT wiederholt zu schweren systemischen und pulmonalen Nebenwirkungen auch während der Erhaltungsphase, die häufig eine Behandlung mit i.m. Adrenalin erforderten. Daher wurde von dieser Behandlungsmethode vorerst Abstand genommen. In den letzten Jahren wurden daraufhin vermehrt Studien zur SIT mit anderen alternativen Applikationsformen -oral, sublingual oder neuerdings auch epikutan- als kausale Therapiemöglichkeit bei Nahrungsmittelallergien durchgeführt, in der Hoffnung ein verbessertes Wirksamkeits- und Nebenwirkungsprofil zu erzielen (zusammengefasst in [141]). Im Fokus standen dabei Studien zur OIT bei Nahrungsmittelallergien im Kindesalter.

### **1.6.3 Prinzip der oralen Immuntherapie bei Nahrungsmittelallergien**

Das Prinzip der OIT bei Nahrungsmittelallergien besteht in der oralen Verabreichung kleiner Mengen des allergieauslösenden Nahrungsmittels, die langsam über einen definierten Zeitraum gesteigert werden. Das primäre Ziel der Immuntherapie ist es, eine Desensibilisierung gegenüber dem entsprechenden Nahrungsmittelallergen zu erreichen (Abbildung 1.3 A). Dies bedeutet, dass unter der laufenden Therapie eine bestimmte Allergendosis vertragen wird, die die Patienten vor allergischen Reaktionen nach versehentlichem Verzehr des Nahrungsmittelallergens schützen soll. Ein längerfristiges Ziel der Immuntherapie ist es, eine anhaltende, dauerhafte orale Toleranz zu induzieren, die auch nach Unterbrechung der Therapie und ohne eine regelmäßige Allergenaufnahme erhalten bleibt (Abbildung 1.3 B). Das Nahrungsmittel könnte dann ohne Einschränkung verzehrt werden. Bisher fehlt ein standardisiertes Vorgehen für die OIT bei Nahrungsmittelallergien. Jedoch wird in der Regel mit einer langsamen Steigerungsphase über mehrere Wochen bis Monate begonnen. Anfänglich erhalten die Patienten eine sehr geringe Allergendosis, die täglich verzehrt wird. Etwa alle zwei Wochen wird die OIT-Dosis bis zu einer bestimmten Zieldosis (= Erhaltungs-dosis) gesteigert (siehe Abbildung 1.3). Die meisten Studien führen mittlerweile ein OIT-Protokoll mit diesem „konventionellen“, langsamen Steigerungsschema durch. Wenige Studien haben alternativ ein schnelleres „rush“-Steigerungsschema untersucht, bei dem die Dosis in größeren Schritten innerhalb weniger Tage bis zu der Erhaltungs-dosis gesteigert wird [142, 143]. Anschließend wird eine Erhaltungsphase über einen festgelegten Zeitraum, meist mehrere Wochen, durchgeführt, bei der die erreichte Zieldosis täglich zu Hause verzehrt wird. Sowohl im Anschluss an die Erhaltungsphase bzw. nach OIT-Pause als auch vor Beginn der OIT wird in der Regel eine orale Provokation mit dem entsprechenden Nahrungsmittelallergen durchgeführt,

um die Wirksamkeit unter Therapie hinsichtlich einer Desensibilisierung bzw. Toleranzentwicklung zu messen [141].

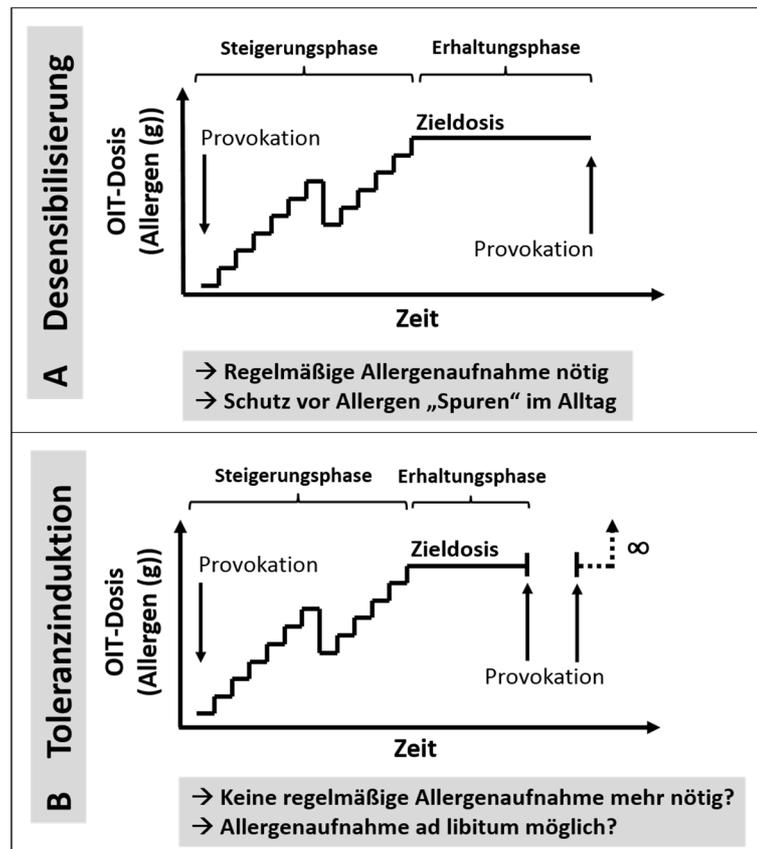


Abbildung 1.3: Prinzip der oralen Immuntherapie (OIT) bei Nahrungsmittelallergien. Im Laufe der Steigerungsphase wird die OIT-Dosis langsam gesteigert. In der anschließenden Erhaltungsdosis wird die erreichte Zioldosis über einen längeren Zeitraum täglich oral eingenommen. Um den Erfolg der OIT zu messen, wird vor und nach OIT eine orale Provokation durchgeführt. Eine Desensibilisierung (A) ist erreicht, wenn unter oraler Provokation bei laufender OIT, also regelmäßiger Allergenaufnahme, keine Reaktion auftritt. Eine anhaltende, „robuste“ Toleranz (B) ist erreicht, wenn die OIT im Anschluss an die Erhaltungsdosis für einen bestimmten Zeitraum gestoppt wird und dann unter erneuter Provokation keine Reaktion auftritt (eigene Darstellung publiziert in [141]).

#### 1.6.4 Klinische Studien zur oralen Immuntherapie bei Nahrungsmittelallergien

Auch wenn das prinzipielle Vorgehen in bisher publizierten OIT-Studien gleich ist, so gibt es bisher keine einheitlichen Protokolle. Die Studien unterschieden sich in hohem Maße z. B. in Bezug auf die gewählten Zeitintervalle der Steigerungs- und Erhaltungsdosis, die verabreichte OIT-Start- bzw. Erhaltungsdosis sowie die angewandten Steigerungsschemata. Standards diesbezüglich fehlen, was einen Vergleich bisher publizierter Daten erschwert. Die Wirksamkeit der OIT wurde daher in bisher publizierten Studien auch anhand unterschiedlicher primärer Endpunkte erfasst (siehe Tabelle 1.1). Am häufigsten wurde dabei entweder die Anzahl an Patienten, die die OIT-Erhaltungsdosis ohne Nebenwirkungen vertragen konnten, oder die Entwicklung einer Desensibilisierung gewählt, also die Anzahl an Patienten, die unter der Nahrungsmittelprovokation nach OIT keine Reaktionen mehr zeigten (zusammengefasst in [144]).

Tabelle 1.1: Verschiedene Parameter zur Erfassung der klinischen Wirksamkeit der oralen Immuntherapie (OIT) bei Nahrungsmittelallergien.

<b>Messung der klinischen Wirksamkeit der OIT</b>	
Erhaltungsdosis	→ Anzahl an Patienten, die die festgelegte Zieldosis im Rahmen der OIT erreichen
Reaktionsdosis unter Provokation	→ Steigerung der Reaktionsdosis bzw. der maximal tolerierten Dosis unter oraler Provokation nach OIT
Desensibilisierung	→ Anzahl an Patienten, die keine Reaktion unter oraler Provokation nach OIT aufweisen
„Toleranzinduktion“	→ Anzahl an Patienten, die keine Reaktion bei oraler Provokation nach Unterbrechung der OIT aufweisen

### **Orale Immuntherapie bei Kuhmilch und Hühnereiallergie**

Die meisten klinischen Studien zur OIT bei Nahrungsmittelallergien wurden bisher bei Patienten mit Kuhmilch- oder Hühnereiallergie durchgeführt. Insgesamt wurden zur Hühnereiallergie bereits sieben kontrollierte [145-151] und zur Kuhmilchallergie fünf kontrollierte OIT-Studien veröffentlicht [152-156], je zwei darunter waren Placebo-kontrolliert, die anderen beinhalteten eine Kontrollgruppe unter reiner Eliminationsdiät. Eine weitere kontrollierte Studie unserer Arbeitsgruppe untersuchte die OIT bei Kindern mit Kuhmilch- oder Hühnereiallergie [157].

Die erste doppelblind, Placebo-kontrollierte Studie zur OIT bei Nahrungsmittelallergien wurde bei Kindern mit Kuhmilchallergie durchgeführt [156]. In diese Studie wurden 20 Kinder mit einer durch orale Provokation nachgewiesenen Kuhmilchallergie zwischen 6-17 Jahren eingeschlossen, 13 Kinder wurden der Verum- und 7 Kinder der Placebogruppe zugeordnet. Das OIT-Protokoll sah einen initialen Steigerungstag, an dem die Patienten auf etwa 1 ml Kuhmilch oder Placebo gesteigert wurden, und eine langsame Steigerungsphase über zwei Monate bis zu einer maximalen Dosis von 15 ml Kuhmilch bzw. Placebo vor. Diese Zieldosis sollte dann über drei bis vier Monate in der Erhaltungsphase täglich zu Hause verzehrt werden. Nahezu alle Patienten der Verumgruppe (92%) erreichten die OIT-Erhaltungsdosis. Sowohl vor als auch nach OIT wurde eine DBPCFC mit Kuhmilch durchgeführt. Vor Therapiebeginn vertrugen Patienten beider Gruppen im Median 1 ml Kuhmilch unter Provokation. Patienten der Verumgruppe konnten die maximal tolerierte Dosis unter Provokation im Median auf 150 ml Kuhmilch nach OIT steigern, wohingegen die maximal tolerierte Dosis bei Patienten der Placebogruppe konstant blieb. Unter Verum-OIT kam es signifikant häufiger zu Nebenwirkungen als unter Placebo-OIT (45% der Verum-Gaben vs. 11% der Placebo-Gaben). Der Großteil der Nebenwirkungen unter Verum-OIT waren milde lokale Hautreaktionen wie Juckreiz oder gastrointestinale Symptome wie Bauchschmerzen. Bei 1% aller Verum-Gaben kam es zu schwereren, multisystemischen Reaktionen. Ein Patient der Verumgruppe

beendete die Studie aufgrund einer starken Verschlechterung der atopischen Dermatitis im Laufe der Steigerungsphase.

In einer Placebo-kontrollierte OIT-Studie mit Hühnerei wurden 55 Kinder zwischen 5-11 Jahren, die eine Sensibilisierung gegen Hühnerei und eine allergische Reaktion auf Hühnerei in der Vorgeschichte hatten, eingeschlossen [150]. 40 Kinder erhielten die Verum-OIT und 15 Kinder Placebo. Im Laufe einer langsamen Steigerungsphase wurden die Kinder auf eine Zieldosis von 2 g Hühnereipulver ( $\sim\frac{1}{4}$  Hühnerei) bzw. Placebo gesteigert, die erreichte Erhaltungsdosis wurde für zwei Monate täglich zu Hause verzehrt. Nach 10 und 22 Monaten unter OIT erfolgte jeweils eine DBPCFC mit 5 bzw. 10 g Hühnereipulver ( $\sim\frac{3}{4}$  -  $1\frac{1}{4}$  Hühnerei). 55% bzw. 75% der Kinder der Verumgruppe zeigten keine Reaktion unter Provokation nach 10 bzw. 22 Monaten. Dagegen reagierten alle Patienten der Placebogruppe unter der DBPCFC nach 10 Monaten. Nach 22 Monaten reagierte ein Kind der Placebogruppe unter der DBPCFC, die restlichen Kinder der Placebogruppe wurden jedoch nicht provoziert. Unter den ersten 10 Monaten OIT, kam es bei 25% der Verum-Gaben und nur 3,9% der Placebo-Gaben zu Nebenwirkungen. Am häufigsten waren dabei orale und pharyngale Symptome. Fünf Patienten der Verumgruppe schieden aufgrund von Nebenwirkungen vorzeitig aus der Studie aus (12,5%).

Zusammenfassend zeigen die bisherigen OIT-Studien bei Kindern mit Kuhmilch- oder Hühnereiallergie, sowie drei hierzu publizierte Metaanalysen eine gute Wirksamkeit hinsichtlich einer Desensibilisierung sowie ein akzeptables Sicherheitsprofil mit vorrangig lokalen Nebenwirkungen unter OIT mit Kuhmilch oder Hühnerei [158-160]. In Bezug auf eine mögliche orale Toleranzinduktion unter OIT deuten die Daten bisher auf keine klare Überlegenheit im Vergleich zu einer natürlichen Toleranzentwicklung bei Kuhmilch- oder Hühnereiallergie hin (zusammengefasst in [141]). Hierfür müssen noch weitere Langzeitstudien abgewartet werden.

### **Orale Immuntherapie bei Erdnussallergie**

Aufgrund der vielversprechenden Ergebnisse zur Kuhmilch- und Hühnerei-OIT als mögliche Therapieoption für eine Desensibilisierung wurden auch erste Studien zur OIT bei Erdnussallergie durchgeführt. Gerade für Kinder mit Erdnussallergie wäre bereits eine Desensibilisierung, also ein möglicher Schutz vor kleinen Allergenmengen nach akzidentellem Verzehr im Alltag, aufgrund des hohen Anaphylaxierisikos und der schlechten Chancen einer natürlichen Toleranzentwicklung von besonderer Relevanz und würde die Lebensqualität der Patienten möglicherweise stark verbessern.

Zu Beginn der vorliegenden Studie waren nur einzelne Fallberichte [136-138] sowie zwei erste, nicht-kontrollierte Studien [143, 161] zur Erdnuss-OIT publiziert, die erste Erfolge hinsichtlich einer Desensibilisierung zeigten. Eine amerikanische Arbeitsgruppe untersuchte ein größeres Patientenkollektiv im Rahmen einer nicht kontrollierten OIT-Studie mit erdnussallergischen Kindern

[161]. Insgesamt wurden 39 Kinder (Alter: Median 5 Jahre) mit einer Sensibilisierung gegen Erdnuss eingeschlossen. Die OIT begann mit einem initialen schnellen Steigerungstag, an dem die Patienten schrittweise alle 30 Minuten steigende Mengen an Erdnuss erhielten (0,1 - 50 mg Erdnussprotein). Die dabei individuell maximal tolerierte Dosis wurde dann von den Patienten täglich zu Hause verzehrt. Alle zwei Wochen wurde die Dosis im Rahmen der Steigerungsphase bis zu einer maximalen Zieldosis von 300 mg Erdnussprotein (= 12000 mg Erdnuss; ~2 Erdnüsse) gesteigert. Im Rahmen der viermonatigen Erhaltungsphase wurde die erreichte maximale Dosis täglich zu Hause verzehrt. Im Anschluss erfolgte eine orale Provokation mit Erdnuss. 74% der Patienten konnten die 300 mg Erdnussprotein im Laufe der Steigerungsphase erreichen. Unter der oralen Provokation reagierten die Patienten im Median bei 1800 mg Erdnussprotein (=7200 mg Erdnuss; ~14 Erdnüsse). Die Reaktionsdosis am initialen OIT-Steigerungstag lag dagegen im Median bei nur 6 mg Erdnussprotein. Unter OIT kam es zu Symptomen von unterschiedlichem Schweregrad wie Urtikaria, Erbrechen oder pfeifender Atmung [162]. Die meisten Nebenwirkungen im Laufe der OIT traten während des initialen Steigerungstages auf. Das Risiko für Symptome der unteren Atemwege lag im Rahmen der OIT-Dosissteigerungen während der langsamen Steigerungsphase bei 29%. Die Autoren berichteten von einer geringen Anzahl an Nebenwirkungen pro OIT-Gabe zu Hause (3,7%), jedoch musste in zwei Fällen i.m. Adrenalin aufgrund einer schweren Nebenwirkung zu Hause verabreicht werden. 10 Patienten (26%) beendeten die Studie vorzeitig, sechs (16%) aus persönlichen Gründen und vier (10%) aufgrund rezidivierender allergischer Symptome unter OIT. Ein großer Nachteil dieser Studie besteht darin, dass vor OIT keine orale Provokation mit Erdnuss durchgeführt wurde und somit zum einen möglicherweise auch Kinder ohne eine klinisch relevante Erdnussallergie eingeschlossen wurden und zum anderen kein direkter Vergleich der Reaktionsschwelle auf Erdnuss unter Provokation vor und nach OIT vorgenommen werden konnte.

Die zweite nicht-kontrollierte Studie wurde in unserer Arbeitsgruppe durchgeführt und untersuchte erstmals eine mögliche orale Toleranzinduktion durch Erdnuss-OIT [143]. 23 Patienten zwischen 3-14 Jahren mit Erdnussallergie wurden eingeschlossen. Vor Beginn der OIT wurde zum Nachweis der klinischen Relevanz und zur Bestimmung der Reaktionsschwelle eine DBPCFC mit Erdnuss durchgeführt. Die OIT startete mit einer schnellen „rush“-Steigerungsphase über sieben Tage bis zu einer Zieldosis von 500 mg Erdnuss (= 125 mg Erdnussprotein; ~1 Erdnuss). Kinder, die diese Zieldosis nicht erreichten, durchliefen nachfolgend eine langsame Steigerungsphase mit Dosissteigerungen alle 14 Tage, bis die Zieldosis erreicht wurde. Im Anschluss wurde die Erhaltungsdosis für 8 Wochen täglich zu Hause verzehrt. Nach der „rush“-Steigerungsphase vertrugen die Kinder im Median nur 150 mg Erdnuss, 22/23 Kinder durchliefen daher im Anschluss die langsame OIT-Steigerungsphase. Nach sieben Monaten unter OIT konnten 61% der Kinder mindestens 500 mg Erdnuss pro Tag als Erhaltungsdosis ohne allergische Symptome zu sich

nehmen. Diese Kinder unterbrachen die OIT und wurden nach 14 Tagen erneut provoziert. Bei diesen Kindern konnte die Reaktionsschwelle unter Provokation nach OIT-Pause (Median 1000 mg Erdnuss) deutlich angehoben werden im Vergleich zur Reaktionsschwelle unter Provokation vor Therapie (Median 190 mg Erdnuss). Drei Patienten (13%) vertrugen unter Provokation nach OIT-Pause die verabreichte maximale Menge von 4000 mg Erdnuss (~8 Erdnüsse). Insgesamt waren 2,6% der OIT-Gaben mit Nebenwirkungen assoziiert, 1,3% der Gaben mit schwereren Symptomen der unteren Atemwege. Vier Patienten (17%) brachen die OIT aufgrund von Nebenwirkungen vorzeitig ab.

Daten dieser Studien weisen somit auf erste Erfolge hinsichtlich einer Desensibilisierung gegen Erdnuss bei einem Großteil der Patienten unter OIT hin. Selten traten jedoch auch schwere Nebenwirkungen mit Beteiligung der unteren Atemwege auf und etwa 10% der Patienten brachen die OIT aufgrund von Nebenwirkungen vorzeitig ab. Insgesamt fehlte in diesen Studien eine Kontrollgruppe, um das Wirksamkeits- und Sicherheitsprofil der OIT im Vergleich zu Patienten ohne Therapie bewerten zu können. Bislang gibt es kaum Daten zur Lebensqualität und keine Daten zu Therapiebelastung unter OIT bei Nahrungsmittelallergien. Im Verlauf der Durchführung der hier vorgestellten Studie wurden drei weitere Studien zur Erdnuss-OIT publiziert [163-165], eine davon ebenfalls doppelblind, Placebo-kontrolliert. Diese werden im Diskussionsteil dieser Arbeit näher erläutert und mit der vorliegenden Studie verglichen (Kapitel 4).

### **Mögliche immunmodulatorische Wirksamkeit der Immuntherapie**

Daten zu möglichen immunmodulatorischen Mechanismen der SIT stammen hauptsächlich aus Studien zur konventionellen SCIT mit Insektengift oder Inhalationsallergenen [166]. Dabei kommt es auf B-Zell-Ebene zu einem frühzeitigen transienten Anstieg, gefolgt von einem langfristigen Abfall allergenspezifischer IgE- und einem kontinuierlichen Anstieg allergenspezifischer IgG<sub>4</sub>-Antikörper, was auf einen Immunglobulin-Klassenwechsel schließen lässt. Auf Effektor-Zell-Ebene konnte unter SCIT sehr frühzeitig eine verringerte Reaktivität von Mastzellen und basophilen Granulozyten beobachtet werden (= „frühzeitige Desensibilisierung“) [166, 167]. Außerdem konnten Veränderungen der allergenspezifischen T-Zell-Antwort gezeigt werden. Bei Patienten unter SCIT zeigte sich eine verminderte Th-2 Polarisierung und ein Shift in Richtung einer Th1-Antwort, mit erhöhter IFN- $\gamma$  Produktion. Auch die Ausbildung einer allergenspezifischen T-Zell-Anergie bzw. -Deletion im Rahmen einer erfolgreichen SCIT wird diskutiert. Viele Daten weisen außerdem auf eine mögliche Induktion von Treg-Zellen hin, mit erhöhter allergenspezifischer Produktion von IL-10 und TGF- $\beta$  [168]. Im Rahmen einer SCIT mit Wespengift wiesen Patienten mit einer klinischen Toleranzentwicklung unter Therapie einen hohen Anteil IL-10 produzierender Zellen und nur einen niedrigen Anteil IL-4 produzierender Zellen auf [23, 169].

Ob entsprechende immunologische Mechanismen auch der Immuntherapie bei Erdnuss- oder anderen Nahrungsmittelallergien zu Grunde liegen, ist noch weitestgehend unbekannt. Nur wenige der vor Beginn der vorliegenden Arbeit publizierten Studien untersuchten immunologische Veränderungen unter OIT. Erste Hinweise auf eine Immunmodulation lieferten vor allem die beiden bereits erwähnten nicht kontrollierten Studien zur Erdnuss-OIT [143, 161]. In der „rush“-Immuntherapiestudie mit Erdnuss aus unserer Arbeitsgruppe zeigte sich auf T-Zell-Ebene unter OIT eine Reduktion von Th-2-spezifischen Zytokinen [143]. Bei 14 erdnussallergischen Kindern, die die OIT vollständig durchlaufen hatten, konnte unter OIT eine signifikante Reduktion der Produktion Th2-spezifischer Zytokine (IL-4 und IL-5) sowie des Zytokins IL-2 nach Erdnuss-Stimulation von PBMCs beobachtet werden. Bezüglich anderer Zytokin-Level (IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  und IL-10) zeigte sich unter OIT keine Veränderung, sie waren weder vor noch nach OIT in relevanten Mengen nachweisbar. Im Gegensatz dazu zeigte Jones et al. anhand eines kleinen Patientenkollektivs, dass es unter Erdnuss-OIT zu einer erhöhten erdnusspezifischen Produktion von IL-5 und TNF- $\alpha$  kam sowie zu einer vermehrten Ausbildung von Treg-Zellen [161]. Auf B-Zell-Ebene konnte, ähnlich wie in Studien zur SCIT mit Inhalationsallergenen, in beiden Erdnuss-OIT Studien sowie auch in OIT-Studien bei Kuhmilch- und Hühnereiallergie ein Anstieg der sIgG<sub>4</sub>-Level unter OIT beobachtet werden [143, 150, 156, 161]. Bezüglich des sIgE-Levels zeigten einige Studien keine Veränderungen unter OIT [143, 156], wohingegen andere OIT-Studien unter langfristiger Therapie eine Reduktion des sIgEs beobachteten [150, 161]. Beide Studien zur Erdnuss-OIT zeigten eine Reduktion des allergenspezifischen Quaddeldurchmessers im Hautpricktest unter Therapie [143, 161]. Erste Hinweise gibt es außerdem, dass es auf Effektor-Zell-Ebene zu einer allergenspezifischen Reduktion der Aktivierung basophiler Granulozyten unter OIT kommt [161].

## 1.7 Zielstellung

Für eine Bewertung des Nutzen-Risiko-Profiles der OIT bei Erdnussallergie fehlen bisher noch ausreichende Daten, vor allem aus Placebo-kontrollierten Studien. Primäres Ziel der vorliegenden Arbeit war es daher, die klinische Wirksamkeit dieser Therapieoption im Rahmen einer multizentrischen randomisierten, doppelblind, Placebo-kontrollierten Studie bei Kindern mit Erdnussallergie genauer zu untersuchen. Als weitere Endpunkte, wurden das Sicherheitsprofil, mögliche immunologische Veränderungen sowie die Lebensqualität und Therapiebelastung der Patienten unter OIT analysiert. Folgende Fragestellungen wurden in dieser Arbeit untersucht:

### 1.7.1 Primärer Endpunkt

**Klinische Wirksamkeit:** Entwicklung einer „partiellen Desensibilisierung“ gegenüber Erdnuss (= Verträglichkeit von  $\geq 1200$  mg Erdnuss unter oraler Provokation) nach Verum-OIT im Vergleich zu Placebo.

### 1.7.2 Sekundäre Endpunkte

#### Klinische Wirksamkeit

- (a) Entwicklung einer „vollständigen Desensibilisierung“ gegenüber Erdnuss (= Verträglichkeit von 18 g Erdnuss unter oraler Provokation) nach Verum-OIT im Vergleich zu Placebo.
- (b) Entwicklung einer erhöhten Reaktionsschwelle gegenüber Erdnuss (= Veränderung der maximal tolerierten Erdnussdosis unter oraler Provokation) nach Verum-OIT im Vergleich zu Placebo.
- (c) Veränderung des Schweregrads der Reaktion unter oraler Provokation nach Verum-OIT im Vergleich zu Placebo.
- (d) Verlauf der OIT-Dosissteigerung unter Verum-OIT im Vergleich zu Placebo.

#### Sicherheit

- (a) Nebenwirkungsprofil (Studienabbruch wegen Nebenwirkungen, Häufigkeit und Schweregrad von Nebenwirkungen; Dosisreduktionen aufgrund von Nebenwirkungen; Schwerwiegende unerwünschte Ereignisse; Allergische Reaktionen nach akzidentellem Erdnussverzehr) unter Verum-OIT im Vergleich zu Placebo.
- (b) Sicherheit und Verträglichkeit (Verlauf parallel bestehender atopischer Erkrankungen; Laborchemische Sicherheitsparameter) unter Verum-OIT im Vergleich zu Placebo.

#### Immunologische Veränderungen

- (a) Veränderungen auf B-Zell-Ebene (Immunglobulin-Level im Serum: gesamt IgE-, spezifisches IgE gegen Erdnuss und Ara h 2, spezifisches IgG<sub>4</sub> gegen Erdnuss) nach Verum-OIT im Vergleich zu Placebo
- (b) Veränderungen auf Effektor-Zell-Ebene (Mastzell- und Basophilenaktivierung) nach Verum-OIT im Vergleich zu Placebo
- (c) Veränderungen auf T-Zell-Ebene (T-Zell-Zytokinprofil) nach Verum-OIT im Vergleich zu Placebo

#### Lebensqualität und Therapiebelastung

- (a) Veränderung der Lebensqualität bei Patienten mit Erdnussallergie unter Verum-OIT im Vergleich zu Placebo
- (b) Therapiebelastung unter Verum-OIT im Vergleich zu Placebo.

## 2 Methoden

### 2.1 Patientenkollektiv

#### 2.1.1 Rekrutierung

Für die Studie wurden Kinder mit Verdacht auf Erdnussallergie zwischen Dezember 2008 bis Dezember 2010 rekrutiert. Die Rekrutierung erfolgte an der Klinik für Pädiatrie mit Schwerpunkt Pneumologie und Immunologie der Charité Universitätsmedizin Berlin sowie an sechs weiteren Kliniken in Deutschland (Altonaer Kinderkrankenhaus, Hamburg; Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin, Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München; St. Josef-Hospital, Klinik für Kinder- und Jugendmedizin der Ruhr-Universität Bochum; Klinik für pädiatrische Pneumologie, Allergologie und Neonatologie der Medizinischen Hochschule Hannover; Zentrum für Kinder und Jugendmedizin, Albert-Ludwigs-Universität Freiburg; Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin, Universitätsklinikum Carl Gustav Carus der Technischen Universität Dresden). Die Patienten wurden im Rahmen der ambulanten Sprechstunde sowie anhand vorliegender Daten zu erdnussensibilisierten Patienten aus einer vorhandenen Patientendatenbank der teilnehmenden Studienzentren rekrutiert. Eltern und Kinder erhielten neben der mündlichen Aufklärung über die Studie, detaillierte schriftliche Informationen über den Ablauf, Risiken und Ziel der Studie sowie alle durchzuführenden Untersuchungen.

#### 2.1.2 Ein- und Ausschlusskriterien

Für die Studienteilnahme galten folgende Ein- und Ausschlusskriterien:

##### Einschlusskriterien

- Alter zwischen 3-18 Jahren
- Erdnussensibilisierung (erdnusspezifisches IgE >0,35 kU<sub>A</sub>/l)
- durch orale Provokation gesicherte Erdnussallergie
- schriftliche Einverständniserklärung beider Elternteile zur Studienteilnahme
- Fähigkeit der Eltern die Intervention der Studie sprachlich und mental zu verstehen

##### Ausschlusskriterien

- Behandlung mit einer anderen Form der Immuntherapie (z.B. subkutane Immuntherapie bei Heuschnupfen) während des Studienzeitraums
- Teilnahme an einer anderen Interventionsstudie
- Nach Einschätzung des Studienarztes aufgrund der Schwere einer Erkrankung (z.B. instabiles Asthma trotz adäquater Therapie) nicht für die Studie geeignet

Die Studie wurde von der lokalen Ethikkommission der Charité Universitätsmedizin Berlin bewilligt (Antragsnummer EA2/075/08), entsprechende Ethikvoten der lokalen Ethikkommissionen aller teilnehmenden Zentren lagen vor. Von den Sorgeberechtigten aller teilnehmenden Patienten lag eine schriftliche Einverständniserklärung vor. Die Studie wurde beim Deutschen Register Klinischer Studien registriert (DRKS-ID: DRKS00004553).

## 2.2 Studiendesign

Bei der Studie handelte es sich um eine multizentrische, randomisierte, doppelblinde Placebo-kontrollierte Studie, in der die Teilnehmer im Verhältnis 1:1 entweder der Verum- oder Placebogruppe zugeordnet und als Parallelgruppen prospektiv beobachtet wurden. Das Studiendesign ist in Abbildung 2.1 zusammengefasst und wird in den folgenden Abschnitten detailliert beschrieben. Alle durchgeführten klinischen und in vitro Untersuchungen werden in Kapitel 2.3 und 2.4 erläutert.

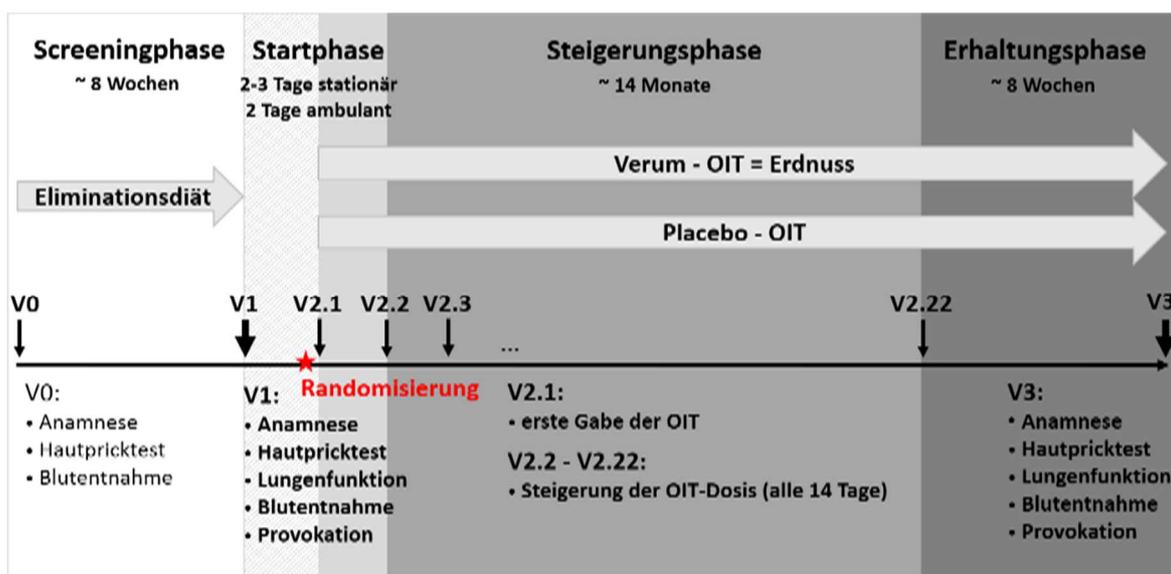


Abbildung 2.1: Schematischer Ablauf der prospektiven, randomisierten, doppelblinden, Placebo-kontrollierten Studie zur oralen Immuntherapie (OIT). Die Studie wurde in einem Parallelstudiendesign durchgeführt. V= Visite ambulant oder stationär.

### 2.2.1 Screeningvisite (V0)

Die Screeningvisite (V0) erfolgte als ambulante Visite in der allergologischen Ambulanz der Klinik für Pädiatrie mit Schwerpunkt Pneumologie und Immunologie der Charité Universitätsmedizin Berlin. Im Rahmen von V0 wurde zunächst eine ausführliche Anamnese und körperliche Untersuchung durch die Studienärztin durchgeführt (Kapitel 2.3.1). Bei dem Vorliegen oder dem Verdacht auf eine atopische Dermatitis wurde dessen Schweregrad mit Hilfe des SCORAD-Indexes erfasst (Kapitel 2.3.4). Zu allergiediagnostischen Zwecken und Abklärung der Einschlusskriterien

(Sensibilisierung gegen Erdnuss), wurden ein Hautpricktest und eine Blutentnahme zur Bestimmung des erdnusspezifischen IgEs durchgeführt (Kapitel 2.3.5 und 2.4.4). Soweit noch nicht vorhanden, wurde allen Patienten ein Notfallset verordnet, welches zwei Adrenalin-Autoinjektoren, orale Antihistaminika, ein oral oder rektal zu verabreichendes Kortikosteroid sowie ein inhalatives  $\beta_2$ -Sympathomimetikummetika enthielt. Das Notfallset sollte von den Patienten stets mit sich geführt werden. Die Familien erhielten ein ausführliches Notfalltraining durch die Studienärztin sowie einen schriftlichen Notfallplan. Falls bisher noch keine Ernährungsberatung erfolgt war, wurden die Familien hinsichtlich einer strikten erdnussfreien Diät, einschließlich der Meidung von Produkten mit sogenannten „Spurenhinweisen“, durch eine allergologisch erfahrene Ernährungsfachkraft beraten.

In den folgenden Wochen bis zur Eingangsvisite sollten alle Patienten ihre strikte Eliminationsdiät beibehalten. Die Eltern erhielten für diesen Zeitraum ein Tagebuch, indem sie potentiell auftretende allergische Reaktionen nach unbeabsichtigtem Erdnussverzehr oder mögliche Symptomverschlechterungen bestehender allergischer Erkrankungen (atopische Dermatitis, Asthma, allergische Rhinokonjunktivitis) dokumentieren sollten. Die Kinder sollten in diesem Zeitraum täglich mit Hilfe eines Peak-Flow-Meters die Lungenfunktion protokollieren (Kapitel 2.3.2).

### **2.2.2 Eingangsvisite (V1)**

Nach der etwa achtwöchigen Screeningphase erfolgte die Eingangsvisite (V1), bei der eine orale Provokation mit Erdnuss zum Nachweis der klinischen Relevanz der Erdnussallergie erfolgte. Hierfür wurden die Patienten stationär in der Klinik für Pädiatrie mit Schwerpunkt Pneumologie und Immunologie der Charité Universitätsmedizin Berlin aufgenommen. Es wurde erneut eine Anamnese und körperliche Untersuchung, die Erhebung des SCORADs sowie ein Hautpricktest durchgeführt. Kinder erhielten eine Spirometrie zur Bewertung der Lungenfunktion, soweit sie altersgemäß fähig waren das Manöver durchzuführen. Das Vorliegen möglicher Infekte wurde vom Arzt vor der Provokation ausgeschlossen. Vor Beginn der Provokation wurde ein intravenöser Zugang gelegt, um im Falle schwerer allergischer Reaktionen Notfallmedikamente verabreichen zu können. Dabei erfolgte auch eine Blutentnahme für die immunologischen Untersuchungen (Kapitel 2.4). Die orale Provokation mit Erdnuss erfolgte wie in Kapitel 2.3.6 beschrieben. Je nach Zeitpunkt der Reaktion und dem Einsatz von Notfallmedikamenten wurden die Kinder nach einem stationären Aufenthalt von zwei bis drei Tagen entlassen.

### **2.2.3 Randomisierung**

Nach gesicherter Diagnose der Erdnussallergie durch orale Provokation wurden die Kinder in einem Randomisierungsverhältnis von 1:1 via Blockrandomisierung mit einer Blockgröße von 4 zufällig den

Behandlungsgruppen Verum oder Placebo zugeordnet (Dat Inf, Rand List, Version 1.2). Die Stratifizierung erfolgte hinsichtlich des Alters der Patienten ( $\leq 6$  Jahre oder  $>6$  Jahre) und des erdnusspezifischen IgE ( $\leq 50$  kU<sub>A</sub>/l oder  $>50$  kU<sub>A</sub>/l). Die jeweilige Gruppenzugehörigkeit wurde für jeden Patient in einem verschlossenen Umschlag bis zum Studienende bzw. -abbruch aufbewahrt. Sowohl die Patienten und deren Eltern als auch die Studienärztin waren hinsichtlich der Gruppeneinteilung bis zum Studienabschluss verblindet.

## **2.2.4 Steigerungsvisiten (V2.1- V2.x)**

### **Verumgruppe**

Am Tag nach Abschluss der oralen Provokation erhielten alle Kinder der Verumgruppe die erste Gabe der OIT in der Allergieambulanz der Klinik für Pädiatrie mit Schwerpunkt Pneumologie und Immunologie der Charité Berlin. Die Höhe der OIT-Startdosis wurde anhand der jeweiligen Reaktionsdosis unter oraler Provokation festgelegt (Tabelle 2.1). Die OIT wurde in Form eines Schokoladenpuddings verabreicht, der entweder Erdnuss bzw. Placebo enthielt (siehe Kapitel 2.5). Nach Verzehr der ersten OIT-Dosis wurden die Patienten für zwei Stunden beobachtet. Wurde die OIT-Dosis gut vertragen, erhielten die Patienten am Folgetag aus Sicherheitsgründen erneut unter ärztlicher Beobachtung in der Ambulanz dieselbe Dosis. Traten auch am zweiten Tag keine Symptome auf, sollte diese Dosis über 14 Tage täglich zu Hause verzehrt werden, bevor die erste Dosissteigerung erfolgte (= Steigerungsphase). Die Eltern wurden angewiesen ihr Kind nach jeder täglichen OIT-Gabe zu Hause für je zwei Stunden zu beobachten, für den Fall auftretender Nebenwirkungen. In diesem Zeitraum sollten die Kinder keine intensive körperliche Aktivität durchführen, da dies einen aus der Literatur bekannten Augmentationsfaktor für allergische Reaktionen darstellt [157]. Alle zwei Wochen wurde die OIT-Dosis nach einem festgelegten Schema langsam gesteigert (Tabelle 2.2). Alle Dosissteigerungen erfolgten in der Allergieambulanz der Charité Berlin oder in der Ambulanz eines der sechs anderen Studienzentren. Dort wurden die Patienten nach Verzehr der entsprechend höheren OIT-Dosis für zwei Stunden ärztlich überwacht. Die Steigerungsphase sollte maximal 14 Monate (= 56 Wochen) umfassen. In diesem Zeitraum konnten somit theoretisch 28 Steigerungsschritte, Visite 2.1 bis Visite 2.28, erfolgen. Auch die angestrebte Zieldosis die im Laufe der Steigerungsphase erreicht werden sollte, war abhängig von der Reaktionsdosis unter oraler Provokation zum Zeitpunkt V1 (Tabelle 2.1). Die angestrebte Zieldosis der Patienten, die bereits auf die 1.-4. Titrationsstufe (12 - 400 mg Erdnuss) unter Provokation reagierten, lag bei 500 mg Erdnuss (= 125 mg Erdnussprotein bzw. ein kleiner Erdnusskern). Patienten die erst auf die 5.-7. Titrationsstufe bzw. die kumulative Dosis (1200 – 18000 mg Erdnuss) unter Provokation reagierten, sollten bis zu einer Zieldosis von 1000 mg Erdnuss gesteigert werden (= 250 mg Erdnussprotein bzw. zwei kleine Erdnusskerne). Nach der

Steigerungsphase verzehrten die Kinder zu Hause die individuell erreichte maximale OIT-Dosis täglich für weitere acht Wochen (+/- zwei Wochen) (= Erhaltungsphase). Beim Auftreten von Nebenwirkungen unter OIT oder Krankheit wurde entsprechend standardisierter Vorgehensweisen von dem regulären Dosissteigerungsschema abweichend vorgegangen (siehe Kapitel 2.6.2).

Tabelle 2.1: Schema für Start- und Zieldosis der oralen Immuntherapie (OIT) abhängig von der Reaktionsdosis unter oraler Provokation zum Zeitpunkt der Eingangsvisite. 500 mg Erdnuss entsprechen in etwa einem kleinen Erdnusskern.

Reaktionsdosis unter oraler Provokation mit Erdnuss bei V1	Startdosis der OIT (Erdnuss bzw. Placebo)	Zieldosis der OIT (Erdnuss bzw. Placebo)
12 mg	2 mg	500 mg
40 mg	4 mg	500 mg
120 mg	12 mg	500 mg
400 mg	40 mg	500 mg
1200 mg	120 mg	1000 mg
4000 mg	120 mg*	1000 mg
12000 mg	120 mg*	1000 mg
18000 mg	120 mg*	1000 mg

\*= die ersten fünf Patienten, die in die Studie eingeschlossen wurden, starteten die OIT mit einer Dosis von 200 mg Erdnuss bzw. Placebo bei einer Reaktionsdosis  $\geq 4000$  mg unter Provokation. Aufgrund von auftretenden Nebenwirkungen bei zwei Patienten unter dieser Startdosis wurde jedoch aus Sicherheitsgründen für alle folgenden Patienten das Schema auf eine OIT-Startdosis von maximal 120 mg Erdnuss bzw. Placebo festgelegt. V1 = Eingangsvisite.

### Placebogruppe

Entsprechend zu Kindern der Verumgruppe, erhielten Kinder der Placebogruppe am Tag nach Abschluss der oralen Provokation ihre erste Gabe der Placebo-OIT unter ärztlicher Aufsicht. Die Höhe der Start- und Zieldosis der OIT, hier die Menge des zu verzehrenden erdnussfreien Schokoladenpuddings, wurde wie in der Verumgruppe basierend auf der Reaktionsdosis unter oraler Provokation zum Zeitpunkt V1 gewählt (Tabelle 2.1). Die Steigerungs- und Erhaltungsphase erfolgten wie oben beschrieben nach dem gleichen Schema wie bei Patienten der Verumgruppe (Tabelle 2.2).

### 2.2.5 Abschlussvisite (V3)

Nach der OIT-Erhaltungsphase erfolgte die Abschlussvisite (V3), zu der alle Kinder der Verum- und Placebogruppe erneut für eine orale Erdnussprovokation stationär aufgenommen wurden. An den Tagen an denen die orale Provokation durchgeführt wurde, wurden die OIT-Gaben ausgesetzt. Die orale Provokation erfolgte nach dem gleichen Schema wie zum Zeitpunkt V1 (Kapitel 2.3.6) in der Klinik für Pädiatrie m. S. Pneumologie und Immunologie der Charité Berlin. Vor der oralen Provokation erfolgten entsprechend zu den Untersuchungen zum Zeitpunkt V1 eine Anamnese, eine körperliche Untersuchung, die Erhebung des SCORADs, eine Spirometrie, ein Hautpricktest sowie eine Blutentnahme für immunologische Untersuchungen.

Tabelle 2.2: Schema der Dosissteigerungen der Studiennahrung unter oraler Immuntherapie (OIT). Die OIT wurde in Form von erdnusshaltigem (Verum) bzw. -freiem (Placebo) Schokoladenpudding verabreicht.

Steigerungsschritte	OIT-Studiennahrung				
	Tägliches Volumen (ml)	Placebo	Verum		
		Erdnussprotein-konzentration (mg/ml)	Erdnussprotein-konzentration (mg/ml)	Tägliche Erdnussprotein-dosis (mg)	Tägliche Erdnussdosis* (mg)
1	0,5	0,0	1,0	0,5	2,0
2	1,0	0,0	1,0	1,0	4,0
3	1,5	0,0	1,0	1,5	6,0
4	2,5	0,0	1,0	2,5	10,0
5	3,0	0,0	1,0	3,0	12,0
6	3,5	0,0	1,0	3,5	14,0
7	4,5	0,0	1,0	4,5	18,0
8	5,5	0,0	1,0	5,5	22,0
9	6,5	0,0	1,0	6,5	26,0
10	8,0	0,0	1,0	8,0	32,0
11	9,5	0,0	1,0	9,5	38,0
12	11,0	0,0	1,0	11,0	44,0
13	13,0	0,0	1,0	13,0	52,0
14	15,0	0,0	1,0	15,0	60,0
15	17,5	0,0	1,0	17,5	70,0
16	20,0	0,0	1,0	20,0	80,0
17	22,5	0,0	1,0	22,5	90,0
18	25,0	0,0	1,0	25,0	100,0
19	30,0	0,0	1,0	30,0	120,0
20	7,0	0,0	5,0	35,0	140,0
21	8,0	0,0	5,0	40,0	160,0
22	9,0	0,0	5,0	45,0	180,0
23	10,0	0,0	5,0	50,0	200,0
24	12,0	0,0	5,0	60,0	240,0
25	14,0	0,0	5,0	70,0	280,0
26	17,0	0,0	5,0	85,0	340,0
27	21,0	0,0	5,0	105,0	420,0
28	25,0	0,0	5,0	125,0	500,0
29	30,0	0,0	5,0	150,0	600,0
30	35,0	0,0	5,0	175,0	700,0
31	40,0	0,0	5,0	200,0	800,0
32	45,0	0,0	5,0	225,0	900,0
33	50,0	0,0	5,0	250,0	1000,0

\*= der Proteingehalt von Erdnuss beträgt 25% (Souci Fachman Kraut).

Abhängig vom Auftreten von Reaktion oder dem Einsatz von Medikamenten wurden die Kinder nach einem stationären Aufenthalt von 2-3 Tagen entlassen. Im Anschluss erfolgte die Entblindung der Gruppeneinteilung der Patienten durch die Studienärztin. Dafür wurden die verschlossenen

Verblindungsumschläge der jeweiligen Patienten geöffnet. Alle Kinder der Placebogruppe hatten die Möglichkeit im Rahmen der anschließenden offenen Studienphase die aktive OIT mit Erdnuss durchzuführen.

## **2.3 Anamnese und klinische Untersuchungsmethoden**

### **2.3.1 Anamnese und körperliche Untersuchung**

Durch die Studienärztin wurde eine genaue Anamnese erhoben. Alle in der Vergangenheit aufgetretene allergische Reaktionen nach akzidentellem Verzehr von Erdnuss wurden ausführlich erfasst: Zeitintervall nach Verzehr, betroffene Organsysteme, Schweregrad, genaue Produktbeschreibung des möglichen Auslösers, Ort bei Reaktion. Kinder mit einer anamnestischen Vorgeschichte einer anaphylaktischen Reaktion auf Erdnuss wurden explizit nicht von der Studienteilnahme ausgeschlossen. Im Detail wurden außerdem weiterer parallel bestehende atopische Erkrankungen (Asthma bronchiale, allergische Rhinokonjunktivitis, atopische Dermatitis, weitere Nahrungsmittelallergien und Tierhaarallergien) erfasst sowie der familiäre Atopiestatus erfragt. Im Rahmen der körperlichen Untersuchung wurden als anthropometrische Daten das Körpergewicht und die Körpergröße bestimmt.

### **2.3.2 Einschätzung des Verlaufs des Asthma bronchiale**

Eine Spirometrie wurde bei Kindern, soweit sie altersgemäß fähig waren das Manöver durchzuführen, zum Zeitpunkt V1 und V3 von einer erfahrenen Pflegekraft gemäß der Leitlinien zur Lungenfunktionsmessung durchgeführt [170]. Die Kinder wurden angeleitet über den gesamten Studienzeitraum täglich eine Peak-Flow-Messung (Peak-Flow (PEF) = Maximale expiratorische Atemstromstärke (l/s)) mit einem mobilen Handgerät „Peakflowmeter“ durchzuführen. Zur Einschätzung des Asthma bronchiale im Verlauf und am Ende der OIT-Studie durch die Studienärztin wurden Daten aus der Anamnese wie Fragen zu dem Asthma-Kontrolltest sowie vorhandene Daten der Spirometrie und Peak-Flow-Messung herangezogen [171].

### **2.3.3 Einschätzung des Verlaufs der allergischen Rhinokonjunktivitis**

Zur Einschätzung der allergischen Rhinokonjunktivitis im Verlauf und am Ende der OIT-Studie durch die Studienärztin wurden Daten aus der Anamnese und den Tagebücher der Eltern herangezogen.

### **2.3.4 Einschätzung der atopischen Dermatitis**

Der Hautstatus hinsichtlich einer atopischen Dermatitis wurde bei allen Patienten zum Zeitpunkt V1 und V3 durch die Studienärztin untersucht. Mit Hilfe des SCORAD (Scoring Atopic Dermatitis) wurde der Schweregrad der atopischen Dermatitis objektiviert [172]. Zur Einschätzung des Krankheitsverlaufes der atopischen Dermatitis im Verlauf und am Ende der OIT-Studie durch die

Studienärztin wurde der SCORAD zum Zeitpunkt V1 und V3, die Häufigkeit einer topischen Steroidtherapie im Studienverlauf sowie die Einschätzung der Eltern berücksichtigt.

### 2.3.5 Hautpricktest

Der Hautpricktest mit Erdnuss wurde auf der Volarseite des Unterarms gemäß der Leitlinien der Deutsche Gesellschaft für Allergologie und klinische Immunologie (DGAKI) durchgeführt [100]. Die Testung mit Erdnuss erfolgte als Prick-zu-Prick-Test. Hierfür wurde die Prick-Lanzette zunächst in ganze, geröstete Erdnüsse („Jumbo-Peanuts“, Seeberger, Hamburg) und im Anschluss in die Hautoberfläche gestochen. Als Negativkontrolle wurde kommerziell erhältliche Natriumchloridlösung, 0,9% (ALK-Abelló, Wedel) und als Positivkontrolle kommerziell erhältliche Histamindihydrochloridlösung, 1% (ALK-Abelló, Wedel) verwendet. Nach 15 Minuten wurde die Größe der entstandenen Quaddeln abgelesen. Hierfür wurde der Mittelwert aus Quer- und Längsdurchmesser der Quaddel gebildet. Eine Testreaktion auf Erdnuss wurde als positiv bewertet, wenn der mittlere Quaddeldurchmesser  $\geq 3$  mm maß. Als diagnostisch verwertbar galt ein Hauttest mit positiver Reaktion auf die Positivkontrolle (Histamin-Quaddel  $\geq 3$  mm) und ausbleibender Reaktion auf die Negativkontrolle (Natriumchlorid-Quaddel  $\leq 1$  mm). Falls zu Zeitpunkt V1 kein Pricktest durchgeführt werden konnte, wurde das Ergebnis vom Hautpricktest der Screeningvisite (V0) herangezogen.

### 2.3.6 Orale Provokation mit Erdnuss

#### Ablauf der Provokation

Für eine gesicherte Diagnosestellung der Erdnussallergie und zur Bestimmung der Reaktionsdosis und Reaktionsschwere, wurde bei allen Kindern eine offene orale Provokation mit Erdnuss zum Zeitpunkt V1 und V3 durchgeführt. Vor der Provokation wurde eine strikte Eliminationsdiät eingehalten. Antihistaminika wurden spätestens 72 Stunden vor der Provokation abgesetzt, kurzwirksame inhalative  $\beta_2$ -Mimetika spätestens am Tag der Provokation. Dauertherapien aus langwirksamen  $\beta_2$ -Mimetika, Glukokortikoiden oder Montelukast konnten beibehalten werden. Falls eine externe Glukokortikoidtherapie zur Behandlung einer atopischen Dermatitis nötig war, wurde diese mit einem schwachen Glukokortikoid weitergeführt. Die Provokation erfolgte stationär unter ärztlicher Aufsicht und standardisierten Bedingungen gemäß der Empfehlungen der Leitlinien der DGAKI [97]. Dabei erhielten die Kinder über maximal drei Tage langsam halb logarithmisch aufsteigenden Dosierungsstufen von 12 mg bis maximal 18000 mg gerösteter Erdnuss (entspricht 3 - 4500 mg Erdnussprotein) (Tabelle 2.3). Abweichend vom Standardprotokoll gemäß der DGAKI [97] erfolgten die Dosissteigerungen mit einem verlängerten zeitlichen Abstand von 120 Minuten, um die individuelle Reaktionsdosis der Patienten genauer bestimmen zu können. Dieses Vorgehen wurde aufgrund von Beobachtungen aus der „rush“- Immuntherapiestudie unserer Arbeitsgruppe

entschieden [143], da die Patienten in dieser Studie im Rahmen der schnellen Steigerungsphase, bei der die Dosis alle zwei Stunden gesteigert wurde, im Median erst 102 Minuten nach Erdnussgabe allergische Reaktionen zeigten (publiziert in [173]). Ganze, geröstete Erdnüsse („Jumbo-Peanuts“, Seeberger, Hamburg) wurden manuell zerkleinert und die einzelnen Titrationsstufen mit einer Präzisionswaage abgewogen (Sartorius Präzisionswaage, Göttingen). Diese wurden in Apfelmus oder Schokoladenpudding eingerührt und beginnend mit der kleinsten Erdnussdosis dem Patienten verabreicht. Am ersten Tag wurde maximal die erste bis vierte Titrationsstufe (12-400 mg Erdnuss) verabreicht. Bei ausbleibender Reaktion wurde am zweiten Tag erneut mit der vierten Titrationsstufe begonnen und bis zur siebten Stufe (400-12000 mg Erdnuss) provoziert (Tabelle 2.3). Zeigten die Patienten auch am zweiten Provokationstag keine Reaktion auf die einzelnen Titrationsstufen, wurde am Folgetag die kumulative Dosis (18000 mg Erdnuss = ~36 kleine Erdnusskerne) verabreicht. Die stationäre Entlassung erfolgte frühestens drei Stunden nach der letzten Provokationsdosis.

Tabelle 2.3: Übersicht der Titrationsstufen der oralen Provokation mit Erdnuss. Die ersten sieben Titrationsstufen wurden in halblogarithmischen Schritten über zwei Tage provoziert. Zwischen den einzelnen Stufen wurde ein zeitlicher Abstand von 120 Minuten eingehalten. Traten keine objektiven Symptome auf, wurde am Tag 3 mit der Kumulativdosis provoziert.

	<b>Titrationstufe</b>	<b>Erdnuss (mg)*</b>	<b>Erdnussprotein (mg)</b>
<b>Tag 1</b>	1	12	3
	2	40	10
	3	120	30
	4	400	100
<b>Tag 2</b>	4	400	100
	5	1200	300
	6	4000	1000
	7	12000	3000
<b>Tag 3</b>	Kumulative Dosis	18000	4500

\*= Der Proteingehalt von Erdnuss beträgt 25% (Souci Fachman Kraut xxx). Ein kleiner Erdnusskern wiegt etwa 500 mg.

### **Bewertung der Provokation und Schweregradeinteilung**

Die orale Provokation wurde stets durch dieselbe Studienärztin bewertet. Als Abbruchkriterien galten objektive Symptome wie generalisierter Urtikaria, Erbrechen oder pulmonale Obstruktion (definiert in [173]) (Tabelle 2.4). Ein isoliertes Auftreten von Flush im Gesicht, perioraler Urtikaria, Erbrechen aufgrund von z.B. starker Abneigung direkt nach einer Erdnussgabe zählten ebenso wie subjektive Symptome (Juckreiz, Bauchschmerzen, Kloßgefühl) nicht als Abbruchkriterien. Die Reaktionsdosis unter Provokation wurde als die Erdnussdosis definiert, bei der Reaktion auftraten, die zum Abbruch der Provokation führten. Außerdem wurden die kumulative Reaktionsdosis des gesamten Tages und die maximal tolerierte Dosis unter Provokation erfasst. Die Reaktionszeit wurde definiert als Zeitraum zwischen Verzehr der Reaktionsdosis und dem Auftreten objektiver

Symptome, die zum Abbruch der Provokation führten. Zur weiteren Charakterisierung erfolgte außerdem eine Schweregradeinteilung der objektiven Symptome unter Provokation. Die Reaktionsschwere wurde anhand einer Skala von I-V (niedrigster Schweregrad bis höchster Schweregrad), gemäß einer leicht modifizierten Version des Bewertungsschemas für nahrungsmittelinduzierte Anaphylaxie [174, 175], bewertet (Tabelle 2.4). Bei dem parallelen Auftreten mehrere Symptome bestimmte das schwerste objektive Symptom den Schweregrad der Reaktion unter Provokation.

Tabelle 2.4: Einteilung allergischer Symptome nach betroffenem Organsystem und Schweregrad (modifiziert nach [174, 175]). Hinsichtlich der Reaktionen unter oraler Provokation als auch auftretender Symptome unter oraler Immuntherapie wurde beim gleichzeitigen Auftreten verschiedener Symptome das jeweils schwerste Symptom für die Zuordnung des Schweregrades herangezogen.

Schweregrad	Haut	Gastrointestinaltrakt	Atemwege	Kardiovaskuläres System
I	leichter Flush, Angioödem <sup>1</sup> , periorale Urtikaria	-	-	-
II	Flush, Angioödem <sup>2</sup> , generalisierte Urtikaria <sup>3</sup>	einmaliges Erbrechen <sup>4</sup>	leichte verstopfte Nase, Niesreiz	-
III	s.o.	mehrmaliges Erbrechen, Diarrhoe	deutlich verstopfte Nase, Rhinokonjunktivitis, Kloßgefühl im Hals, trockener Husten	Tachykardie (Anstieg $\geq 15$ Schläge/min)
IV	s.o.	s.o.	Heiserkeit, Dysphagie, bellender Husten, Pfeifen/Giemen, Peak-Flow Abfall, Stridor, Dyspnoe, Zyanose	Arrhythmie, leichte arterielle Hypotonie
V	s.o.	s.o.	Atemstillstand	schwere Bradykardie, arterielle Hypotonie, Kreislaufstillstand, Bewusstseinsverlust

1 = leichte Lippenschwellung; 2 = deutliche Lippen-, Augenlid- oder Ohrschwellung; 3 =  $\geq 3$  Quaddeln, keine Kontakt-Urtikaria; 4 =  $\geq 10$  Minuten nach Erdnussgabe. s.o. = siehe oben.

### Therapie unter Provokation

Während des gesamten Provokationszeitraums standen die Kinder unter ärztlicher Aufsicht. Als Akuttherapie bei allergischen Reaktionen unter Provokation kamen folgende mögliche Medikamente zum Einsatz: systemische Antihistaminika, Glukokortikoide, inhalative  $\beta_2$ -Agonisten und intramuskuläres Adrenalin. Die Studienärztin entschied in Hinblick auf die Reaktionsschwere entsprechend den standardisierten Handlungsanweisungen (SOPs) der Klinik ob und welche medikamentöse Therapie zum Einsatz kam.

## 2.4 In vitro Untersuchungen

### 2.4.1 Blutentnahme

#### Verbrauchsmaterialien

BD Vacutainer® Serumröhrchen SST™ II Advanced Röhrchen; 8,5 ml 16x100mm	Becton & Dickinson	Heidelberg
BD Vacutainer® Plasmaröhrchen Lithium-Heparin-Zusatz; 10 ml 16x100mm	Becton & Dickinson	Heidelberg
BD Vacutainer® PST™ II Röhrchen Lithium-Heparin-Zusatz & Trenngel; 3 ml 13x75mm	Becton & Dickinson	Heidelberg
BD Vacutainer® EDTA-Röhrchen 4 ml 13x75mm	Becton & Dickinson	Heidelberg

Die Blutentnahmen erfolgte mit Hilfe eines geschlossenen Unterdrucksystem (BD-Vacutainer®, Becton & Dickinson, Heidelberg) durch die Studienärztin. Um das Schmerzempfinden bei der Venenpunktion herabzusetzen, wurde die Haut auf Wunsch des Patienten mit Hilfe eines Lokalanästhetikums betäubt. Dafür wurde an der Punktionsstelle etwa 15-30 Minuten vorher ein EMLA®Pflaster geklebt (EMLA®Pflaster, AstraZeneca, Wedel). Zum Zeitpunkt V1 und V3 wurde gewonnenes Blut für die Erstellung eines Differentialblutbildes, zur Bestimmung von Immunglobulinen im Serum, sowie für die Analyse der Basophilenreaktivität und T-Zell-Zytokinproduktion verwendet (Kapitel 2.4.3 bis 2.4.7). Zum Zeitpunkt V3 wurden außerdem klinisch-chemische Parameter bestimmt (Kapitel 2.4.3).

### 2.4.2 Materialien

#### Biochemikalien

Aceton	Roth	Karlsruhe
Ammoniumchlorid (NH <sub>4</sub> Cl)	Merk	Darmstadt
Biocoll Separating Solution Dichte 1,077 g/ml	Biochrom AG	Berlin
BD FACSTFlow solution	BD Biosciences	Heidelberg
BD FACSClean solution	BD Biosciences	Heidelberg
BD FACS shutdown solution	BD Biosciences	Heidelberg
BD FACSRinse	BD Biosciences	Heidelberg
DMSO (Dimethyl-sulfoxide)	Merk	Darmstadt
Ethylendiamintetraacetat (EDTA)	Merk	Darmstadt
GemCell™ U.S. Origin Human Serum AB	GeminiBio-Products, West	Sacramento, USA
Kaliumhydrogencarbonat (KHCO <sub>3</sub> )	Merk	Darmstadt
Natriumazid (NaN <sub>3</sub> )	Merk	Darmstadt

N-Formyl-Methionyl-Leucyl-Phenylalanin (fMLP)	Sigma Aldrich	Saint Louis, USA
Phytohämagglutinin (PHA-P)	Sigma Aldrich	Saint Louis, USA
Protease-Inhibitor-Cocktail Tablets cOmplete™, EDTA-free	Roche Diagnostics	Basel, CH
Recombinant Human IL-3	BD Biosciences Pharmingen	California, USA

### Nahrungsmittel

Geröstete Erdnüsse „Jumbo Peanuts“ Sorte Virginia/USA	Seeberger	Hamburg
---	-----------	---------

### Zellkulturmedien

Dulbecco's PBS 1x ohne Calcium ohne Magnesium	PAA Laboratories GmbH	Pasching, AUT
RPMI 1640 mit HEPES ohne L-Glutamin	PAA Laboratories GmbH	Pasching AUT
Bovine Serum Albumin (BSA)	Sigma Aldrich	Saint Louis, USA

### Verbrauchsmaterialien

Papierfilter	Macherey-Nagel	Düren
Laboratory Film	Parafilm	Wisconsin, USA
BD Falcon Blue Max™ (15 ml)	BD Biosciences	N. Carolina, USA
BD Falcon Blue Max™ (50 ml)	BD Biosciences	N. Carolina, USA
BD Falcon™ Tube (12x75 mm, 5 ml)	BD Biosciences	N. Carolina, USA
CryoPure Tube (1,6 ml)	Sarstedt	Nümbrecht
Eppendorf Safe-Lock Gefäß (1,5 ml)	Eppendorf AG	Hamburg
Gewebekulturröhrchen (10 ml; 97x16 mm)	Sarstedt	Nümbrecht
Röhrchen mit Belüftungsstopfen (5 ml; 75x12 mm)	Sarstedt	Nümbrecht
Eppendorf Reference® (10-100 µl)	Eppendorf AG	Hamburg
Eppendorf Research® (10-100 µl)	Eppendorf AG	Hamburg
Eppendorf Research® (100-1000 µl)	Eppendorf AG	Hamburg
Transferpipette (3,5 ml)	Sarstedt	Nümbrecht

### Nachweissysteme

Pierce™ BCA Protein Assay Kit	Thermo Scientific	Illinois, USA
anti-Mouse Ig, κ/Negativ Control [FBS] Compensation Particles Set	BD Biosciences	California, USA
BD Cytometric Bead Array (CBA) Human Th1/Th2 Cytokine Kit	BD Biosciences	California, USA

### Antikörper

anti-FcεRI Antibody Bestandteil des „FlowCast“- BAT-Kits	Bühlmann Laboratories	Schönenbuch, CH
--	-----------------------	-----------------

anti-HLA-DR PE-Cy™ 7 clone L243	BD Biosciences	California, USA
APC-Cy™ 7 Mouse Anti-Human CD45 clone 2D1	BD Biosciences	California, USA
FITC Mouse Anti-Human CD63 clone H5C6	BD Biosciences	California, USA
PE-Cy™ 5 Mouse Anti-Human CD123 clone 9F5	BD Biosciences	California, USA
Anti-Human CD203c-PE clone 97A6	Beckmann Coulter Inc.	Marseille, F

### Geräte

Universal-Zerkleinerer, La Moulinette 800W	Tefal	Solingen
Magnetrührer (mit Heizblock) RCT basic	IKA Werke	Staufen
Schüttelwasserbad Typ 1086	GFL	Burgwedel
Eismaschine	Ziegra	Isernhagen
Laborwaage PE3000	Mettler	Gießen
Analysewaage AE200	Mettler	Gießen
Brutschrank Heraeus Typ BB622002	Thermo Scientific	Langenselbold
Eppendorf Centrifuge 5402	Eppendorf AG	Hamburg
Sorvall® RT 6000D-Zentrifuge	Thermo Scientific	Langenselbold
Heraeus Multifuge 1 L-R	Thermo Scientific	Langenselbold
Sicherheitswerkbank Clean Air Typ CAIREV 3	Haan	Woerden
BD FACSCanto™ II Flow Cytometer	BD Biosciences	California, USA
Blutbild Analysator Sysmex XE-2100	Sysmex Corporation	Kobe, Japan

### Software

BD FACSDiva Software v6.0	BD Biosciences	California, USA
FCAP Array Software v3.0	BD Biosciences	California, USA

### Puffer und Lösungen

#### anti-FcεRI monoklonaler Antikörper (3 µg/ml)

Wie vom Hersteller vorgegeben wurde der Antikörper in 1,5 ml der vom Hersteller mitgelieferten Pufferlösung (Stimulationspuffer mit Kalzium, Heparin und IL-3, Bühlmann Flow Cast Kit) gelöst (Endkonzentration 3 µg/ml) und anschließend bei -20°C gelagert.

#### fMLP-Stammlösung (10<sup>-3</sup> M)

Gemäß der Angaben des Herstellers wurde fMLP zunächst in einer Konzentration von 10<sup>-2</sup> M in 100% DMSO gelöst und bei -20°C gelagert. Die Lösung wurde weiter mit Aqua dest. auf eine Konzentration von 10<sup>-3</sup> M verdünnt und bei -20°C gelagert. Vor der Verwendung wurde die Lösung mit RPMI 1640-Medium auf eine Konzentration von 10<sup>-5</sup> M eingestellt.

### Lysepuffer (10x)

EDTA	1 mM	0,292 g
KHCO <sub>3</sub>	0,1 M	10,2 g
NH <sub>4</sub> Cl	1,5 M	82,9 g
Aqua dest		ad 1000 ml

Die Lösung wurde autoklaviert und bei 4°C gelagert.

### Lysepuffer (1x)

Vor Verwendung wurde der Lysepuffer (10x) mit Aqua dest. 1:10 verdünnt. Die Lösung wurde jeweils frisch angesetzt.

### PBS Azid

NaN <sub>3</sub>	3 mM	0,2 g
EDTA	0,13 mM	0,037 g
PBS		ad 1000 ml

Die Lösung wurde unter sterilen Bedingungen hergestellt und bei 4°C gelagert.

### Protease-Inhibitor-Cocktail-Stammlösung (25x)

Wie vom Hersteller vorgegeben wurde 1 Tablette des Protease-Inhibitor-Cocktails in 2 ml PBS (1x) gelöst und bei 4°C gelagert.

### IL-3 (2 µg/ml)

IL-3 (200 µg/ml) wurde bis zur Verwendung bei -80°C gelagert. Zunächst wurde IL-3 mit PBS (1% BSA) unter sterilen Bedingungen auf 2 µg/ml verdünnt und bei -20°C gelagert.

### RPMI 1640 + IL-3 (2 ng/ml)

RPMI 1640 wurde mit IL-3 (2 µg/ml) versetzt, so dass eine Endkonzentration von 2 ng/ml IL-3 im Medium vorlag.

### PBS 5%

PBS wurde mit 5% Human-AB-Serum versetzt, die Lösung wurde frisch unter sterilen Bedingungen angesetzt und bis zum Verbrauch bei 4°C gelagert.

### PBS 1%

PBS 5% wurde mit PBS 1:5 verdünnt, die Lösung wurde frisch unter sterilen Bedingungen angesetzt und bis zum Verbrauch bei 4°C gelagert.

### (Zellkulturmedium) RPMI 1640 + 10% autologes Patientenplasma

Als Zellkulturmedium wurde RPMI 1640 mit 10% autologem Patientenplasma versetzt. Das Medium wurde frisch und unter sterilen Bedingungen angesetzt und bis zum Verbrauch bei 4°C gelagert.

### (Zellkulturmedium II) RPMI 1640 + 10% AB-Serum

Als weiteres Zellkulturmedium wurde RPMI 1640 mit 10% human-AB Serum versetzt. Das Medium wurde frisch und unter sterilen Bedingungen angesetzt und bis zum Verbrauch bei 4°C gelagert.

#### Phytohämagglutinin (PHA-P) (40 µg/ml)

PHA wurde einer Konzentration von 40 µg/ml in PBS unter sterilen Bedingungen gelöst und anschließend bei -20°C gelagert.

#### Erdnussextraktlösung (2 mg/ml)

Die Erdnussextraktlösung wurde wie in Kapitel 2.4.5 hergestellt. Vor Verwendung wurde die Erdnussextrakt-Stammlösung (2 mg/ml) auf eine Konzentration von 100 µg/ml mit Zellkulturmedium (RPMI 1640 + 10% autologes Plasma) verdünnt.

### **2.4.3 Bestimmung hämatologischer und klinisch-chemischer Parameter**

Alle Bestimmungen hämatologischer und klinisch-chemischer Laborparameter wurden durch das Zentrallabor der Charité durchgeführt. Die Bestimmung des Differentialblutbildes erfolgte aus peripherem EDTA-Blut mit Hilfe eines automatisierten Blutbild-Analysators (Sysmex XE-2100, Sysmex Corporation, Kobe, Japan). Für die Studie wurden die Anzahl an Leukozyten, Thrombozyten, eosinophilen und basophilen Granulozyten sowie der Hämoglobinwert erfasst. Parameter der klinischen Chemie wurden aus Heparinplasma anhand enzymatischer und kolorimetrischer Bestimmungsmethoden mit Hilfe des Analysegeräts COBAS 8000 (Cobas 8000 Modular Analyzer, Roche Diagnostics, Rotkreuz, Schweiz) erhoben. Für die Studie wurden Kreatinin, Glutamat-Oxalacetat-Aminotransferase (GOT), Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT), Harnstoff,  $\gamma$ -Glutamyltransferase ( $\gamma$ GT) und Gesamtprotein erfasst. Für die Beurteilung der Messergebnisse wurden die Referenzbereiche des Labors zugrunde gelegt, die finale Bewertung unterlag der Studienärztin.

### **2.4.4 Antikörperbestimmung im Serum**

Die quantitative Bestimmung von zirkulierenden gesamt IgE-, allergenspezifischen IgE- und IgG<sub>4</sub>-Antikörpern im Patientenserum erfolgte mit Hilfe kommerziell erhältlicher ImmunoCAP®-Systeme (Thermo Fisher-Phadia, Uppsala, Schweden) an einem automatisierten Analysegerät (Phadia®250, Thermo Fisher-Phadia, Uppsala, Schweden) im Allergie-Forschungslabor der Charité. Diese Methode gehört zu den Standardverfahren in der Allergiediagnostik. Die jeweiligen Kalibrationskurven des Herstellers sind gegen internationale Referenzpräparationen der WHO für IgE bzw. IgG<sub>4</sub> aus Humanserum kalibriert. Falls zum Zeitpunkt V1 aufgrund von mangelndem Blutvolumen bezüglich einzelner Antikörper keine Werte gemessen werden konnten, wurden entsprechende Werte der Screeningvisite (V0) herangezogen.

### **Probengewinnung und Lagerung**

Vollblut wurde in Serumröhrchen ohne Zusätze entnommen und für mindestens 30 min bis zur Blutgerinnung bei Raumtemperatur gelagert. Anschließend wurde für 10 min mit 2000 x g (Sorvall

RT 6000D Zentrifuge) bei 20°C zentrifugiert und das Serum im Überstand abgenommen. Nach Aliquotierung wurde das Serum untersucht bzw. für spätere Untersuchungen bei -20°C aufbewahrt.

### Testprinzip

Das Prinzip der Messung von IgE- oder IgG<sub>4</sub>-Antikörpern im Serum mit dem ImmunoCAP®-System basiert auf einem Fluoreszenzenzymimmunoassay (FEIA). Hierfür sind für die Messung von gesamt IgE aus dem Patientenserum anti-IgE-Antikörper auf der Trägermembran des CAP-Systems kovalent bzw. für die Bestimmung von sIgE oder sIgG<sub>4</sub> das entsprechende Allergen, z.B. Erdnussextrakt, gebunden. In Patientenserum enthaltene Antikörper binden anschließend an die fixierten anti-IgE-Antikörper bzw. an das fixierte Allergen. Nicht gebundene Antikörper werden durch Waschen entfernt. Als Konjugat werden β-Galaktosidase-markierte anti-IgE-Antikörper bzw. anti-IgG<sub>4</sub>-Antikörper hinzugegeben, die an die gebundenen Antikörper aus dem Serum binden. Nicht gebundene Enzym-markierte anti-IgE-Antikörper werden durch erneutes Waschen entfernt. Als Entwicklerreagenz wird mit 4-Methylumbelliperyl-β-D-Galaktosid inkubiert. Der gebundene enzymmarkierte Antikörper wird nachgewiesen, indem das Reagenz durch die gebundene β-Galaktosidase in β-D-Galaktose und fluoreszierendem 4-Methylbellipheron umgesetzt wird. Durch Zugabe einer Stopplösung wird die Reaktion beendet und die Fluoreszenz gemessen. Die Intensität der Fluoreszenz ist direkt proportional zur Antikörperkonzentration in der Serumprobe. Die Menge an gebundenen Antikörpern kann quantitativ durch Interpolation mit einer Kalibrationskurve bestimmt werden.

### Quantifizierte Antikörper

Die Analysen wurden jeweils entsprechend der Vorgaben des Herstellers durchgeführt. Alle hierfür benötigten Reagenzien für Phadia 250 wurden vom Hersteller gebrauchsfertig geliefert und wurden bis zum Verfallsdatum bei 4°C gelagert.

Die Bestimmung im Patientenserum erfolgte für:

- **Gesamt IgE** mit ImmunoCAP® Total IgE (Gebrauchsinformation 52-5292-DE/04; Thermo Fisher-Phadia). Die Ergebnisse werden in kU/l angegeben. Der Kalibrationsbereich für unverdünnte Serumproben liegt zwischen 2 - 5000 kU/l.
- **Allergenspezifisches IgE** mit ImmunoCAP® Specific IgE (Gebrauchsinformation 52-5291-DE/05; Thermo Fisher-Phadia). Es wurde sIgE gegen Erdnuss und die Erdnusskomponente Ara h 2 sowie gegen die häufigsten Inhalationsallergene der Außenluft (Birke, Beifuß, Lieschgras) und des Innenraums (Katzenschuppen, Hundeschuppen, Dermatophagoides pteronyssinus, Cladosporium herbarum) bestimmt. Die Ergebnisse werden in kU<sub>A</sub>/l angegeben. Der Kalibrationsbereich für unverdünnte Serumproben liegt zwischen 0-100 kU<sub>A</sub>/l. Bei sIgE-Werten für Erdnuss und Ara h 2 >100 kU<sub>A</sub>/l wurde das Serum mit einem vom

Hersteller gelieferten Puffer in Verdünnungsstufen zwischen 1:10 bis 1:100 verdünnt und erneut gemessen. Der vom Hersteller empfohlene Cut-Off-Wert für ein positives Testergebnis liegt bei 0,35 kU<sub>A</sub>/l.

- **Allergenspezifisches IgG<sub>4</sub>** mit ImmunoCAP® Specific IgG<sub>4</sub> (Gebrauchsinformation 52-5295-DE/04; Thermo Fisher-Phadia, Uppsala, Schweden). Die Ergebnisse werden in mg<sub>A</sub>/l angegeben, der Messbereich liegt zwischen 0,07-30 mg<sub>A</sub>/l. Bei Werten >30 mg<sub>A</sub>/l wurde das Serum mit dem vom Hersteller gelieferten Probenpuffer weiter in Verdünnungsstufen zwischen 1:10 bis 1:100 verdünnt und erneut gemessen.

#### 2.4.5 Herstellung des Erdnussextraktes

Für die allergenspezifische Stimulation von basophilen Granulozyten und periphere mononukleäre Blutzellen (PBMCs= peripheral blood mononuclear cells) wurde ein Erdnussextrakt aus gerösteten Erdnüssen (Jumbo Peanuts, Firma Seeberger, Sorte Virginia/USA) hergestellt. Die Herstellung erfolgte auf Basis eines Protokolls von Burks et al. [176]. Zur Herstellung wurden 200 g Erdnüsse geschält, gehäutet und anschließend so lange mit einem Universal-Zerkleinerer gemörsert bis eine homogene, pastenartige Konsistenz erreicht war. Zum Entfetten wurden 100 g der entstandenen Erdnusspaste mit 1000 ml vorgekühlten Aceton versetzt und für 2,5 h gerührt. Anschließend wurde der gesamte Inhalt über einem Papierfilter filtriert und erneut mit 1000 ml Aceton gespült. Der Papierfilter wurde ausgebreitet über Nacht bei 4°C getrocknet. Aus 100 g Erdnusspaste wurden 70 g Erdnusspulver gewonnen. Zur Extraktion wurden kleine Mengen des Erdnusspulvers schrittweise mit PBS 1x (1:2, w/v) versetzt, bis eine flüssige Lösung entstand. Die Extraktionslösung wurde mit in PBS gelöstem Protease-Inhibitor (Endkonzentration 1x), wie vom Hersteller vorgegeben, versetzt und über Nacht bei 4°C inkubiert. Nach Zentrifugation für 20 Minuten bei 3500 rpm (Sorvall RT 6000D Zentrifuge) wurde die obere lipidhaltige Phase verworfen und die mittlere proteinreiche Phase bis zur unteren Festphase mit Hilfe von Transferpipetten abgenommen. Um den Gehalt an Lipopolysacchariden (LPS), die als Endotoxin stimulierend auf Zellen wirken können, im gewonnenen Erdnussextrakt zu bestimmen wurde ein LAL-(Limulus Amebocyte Lysate) Assay nach Herstellerangaben durchgeführt. Die quantitative Bestimmung ergab für den hergestellten Erdnussextrakt eine Endotoxinkonzentration von 0,59 ng/ml (= 5,9 Endotoxin Units (EU)/ml). Laut Literatur hat erst eine Endotoxinkonzentration von >100 ng/ml einen Effekt auf Zellkulturen mit humanen T-Zellen [177]. Bezüglich eines Effekts von LPS auf die Basophilenaktivierung scheinen erst Endotoxinkonzentrationen >200 ng/ml relevant zu sein [178]. Die Proteinkonzentration des gewonnenen Extraktes wurde mit Hilfe eines Bradford Protein Assay nach Herstellerangaben bestimmt. Das Erdnussextrakt wurde mit PBS auf eine Proteinkonzentration von 2 mg/ml eingestellt, aliquotiert und bei -80°C aufbewahrt.

### 2.4.6 Basophilenaktivierungstest

Um die Reaktivität basophiler Granulozyten zu bestimmen wurde venöses Vollblut der Patienten mit Erdnussextrakt stimuliert. Anschließend wurden die Zellen mit fluoreszenzmarkierten Antikörpern gegen spezifische Oberflächenmarker gefärbt, um die Menge an aktivierten basophilen Granulozyten am Durchflusszytometer quantitativ zu bestimmen.

#### Testprinzipien

##### Grundprinzip Basophilenaktivierungstest

Basophile Granulozyten spielen neben Mastzellen eine zentrale Rolle als Effektorzellen in der allergischen Immunantwort bei IgE-vermittelten Nahrungsmittelallergien, da sie beide den hochaffinen IgE-Rezeptor anti-FcεRI auf der Zelloberfläche tragen und nach IgE-Bindung proinflammatorische Mediatoren wie Histamin ausschütten [179]. Zwar sind Mastzellen im Vergleich zu basophilen Granulozyten im Körper in einer viel höheren Anzahl vertreten, jedoch sind basophile Granulozyten für in vitro-Analysen leichter zugänglich, da sie, im Gegensatz zu gewebständigen Mastzellen, im peripheren Blut zirkulieren. Die Aktivierung von basophilen Granulozyten führt nicht nur zur Ausschüttung entzündungsfördernder Moleküle wie Histamin, sondern auch zu einer vermehrten Expression bestimmter Oberflächenmarker (siehe Abbildung 2.2). Zum einen wird durch die Entleerung der basophilen Granula das membranständige Protein CD63 an der Zelloberfläche exprimiert [180]. Die Aktivierung basophiler Granulozyten führt außerdem zu einer Hochregulation des Oberflächenmarkers CD203c [181]. CD63 hat sich hierbei als bester Indikator für eine anaphylaktische Degranulation von basophilen Granulozyten gezeigt [182]. Diese Oberflächenmarker macht man sich im Rahmen des Basophilenaktivierungstests zu Nutze, indem man deren Expression in vitro nach spezifischer Allergenstimulation misst.

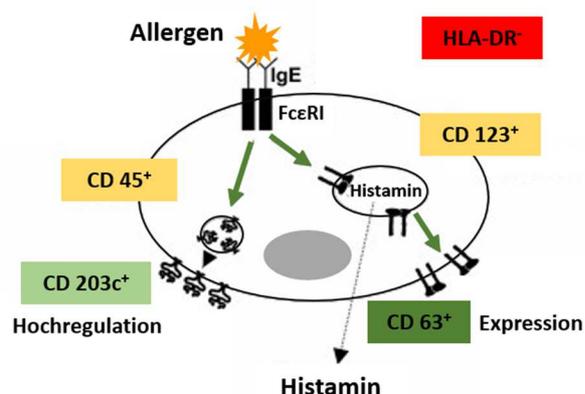


Abbildung 2.2: Prinzip des Basophilenaktivierungstest. Durch Allergenbindung und Kreuzvernetzung zweier IgE-Rezeptoren (FcεRI) werden basophile Granulozyten aktiviert. Eine intrazelluläre Signalkaskade führt zur Entleerung zytoplasmatischer Vesikel und somit neben der Ausschüttung von Histamin zu einer Hochregulation des spezifischen Oberflächenmarkers CD203c und einer Expression von CD63. Nach allergenspezifischer Stimulation in vitro und Färbung mit Fluoreszenzmarkierten Antikörpern, können somit aktivierte basophile Granulozyten am Durchflusszytometer detektiert werden (modifiziert nach [183]).

Der Basophilenaktivierungstest findet bereits Anwendung in der Diagnostik verschiedener allergischer Erkrankungen und hat sich in den letzten Jahren als erfolgsversprechende Untersuchungsmethode auch in Hinblick auf die Diagnostik von Nahrungsmittelallergien erwiesen [184]. Es konnte kürzlich gezeigt werden, dass der Nachweis einer erhöhten CD63-Expression ein nützliches Tool bei der Diagnostik einer klinisch relevanten Erdnussallergie sein kann [185].

### Durchflusszytometrie

Mit Hilfe der Durchflusszytometrie ist es möglich Partikel oder Zellen mittels Laserstrahlung zu charakterisieren und quantifizieren. Die Klassifizierung erfolgt u.a. über die Größe und Granularität der Zellen sowie unterschiedliche Fluoreszenzsignale, indem beispielsweise mit Hilfe fluoreszenzmarkierter Antikörper zelluläre Oberflächenmarker spezifisch gefärbt werden. Die Methode findet daher eine hohe Anwendung in der Immunophänotypisierung [186]. Der schematische Aufbau eines Durchflusszytometers ist in Abbildung 2.3 dargestellt. Bei der Analyse mit dem Durchflusszytometer wird die zu untersuchende Zellsuspension in einer Hüllflüssigkeit an einem optischen Messpunkt vorbeigeführt. Dabei passieren die einzelnen Zellen nacheinander einen Laserstrahl, wobei jede Zelle das Licht unterschiedlich streut und eine bestimmte Fluoreszenz emittiert [187].

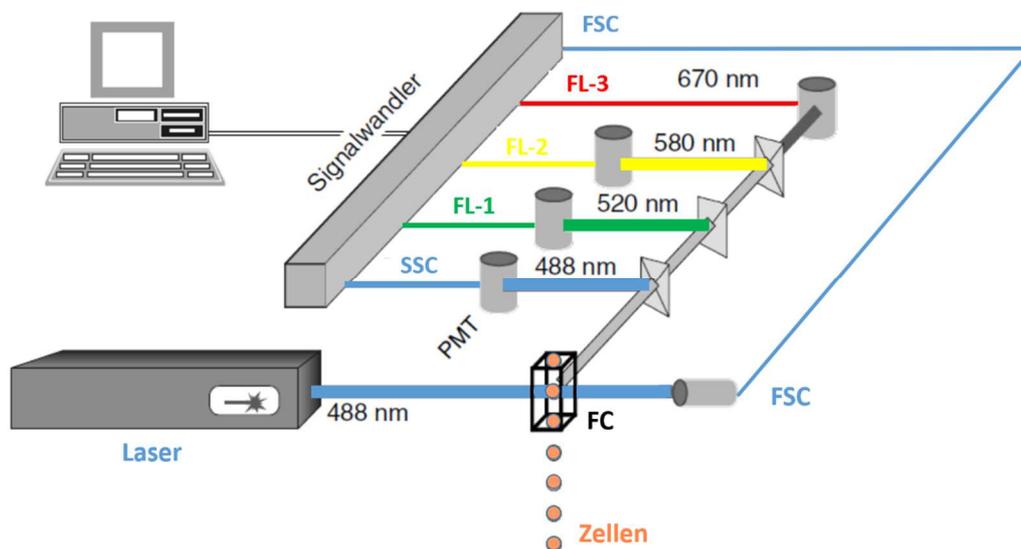


Abbildung 2.3: Schematischer Aufbau eines Durchflusszytometers (vereinfachte Darstellung; modifiziert nach [187]). Suspensierte Einzelzellen werden in der Durchflusszelle (flow cell, FC) in einem Hüllstrom, hydrodynamisch fokussiert, durch eine Messküvette transportiert, die an einem Laserstrahl vorbeiführt. Bei der Passage der einzelnen Zellen kommt es zur Streuung des Lichts und Anregung von Floreszenzen. Die Lichtstreuung wird als Vorwärtsstreulicht (forward scatter, FSC) abhängig von der Zellgröße und im rechten Winkel als Seitwärtsstreulicht (side scatter, SSC) abhängig von der Zellgranularität detektiert. Auch Fluoreszenzsignale werden im rechten Winkel detektiert und mittels verschiedener Farbteilerspiegel und Filter optisch entsprechend der Wellenlänge getrennt. Die unterschiedlichen Lichtsignale werden über Photodetektoren (Photomultiplier, PMT) in elektrische Signale umgewandelt, die anschließend vom Signalprozessor in digitale Messwerte umgewandelt und auf dem Computer gespeichert werden.

Das Licht wird abhängig von der Größe der Zellen (Vorwärtsstreulicht, FSC) sowie deren Granularität (Seitwärtsstreulicht, SSC) gestreut. Anhand dieser FSC- und SSC- Signale ist bereits eine Einteilung der Zellen in unterschiedliche Zellpopulationen möglich (Abbildung 2.4). Der Einsatz von Fluorochrom-markierten Antikörpern mit spezifischen Emissionsspektren ermöglicht eine weitere Unterscheidung von Zell-Subpopulationen. Die gemessene Fluoreszenzintensität ist dabei proportional zur Zahl gebundener fluoreszenzmarkierter Antikörper auf der Zelloberfläche. Die jeweiligen Lichtsignale werden quantifiziert und in elektrische und anschließend für die Analyse in digitale Signale umgewandelt [186, 187].

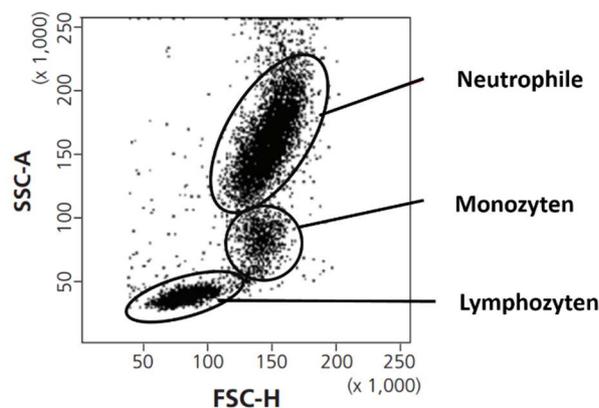


Abbildung 2.4: Beispielhafter Dot-Plot der FSC- und SSC-Signale einer lysierten Vollblutprobe (modifiziert [188]). Eine erste Differenzierung der einzelnen Leukozyten-Subpopulationen ist somit bereits aufgrund der Charakteristika Zellgröße und Granularität möglich.

## Testablauf

### Verwendete Proben

Für den Basophilenaktivierung wurde heparinisiertes venöses Vollblut verwendet. Die Aufarbeitung erfolgte innerhalb von 60 min nach Blutentnahme, bis dahin wurde das Blut bei Raumtemperatur gelagert.

### Stimulation

Je 100  $\mu$ l Vollblut wurde zur Stimulation basophiler Granulozyten mit vier logarithmisch aufsteigenden Verdünnungen des Erdnussextraktes (siehe Kapitel 2.4.5) versetzt. Die jeweilige Endkonzentration an Erdnussprotein in den vier Stimulationsansätzen lag bei 0,0005  $\mu$ g/ml, 0,05  $\mu$ g/ml, 5  $\mu$ g/ml und 500  $\mu$ g/ml. Als Negativkontrolle und zur Erfassung einer möglichen Spontanexpression von CD63 auf basophilen Granulozyten wurden je 100  $\mu$ l Vollblut 1:1 mit Kulturmedium (RPMI 1640) versetzt. Als IgE-abhängige Positivkontrolle wurden 100  $\mu$ l Vollblut mit anti-Fc $\epsilon$ RI-Antikörper (Endkonzentration 0,6  $\mu$ g/ml) inkubiert [189]. Als Stimulanz für eine IgE-unabhängige Aktivierung basophiler Granulozyten wurde als zweite Positivkontrolle das

Bakterienpeptid formyl-Methionyl-Leucyl-Phenylalanine (fMLP) verwendet, das zu einer Zellaktivierung über den G-Protein gekoppelten fMPL-Rezeptor führt [190]. Hierfür wurden 100 µl Vollblut mit fMLP (Endkonzentration 5 µM) inkubiert. Die Inkubation erfolgte für alle Stimulationsansätze für 20 min im Wasserbad bei 37°C. Zum Abstoppen der Degranulation wurden die Probengefäße für 5 min auf Eis gestellt. Es wurde zu jedem Zeitpunkt pro Patient und pro Stimulation je ein Ansatz durchgeführt (Einfachbestimmung).

#### **Doppelbestimmung mit IL-3-haltigem Kulturmedium**

Ein Priming von IL-3 als autokrines Stimulanz von basophilen Granulozyten kann die analytische Sensitivität des Tests erhöhen [190]. Um einen möglichen Einfluss von IL-3 auf die Basophilenaktivierung unter OIT zu untersuchen, erfolgte bei sieben Patienten zum Zeitpunkt V3 ein paralleler Stimulationsansatz unter Verwendung von IL-3 haltigem Kulturmedium (RPMI 1640 mit IL-3 (2 ng/ml)). Der Stimulationsablauf erfolgte wie oben beschrieben.

#### **Oberflächenmarkierung mit Antikörpern**

Die Proben wurden für 10 min bei 1200 rpm (Hereaus Multifuge) und 4°C zentrifugiert. Anschließend wurden die Überstände für spätere Untersuchungen bei -20°C gelagert. Für die Oberflächenfärbung wurden die Zellen für 25 min bei 4°C mit fluoreszenzmarkierten Antikörpern gegen CD45 (anti-CD45-APC-Cy7), CD123 (anti-CD123-PE-Cy5), HLA-DR (anti-HLA-DR- PE-Cy7) CD203 (anti-CD203c- PE) und CD63 (anti-CD63-FITC) im Dunkeln inkubiert.

#### **Zelllyse und Präparation der Proben für Durchflusszytometrie**

Für die Erythrozytenlyse wurde jeder Ansatz mit 4 ml Lysepuffer (1x) versetzt und für 10 min im Dunkeln bei Raumtemperatur inkubiert. Es folgte eine Zentrifugation bei 1400 rpm (Hereaus Multifuge) für 10 min bei 4°C. Im Anschluss wurde der Überstand verworfen und die Zellen mit je 4 ml PBS-Azid gewaschen. Es erfolgte eine erneute Zentrifugation für 10 min bei 1400 rpm und 4°C, der Überstand wurde verworfen und das Zellpellet in 100 µl PBS Azid resuspendiert. Die Messung erfolgte innerhalb von 1 h nach Versuchsablauf.

#### **Messung am Durchflusszytometer und Auswertung**

In der vorliegenden Arbeit wurden die Messungen mit dem FACSCanto II (BD) durchgeführt. Da eine Mehrfachfärbung erfolgte, wurde eine Kompensation zur Korrektur spektraler Überlappung der eingesetzten Fluoreszenzfarbstoffe durchgeführt. Die Kompensation mit Einzelfärbungen erfolgte mit BD CompBeads (BD) nach Angaben des Herstellers und mit einer ungefärbten Vollblutkontrolle. Somit konnten die Geräteeinstellungen entsprechend der verwendeten Farbstoffe und der Autofluoreszenz der Zellen angepasst werden. Die Messung und Analyse der Proben wurde mit der FACSDiva Software (Version 6, BD Bioscience) durchgeführt. Vor der Messung am Durchflusszytometer wurde jede Probe gründlich gemischt um Zellaggregationen zu vermeiden.

Die Zellpopulation basophiler Granulozyten konnte anhand der Expression der Oberflächenproteine CD45, CD123 und CD203c und der Abwesenheit des Oberflächenmarkers HLA-DR identifiziert werden ( $CD203c^+/CD123^+/HLA-DR^-/CD45^+$ ) (Abbildung 2.2). Die Expression des Oberflächenproteins CD63 diente der Identifikation aktivierter basophiler Granulozyten ( $CD63^+/CD203c^+/CD123^+/HLA-DR^-/CD45^+$ ) (Abbildung 2.2). Das genaue Vorgehen und Gating zur Bestimmung aktivierter basophiler Granulozyten in allen Stimulationsansätzen mit Hilfe der FACSDiva Software ist in Abbildung 2.5 dargestellt.

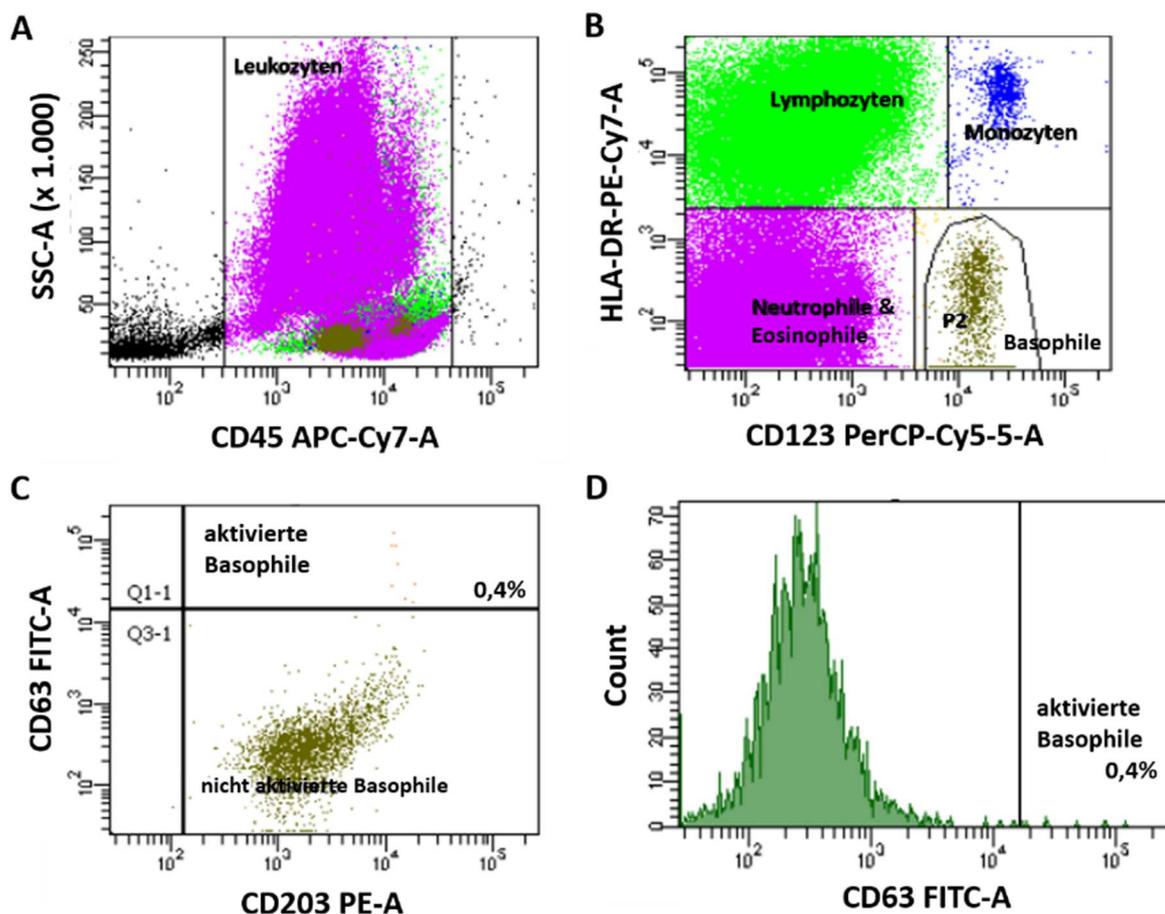


Abbildung 2.5: Identifikation aktivierter basophiler Granulozyten am Durchflusszytometer (FACSCanto II) durch Gating an Dot-Plot- oder Histogrammdarstellungen unter Verwendung der FACSDiva Software. Anhand der Darstellung von Vorwärts- (FCS) zu Seitwärtsstreulicht (SSC) und einem elektronischen Schwellenwert für die Signalintensität des FCS konnte ein bereits vorselektiertes Messergebnis bezüglich der Zellgröße und -Granularität erreicht werden, um somit die Erfassung kleinerer Partikel wie lysierter Zellen zu vermindern (nicht gezeigt). (A) Darstellung SSC zu CD45-Färbung: durch Setzen des Gates wird die Leukozytenpopulation eingegrenzt. (B) Darstellung der Leukozyten-Subpopulationen je nach HLA-DR und CD123 Färbung. Durch Setzen des polygonalen Gates im rechten unteren Quadranten, können basophile Granulozyten markiert werden ( $CD123^+/HLA-DR^-/CD45^+$ ), pro Stimulationsansatz wurden mindestens 500 und maximal 1000 dieser Zellen erhoben. (C) Anhand der CD63 FITC/ CD203 PE-Darstellung können dann nicht aktivierte ( $CD63^-/CD203c^+$ ) und aktivierte basophile Granulozyten ( $CD63^+/CD203c^+$ ) quantifiziert werden. (D) Histogrammdarstellung aktivierter und nicht aktivierter basophiler Granulozyten.

Aufgrund der hohen Probenvariabilität wurden bei jedem Patienten die jeweiligen Markierungen zur Beschreibung der Zellpopulation neu justiert. Die Negativkontrolle einer Messreihe diente

jeweils zur Eingrenzung („Gating“) der Zellpopulation basophiler Granulozyten (CD123<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>-</sup>/CD45<sup>+</sup>) (Abbildung 2.5 B). Diese Einstellung wurde für alle weiteren Stimulationen einer Messreihe eines Patienten übernommen. Die Abgrenzung zwischen aktivierten (CD63<sup>+</sup>/CD203c<sup>+</sup>/CD123<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>-</sup>/CD45<sup>+</sup>) und nicht-aktivierten basophilen Granulozyten (CD63<sup>-</sup>/CD203c<sup>+</sup>/CD123<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>-</sup>/CD45<sup>+</sup>) erfolgte anhand der anti-FcεRI-Positivkontrolle einer Messreihe (Abbildung 2.5 C). Die Rohdaten der FACSDiva Software wurden zur weiteren Auswertung in SPSS übertragen.

### **Erfasste Parameter für die Basophilenaktivierung**

Die Basophilenaktivierung wurde als prozentualer Anteil aktivierter Zellen von der gemessenen Gesamtzellzahl basophiler Granulozyten für jeden Stimulationsansatz erfasst. Die Basophilenaktivierung nach Stimulation mit fMLP, anti-FcεRI-Antikörper oder Erdnussextrakt wurde jeweils um die Basophilenaktivierung der Mediumkontrolle korrigiert, um gegebenenfalls spontan auftretende CD63 Expression herauszurechnen [191]. Aus der Literatur ist bekannt, dass bei 10-15% der Patienten keine oder eine sehr schwache IgE-abhängige Aktivierung basophiler Granulozyten nach Stimulation in vitro induzierbar ist (sogenannte „Non-Responder“) [192]. Dies wurde bereits auch für den BAT bei Nahrungsmittelallergikern beschrieben [193]. In der vorliegenden Studie wurden als „Non-Responder“ solche Patienten definiert, bei denen nach anti-FcεRI-Stimulation die Basophilenaktivierung <10% im Vergleich zur Negativkontrolle betrug (nach [194]). Sie wurden anschließend von der Analyse ausgeschlossen. Als weiteres Maß zur Charakterisierung der Basophilenaktivierung wurde die individuelle maximale allergenspezifische Basophilenaktivierung, die nach Stimulation mit einer der vier Erdnusskonzentrationen erreicht wurde, herangezogen (CD maximum „CD-max“) (nach [195]).

### **2.4.7 T-Zell-Stimulation und Zytokinnachweis**

Zur Bestimmung der allergenspezifischen T-Zell-Zytokinproduktion wurden zunächst PBMCs aus Vollblut isoliert und anschließend für 48 Stunden mit Erdnussextrakt stimuliert. Die Bestimmung sezernierter Zytokine im Überstand erfolgte mit Hilfe eines Cytometric Bead Array (CBA). Die Quantifizierung erfolgte durch Messung am Durchflusszytometer.

### **Testprinzipien**

#### **Isolation mittels Dichtegradientenzentrifugation**

Die Isolation von PBMCs aus Vollblut erfolgte nach dem Prinzip der Ficoll-Dichtegradientenzentrifugation. Hierdurch können PBMCs durch Übersichtung der Probe auf ein Separationsmedium definierter Dichte und anschließender Zentrifugation von anderen Zellen wie Erythrozyten, Granulozyten und Zellfragmenten getrennt werden. Das eingesetzte Separationsmedium Biocoll enthält als Polymer Polysucrose (Saccharose-Epichlorhydrin-Copolymer), wodurch alle Zellen höherer Dichte (z.B. Erythrozyten, Granulozyten und tote Zellen)

die Biocollschicht passieren. PBMCs hingegen reichern sich als sogenannter „buffy coat“ in der Intermediärphase zwischen der oberen Plasmaschicht und der Biocoll-Trennlösung an.

### **Messung von Zytokinen im Überstand mittels Cytometric Bead Array (CBA)**

Mit Hilfe des CBA, einem kommerziell erhältlichem Multiplex Sandwich Immunoassay, können parallel mehrere Zytokine im Zellüberstand mittels Durchflusszytometrie quantifiziert werden. Auf der Oberfläche von Mikropartikeln, sogenannten „Beads“, sind Zytokin-spezifische Antikörper gebunden. Nach Inkubation mit den Zellkulturüberständen kommt es zu einer spezifischen Bindung der Zytokine mit den an den Beads gebundenen Antikörpern. Restliche, nicht spezifisch gebundene Substanzen werden durch Waschen entfernt. Jede Partikelpopulation unterscheidet sich in ihrer Eigenfluoreszenz, wodurch sie später im Durchflusszytometer unterschieden werden können. Nach der Zugabe eines zweiten Fluoreszenz-markierten spezifischen Detektions-Antikörpers kann anschließend die Menge an gebundenen Zytokinen am Durchflusszytometer quantifiziert werden. Die Fluoreszenzintensität ist dabei proportional zur Menge der gebundenen Detektions-Antikörper und somit auch proportional zur Menge der gebundenen Zytokine. Anhand von Standardkurven können die jeweiligen Zytokinlevel quantifiziert werden.

### **Testablauf**

#### **Isolation peripherer mononukleärer Zellen**

Für die in-vitro Stimulation von PBMCs wurde heparinisiertes venöses Vollblut verwendet. Die Aufarbeitung erfolgte innerhalb von 30 Minuten nach der Blutentnahme, bis dahin wurde das Blut bei Raumtemperatur gelagert. Alle folgenden Arbeitsschritte erfolgten unter sterilen Bedingungen. Das Blut wurde zunächst für 10 Minuten bei 1500 rpm (Heraeus Multifuge) bei Raumtemperatur zentrifugiert. Das Blutplasma wurde mit einer Transferpipette abgetrennt und je 550 µl für die Herstellung des Zellkulturmediums verwendet. Der restliche Plasmaüberstand wurde erneut für 10 min bei 1500 rpm bei Raumtemperatur zentrifugiert und bei -20°C für spätere Untersuchungen eingefroren. Das entnommene Überstandsvolumen wurde mit PBS (1x) aufgefüllt, das Blutröhrchen leicht geschwenkt und der Inhalt vorsichtig in 50 ml Falconröhrchen überführt. Das Blut wurde erneut 1:1 mit PBS verdünnt und je 5 ml in Gewebekulturröhrchen vorsichtig auf 3 ml Biocoll-Trennlösung (Dichte 1,077 g/ml) geschichtet und für 20 Minuten bei 400 x g (Heraeus Multifuge) bei Raumtemperatur ohne Bremse zentrifugiert. Im Anschluss konnten die PBMCs aus der Interphase zwischen dem oberen Plasmaüberstand und der Trennlösung vorsichtig mit Transferpipetten abgenommen und in Gewebekulturröhrchen überführt werden. Es folgten drei Waschschrte, bei denen das Isolat mit je 10 ml PBS, PBS (1% AB-Serum) bzw. PBS (5% AB-Serum) vorsichtig versetzt und für 10 min bei 1400 rpm (Heraeus Multifuge) bei Raumtemperatur zentrifugiert wurden. Nach dem letzten Waschschrte wurde der Überstand vollständig abgesaugt

und das Zellpellet vorsichtig mit 980 µl RPMI 1640-Medium +10% autologem Plasma resuspendiert. Vor Stimulation der Zellen wurde die Leukozytenkonzentration der Zellsuspension bestimmt. Hierfür wurden 50 µl der Zellsuspension mit 200 µl RPMI 1640-Medium mit 10% autologem Patientenplasma versetzt, gründlich vermischt und mit Hilfe eines Zellzahlgerätes (Sysmex XE-2100) die Gesamtleukozytenanzahl pro ml der Zellsuspension ermittelt. Anschließend wurde die Zellsuspension mit PBS (5% AB-Serum) auf eine Zelldichte von  $10 \times 10^6$  Leukozyten/ml eingestellt.

### **In-vitro-Stimulation von PBMCs**

Für die Stimulation der Zellen wurden je 200 µl der Zellsuspension im Verhältnis 2:3 mit (1) Zellkulturmedium (RPMI-Medium mit 10% autologem Plasma) allein als Negativkontrolle, (2) Phytohämagglutinin (PHA) (Endkonzentration 20 µg/ml) als Positivkontrolle oder (3) mit Erdnussextraktlösung (Endkonzentration 50 µg/ml) (siehe Kapitel 2.4.5) als allergenspezifisches Stimulanz versetzt. PHA hat eine mitogene Wirkung und fungiert als unspezifisches Lymphozyten-Stimulanz. Je Stimulationsansatz wurden  $2 \times 10^6$  Leukozyten ( $4 \times 10^6$  Leukozyten/ml) in Röhrchen mit Belüftungsstopfen kultiviert. Die PBMC-Stimulationsansätze wurden in einem Begasungsbrutschrank bei 37°C in einer mit Wasserdampf gesättigten Atmosphäre mit 5% (v/v) CO<sub>2</sub> für 48 h kultiviert. Nach Ablauf der Inkubationszeit wurden die Zellsuspensionen gemischt und für 5 Minuten mit 1200 rpm (Sorvall RT 6000D Zentrifuge) bei Raumtemperatur zentrifugiert. Die Überstände wurden abgenommen und bis zur Messung am Durchflusszytometer bei -80°C gelagert. Es wurde zu jedem Zeitpunkt pro Patient und pro Stimulation je ein Ansatz durchgeführt (Einfachbestimmung).

### **Zytokinquantifizierung in Zellkulturüberständen**

Die verschiedenen T-Zell-Zytokine in den Zellkulturüberständen wurden mittels CBA (Human Th1/Th2 Cytokine Kit, BD Bioscience) und anschließender Messung am Durchflusszytometer quantitativ bestimmt. Mit dem verwendeten Testsystem konnten die Th1-spezifischen Zytokine IFN-γ und TNF-α, die Th-2 spezifischen Zytokine IL-4 und IL-5, das Zytokin IL-10, was auch von Th-2- aber vorrangig von Treg-Zellen sezerniert wird, und IL-2, welches von verschiedenen Th-Zell-Subtypen produziert wird, detektiert werden. Das Kit beinhaltete demnach sechs unterschiedlich stark fluoreszierende „Bead“- Populationen. Die Durchführung erfolgte gemäß der Angaben des Herstellers, die Messung erfolgte am Durchflusszytometer (FACSCanto II, BD, Heidelberg). Aufgrund unterschiedlicher Eigenfluoreszenz können die unterschiedlichen „Bead“-Populationen am Durchflusszytometer differenziert werden. Als Detektions-Antikörper wurden sechs verschiedene Zytokin-spezifische PE-markierte Antikörper eingesetzt, wodurch anhand der jeweiligen Fluoreszenzintensität der Sandwich-Komplexe die Zytokinkonzentration bestimmt werden konnte. Mit Hilfe der Standardkurven wurden die jeweiligen Zytokinkonzentrationen der Proben in pg/ml ermittelt. Die Nachweisgrenze lag für IL-2 und IL-4 bei 2,6 pg/ml, für IL-5 bei 2,4 pg/ml, für IL-10

und TNF- $\alpha$  bei 2,8 pg/ml und IFN- $\gamma$  bei 7,1 pg/ml. Die Erfassung der Daten erfolgte mit der FACSDiva Software (BD). Die Rohdaten wurden im Folgenden in die FCAP Array Software (BD) für die Datenauswertung importiert und gemäß der Angaben des Herstellers ausgewertet. Zur weiteren Auswertung wurden die Rohdaten in SPSS übertragen. Für die Zytokinkonzentration nach in-vitro Stimulation mit Erdnussextrakt oder PHA wurde jeweils die Zytokinkonzentration der Mediumkontrolle abgezogen.

## 2.5 Studiennahrung

Im Rahmen der doppelblind, Placebo-kontrollierten OIT-Studie war es nötig einerseits eine standardisierte Verum-Studiennahrung mit einem konstanten Erdnussproteingehalt herzustellen und andererseits die Verum- und Placebo-Studiennahrung adäquat zu verblinden. Erdnuss ist sehr dominant im Geruch und Geschmack, der von Erdnussallergiker insbesondere häufig als sehr bitter empfunden wird.

### 2.5.1 Herstellung

Für die OIT-Studiennahrung diente als standardisierte Matrix ein spezielles Schokoladenpudding-Konzentrat. Die Matrix wurde nach einem Rezept hergestellt, das im Rahmen des EU-finanzierten Projektes EuroPrevall speziell zur Zubereitung und Verblindung von Nahrungsmittelprovokationen in Zusammenarbeit mit dem Institute of Food Research (Norwich, Großbritannien) und Unilever R&D BV (Vlaardingen, Niederlande) etabliert wurde [196]. Dieses Konzentrat konnte im Laufe der Studie von den Eltern zu Hause mit Wasser zu einem verzehrfertigen Schokoladenpudding angerührt werden. Die Herstellung der Studiennahrung im Rahmen der vorliegenden Studie erfolgte in der Großküche der Charité Berlin, Campus Virchow Klinikum. Zur Qualitätssicherung wurde dabei auf grundlegende Prinzipien der „Guten Hygienepraxis“ und „Guten Herstellungspraxis“ geachtet. Etwa alle vier bis fünf Monate wurden drei verschiedene Rezepturen der Studiennahrung hergestellt: (1) ein Erdnuss-freies Placebo-Konzentrat, (2) ein „niedrig-dosiertes“ Verum-Konzentrat (= 1 mg Erdnussprotein/ml zubereiteter Studiennahrung) und (3) ein „hoch-dosiertes“ Verum-Konzentrat (= 5 mg Erdnussprotein/ml zubereiteter Studiennahrung) (Tabelle 2.5). Für die Herstellung der Studiennahrung wurden folgende Zutaten verwendet: kaltquellende Stärke (ULTRA-TEX 4 modifizierte Maisstärke, National Starch, Hamburg), Kakaopulver (Cebe Cacao schwach entölt, Wilhelm Reuss, Berlin), Rapsöl (Feines Pflanzenöl Rapsöl, Karl Heidenreich GmbH, Mannheim), Puderzucker (sweet family, Nordzucker, Braunschweig), Süßstoff (Huxol flüssig, Nutrisun, Sevetal) und Emulgator Polysorbat 60/ E435 (Tween 60, Croda, Singapur). Die maximale Dosis an Polysorbat 60 lag unterhalb der hierfür vorgeschriebenen zulässigen Höchstmengen (siehe Anhang Kapitel A.1.4). Alle Zutaten enthielten laut Angaben der

jeweiligen Hersteller weder Erdnuss als Zutat, noch wurden Erdnuss oder erdnusshaltige Produkte in der jeweiligen Firma verarbeitet. Als Erdnussproteinquelle für die zwei Rezepturen der Verum-Studiennahrung wurde leicht geröstetes, entfettetes Erdnussmehl mit einem Proteingehalt von 50% verwendet (Peanut Flour light 12%, Byrd Mill Company, Virginia, USA). Der jeweilige Gewichtsanteil der einzelnen Zutaten der drei unterschiedlichen Rezepturen der Studiennahrung ist in Tabelle 2.5 aufgeführt. Je nach Bedarf wurden Chargen zwischen 5-35 kg von jeder Studiennahrung hergestellt.

Tabelle 2.5: Zutaten und jeweilige Gewichtsanteile der drei verschiedenen Rezepturen der Studiennahrung für die orale Immuntherapie. Nach Zugabe von 300 g Wasser zu 128,57 g des jeweiligen Konzentrats, ergab sich für die verzehrfertige Studiennahrung eine Erdnussproteinkonzentration von 5 mg/ml („hoch-dosierte“ Verum-Studiennahrung), 1 mg/ml („niedrig-dosierte“ Verum-Studiennahrung) bzw. 0 mg/ml (Placebo-Studiennahrung).

Zutat	Anteil (%)		
	Verum „hoch-dosiert“	Verum „niedrig-dosiert“	Placebo
Erdnussmehl <sup>§</sup>	3,40	0,68	0,00
Stärke	17,10	19,92	18,40
Kakao	25,60	25,60	14,70
Pudierzucker	25,60	25,60	36,80
Rapsöl	27,15	27,05	28,95
Tween 60	0,70	0,70	0,70
Süßstoff	0,45	0,45	0,45

§= Proteinanteil 50%

Die Placebo-Studiennahrung wurde stets vor der Verum-Studiennahrung hergestellt um Kontaminationen mit Erdnuss noch besser vermeiden zu können. Vor und nach jeder Produktion einer der drei Rezepturen wurden alle verwendeten Geräte und Utensilien gründlich gereinigt. Die trockenen Zutaten (Stärke, Kakao, Pudierzucker und ggf. Erdnussmehl) wurden abgewogen und in den Bottich eines Spiralkneters (Spiralkneter SP 40 D, Diosna Dierks & Söhne, Osnabrück) gegeben und auf niedrigster Stufe vorsichtig vermengt. Rapsöl und Tween 60 wurden abgewogen, vorsichtig mit einem Schneebesen vermischt und in einem Topf auf einer Heizplatte auf etwa 40°C erwärmt, bis sich eine homogene Mischung bildete. Diese Mischung wurde zu den trockenen Zutaten in den Bottich des Spiralkneters gegeben und zunächst auf niedrigster Stufe für 2 min und dann auf höchster Stufe für 5 min verknetet. Aufsteigender „Staub“ der trockenen Zutaten an den Rändern des Bottichs und der Knetspirale wurde mit einem Teigspatel in Richtung des entstandenen Breis zurückgeschoben. Die Mischung wurde dann erneut auf höchster Stufe für 20 min geknetet. Im Anschluss wurden für die Analyse der Studiennahrungen auf deren Erdnussproteingehalt und mögliche mikrobielle Kontamination von verschiedenen Stellen im Bottich je 12 Proben à 50 ml (BD, Falcon) entnommen (siehe Kapitel 2.5.2). Die restliche Mischung wurde dann in saubere, verschließbare Gefäße für die Patienten abgefüllt (Salbenkruken mit Dichtscheiben und Deckel

1000 g, Zscheile & Klinger GmbH, Hamburg). Pro Gefäß wurden 128,57 g der Studiennahrung eingewogen (Sartorius Präzisionswaage, Göttingen), so dass nach Zugabe von 300 g Wasser ein Erdnussproteingehalt von 1 mg/ml bzw. 5 mg/ml in der verzehrfertigen Verum-Studiennahrung enthalten war. Das abgefüllte Konzentrat der Studiennahrung konnte bei Raumtemperatur ( $\leq 20^{\circ}\text{C}$ ) bis zu 6 Monaten gelagert werden. Das Abfüllen und Etikettieren erfolgte nur durch unverblindetes Studienpersonal. Die Gefäße der Verum-Studiennahrung wurden mit Angabe des Herstellungs- und Haltbarkeitsdatums und der enthaltenen Erdnussproteinkonzentration („niedrig-dosiert“ bzw. „hoch-dosiert“) etikettiert. Gefäße, die die Placebo-Studiennahrung enthielten, wurden entsprechend je zur Hälfte als „niedrig-dosierte“ bzw. „hoch-dosierte“ Studiennahrung gekennzeichnet. Eine Unterscheidung zwischen Placebo und Verum war aus Sicherheitsgründen anhand unterschiedlicher Hintergrundsymbole auf dem Etikett möglich, dessen Zuordnung jedoch nur für das unverblindete Studienpersonal möglich war. Patienten, Eltern und die Studienärzte waren bezüglich dieser Zuordnung verblindet.

### **2.5.2 Analyse der Studiennahrung hinsichtlich Mikrobiologie und Proteingehalt**

Jede hergestellte Charge der Verum- und Placebo-Studiennahrung wurde vor Ausgabe an die Patienten hinsichtlich des Gehalts an Erdnussprotein sowie dessen homogene Verteilung und einer möglichen mikrobiellen Kontamination in externen Analyselaboren untersucht.

Alle Analysen und statistischen Berechnungen zum Erdnussproteingehalt der Studiennahrung erfolgten durch die Abteilung Allergologie des Paul-Ehrlich-Instituts. Die Erdnussprotein-Quantifizierung der verschiedenen Rezepturen erfolgte mit Hilfe eines erdnusspezifischen ELISA [197]. Die Nachweisgrenze des ELISA lag bei 0,11 ppm Erdnussprotein. Für die Homogenitätstestung des Erdnussproteingehalts innerhalb einer Charge wurden die Messergebnisse von 10 Proben einer Charge herangezogen. Bei einem Variationskoeffizient  $< 15\%$  wurde dabei von einer homogenen Verteilung ausgegangen. Auch jede neue vom Hersteller gelieferte Charge des Erdnussmehls wurde zum einen auf den Proteingehalt nach Herstellerangaben mittels Kjeldahl-Verfahren sowie auf deren allergenes Potential in vitro mittels spezifischen IgE-Inhibitionstest mit Patientenseren mit ELISA überprüft, um im Laufe der Studie einen konstanten Allergengehalt zu gewährleisten. Dabei kam es einmalig zum Nachweis eines erhöhten allergenen Potentials des Erdnussmehls in vitro um den Faktor 2. Daraufhin wurden alle Patienten angewiesen bei der Umstellung auf diese neue Charge der Studiennahrung ihre OIT-Dosis innerhalb des Steigerungsschemas um eine Stufe herunter zu stufen und die Studiennahrung beim ersten Verzehr unter ärztlicher Aufsicht im jeweiligen Studienzentrum zu sich zu nehmen. Entsprechendes Prozedere wurde im Anschluss prophylaktisch für alle weiteren neun Chargen der Studiennahrung durchgeführt (siehe Kapitel 2.6.2). Außerdem erfolgte eine Überprüfung auf einen stabilen Erdnussproteingehalt von einer

frisch zubereiteten im Vergleich zu einer für 40 Tage bei -20°C tiefgefrorenen „hoch-dosierten“ Verum-Studiennahrung.

Die Analyse der hergestellten Konzentrate auf mikrobiologische Kontamination erfolgte durch das SGS Institut Fresenius, Berlin, nach nationalen und internationalen Standards. Folgende Parameter wurden von jedem Konzentrat bestimmt: aerobe mesophile Koloniezahl, Schimmelpilze, *Enterobacteriaceae*, *Echerichia coli*, Koagulase-positive Staphylokokken, präsumtive *Bacillus cereus*, Sporen Sulfid-reduzierender Clostridien und *Salmonella*. Die Ergebnisse lagen für alle Parameter stets <10 Kolonie bildenden Einheiten/g, bzw. negativ hinsichtlich Salmonellen, Gesamtkeimzahl <10<sup>4</sup>/ml.

### **2.5.3 Zubereitung der verzehrfertigen Studiennahrung**

Die genaue Zubereitung der Studiennahrung wurde mit den Eltern vor Einschluss in die Studie ausführlich geübt. Die Eltern erhielten zusätzlich ein Informationsblatt, in dem die Aufbewahrung, Zubereitungsschritte und Dosierung der Studiennahrung genau beschrieben waren (siehe A.1.1). Für die Zubereitung der fertigen Studiennahrung wurden 300 g Wasser zu dem jeweiligen Konzentrat hinzugefügt und mindestens 5 min mit einem elektronischen Rührgerät vermischt bis eine weiche, homogene Masse entstand. Die Studiennahrung musste zum Quellen und zur Wasserbindung durch die kaltquellende Stärke bei 2-5°C für mindestens 30 min ruhen. Im Anschluss wurde die Studiennahrung erneut mit dem elektronischen Rührgerät kurz vermischt. Nach der Zubereitung konnte eine Portion der verzehrfertigen Studiennahrung für maximal 24 Stunden im Kühlschrank und maximal 40 Tage im Gefrierfach gelagert werden. Mit Hilfe eines Messlöffelset (Messlöffel à 0,5 ml, 1 ml, 2,5 ml, 5 ml, 10 ml, 15 ml, 25 ml und 50 ml Bürkle GmbH, Bad Bellingen) konnten die Eltern zu Hause das täglich zu verzehrende Volumen der OIT-Studiennahrung und somit die entsprechende Erdnussproteindosis genau abmessen (Tabelle 2.2).

Im Laufe des gesamten Studienzeitraums konnten die Familien das Studienpersonal telefonisch oder per Email kontaktieren, falls es Rückfragen zur Studiennahrung gab oder neue Studiennahrung benötigt wurde. Der Versand der Studiennahrung erfolgte ausschließlich durch unverblindetes Studienpersonal. In den Sommermonaten wurden die Behältnisse mit der Studiennahrung 2 Tage vor Versand bei 4°C gelagert und die Pakete zusätzlich mit Kühl-Akkus ausgestattet um ein mögliches Auslaufen der Studiennahrung zu verhindern.

## 2.6 Standardisierte Vorgehensweise bei Nebenwirkungen

### 2.6.1 Nebenwirkungen

#### Erfassung von Nebenwirkungen

Die Eltern erhielten zu Beginn der Studie (V0) ein Patiententagebuch, das über den gesamten Studienzeitraum geführt werden sollte. Dort sollte täglich die Dosis und der Zeitpunkt der verabreichten OIT-Studiennahrung, jegliche Symptome mit zeitlichem Abstand zur OIT-Gabe, allergische Reaktionen aufgrund eines möglichen akzidentellen Erdnussverzehr, auftretende bakterielle oder virale Infekte, eine Verschlechterung parallel bestehender atopischer Erkrankungen sowie verabreichte Medikamente dokumentiert werden. Um jegliche Symptome unter OIT zu erfassen wurde bewusst keine Auswahl an möglich auftretenden Nebenwirkungen unter OIT im Tagebuch vorgegeben. Für den Fall schwerer allergischer Reaktionen waren die Eltern angehalten den Notarzt unter 112 anzurufen. Des Weiteren konnten die Familien über den gesamten Studienzeitraum die Studienärzte 24 Stunden am Tag telefonisch erreichen. Alle ein bis zwei Wochen wurden die Familien außerdem von der hauptverantwortlichen Studienärztin telefonisch kontaktiert, um die Steigerungsschritte zu überprüfen, aufgetretene Nebenwirkungen und verabreichte Medikamente zu erfassen sowie gegebenenfalls eine Reduktion der OIT-Dosis vorzunehmen (siehe Kapitel 2.6.2). Die Erfassung der Nebenwirkungen unter OIT erfolgte auf Basis des Patiententagebuchs sowie einer elektronischen Patientenakte, die auf Basis der Telefonate fortlaufend geführt wurde. Auch die Compliance über die tägliche Einnahme der Studiennahrung wurde so überprüft. Auftretende Nebenwirkungen wurden ab dem Zeitpunkt der ersten Einnahme der Studiennahrung gewertet. Eine Nebenwirkung wurde entsprechend der Verordnung für gute klinische Praxis §3 (6) definiert, als jedes nachteilige Vorkommnis, das einer betroffenen Person wiederfährt, der ein Prüfpräparat verabreicht wurde und das nicht notwendigerweise in ursächlichem Zusammenhang mit dieser Behandlung steht [198].

#### Einteilung der Nebenwirkungen nach Objektivierbarkeit und zeitlichem Auftreten

Je nach zeitlichem Auftreten der Symptome, wurden die Nebenwirkungen eingeteilt in:

- zeitlich assoziiert zur OIT-Gabe (= innerhalb von zwei Stunden nach Einnahme der OIT-Studiennahrung), und somit in Zusammenhang oder in möglichem Zusammenhang mit der OIT-Gabe
- zeitlich nicht assoziiert zur OIT-Gabe (= nach zwei Stunden der Einnahme der OIT-Studiennahrung oder am Folgetag vor der nächsten Einnahme)

Außerdem erfolgte eine Einteilung auftretender Symptome hinsichtlich Ihrer Objektivierbarkeit und des betroffenen Organsystems (Tabelle 2.6).

Tabelle 2.6: Einteilung von Nebenwirkungen nach Objektivierbarkeit und betroffenem Organsystem.

<b>Subjektive Nebenwirkungen</b>	
Haut	Juckreiz
Gastrointestinaltrakt	Bauchschmerzen, Übelkeit
Orales Allergiesyndrom (OAS)	Kribbeln oder Juckreiz im/um den Mund, Räuspern, Kloßgefühl
Divers	z.B. Gelenkschmerzen, Kopfschmerzen, Halsschmerzen, Ohrenschmerzen, Fieber
<b>Objektive Nebenwirkungen</b>	
Haut	Kontakturtikaria, generalisierte Urtikaria, Angioödem, Flush, Ekzemenneubildung oder- Verschlechterung*
Gastrointestinaltrakt	Erbrechen, Diarrhoe
Obere Atemweg	Konjunktivitis, Rhinitis, Nießen, Rhinokonjunktivitis
Larynx	Heiserkeit, Stridor
Untere Atemwege	Husten, Giemen/ Pfeifen/ pulmonale Obstruktion/ Peak-flow Abfall, Atemnot
Kardiovaskuläres System	Blutdruckabfall, Kreislaufstillstand/ Bewusstlosigkeit

\*= nur in Verbindung mit einer Anwendung topischer Glukokortikoide

Zusätzlich wurde erhoben, in welcher Phase der OIT die Nebenwirkungen auftraten: (1) im Laufe der Steigerungsphase zu Hause, (2) im Rahmen einer ambulanten OIT-Dosissteigerung oder (3) während der Erhaltungsphase.

Falls es an einem Tag unter OIT zum wiederholten Auftreten eines Symptoms kam, wurde es trotzdem nur einmal gewertet (Beispiel: (1) Einmalig Urtikaria innerhalb von 2 Stunden nach Einnahme der OIT-Studiennahrung → einmal Urtikaria zeitlich assoziiert zu der OIT; (2) Mehrmaliges Husten innerhalb von 2 Stunden nach Einnahme der OIT-Studiennahrung → einmal Husten zeitlich assoziiert zu der OIT). Doppelt gewertet wurde ein Symptom an einem Tag unter OIT nur dann, wenn es sowohl zeitlich assoziiert als auch nicht-assoziiert zu der OIT-Gabe auftrat.

### **Schweregrad der Nebenwirkungen**

Zur Bewertung des Schweregrads wurden objektive Symptome unter OIT entsprechend zu den auftretenden Symptomen unter oraler Provokation auf einer Skala von I bis V bewertet (Tabelle 2.4). Der Schweregrade wurde sowohl für zeitlich assoziierte, als auch zeitlich nicht assoziierte objektive Symptome bestimmt. Falls es an einem Tag unter OIT zu mehreren Symptomen kam, so wurde für die Bewertung des Schweregrads stets das schwerste Symptom herangezogen (Beispiel: Juckreiz (Schweregrad I) und Husten (Schweregrad III) innerhalb von 2 Stunden nach Einnahme der OIT-Studiennahrung → Symptom des Schweregrad III zeitlich assoziiert zu der OIT). Als „schwere Nebenwirkungen“ wurden in der vorliegenden Arbeit Symptome des Schweregrads IV und V definiert.

### **Schwerwiegende unerwünschte Ereignisse**

Schwerwiegende unerwünschte Ereignisse (SAE) wurden entsprechend der Verordnung für gute klinische Praxis §3 (8) folgendermaßen definiert: ein SAE ist jedes unerwünschte Ereignis oder jede Nebenwirkung, das oder die tödlich oder lebensbedrohlich ist, eine stationäre Behandlung oder deren Verlängerung erforderlich macht oder zu bleibender oder schwerwiegender Behinderung oder Invalidität führt oder eine kongenitale Anomalie oder einen Geburtsfehler zur Folge hat [198].

### **Allergische Reaktion nach akzidentellem Erdnussverzehr**

Plötzlich auftretende allergische Soforttypreaktionen im Laufe des Studienzeitraums wurden nach einer entsprechenden ausführlichen Anamnese und nach ärztlicher Einschätzung als eine allergische Reaktionen nach akzidentellem Erdnussverzehr definiert. Hierfür wurden im Detail alle auftretenden Symptome mit jeweiligem Schweregrad, verabreichte Medikamente, das verzehrte Nahrungsmittel, der Zeitraum zwischen Verzehr und Reaktionsbeginn, sowie der Verzehrs- und Reaktionsort erfasst. Alle möglichen allergischen Reaktionen nach akzidentellem Erdnussverzehr wurden als Nebenwirkungen unter OIT erfasst.

## **2.6.2 Dosisreduktion**

### **Dosisreduktion aufgrund von Nebenwirkungen**

Ob und in welchem Maße bei auftretenden Symptomen eine Reduktion der OIT-Dosis erfolgte, war abhängig von Faktoren wie der Schwere der Symptome oder dem zeitlichen Auftreten zur Einnahme der OIT. Hierfür lagen schriftliche standardisierte Handlungsanweisungen vor, die durch das ärztliche Studienpersonal ausgeführt wurden (Details siehe SOP, A.1.5).

### **Dosisreduktion aufgrund von Infekten**

Traten Nebenwirkungen auf, die als Symptome eines viralen oder bakteriellen Infekts beurteilt wurden, wurde die OIT-Dosis nach einem festgelegten „Infekt-Schema“ prophylaktisch reduziert. Dabei wurden die Patienten angehalten für drei Tage 50% ihrer individuellen OIT-Dosis zu sich zu nehmen, gefolgt von 75% der OIT-Dosis für weitere drei Tage. Im Anschluss konnten sie erneut ihre Ausgangsdosis einnehmen und diese erneut für 14 Tage bis zur nächsten Steigerung der OIT-Dosis zu sich nehmen.

### **Dosisreduktion aufgrund einer neuen Charge der Studiennahrung**

Aus Sicherheitsgründen (siehe Kapitel 2.5.2) wurde die OIT-Dosis prophylaktisch um einen Steigerungsschritt reduziert, falls eine neue Charge der OIT-Studiennahrung zum Einsatz kam.

### 2.6.3 Vorzeitiger Studienausschluss

Zu einem vorzeitigen Studienausschluss kam es: (1) bei wiederholtem Auftreten objektiver, zeitlich assoziierter Symptome auf eine bestimmte individuelle OIT-Dosis. Es wurden maximal drei Versuche einer Steigerung über die entsprechende Dosis vorgenommen, bevor ein vorzeitiger Studienausschluss in Betracht gezogen wurde; (2) bei Auftreten eines SAE, das zeitlich assoziiert mit der OIT-Gabe stand; (3) aufgrund einer entsprechender Entscheidung des Patienten und/oder deren Eltern gegen eine weitere Studienteilnahme; (4) aufgrund einer entsprechenden Entscheidung durch die Studienärztin wegen Sicherheitsbedenken (z.B. unzureichende Einhaltung des Studienprotokolls oder wiederholt auftretende, gastrointestinale Beschwerden zeitlich assoziiert mit der OIT-Studiennahrung). Der Entschluss über einen vorzeitigen Studienausschluss wurde durch die verblindete studienärztliche Leitung getroffen. Erst im Anschluss wurde die Gruppenzugehörigkeit des Patienten aufgedeckt.

## 2.7 Fragebögen zur Lebensqualität und Therapiebelastung

### 2.7.1 Erfassung der Lebensqualität

Vor Beginn und am Ende der OIT-Studie wurde die Lebensqualität der Patienten mit Hilfe altersspezifischer Fragebögen erfasst. Hierfür wurden standardisierte, speziell für Nahrungsmittelallergiker entwickelte Fragebögen zur Lebensqualität (FAQLQ, Food Allergy Quality of life Questionnaires) herangezogen. Die FAQLQs wurden im Rahmen der EuroPrevall-Studie, eine europäische, multizentrische Studie zur Erforschung von Nahrungsmittelallergien [199], erstellt und validiert [200-202]. Im Rahmen der EuroPrevall-Studie wurden die FAQLQs nach internationalem Standard aus dem Englischen ins Deutsche übersetzt und rückübersetzt. Fragebögen zur Lebensqualität für drei verschiedene Altersgruppen standen zur Verfügung (Fragebögen für Erwachsene und Kindern siehe Anhang A.1.2). Der Fragebogen für Kinder von 8-12 Jahren (FAQLQ-CF, Child Form) enthielt Fragen zu vier Lebensqualität-Domänen: „Allergenmeidung“, „diätetische Einschränkung“, „Leidensdruck“, „Risiko vor versehentlichem Allergenkontakt“. Der Fragebogen für Jugendliche von 13-17 Jahren (FAQLQ-TF, Teenager Form) beinhaltete Fragen zu drei Lebensqualität-Domänen: „Allergenmeidung und diätetische Einschränkung“, „Leidensdruck“, „Risiko vor versehentlichem Kontakt“. Es wurden nicht nur die Patienten selbst zu ihrer Lebensqualität befragt, sondern auch die Eltern sollten die Lebensqualität ihres Kindes bewerten. Um eine möglichst homogene Population der Eltern zu erhalten wurde ausschließlich ein Elternteil, die Mutter, befragt. Der Fragebogen für Eltern von Kindern von 3-12 Jahren (FAQLQ-PF, Parental Form) enthielt Fragen zu folgenden drei Lebensqualität-Domänen: „soziale und diätetische Einschränkungen“, „Leidensdruck“, „Ängstlichkeit vor Nahrungsmitteln“. Jede Frage konnte auf einer 7-Punkte Likert-Skala von 1 (= keine Einfluss) bis 7 (= extremer Einfluss) bewertet werden. Die

Rohdaten des Fragebogens für Eltern und Jugendliche wurden entsprechend von 0-6 auf 1-7 umcodiert um eine statistische Analyse zu ermöglichen [200]. Jede Familie erhielt zu Beginn der Studie, zwischen V0 und V1, einen Fragebogen um die Lebensqualität vor Intervention zu messen. Dieser Fragebogen musste zu Hause und vor der oralen Provokation mit Erdnuss ausgefüllt werden, ansonsten wurde der Fragebogen von der Analyse ausgeschlossen. Vier bis sechs Wochen nach V3 wurde den Familien erneut ein Fragebogen zugeschickt. Für jeden Lebensqualitäts-Fragebogen wurde die jeweilige Gesamtpunkteanzahl aller Fragen sowie die Gesamtpunkteanzahl der einzelnen Lebensqualität- Domänen berechnet. Hierfür wurden jeweils die angekreuzten Skalenwerte addiert und durch die entsprechende Anzahl an Fragen geteilt. Eine minimale Veränderung der Lebensqualität, die für Patienten als klinisch relevant angesehen wird (MID „minimal important difference“), wird auf Basis der hier angewandten Punkte-Skala des Fragebogens auf einen Wert von -0,5 geschätzt [203].

### **2.7.2 Erfassung der Therapiebelastung**

Mit Hilfe eines weiteren Fragebogens sollten Patienten und deren Mütter die Vor- und Nachteile der Therapie aus der jeweils eigenen Sicht bewerten. Die Fragebögen zur Therapiebelastung (Burden of treatment (BoT)) wurden den Familien einmal im Laufe der verblindeten Studienphase etwa 3-4 Monate nach Beginn der OIT (nach V2.1) und erneut etwa 4-5 Wochen nach V3 zugeschickt. Die Fragebögen wurden ursprünglich zur Erfassung der Therapiebelastung unter SIT bei Insektengiftallergikern entwickelt und validiert [204] und in der vorliegenden Studie für Patienten mit Nahrungsmittelallergie angepasst. Die Fragebögen zur Therapiebelastung lagen entsprechend zu den Lebensqualitäts-Fragebögen für Eltern von Patienten zwischen 3-12 Jahren (BoT-PF), für Kinder zwischen 8-12 Jahre (BoT-CF) und für Jugendliche zwischen 13-17 Jahren (BoT-TF) vor (Fragebögen für Erwachsene und Kindern siehe Anhang A.1.3). Im ersten Teil des Fragebogens sollten die Vor- und Nachteile der OIT auf einer 7-Punkte-Skala von 1 (= sehr positiv) bis 7 (= sehr negativ) bewertet werden. Ein Wert zwischen 1-3 wird als insgesamt „positiver BoT“, im Folgenden als positive Bewertung der Therapie bezeichnet, und ein Wert zwischen 4-7 als insgesamt „negativer BoT“, im Folgenden negative Bewertung der Therapie bezeichnet, definiert [204]. Im zweiten Teil des Fragebogens wurde erfragt, ob die OIT erneut als Therapieoption durchgeführt werden würden.

## **2.8 Statistische Auswertung**

### **2.8.1 Fallzahlschätzung**

Vor Beginn der Studie lagen noch keine verlässlichen Daten zur Fallschätzung in der Literatur vor, da zu diesem Zeitpunkt noch keine Studien zur OIT bei Erdnussallergie publiziert waren. Anhand

von Ergebnissen bereits veröffentlichter Studien zur Kuhmilch-OIT und der in der eigenen Arbeitsgruppe durchgeführten „rush“-OIT-Studie bei Erdnussallergie [143], wurde von einer Wirksamkeit hinsichtlich des primären Endpunktes von ca. 65% bei Patienten der Verumgruppe ausgegangen (= partielle Desensibilisierung). In der Placebogruppe wurde von einer Rate von ca. 15% ausgegangen, basierend auf epidemiologischen Daten zur spontanen Toleranzentwicklung bei Erdnussallergie [96]. In der „rush“-OIT-Studie bei Erdnussallergie lag die Dropout-Rate bei ca. 20%. Auf Basis dieser Daten erfolgte eine Powerabschätzung durch das Koordinationszentrum für klinische Studien (KKS) der Charité. Diese ergab: „Unter Verwendung eines einseitigen Fisher-Exakt-Tests mit Signifikanzniveau von  $\alpha/2 = 0,05$  würde eine Fallzahl von 44 Personen (22 auswertbare Personen pro Gruppe (Per-Protokoll-Population)) eine Power von mindestens 90% liefern, um einen Wirksamkeits-Unterschied zwischen 65 % in der Interventionsgruppe und 15 % in der Kontrollgruppe erkennen zu lassen. Um eine angenommene Dropout-Rate von ca. 20% auszugleichen, sollten initial insgesamt 56 Personen, also 28 pro Gruppe, eingeschlossen werden.“

### **2.8.2 Datenanalyseprinzip - Studienpopulation der Auswertung**

Als „Intention to treat“ (ITT)-Studienpopulation wurden alle randomisierten Patienten definiert, unabhängig davon ob und aus welchen Gründen oder zu welchem Zeitpunkt nach Randomisierung ein Studienabbruch erfolgte. Als „Per protocol“ (PP)-Studienpopulation wurden alle Patienten definiert, die die gesamte Studie einschließlich der Abschlussvisite (V3) gemäß Protokoll durchführten. Für die Analyse der Daten zu Studienbeginn (V0/V1) wurden alle vorhandenen Daten der ITT-Population herangezogen. Für den primären (= „partielle Desensibilisierung“) und sekundären Endpunkt (a) der klinischen Wirksamkeit (= „vollständige Desensibilisierung“) wurde jeweils eine Analyse anhand der ITT- und PP-Population sowie eine „Worst case“- Analyse durchgeführt. Dabei wurden in der ITT-Analyse Studienabbrecher ungeachtet ihrer Gruppenzugehörigkeit als Therapieversager hinsichtlich der Endpunkte gewertet. In der Worst case-Analyse wurden Studienabbrecher der Placebogruppe als Patienten mit Therapieerfolg und Studienabbrecher der Verumgruppe als Therapieversager gewertet. Für alle weiteren explorativen sekundären Endpunkte der klinischen und immunologischen Wirksamkeit sowie der Lebensqualität und Therapiebelastung unter OIT wurden jeweils alle verfügbaren Daten der PP-Studienpopulation herangezogen. Für die Auswertung der Sicherheitsdaten der Studie wurden alle vorhandenen Daten von Patienten herangezogen, die mindestens einmal die OIT-Studiennahrung zu sich genommen hatten (= „Safety“-Population). Die Häufigkeit von Nebenwirkungen wurde zum einen auf Basis der verabreichten OIT-Gaben berechnet, hierfür wurde die Anzahl an OIT-Gaben, die mit Nebenwirkungen einhergingen durch die Gesamtanzahl aller OIT-Gaben geteilt. Zum anderen wurde das Auftreten von Nebenwirkungen auf Basis der Patienten berechnet, hierfür wurde die

Anzahl an Patienten, die Nebenwirkungen erlitten, durch die Gesamtanzahl aller Patienten pro Randomisierungsarm geteilt.

### **2.8.3 Statistische Auswertung**

Die komplette Dateneingabe erfolgte durch eine Studienmitarbeiterin, alle Daten wurden von einer zweiten Studienmitarbeiterin erneut mit den Originaldaten auf Richtigkeit abgeglichen. Die Datenanalyse erfolgte mit SPSS (Version 22 für Windows, SPSS Inc, Chicago, IL, USA). Abbildungen wurden mit GraphPad Prism (Version 6 für Windows) erstellt.

Nominal- und ordinalskalierte Variablen wurden mit Häufigkeiten und Prozentwerten angegeben. Für stetige Variablen wurde der Median und die Spannweite (bei nicht normalverteilten Daten) bzw. der Mittelwert und die Standardabweichung (bei normalverteilten Daten) angegeben. Für Gruppenvergleiche zwischen den beiden Randomisierungsarmen hinsichtlich nominal- und ordinalskalierter Variablen wurde der Chi-Quadrat-Test bzw. Fisher-Exact-Test angewandt, hinsichtlich stetiger Variablen der Mann-Whitney-U-Test (bei nicht normalverteilten Daten) bzw. der t-Test für unabhängige Stichproben (bei normalverteilten Daten). Um verbundene Daten stetiger Variablen innerhalb eines Randomisierungsarms zum Zeitpunkt vor und nach OIT zu vergleichen, wurde der Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test angewandt. Für alle verwendeten statistischen Tests wurde ein zweiseitiges Signifikanzniveau von  $p < 0,05$  festgelegt.

## 3 Ergebnisse

### 3.1 Studienkollektiv

#### 3.1.1 Studieneinschluss und Studienverlauf

Insgesamt wurden 186 Kinder mit Verdacht auf eine Erdnussallergie bezüglich einer Teilnahme an der OIT-Studie angesprochen. 71 Kinder erfüllten, ausgenommen des Nachweises der aktuellen klinischen Relevanz der Erdnussallergie durch orale Provokation, alle erforderlichen Ein- und Ausschlusskriterien und durchliefen die Screeningvisite (V0) (Abbildung 3.1).

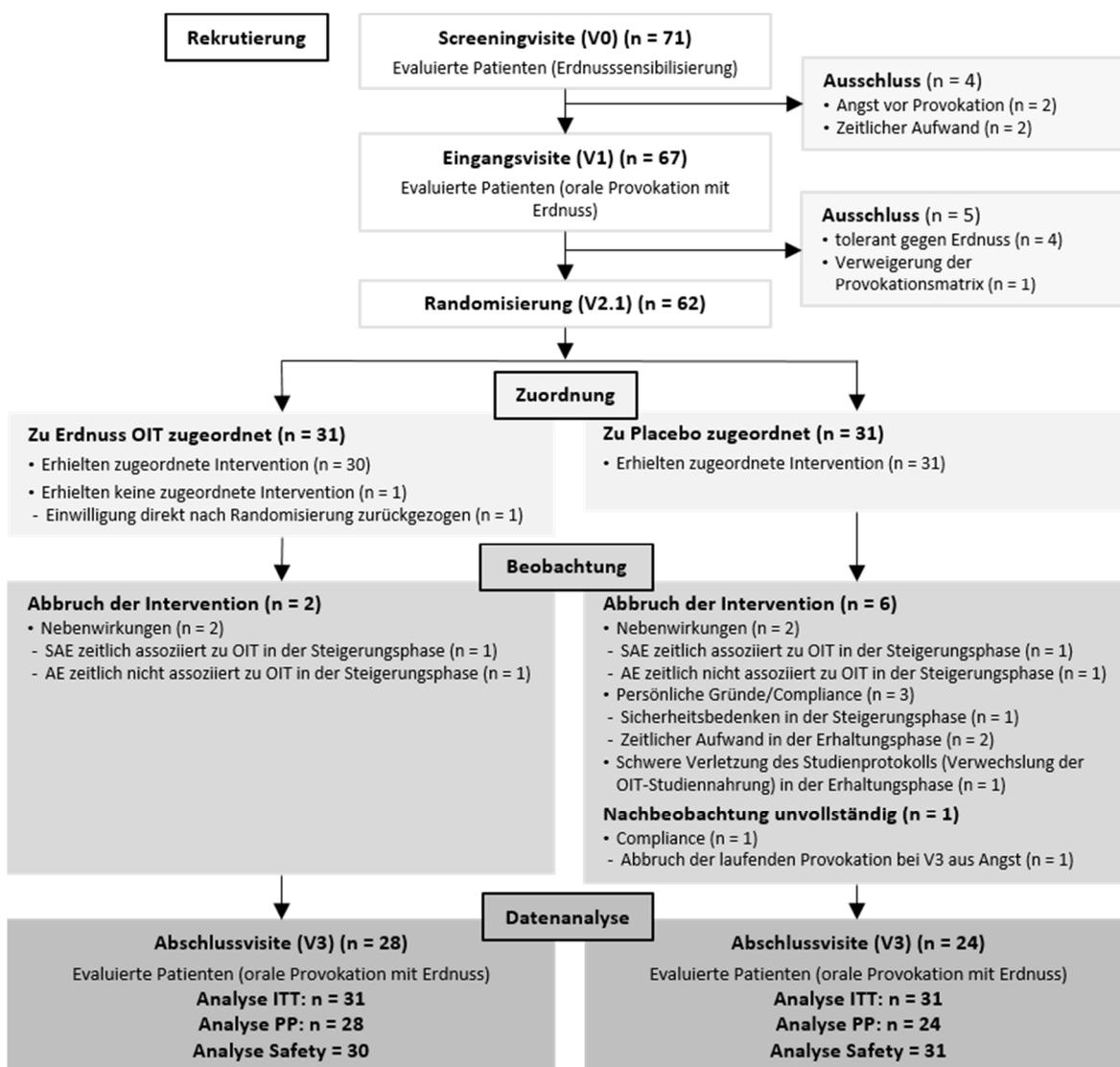


Abbildung 3.1: CONSORT-Flussdiagramm zum Verlauf der Studienphasen (Rekrutierung, Zuordnung der Intervention, Beobachtung und Datenanalyse) der randomisierten, Placebo-kontrollierten Studie zur oralen Immuntherapie (OIT) mit Erdnuss (laut CONSORT-Statement für klinische Studien [205]). Patienten, die alle Ein- und Ausschlusskriterien erfüllten, wurden 1:1 der Verum- oder Placebogruppe zugeordnet. Nach Studienende wurde die Gruppenzugehörigkeit entblindet. AE= Nebenwirkungen, ITT= Intention to treat Studienpopulation; PP= Per protokoll Studienpopulation; SAE= schweres unerwünschtes Ereignis; V= Visite.

Bis zur Eingangsvisite (V1), bei der die orale Provokation mit Erdnuss erfolgte, entschieden sich vier Familien aus persönlichen Gründen gegen eine weitere Studienteilnahme. 67 Kinder wurden zu V1 stationär aufgenommen und erhielten eine orale Provokation mit Erdnuss. Vier Kinder zeigten dabei eine orale Toleranz gegenüber Erdnuss und wurden daher von der Studie ausgeschlossen. 63 Kinder reagierten im Rahmen der oralen Provokation auf Erdnuss und erfüllten somit alle erforderlichen Einschlusskriterien für die Studie. Ein Patient verweigerte bereits im Rahmen der Provokation den Verzehr von Schokoladenpudding, der in ähnlicher Form auch als Matrix der OIT diente, und wurde daher von der Studie ausgeschlossen. So wurden 62 Patienten randomisiert und der Verum- (n= 31) oder Placebogruppe (n= 31) zugeordnet. Insgesamt beendeten 10/62 randomisierten Patienten die Studie vorzeitig (Verum n= 3, Placebo n= 7) (siehe Tabelle A.2). Unmittelbar nach der Randomisierung und vor der ersten Gabe der OIT-Studiennahrung zog eine Familie der Verumgruppe aus Angst vor der OIT die Einwilligung zurück. Im Studienverlauf brachen zwei Patienten der Verumgruppe und zwei Patienten der Placebogruppe die Studie aufgrund von Nebenwirkungen in der Steigerungsphase vorzeitig ab (Details siehe Kapitel 3.3.1). Bei einer Patientin der Placebogruppe kam es zu einer schweren Verletzung des Studienprotokolls, da sie im Laufe der Erhaltungsphase versehentlich die Verum-Studiennahrung erhielt und daraufhin die Studie vorzeitig beendet wurde (Details siehe Kapitel 3.3.1). Weitere drei Patienten der Placebogruppe brachen aus persönlichen Gründen bzw. mangelnder Compliance die Studie vorzeitig ab, zwei davon Mädchen im Teenageralter. Eine Patientin der Placebogruppe durchlief zwar den kompletten Interventionszeitraum der Studie, brach jedoch aus Angst im Laufe der Abschlussvisite (V3) die orale Provokation ab. Von 62 initial randomisierten Patienten (= „Intention to treat (ITT)“-Studienpopulation) erhielten 52 (83,9%) ihre zugeordnete Intervention über den gesamten Studienzeitraum und führten die Abschlussvisite (V3) gemäß Protokoll durch (= „Per protokoll (PP)“-Studienpopulation).

### **3.1.2 Anamnestische und klinische Charakteristika**

Demographische und anamnestische Charakteristika der ITT-Studienpopulation zu Studienbeginn sind in Tabelle 3.1 aufgeführt. Bezüglich der aufgeführten Parameter zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen Patienten der Verum- und der Placebogruppe. Die Kinder waren im Median 6,8 Jahre alt (Spannweite 3,2-17,8 Jahre), 61% waren Jungen. Bei 97% der Kinder kam es in der Vergangenheit bereits zu mindestens einer allergischen Reaktion nach dem V.a. einen Verzehr von Erdnuss, über die Hälfte der Kinder (54,8%) erlitt dabei mindesten eine schwere Reaktion mit Beteiligung der unteren Atemwege (Schweregrad IV oder V). Bei etwa einem Drittel der Kinder (33,9%) bestand neben der Erdnussallergie noch eine weitere Nahrungsmittelallergie und über die Hälfte der Kinder (53,2%) litt parallel an Asthma bzw. bronchialer Hyperreagibilität.

Tabelle 3.1: Demographische und anamnestische Daten der Patienten zu Studienbeginn (V1).

	<b>Verum (n = 31)</b>	<b>Placebo (n = 31)</b>
<b>Demographische Daten</b>		
Alter (Jahre), Median (Spannweite)	6,6 (3,2-13,3)	7,9 (3,2-17,8)
Geschlecht männlich, n (%)	19 (61,3)	19 (61,3)
Positiver familiärer Atopiestatus (%)	26 (83,9)	29 (93,5)
Rekrutierungszentrum		
Berlin, n (%)	11 (35,5)	11 (35,5)
Bochum, n (%)	6 (19,4)	6 (19,4)
Dresden, n (%)	3 (9,7)	2 (6,5)
Freiburg, n (%)	4 (12,9)	1 (3,2)
Hamburg, n (%)	4 (12,9)	3 (9,7)
Hannover, n (%)	0 (0,0)	6 (19,4)
München, n (%)	3 (9,7)	2 (6,5)
<b>Anthropometrie</b>		
Gewicht (kg), Median (Spannweite) <sup>3</sup>	24,0 (13,0-64,3)	22,4 (13,0-54,2)
Größe (cm), Median (Spannweite) <sup>3</sup>	123 (90-174)	122 (95-167)
<b>Atopische Erkrankungen</b>		
Asthma, n (%)	13 (41,9)	20 (64,5)
Atopische Dermatitis, n (%)	19 (61,3)	22 (71,0)
SCORAD <sup>5</sup> , Median (Spannweite)	3 (0-15)	11 (0-27)
Allergische Rhinokonjunktivitis, n (%)	14 (45,2)	18 (58,1)
Tierhaarallergie, n (%)	6 (19,4)	11 (35,5)
Weitere Nahrungsmittelallergien, n (%)	9 (29)	12 (38,7)
Haselnussallergie, n (%) <sup>1</sup>	6 (20,0)	2 (6,4)
Hühnereiallergie, n (%)	2 (6,5)	6 (19,4)
Sojaallergie, n (%) <sup>2</sup>	1 (3,2)	4 (13,3)
Fischallergie, n (%) <sup>7</sup>	0 (0,0)	2 (7,1)
Kuhmilchallergie, n (%)	1 (3,2)	2 (6,4)
Weizenallergie, n (%)	0 (0,0)	0 (0,0)
Sonstige Nahrungsmittelallergien <sup>\$\$</sup> , n (%)	2 (6,7)	3 (9,7)
<b>Allergische Reaktionen auf Erdnuss vor Studienbeginn<sup>#</sup></b>		
Auftreten ≥ 1 Reaktion, n (%)	31 (100)	29 (93,5)
Anzahl Reaktionen, Median (Spannweite)	3 (1-6)	3 (0-15)
Schweregrad der schwersten Reaktion <sup>\$\$\$</sup>		
Grad I, n (%)	1 (3,2)	2 (7,0)
Grad II, n (%)	6 (19,4)	8 (27,6)
Grad III, n (%)	6 (19,4)	3 (10,3)
Grad IV, n (%)	18 (58,1)	15 (51,7)
Grad V, n (%)	0 (0)	1 (3,5)
Alter bei der ersten Reaktion (Jahre), Median (Spannweite) <sup>\$\$\$</sup>	2 (0,5-7)	2,2 (0,5-6)

Hochgestellte Zahlen hinter den Variablenamen stehen für die Anzahl an fehlender Daten. \$= nur von Patienten mit diagnostizierter atopischer Dermatitis (n=41); \$\$= Sonstige Nahrungsmittelallergien: Walnussallergie (n=2), Sesamallergie (n=1), Curry/Paprikaallergie (n=1), Erbsenallergie (n=1); \$\$\$= nur von Patienten mit ≥1 allergischen Reaktion auf Erdnuss vor Studienbeginn (n=60); #= allergische Reaktion nach gesichertem Erdnussverzehr oder dem Verdacht auf Erdnussverzehr.

Die Ergebnisse der oralen Provokation mit Erdnuss zu Studienbeginn (V1) sind in Tabelle 3.2 dargestellt, es zeigten sich bezüglich der erfassten Parameter keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen Patienten der Verum- und Placebogruppe. Die Patienten vertrugen unter Provokation zu Studienbeginn im Median eine maximale Dosis von 120 mg Erdnuss (~¼ Erdnusskern). Drei Patienten (4,8%) reagierten bereits bei der ersten Dosis unter Provokation (12 mg Erdnuss). Insgesamt reagierten zwei Drittel der Patienten (66,1%) bereits auf eine der ersten vier der insgesamt sieben aufsteigenden Erdnussgaben unter Provokation ( $\leq$  400 mg Erdnuss). Bei drei Patienten (4,8%) traten objektive Symptome erst nach der kumulativen Gesamtdosis von 18 g Erdnuss auf. Insgesamt zeigten 44 Patienten (71%) erst nach 30 Minuten nach Erdnussgabe objektive Symptome unter oraler Provokation. Nur 18 Patienten (29%) reagierten innerhalb der ersten 30 Minuten nach Erdnussgabe, was dem regulären zeitlichen Abstand zwischen den titrierten Gaben bei Nahrungsmittelprovokationen in der klinischen Routine entspricht. Bei 29 Patienten (46,8%) kam es sogar erst nach mindestens 60 Minuten und bei 3 Patienten (4,8%) erst nach mindestens 120 Minuten zu objektiven Reaktionen.

Tabelle 3.2: Ergebnisse der oralen Provokation mit Erdnuss zu Studienbeginn (V1).

<b>Orale Provokation mit Erdnuss</b>	<b>Verum (n = 31)</b>	<b>Placebo (n = 31)</b>
<b>Erdnussdosis</b>		
Maximal tolerierte Dosis (mg), Median (Spannweite)	120 (4-12000)	120 (4-4000)
Reaktionsdosis (mg), Median (Spannweite)	400 (12-18000)	400 (12-12000)
Kumulative Reaktionsdosis (mg), Median (Spannweite)	572 (12-18800)	572 (12-16000)
Reaktionszeit (min), Median (Spannweite)	50 (10-120)	55 (5-210)
<b>Symptome</b>		
Betroffene Organsysteme		
Haut, n (%)	20 (64,5)	19 (61,3)
Gastrointestinaltrakt, n (%)	17 (54,8)	14 (45,2)
Obere Atemwege, n (%)	10 (32,3)	9 (29,0)
Untere Atemwege, n (%)	12 (38,7)	11 (35,5)
Kardiovaskuläres System, n (%)	0 (0,0)	0 (0,0)
Schweregrad der Reaktion		
Grad I, n (%)	1 (3,2)	1 (3,2)
Grad II, n (%)	11 (35,5)	13 (41,9)
Grad III, n (%)	10 (32,3)	11 (35,5)
Grad IV, n (%)	9 (29)	6 (19,4)
Grad V, n (%)	0 (0)	0 (0)
<b>Therapie</b>		
Medikamente benötigt <sup>§</sup> , n (%)	16 (51,6)	12 (38,7)
Adrenalin benötigt, n (%)	2 (6,5)	0 (0)

§= Antihistaminika, Glukokortikoide, inhalative  $\beta$ 2-Sympathomimetika und/oder Adrenalin

Das am häufigsten betroffene Organsystem unter oraler Provokation war die Haut (62,9%), gefolgt von Symptomen der oberen Atemwege (59,7%) und des Gastrointestinaltrakts (50%). Zu den

häufigsten Symptome gehörten dabei generalisier Urtikaria, Erbrechen und Rhinokonjunktivitis. 37,1% der Patienten zeigten eine Reaktion mit Beteiligung der unteren Atemwege, bei über der Hälfte dieser Patienten (14/23; 60,9%) trat diese bereits bei einer Dosis  $\leq 400$  mg Erdnuss auf. Ein Großteil der Reaktionen verlief mit einem milden bis moderatem Schweregrad, 15 Patienten (24,2%) reagierten unter Provokation jedoch mit einer Reaktion des Schweregrads IV mit pfeifender Atmung, pulmonaler Obstruktion, Atemnot oder peak-flow Abfall. Reaktionen der Schweregrads V traten nicht auf. Etwa die Hälfte der Patienten benötigte aufgrund Ihrer Symptomatik eine akute medikamentöse Behandlung (45,2%). Bei insgesamt 11 Patienten (17,7%) konnte die Reaktion erfolgreich mit Antihistaminika allein oder einer zusätzlicher Gabe von Glukokortikoiden behandelt werden, bei 15 Patienten (24,2%) erfolgte eine zusätzliche oder ausschließliche Behandlung mit inhalativen  $\beta_2$ -Mimetika. Zwei Patienten benötigten eine Gabe von i.m. Adrenalin (3,2%): Patientin #26 reagierte 45 Minuten nach der Gabe von 1200 mg Erdnuss mit generalisierter Urtikaria, Flush und allergischer Rhinokonjunktivitis, weitere 20 Minuten später kam es zu einer Lidschwellung, einmaligem Erbrechen sowie Atemnot, woraufhin Antihistaminika, Glukokortikoide und i.m. Adrenalin verabreicht wurden. Patient #48 zeigte unmittelbar nach der Gabe von 40 mg Erdnuss ein orales Allergiesyndrom, kurz darauf kam es zu einer Lippenschwellung und leichter Heiserkeit. 45 Minuten später entwickelte der Patient eine generalisierte Urtikaria und es kam zu trockenem Husten mit beginnender Atemnot. Es wurden Antihistaminika, Glukokortikoide und ein inhalatives  $\beta_2$ -Mimetika verabreicht, woraufhin es zu einer Verbesserung der Symptomatik kam. Weitere 20 Minuten später verschlimmerten sich die Symptome jedoch wieder und es kam parallel zu Apathie und einer beginnenden Zyanose woraufhin zweimalig i.m. Adrenalin sowie eine Sauerstoffgabe und eine Natriumchlorid-Infusion gegeben wurden. Dieser Patient wurde randomisiert, die Familie zog jedoch noch vor Start der Intervention aus Angst vor der OIT die Einwilligung zurück (siehe Tabelle A.2).

### 3.1.3 Immunologische Charakteristika

Eine Auswahl wichtiger laborparametrischer Daten zu Studienbeginn ist in Tabelle 3.3 aufgeführt. Hinsichtlich der erhobenen erdnusspezifischen Sensibilisierungsmarker zeigten sich keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen Patienten der Verum- und Placebogruppe. Der erdnusspezifischen Quaddeldurchmesser im Hautpricktest lag im Median bei 8 mm (Spannweite 3-14,5 mm). Die erdnusspezifischen IgE Level lagen hoch, im Median bei 81,5 kU/l (0,57-624 kU/l). 26 Kinder (41,9%) wiesen erdnusspezifische IgE-Level  $>100$  kU/l auf. Auch sIgE gegen die Erdnusskomponente Ara h 2 war bei den meisten Kindern in hohen Mengen nachweisbar (Median 44,7 kU/l (Spannweite 0,04-256 kU/l)), dabei zeigten 15 Patienten (24,2%)  $>100$  kU/l. Nur drei Kinder wiesen keine Sensibilisierung gegen Ara h 2 auf (sIgE gegen Ar ah 2  $<0,35$  kU/l). Werte des Blutbildes der Patienten zu Studienbeginn sind im Anhang aufgeführt (Tabelle A.1), Patienten der

Placebogruppe wiesen im Vergleich zu Patienten der Verumgruppe eine leicht, jedoch signifikant erhöhte Anzahl eosinophiler Granulozyten auf. Hinsichtlich der Ergebnisse des Basophilenaktivierungstest und des T-Zell-Zytokin-Assays nach Stimulation mit Erdnuss zum Zeitpunkt V1 gab es keine relevanten Unterschiede zwischen beiden Gruppen, die Daten sind in den Kapiteln 3.4.2 und 3.4.3 aufgeführt.

Tabelle 3.3: Immunologische Charakteristika der Patienten zu Studienbeginn (V1).

	Verum (n = 31)	Placebo (n = 31)
<b>Hauttest Quaddeldurchmesser</b>		
Erdnuss (mm), Median (Spannweite)	8 (3-13,5)	8 (5-14,5)
<b>Antikörperbestimmung im Serum</b>		
Gesamt IgE (kU/l), Median (Spannweite)	347 (7,77-2896)	434 (124-2038)
Erdnusspezifisch		
Erdnusspezifisches IgE (kUA/l), Median (Spannweite)	89,5 (0,57-624)	73,1 (1,02-468)
Ara h 2-spezifisches IgE (kUA/l), Median (Spannweite)	44,60 (0,04-183)	48,8 (0,69-256)
Erdnusspezifisches IgG4 (mgA/l), Median (Spannweite)	0,63 (0,01-2,16)	0,38 (0,00-8,58)
Sensibilisierung gegen Außenluftallergene <sup>§</sup> , n (%)	24 (77,4)	26 (83,9)
Sensibilisierung gegen Innenraumallergene <sup>§§</sup> , n (%)	23 (74,2)	28 (90,3)

Hochgestellte Zahlen hinter den Variablenamen stehen für die Anzahl an fehlenden Daten; §= sIgE  $\geq 0,35$  kU/l gegen Birke, Beifuß und/oder Lieschgras; §§= sIgE  $\geq 0,35$  kU/l gegen Katze, Hund, Hausstaubmilbe und/oder Schimmelpilz.

### 3.1.4 Lebensqualität zu Studienbeginn

Die Ergebnisse zur Lebensqualität zu Studienbeginn auf Basis aller vorhandenen, vollständig ausgefüllten Fragebögen sind in Tabelle 3.4 dargestellt. Es zeigten sich keine statistisch signifikanten Unterschiede bezüglich des erfassten Gesamtscores der Lebensqualität bei Kindern und Eltern zwischen der Verum- und Placebogruppe. Aufgrund der geringen Fallzahl erfolgte kein statistischer Vergleich der Lebensqualität von Jugendlichen zwischen beiden Gruppen. Hinsichtlich der einzelnen Domänen wiesen im Fragebogen der Kinder die Domänen „Leidensdruck“ und „Risiko vor versehentlichem Erdnusskontakt“ die höchsten Scores auf, d.h. die Lebensqualitäts-Domänen mit den größten Einschränkungen. Im Gegensatz dazu bewerteten Mütter im FAQLQ-PF die Domäne „Leidensdruck“ mit dem niedrigsten Score, d.h. mit der geringsten Einschränkung auf die Lebensqualität des Kindes. Kinder der Verumgruppe zeigten zu Studienbeginn einen statistisch signifikant höheren Score (= schlechtere Lebensqualität) hinsichtlich der Domäne „Risiko vor versehentlichem Erdnusskontakt“ im Vergleich zu Kindern der Placebogruppe ( $p = 0,035$ ). Es bestand zwischen Kindern beider Gruppen jedoch kein Unterschied hinsichtlich der Häufigkeit allergischer Reaktionen nach akzidentellem Erdnussverzehr vor Studieneinschluss (siehe Tabelle 3.1). Wurde die Selbsteinschätzung der Lebensqualität aller Kinder insgesamt, also Verum/Placebo gemeinsam, mit der Einschätzung der Lebensqualität des Kindes durch die Mütter vor

Studienbeginn verglichen (Mutter-Kind-Paare n= 19), bewerteten die Kinder ihre Lebensqualität signifikant schlechter als die Mütter (Median Gesamtscore FAQLQ-CF 5,2 vs. FAQLQ-PF 4,4; p= 0,024).

Tabelle 3.4: Ergebnisse der Fragebögen zur Lebensqualität zu Studienbeginn (V1) von Kindern, Jugendlichen (Selbsteinschätzung) und Müttern (Einschätzung der Lebensqualität des Kindes).

Einschätzung der Lebensqualität	Verum	Placebo
<b>FAQLQ-CF: Kinder 8-12 Jahre;</b> (Anzahl ausgefüllte FB/versendete FB)	<b>(9/13)</b>	<b>(10/10)</b>
Gesamtscore Lebensqualität, Median (Spannweite)	5,3 (4,3-6,4)	5,0 (3,6-6,4)
Allergenmeidung, Median (Spannweite)	4,7 (2,6-6,4)	4,0 (2,4-6,1)
Diätetische Einschränkung, Median (Spannweite)	4,7 (3,7-6,0)	4,7 (3,0-6,3)
Leidensdruck, Median (Spannweite)	5,7 (4,5-6,8)	6,3 (4,0-7,0)
Risiko vor versehentlichem Allergenkontakt, Median (Spannweite)*	6,2 (5,0-6,6)	4,9 (3,5-6,6)
<b>FAQLQ-TF: Jugendliche 13-17 Jahre;</b> (Anzahl ausgefüllte FB/versendete FB)	<b>(1/1)</b>	<b>(4/5)</b>
Gesamtscore Lebensqualität, Median (Spannweite)	4,9	3,8 (3,3-6,3)
Allergenmeidung und diätetische Einschränkung, Median (Spannweite)	4,4	3,9 (3,3-5,9)
Leidensdruck, Median (Spannweite)	5,3	3,7 (3,2-6,4)
Risiko vor versehentlichem Erdnusskontakt, Median (Spannweite)	5,3	3,6 (3,3-6,7)
<b>FAQLQ-PF: Mütter von Kindern zwischen 3-12 Jahren;</b> (Anzahl ausgefüllte FB/versendete FB)	<b>(22/30)</b>	<b>(23/26)</b>
Gesamtscore Lebensqualität, Median (Spannweite)	4,0 (1,9-6,4)	3,6 (1,7-5,8)
Soziale und diätetische Einschränkung, Median (Spannweite)	4,6 (2,1-6,3)	4,7 (1,8-6,3)
Leidensdruck, Median (Spannweite)	3,8 (2,4-6,2)	3,4 (1,6-5,8)
Ängstlichkeit vor Nahrungsmitteln, Median (Spannweite)	4,0 (1,1-6,6)	4,7 (1,4-6,1)

\*p=0,035; FAQLQ = Food Allergy Quality of life Questionnaires, FB= Fragebögen, CF= Child Form, TF = Teenager Form, PF= Parental Form.

## 3.2 Klinische Wirksamkeit der oralen Immuntherapie

Die folgenden Ergebnisse zur klinischen Wirksamkeit wurden jeweils anhand der „Per protocol“ (PP)-Studienpopulation (n=52) berechnet. Für den primären („partielle Desensibilisierung“) und sekundären Endpunkt (a) („vollständige Desensibilisierung“) der klinischen Wirksamkeit wurde zusätzlich auf Basis der „Intention to treat“ (ITT)-Studienpopulation (n=62), also einschließlich aller Studienabbrecher, eine ITT-Analyse und „Worst case“-Analyse durchgeführt (siehe Kapitel 2.8.2).

### 3.2.1 Primärer Endpunkt- „partielle Desensibilisierung“

52 Patienten erhielten nach im Median 16 Monaten (Spannweite 8-21 Monate) unter OIT eine zweite orale Provokation mit Erdnuss. In der PP-Analyse tolerierten dabei signifikant mehr Patienten der Verumgruppe eine Erdnusssdosis von  $\geq 1200$  mg, etwa 2 kleine Erdnüsse, als Kinder der Placebogruppe (82,1% vs. 20,8%, p<0,001). Dieser Unterschied zwischen Patienten beider Gruppen zeigte sich auch im Zuge der ITT- und Worst case-Analyse als statistisch signifikant (Tabelle 3.5).

Tabelle 3.5: *Primärer klinischer Endpunkt I.* „Partielle Desensibilisierung“ (=maximal tolerierte Dosis  $\geq$  1200 mg Erdnuss unter Provokation nach oraler Immuntherapie (OIT)).

	Verum	Placebo	p-Wert
<b>Per protocol-Analyse (n=52)</b>			
„partielle“ Desensibilisierung nach OIT, n (%)	23/28 (82,1)	5/24 (20,8)	<b>&lt;0,001</b>
keine „partielle“ Desensibilisierung nach OIT, n (%)	5/28 (17,9)	19/24 (79,2)	
<b>Intention to treat-Analyse (n=62)</b>			
„partielle“ Desensibilisierung nach OIT, n (%)	23/31 (74,2)	5/31 (16,1)	<b>&lt;0,001</b>
keine „partielle“ Desensibilisierung nach OIT, n (%)	8/31 (25,8)	26/31 (83,9)	
<b>Worst case-Analyse(n=62)</b>			
„partielle“ Desensibilisierung nach OIT, n (%)	23/31 (74,2)	12/31 (38,7)	<b>0,010</b>
keine „partielle“ Desensibilisierung nach OIT, n (%)	8/31 (25,8)	19/31 (61,3)	

Da einige Patienten bereits unter der Provokation vor OIT  $\geq$ 1200 mg Erdnuss vertragen hatten (Verum 10/31 (32,3%), Placebo 5/31 (16,7%);  $p=0,235$ ), den primären Endpunkt also schon vor OIT „erreicht hatten“, wurde eine zusätzliche Analyse durchgeführt. Dabei wurde zwischen solchen Patienten differenziert, die tatsächlich erst unter Provokation nach OIT eine „partielle“ Desensibilisierung zeigten und solchen Patienten, die bereits unter Provokation vor OIT „partiell“ desensibilisiert waren oder unter OIT keine „partielle“ Desensibilisierung entwickelten (Tabelle 3.6). Auch dabei gab es signifikant mehr Patienten in der Verumgruppe, die  $\geq$ 1200 mg Erdnuss erst unter Provokation nach OIT vertragen, als in der Placebogruppe (46,4% vs 4,2%,  $p<0,001$ ). Der Unterschied zwischen den Gruppen war auch in der ITT-Analyse statistisch signifikant, jedoch nicht in der Worst-Case-Analyse.

Tabelle 3.6: *Primärer klinischer Endpunkt II.* Neue „partielle Desensibilisierung“ (maximal tolerierte Dosis  $<$ 1200 mg Erdnuss unter Provokation vor oraler Immuntherapie (OIT) und  $\geq$  1200 mg Erdnuss unter Provokation nach OIT). Bereits „partielle“ Desensibilisierung = maximal tolerierte Dosis  $\geq$  1200 mg Erdnuss unter Provokation vor OIT und nach OIT; keine „partielle“ Desensibilisierung = maximal tolerierte Dosis  $<$ 1200 mg Erdnuss unter Provokation nach OIT Ergebnisse der Per protocol-, Intention to treat- und Worst case-Analyse.

	Verum	Placebo	p-Wert
<b>Per protocol-Analyse (n=52)</b>			
Neue „partielle“ Desensibilisierung nach OIT, n (%)	13/28 (46,4)	1/24 (4,2)	<b>&lt;0,001</b>
Bereits „partielle“ Desensibilisierung vor OIT oder keine „partielle“ Desensibilisierung nach OIT, n (%)	15/28 (53,6)	23/24 (95,8)	
<b>Intention to treat-Analyse (n=62)</b>			
Neue „partielle“ Desensibilisierung nach OIT, n (%)	13/31 (41,9)	1/31 (3,2)	<b>&lt;0,001</b>
Bereits „partielle“ Desensibilisierung vor OIT oder keine „partielle“ Desensibilisierung nach OIT, n (%)	18/31 (58,1)	30/31 (96,8)	
<b>Worst case-Analyse(n=62)</b>			
Neue „partielle“ Desensibilisierung nach OIT, n (%)	13/31 (41,9)	8/31 (25,8)	0,283
Bereits „partielle“ Desensibilisierung vor OIT oder keine „partielle“ Desensibilisierung nach OIT, n (%)	18/31 (58,1)	23/31 (74,2)	

### 3.2.2 Sekundäre Endpunkte

#### „Vollständige Desensibilisierung“ nach OIT

Insgesamt vertrugen knapp die Hälfte der Patienten der Verumgruppe (46,4%) und nur eine Patientin der Placebogruppe (4,2%) die Höchstdosis von 18 g Erdnuss, etwa 36 kleine Erdnüsse, unter oraler Provokation nach OIT (PP-Analyse,  $p < 0,001$ ) (Tabelle 3.7). Der Unterschied zwischen den Gruppen hinsichtlich einer „vollständigen“ Desensibilisierung zeigte sich auch in der ITT-Analyse als statistisch signifikant, jedoch nicht mehr im Zuge der Worst case-Analyse.

Tabelle 3.7: „Vollständige“ Desensibilisierung (= maximal tolerierte Dosis  $\geq$  18 g Erdnuss unter Provokation nach oraler Immuntherapie (OIT)).

	Verum	Placebo	p-Wert
<b>Per protocol-Analyse (n=52)</b>			
„vollständige“ Desensibilisierung nach OIT, n (%)	13/28 (46,4)	1/24 (4,2)	<b>&lt;0,001</b>
keine „vollständige“ Desensibilisierung nach OIT, n (%)	15/28 (53,6)	23/24 (95,8)	
<b>Intention to treat-Analyse (n=62)</b>			
„vollständige“ Desensibilisierung nach OIT, n (%)	13/31 (41,9)	1/31 (3,2)	<b>&lt;0,001</b>
keine „vollständige“ Desensibilisierung nach OIT, n (%)	18/31 (58,1)	30/31 (96,8)	
<b>Worst case-Analyse (n=62)</b>			
„vollständige“ Desensibilisierung nach OIT, n (%)	13/31 (41,9)	8/31 (25,8)	0,283
keine „vollständige“ Desensibilisierung nach OIT, n (%)	18/31 (58,1)	23/31 (74,2)	

Die Patientin (#5) der Placebogruppe, die 18 g Erdnuss im Rahmen der Provokation nach Placebo-OIT tolerierte, entwickelte somit eine spontane orale Toleranz im Laufe des Studienzeitraums. Diese Patientin war zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses 17,7 Jahre alt. In der Vorgeschichte erlitt sie bereits eine allergische Reaktion auf Erdnuss nach akzidentellem Verzehr mit Schweregrad IV. Die Patientin zeigte zum Zeitpunkt V1 sIgE-Level gegen Erdnuss von 1,08 kU/l und einen erdnusspezifische Quaddeldurchmesser von 7,5 mm im Hautpricktest. Zum Zeitpunkt der Reprovokation waren hinsichtlich dieser Parameter keine relevanten Veränderungen zu beobachten (sIgE gegen Erdnuss 1,87 kU/l; erdnusspezifischer Quaddeldurchmesser 8 mm). Unter Provokation vor OIT zeigte die Patientin 60 Minuten nach Verzehr von 4 g Erdnuss generalisierte Urtikaria, Flush, OAS und Bauchschmerzen (= Schweregrad II). Um die erreichte orale Toleranz aufrecht zu erhalten, wurde der Patientin wurde empfohlen mindestens dreimal pro Woche Erdnuss z.B. Erdnussflips oder Erdnussbutter zu sich zu nehmen.

#### Veränderung der maximal tolerierten Dosis unter Provokation nach OIT

Unter Provokation vor OIT zeigte sich kein Unterscheid zwischen der maximal tolerierten Erdnussdosis im Median zwischen Patienten der Verum- und Placebogruppe (Median 120 mg Erdnuss = etwa  $\frac{1}{4}$  Erdnuss (Spannweite 4-12000 mg) vs. Median 120 mg Erdnuss (Spannweite 4-4000mg);  $p=0,160$ ). Unter Provokation nach OIT erreichten Patienten der Verumgruppe eine

signifikant höhere maximal tolerierte Dosis als Patienten der Placebogruppe (Median 4000 mg Erdnuss = etwa 8 Erdnüsse (Spannweite 120-18000 mg) vs. Median 80 mg Erdnuss (Spannweite 4-18000 mg)  $p < 0,001$ ) (Abbildung 3.2). Nach Verum-OIT erhöhte sich die maximal tolerierte Erdnusssdosis unter Provokation im Median um das 12,5-fache. Bei Patienten der Verumgruppe lag demnach auch eine signifikant höhere kumulative Reaktionsdosis unter Provokation nach OIT vor als bei Patienten der Placebogruppe (Median 17600 mg Erdnuss (Spannweite 572-34000 mg) vs. Median 432 mg Erdnuss (Spannweite 12-18000 mg);  $p < 0,001$ ).

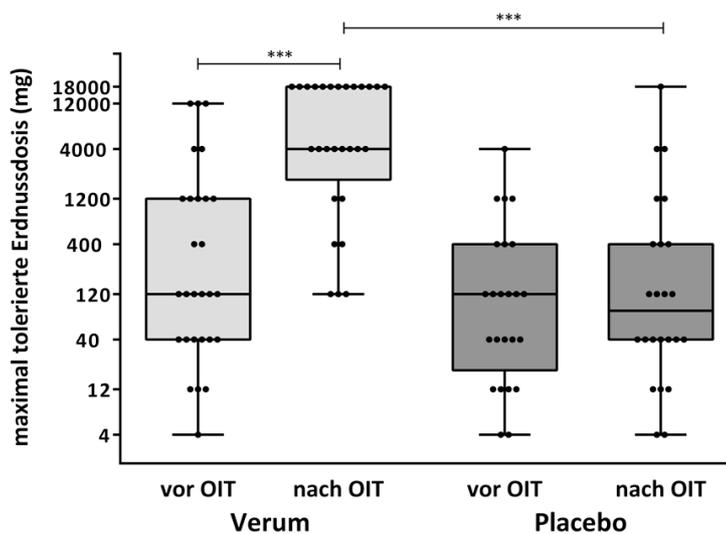


Abbildung 3.2: Maximal tolerierte Erdnusssdosis unter Provokation vor und nach oraler Immuntherapie (OIT) bei Patienten der Verum- und Placebogruppe (Per Protocol-Studienpopulation). Boxen repräsentieren 25% bis 75% Quartile, Whisker repräsentieren die Spannweite, Linien repräsentieren den Median. Nur statistisch signifikante inter- und intra-Gruppenunterschiede sind gekennzeichnet. \*\*\* $p < 0,001$

Insgesamt zeigten 27/28 Patienten der Verumgruppe (96,4%) einen Anstieg ihrer maximal tolerierten Dosis unter Provokation nach OIT (Abbildung 3.3). Eine Patientin der Verumgruppe (#26) reagierte nach OIT bereits bei einer Dosisstufe früher als bei der Provokation vor OIT (maximal tolerierte Dosis vor OIT: 400 mg Erdnuss vs. nach OIT: 120 mg Erdnuss) (siehe auch Tabelle A.3). Die Patientin war zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses 6,3 Jahre alt, das  $\text{IgE}$ -Level gegen Erdnuss lag bei 159 kU/l und gegen Ara h 2 bei 91,9 kU/l. Unter Provokation vor OIT erlitt die Patientin eine schwere Reaktion mit Atemnot (Schweregrad IV), die mit i.m. Adrenalin behandelt wurde (siehe Kapitel 3.1.2). Die OIT-Startdosis lag bei 120 mg und die angestrebte OIT-Zieldosis bei 1000 mg Erdnuss. Die Patientin konnte allerdings nur auf eine Erhaltungsdosis von 500 mg Erdnuss gesteigert werden, da es aufgrund von mehreren Infekten und Nebenwirkungen zu mehrmaligen Dosisreduktionen kam. Im Laufe der OIT wurde bei der Patientin ein Anstrengungs-induzierten Asthma bronchiale sowie eine Verschlechterung der atopischen Dermatitis diagnostiziert. Unter Provokation nach OIT reagierte die Patientin erneut unter Beteiligung der unteren Atemwege

(Schweregrad IV). Nach Inhalation mit einem  $\beta_2$ -Sympathomimetikum kam es zur Besserung der Symptome, eine Behandlung mit Adrenalin war nicht notwendig.

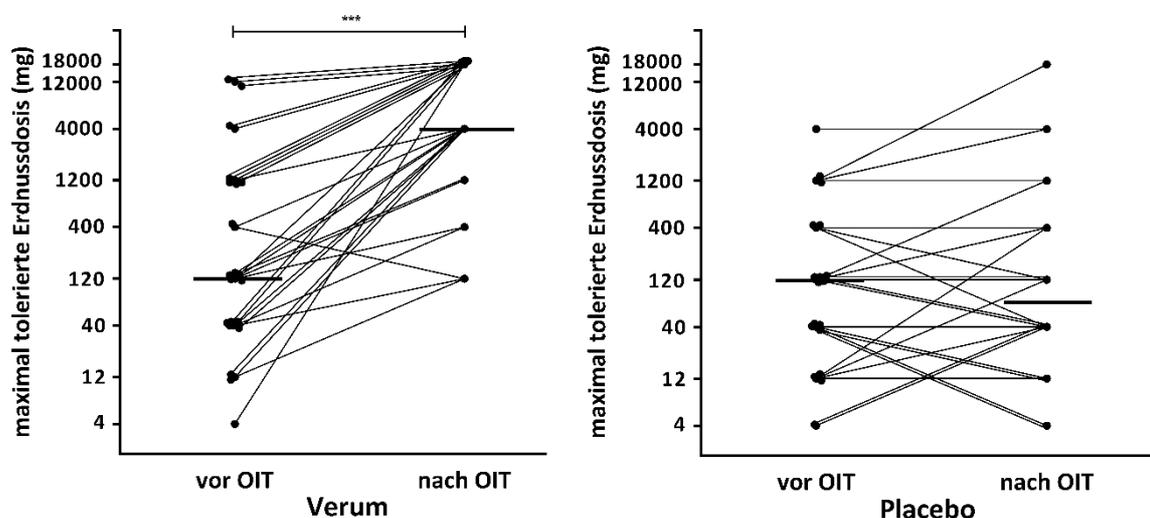


Abbildung 3.3: Maximal tolerierte Erdnussdosis unter Provokation vor und nach oraler Immuntherapie (OIT) bei Patienten der Verum- und Placebogruppe (Per Protocol-Studienpopulation). Dünne Linien zeigen den Verlauf der einzelnen Patienten. Horizontale Linien repräsentieren den Median. Nur statistisch signifikante inter- und intra-Gruppenunterschiede sind gekennzeichnet. \*\*\* $p < 0,001$

Bei Patienten der Placebogruppe kam es insgesamt bei 9/24 Patienten (37,5%) zu einem Anstieg und bei 8/24 Patienten (33,3%) zu einem Abfall der maximal tolerierten Dosis unter Provokation nach OIT. 7/24 Patienten (29,2%) reagierten bei derselben Erdnussdosis unter Provokation vor und nach OIT. Insgesamt kam es bei 2/24 Patienten (8,3%) zu einer Veränderung der maximal tolerierten Dosis von mehr als zwei Dosisstufen. Ein tabellarischer Überblick über die maximal tolerierte Erdnussdosis unter Provokation vor und nach OIT sowie Start- und Erhaltungsdosis der OIT für jeden Patienten der Verum- und Placebogruppe ist im Anhang zu finden (siehe Tabelle A.3 und A.4).

#### Veränderung des Schweregrads der Reaktion unter Provokation nach OIT

Im Vergleich zum Schweregrad der Reaktion unter Provokation vor OIT zeigten insgesamt 9/28 (32,1%) Patienten der Verumgruppe denselben Schweregrad der Reaktion unter Provokation nach OIT, bei 5/28 (17,9%) kam es zu einer Reaktion mit höherem Schweregrad und bei 14/28 (50%) zu einer Reaktion mit geringerem Schweregrad (Tabelle 3.8). In der Placebogruppe wiesen 12/24 (50%) der Patienten denselben Schweregrad, 3/23 (12,5%) einen höheren Schweregrad und 9/23 (37,5%) einen niedrigeren Schweregrad unter Provokation nach OIT auf verglichen mit der Reaktionsschwere unter Provokation vor OIT (Tabelle 3.9).

Betrachtet man nur die Patienten, die auch unter Provokation nach OIT reagierten, zeigte der Großteil der Patienten einen relativ stabilen Schweregrad (Tabelle 3.8, Tabelle 3.9). Insgesamt

wiesen 4/7 Patienten der Verum- und 5/7 Patienten der Placebogruppe mit einer Reaktion des Schweregrads IV mit Beteiligung der unteren Atemwege nach OIT diesen Schweregrad bereits auch unter Provokation vor OIT auf. Von den sieben Patienten der Verumgruppe (25%), die bei der Provokation nach OIT mit Schweregrad IV reagierten, konnten dabei jedoch 6/7 Patienten ihre maximal tolerierte Erdnussdosis um mindestens das 3,5fache steigern.

Tabelle 3.8: Schweregrad (SG) unter Provokation vor und nach oraler Immuntherapie (OIT) bei Patienten der Verumgruppe (Per Protocol-Studienpopulation). Dunkelgrau= Verschlechterung des SG; mittlere Graustufe = stabiler SG; hellgrau = Verbesserung des SG.

Verum (n=28)		Provokation nach OIT				
		Keine Reaktion n (%)	SG I n (%)	SG II n (%)	SG III n (%)	SG IV n (%)
Provokation vor OIT	SG I	0	0	0	1 (3,6%)	0
	SG II	6 (21,4%)	0	2 (7,1%)	1 (3,6%)	2 (7,1%)
	SG III	5 (17,9%)	0	0	3 (10,7%)	1 (3,6%)
	SG IV	2 (7,1%)	0	0	1 (3,6%)	4 (14,3%)

Tabelle 3.9: Schweregrad (SG) unter Provokation vor und nach oraler Immuntherapie (OIT) bei Patienten der Placebogruppe (Per Protocol-Studienpopulation). Dunkelgrau= Verschlechterung des SG; mittlere Graustufe = stabiler SG; hellgrau = Verbesserung des SG.

Placebo (n=24)		Provokation nach OIT				
		Keine Reaktion n (%)	SG I n (%)	SG II n (%)	SG III n (%)	SG IV n (%)
Provokation vor OIT	SG I	1 (4,2%)	0	0	0	0
	SG II	0	0	6 (25%)	1 (4,2%)	2 (8,3%)
	SG III	0	0	7 (29,2%)	1 (4,2%)	0
	SG IV	0	0	1 (4,2%)	0	5 (20,8%)

In Abbildung 3.4 ist für jede einzelne Dosisstufe unter Provokation nach OIT die prozentuale Häufigkeit des dabei aufgetretenen Schweregrads der Reaktion für Patienten der Verum- und Placebogruppe dargestellt. Bei sechs der insgesamt acht Dosisstufen ereigneten sich in der Placebogruppe häufiger Reaktionen mit höherem Schweregrad als in der Verumgruppe. Reaktionen des Schweregrads IV traten in der Placebogruppe bereits bei 40 mg Erdnuss auf und in der Verumgruppe erst ab einer Dosis von 400 mg Erdnuss.

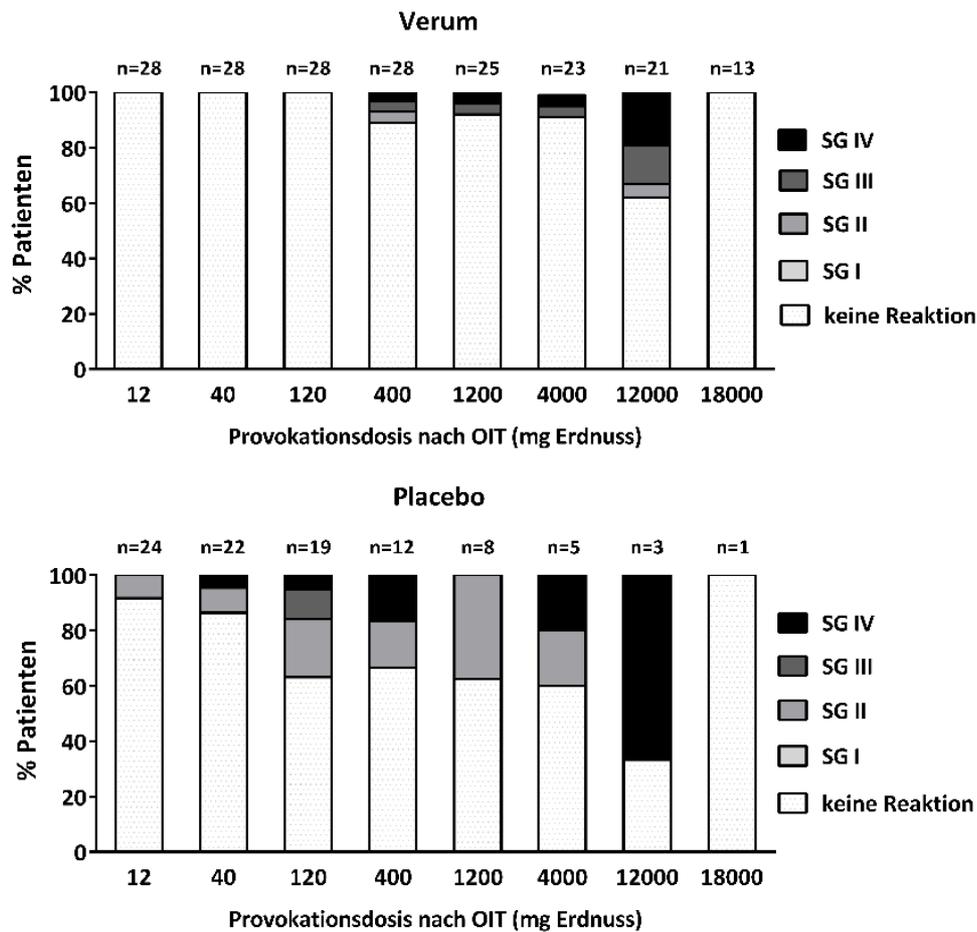


Abbildung 3.4: Schweregrad der Reaktion für jede Dosisstufe unter Provokation nach oraler Immuntherapie (OIT) für Patienten der Verum- und Placebogruppe (Per Protocol-Studienpopulation).

Wurden nur die Patienten betrachtet, bei denen es nach OIT zu objektiven Symptomen unter Provokation kam (Verum: 15/28 Patienten; Placebo: 23/24 Patienten), zeigten sich keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen Patienten beider Gruppen hinsichtlich der Häufigkeit von Symptomen der unteren Atemwege bzw. des Schweregrads IV oder Reaktionen, die eine medikamentöse Behandlung erforderten (Tabelle 3.10). Ein Patient der Verumgruppe (#36) benötigte i.m. Adrenalin unter Provokation nach OIT. Nach dem Verzehr von 1200 mg Erdnuss kam es 30 Minuten später zu leichten Bauchschmerzen und nach weiteren 90 Minuten zu generalisierter Urtikaria, Flush, Husten und Atemnot. Die Sauerstoffsättigung lag bei 88%. Nach der Gabe von i.m. Adrenalin, Antihistaminika, Glukokortikoiden sowie einem inhalativen  $\beta_2$ -Sympathomimetikum kam es zu einer schnellen Besserung der Symptome. Unter Provokation vor OIT reagierte der Patient nach dem Verzehr von 400 mg Erdnuss mit generalisierter Urtikaria, einmaligem Erbrechen und Rhinitis (= Schweregrad II); diese Symptome waren nach einer i.v. Gabe von Antihistaminika rückläufig. Wie bereits unter Provokation vor OIT beobachtet, zeigten etwa die Hälfte der Patienten objektive Symptome erst 60 Minuten nach der Erdnussgabe (Verum: 7/15 (46,7%) und Placebo: 14/23 (60,9%)).

Tabelle 3.10: Vorkommen schwerer Reaktionen unter oraler Provokation mit Erdnuss nach oraler Immuntherapie (OIT) bei Patienten der Verum- und Placebogruppe. Nur Patienten mit positiver Provokation (n=38).

	Verum	Placebo	p-Wert
<b>Reaktion unter Erdnussprovokation nach OIT</b>			
Beteiligung der unteren Atemwege, n (%)	9/15 (60,0)	7/23 (30,4)	0,099
Schweregrad IV, n (%)	7/15 (46,7)	7/23 (30,4)	0,492
Therapie benötigt <sup>§</sup> , n (%)	9/15 (60,0)	12/23 (50,0)	0,744
Adrenalin benötigt, n (%)	1/15 (6,7)	0/23 (0,0)	0,395

§= Antihistaminika, Glukokortikoide, inhalative  $\beta$ 2-Sympathomimetika und/oder Adrenalin

### Verlauf der OIT-Dosissteigerung

Alle Patienten mussten ihre OIT-Dosis nach einem festgelegten Steigerungsschema steigern, indem sie die Menge der täglich zu verzehrenden Studiennahrung erhöhten (siehe Kapitel 2.2.4). Patienten der Verumgruppe erhielten hierfür eine erdnusshaltige Studiennahrung und Patienten der Placebogruppe eine erdnussfreie Studiennahrung (siehe Tabelle 2.2).

Im Median befanden sich die Patienten 16 Monate (Spannweite 8-21 Monate) unter Verum- bzw. Placebo-OIT. Die Steigerungsphase dauerte im Median 13 Monate (Spannweite 6-19 Monate). Patienten der Placebogruppe benötigten im Median etwa einen Monat länger um die Erhaltungsdosis zu erreichen als Patienten der Verumgruppe (Tabelle 3.11). Bei vier Patienten der Placebogruppe kam es zu einer geringfügigen Verletzungen des Studienprotokolls, da die Steigerungsphase wegen häufiger Dosisreduktionen aufgrund von Infekten oder Nebenwirkungen länger als 14 Monate andauerte (15 Monate (n=2), 17 Monate (n=1), 19 Monate (n=1)). Wurden diese vier Patienten aus dem Gruppenvergleich ausgeschlossen, unterschied sich die Länge der Steigerungsphase zwischen beiden Gruppen nicht mehr signifikant (Verumgruppe: Median 12,5 Monate (Spannweite 6-14 Monate); Placebogruppe: Median 13 Monate (Spannweite 6-14 Monate); p=0,188). Im Median erhielten die Patienten insgesamt 17 ambulante Dosissteigerungen (Spannweite 2-31) bis zum Erreichen der individuelle Erhaltungsdosis. Da es im Laufe der Studie bei mehreren Patienten zu einer Umstellung auf eine neue Charge der Studiennahrung kam, waren neben den geplanten ambulanten Steigerungen in beiden Gruppen im Median zwei zusätzliche ambulante Steigerungen (Spannweite 0-5) nötig (siehe Kapitel 2.5.2). Die Erhaltungsphase dauerte im Median 9,5 Wochen (Spannweite 7-27 Wochen). Bei insgesamt 17 Patienten dauerte die Erhaltungsphase länger als  $8 \pm 2$  Wochen, die laut Studienprotokoll vorgesehen waren (Verum (n=11): Median 12,9 (Spannweite 11-21 Wochen), Placebo (n=6): Median 11,8 (Spannweite 11-27 Wochen); p=0,762). Grund hierfür waren Infekte, ein Übergang zu einer neuen Charge der Studiennahrung oder einer Aufschiebung des Provokationstermins z.B. wegen Schulferien.

Tabelle 3.11: Zeitlicher Verlauf der oralen Immuntherapie (OIT) der Patienten der Verum- und Placebogruppe (Per Protocol- Studienpopulation).

	Verum (n=28)	Placebo (n=24)	p-Wert
Zeitraum der OIT (Monate), Median (Spannweite)	14,5 (8-18)	16 (8-21)	<b>0,028</b>
Zeitraum der OIT-Steigerungsphase (Monate), Median (Spannweite)	12,5 (6-14)	13,5 (6-19)	<b>0,028</b>
Anzahl ambulanter Dosissteigerungen <sup>§</sup> , Median (Spannweite)	17 (7-28)	17 (2-31)	0,776
Anzahl geplanter ambulanter Dosissteigerungen <sup>§§</sup> , Median (Spannweite)	15 (5-24)	15 (2-27)	0,761
Zeitraum der OIT-Erhaltungsphase (Wochen), Median (Spannweite)	9,4 (8-21)	9,6 (7-27)	0,479

§= inklusive ungeplanter Steigerungen aufgrund einer neuen Charge der Studiennahrung; §§= nur Dosissteigerungen, die aufgrund der Startdosis geplant wurden, um die Zieldosis erreichen zu können.

Die Startdosis der OIT lag bei Patienten beider Gruppen im Median bei 40 mg Erdnuss bzw. Placebo (Spannweite 2-200 mg) ( $p=0,270$ ). Zwei Patienten der Placebogruppe und ein Patient der Verumgruppe starteten mit der niedrigsten OIT-Dosis von 2 mg Erdnuss bzw. Placebo aufgrund ihrer sehr niedrigen Reaktionsdosis unter Provokation. Die erreichte Erhaltungsdosis lag bei Patienten der Verum- und Placebogruppe im Median bei 500 mg Erdnuss (Spannweite 10-1000 mg) bzw. 500 mg Placebo (Spannweite 14-1000 mg) ( $p=0,350$ ). Somit zeigte sich die OIT-Erhaltungsdosis im Vergleich zur OIT-Startdosis bei Patienten beider Gruppen signifikant erhöht (Abbildung 3.5). Nur bei einem Patienten der Placebogruppe (#44) lag die Erhaltungsdosis von 32 mg Placebo niedriger als seine OIT-Startdosis von 40 mg Placebo, da die Placebo-Dosis im Verlauf mehrmals reduziert werden musste. Je 50% der Patienten der Verum- und Placebogruppe erreichten die jeweils angestrebte Zieldosis von 500 oder 1000 mg Erdnuss bzw. Placebo und nahmen diese Dosis im Rahmen der gesamten Erhaltungsphase täglich zu sich. Bei einer angestrebten Zieldosis von 500 mg Erdnuss bzw. Placebo, erreichten Patienten der Verumgruppe ( $n=16$ ) eine Erhaltungsdosis von im Median 200 mg Erdnuss (Spannweite 10-500 mg) und Patienten der Placebogruppe ( $n=17$ ) im Median 160 mg Placebo (Spannweite 14-500 mg). Lag die angestrebte Zieldosis bei 1000 mg Erdnuss bzw. Placebo, erreichten Patienten der Verum- ( $n=12$ ) und Placebogruppe ( $n=7$ ) im Median 1000 mg Erdnuss (Spannweite 500-1000 mg) bzw. 1000 mg Placebo (600-1000mg). Insgesamt konnten 60,7% der Patienten der Verumgruppe (17/28) mindestens 500 mg Erdnuss, etwa 1 Erdnuss, in der Erhaltungsphase täglich zu sich nehmen.

Wie in Abbildung 3.5 zu sehen gab es jedoch auch in beiden Gruppen Patienten, bei denen keine wesentliche Steigerung der OIT-Startdosis möglich war. Je ein Fünftel der Patienten in beiden Gruppen (Verum 5/28 (17,9%) und Placebo 5/24 (20,8%)) erreichten unter 20% ihrer angestrebten Zieldosis von 500 mg Erdnuss bzw. Placebo (10-90 mg Erdnuss bzw. Placebo, entspricht 2-18% der angestrebten Zieldosis). Grund hierfür waren wiederholt auftretende Infekte und Nebenwirkungen.

Alle diese Patienten reagierten unter Provokation vor OIT bereits bei  $\leq 400$  mg Erdnuss und starteten daher die OIT mit einer geringen Startdosis von  $\leq 40$  mg Erdnuss bzw. Placebo. Bei einer weiteren Patientin der Verumgruppe (#26) kam es nach anfänglicher OIT zu Nebenwirkungen und mehrfachen Dosisreduktionen, so dass die ursprüngliche angestrebte Zieldosis von 1000 mg auf 500 mg Erdnuss reduziert wurde. Diese Patientin sowie 4/5 der oben beschriebenen Patienten der Verumgruppe, die unter 20% ihrer Zieldosis erreichten, waren die fünf Patienten, die nach Verum-OIT keine „partielle“ Desensibilisierung erreichten („Therapie-Non-Responder“).

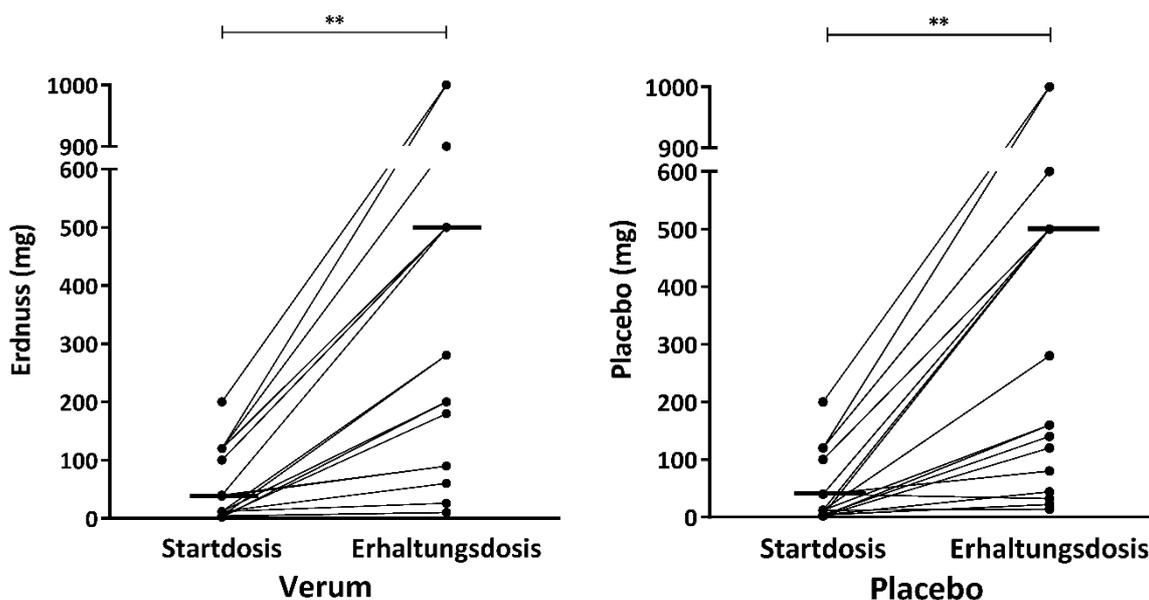


Abbildung 3.5: Steigerung der Dosis unter oraler Immuntherapie (OIT). Gezeigt sind Start- und Erhaltungsdosis (Erdnuss bzw. Placebo (mg)) der OIT der Patienten der Verum- und Placebogruppe (Per Protocol-Studienpopulation). Die horizontalen Linien zeigen jeweils den Median der tolerierten Dosis.  $**p < 0,001$ .

Nach Entblindung sollten Patienten der Verumgruppe sofern sie ihre angedachte Zieldosis noch nicht erreicht hatten ihre OIT-Dosis bis zu dieser Zieldosis steigern, oder bei bereits erreichter Zieldosis eine tägliche Erhaltungsdosis von maximal 600 mg Erdnuss in Form von purer Erdnussbutter (= 0,5 ml Terrasana Erdnussmus®) zu sich nehmen. Diese Umstellung von der Studiennahrung erfolgte, um die Einnahme von Erdnuss für die Patienten zu erleichtern und da eine Verblindung ab diesem Zeitpunkt nicht mehr nötig war. Patienten der Verumgruppe, die unter der Provokation nach OIT nicht reagierten, wurde empfohlen, dass sie möglichst täglich bzw. mindestens dreimal pro Woche eine Erhaltungsdosis von 0,5 ml Terrasana-Erdnussmus® zu sich nehmen. Außerdem mussten von Patienten, die eine Zieldosis von  $\geq 500$  mg Erdnuss unter OIT erreicht hatten, nach Abschluss der Provokation keine Produkte mit dem Hinweis einer möglichen unbeabsichtigten Erdnusskontamination (sogenannte „Spurenhinweise“) mehr gemieden werden. Den Patienten der Placebogruppe wurde angeboten mit der aktiven Erdnuss-OIT zu beginnen.

### 3.3 Sicherheit der oralen Immuntherapie

Die Sicherheit der OIT wurde anhand von Daten aller Patienten bewertet, die mindestens eine Gabe der OIT erhielten (Verum n=30, Placebo n=31; Safety-Population). Von Patienten, die die Studie vorzeitig beendeten, wurden Daten bis zum jeweiligen Zeitpunkt des Abbruchs in die Analyse mit eingeschlossen. Im Folgenden werden Nebenwirkungen in Abhängigkeit ihres zeitlichen Auftretens zur OIT-Gabe dargestellt. Der Fokus liegt dabei auf den zeitlich assoziierten Nebenwirkungen, also Symptomen die innerhalb von zwei Stunden nach OIT-Gabe auftraten.

#### 3.3.1 Studienabbruch wegen Nebenwirkungen

Insgesamt brachen zwei Patienten der Verumgruppe und zwei Patienten der Placebogruppe die Studie aufgrund von Nebenwirkungen im Laufe der Steigerungsphase vorzeitig ab (siehe Abbildung 3.1, Tabelle A.2). Alle vier Patienten litten parallel an einem Asthma bronchiale. Bei je einem Patienten beider Gruppe entschied sich die Familie aufgrund von zeitlich nicht assoziierten Nebenwirkungen für einen vorzeitigen Studienabbruch. Der Patient der Verumgruppe (#65) startete die OIT mit 40 mg Erdnuss. Darunter kam es zu rezidivierenden Nebenwirkungen der unteren und oberen Atemwege, vorrangig Husten und Rhinokonjunktivitis, zeitlich nicht assoziiert zur OIT-Gabe. Auch nach Reduktion der OIT-Dosis um 50% zeigte sich keine Besserung dieser Symptome. Nach insgesamt 79 Tagen unter Verum-OIT entschied sich die Familie zum Abbruch der Studie. Der Patient der Placebogruppe (#14) startete die OIT mit 40 mg Placebo. Darunter kam es zu rezidivierendem Husten und Atemnot, zeitlich nicht assoziiert zur OIT-Gabe. Die OIT-Dosis wurde auf 4 mg Placebo reduziert. Etwa zwei Wochen später, nach insgesamt 95 Tagen unter Placebo-OIT, entschied sich die Familie zum Abbruch der Studie. Bei je einem Patienten der Verum- und einem Patienten der Placebogruppe wurde die Studie gemäß des Studienprotokolls aufgrund eines SAE, das zeitlich assoziiert mit der Einnahme der OIT auftrat, vorzeitig beendet (siehe Kapitel 3.3.4). Der Patient der Verumgruppe (#40) befand sich in der Steigerungsphase unter 500 mg Erdnuss (Tabelle 3.17). 45 Minuten nach der OIT-Gabe zu Hause und körperlicher Aktivität beim Spielen im Freien kam es zu Bauchschmerzen, Rhinokonjunktivitis, Angioödem, Juckreiz, generalisierter Urtikaria und Husten. Die Symptome wurden von den Eltern mit Antihistaminika, Salbutamol und Glukokortikoiden behandelt. Der Notarzt wurde gerufen und es erfolgte eine stationäre Aufnahme im Krankenhaus. Bereits vorher wurde bei diesem Patienten zweimal die OIT-Dosis aufgrund rezidivierender gastrointestinaler Symptome reduziert. Die Patientin der Placebogruppe (#35) befand sich in der Steigerungsphase unter 18 mg Placebo-OIT (Tabelle 3.17). 75 Minuten nach der OIT-Gabe und 15 Minuten nach dem Verzehr eines Kekses vom Bäcker (Verdacht auf akzidentellen Ingestion von Erdnuss) kam es zu starken Bauchschmerzen und Müdigkeit. Nach weiteren 45 Minuten kam es zu Erbrechen und Rhinokonjunktivitis, woraufhin die Mutter Glukokortikoide und

Antihistaminika verabreichte. Eine Stunde später wurde die Patientin kurzzeitig bewusstlos (Schweregrad V), woraufhin der Notarzt gerufen wurde. Im Krankenhaus erhielt die Patientin erneut Kortikosteroide, eine stationäre Aufnahme erfolgte nicht.

Bei einer weiteren Patientin der Placebogruppe (#51) kam zu einem vorzeitigen Studienabbruch. Grund hierfür war eine schwerwiegende Verletzung des Studienprotokolls aufgrund einer versehentlichen Verwechslung der OIT-Studiennahrung in der Erhaltungsphase. Bereits im Rahmen der Steigerungsphase litt die Patientin unter Placebo-OIT an zeitlich assoziierten Symptomen, vorrangig OAS, Bauchschmerzen und Übelkeit. Die Startdosis von 4 mg konnte daher nur auf 32 mg Placebo gesteigert werden. 16 Tage nach Beginn der Erhaltungsphase wurde der Familie versehentlich die falsche Studiennahrung zugeschickt und daher von 32 mg Placebo auf 32 mg Erdnuss-OIT gewechselt. Es kam verstärkt zu rezidivierendem Auftreten von OAS, Bauchschmerzen, Übelkeit und Erbrechen, zeitlich assoziiert mit der OIT-Gabe. Trotz einer Dosisreduktion auf 8 mg Erdnuss kam es zu keiner Besserung der Symptomatik, woraufhin entschieden wurde die OIT vorzeitig zu beenden. Die verwendete Studiennahrung wurde an das Studienzentrum zurückgeschickt, woraufhin die einmalige Verwechslung der OIT-Studiennahrung erkannt wurde. Insgesamt befand sich die Patientin 420 Tage unter Placebo-OIT und 34 Tage unter Verum-OIT. Für die Auswertung der Nebenwirkungen wurden für diese Patienten nur Daten für den Zeitraum unter Placebo-OIT herangezogen.

### 3.3.2 Nebenwirkungen

Alle Patienten erlitten mindestens eine Nebenwirkung unter OIT, die Häufigkeit von Nebenwirkungen insgesamt unterschied sich nicht zwischen Patienten der Verum- und Placebogruppe (Tabelle 3.12). Insgesamt ereigneten sich Nebenwirkungen häufiger in der OIT-Steigerungsphase als in der OIT-Erhaltungsphase. In der Verumgruppe gingen in der Steigerungsphase im Median 20,8% (Spannweite 1,2-63,5%) der OIT-Gaben pro Patient und in der Erhaltungsphase 5,3% (Spannweite 0-100%) der OIT-Gaben pro Patient mit Nebenwirkungen einher ( $p < 0,001$ ), in der Placebogruppe waren es 15,8% (Spannweite 6,4-53,9%) in der Steigerungs- und 3,7% (Spannweite 6,4-53,9%) in der Erhaltungsphase der OIT-Gaben pro Patient ( $p = 0,187$ ). Nur ein geringer Anteil aller Nebenwirkungen war zeitlich assoziiert zur OIT-Gabe (Tabelle 3.12). 90% der Patienten der Verum- und 77,4% der Patienten der Placebogruppe erlitten mindestens eine zeitlich assoziierte Nebenwirkung ( $p = 0,301$ ). Dabei zeigte sich jedoch unter den Patienten eine große Spannweite in der Anzahl vorkommender Nebenwirkung. In der Verumgruppe kam es signifikant häufiger zu zeitlich assoziierten Nebenwirkungen pro OIT Gabe pro Patient (Median: 2,7% (Spannweite 0-46,3%)) im Vergleich zur Placebogruppe (Median: 0,4% (Spannweite 0-10,7%);  $p < 0,001$ ). Der Großteil der Nebenwirkungen trat jedoch zeitlich nicht assoziiert zur OIT-Gabe auf.

Alle Patienten der Verum- und Placebogruppe hatten mindestens eine zeitlich nicht assoziierte Nebenwirkung im Laufe der Studie. Auch hierbei konnte eine große Spannweite in der Häufigkeit von Nebenwirkungen bei Patienten beobachtet werden: bei Patienten der Verumgruppe kam es bei 1-48,4% aller OIT-Gaben (Median 15,9%) und bei Patienten der Placebogruppe bei 5,7-53,7% aller OIT-Gaben (Median 14,6%) zu zeitlich nicht assoziierten Nebenwirkungen ( $p=0,686$ ).

Tabelle 3.12: Nebenwirkungen unter oraler Immuntherapie (OIT) bei Patienten der Verum- und Placebogruppe. Zeitlich assoziiert zur OIT-Gabe  $\leq 2$  Stunden nach Einnahme der OIT-Studiennahrung; Zeitlich nicht assoziiert zur OIT-Gabe  $> 2$  Stunden nach Einnahme der OIT-Studiennahrung.

	Verum	Placebo	p-Wert
<b>OIT-Gaben, n</b>			
Gesamter Zeitraum	<b>12412</b>	<b>13813</b>	
Steigerungsphase	<b>10323</b>	<b>11838</b>	
Erhaltungsphase	<b>2089</b>	<b>1975</b>	
<b>OIT-Gaben mit Nebenwirkungen, n (%)<sup>#</sup></b>			
Gesamter Zeitraum: Nebenwirkungen insgesamt	2515 (20,3)	2866 (20,8)	0,708
Zeitlich assoziiert zur OIT	534 (4,3)	170 (1,23)	<b>&lt;0,001</b>
Zeitlich nicht assoziiert zur OIT	2107 (17,0)	2708 (19,6)	0,686
Steigerungsphase: Nebenwirkungen insgesamt	2240 (21,7)	2467 (20,8)	0,644
Erhaltungsphase: Nebenwirkungen insgesamt	275 (13,2)	399 (20,2)	0,532
<b>Patienten mit Nebenwirkungen n (%)</b>			
Gesamter Zeitraum: Nebenwirkungen insgesamt	30/30 (100)	31/31 (100)	1,000
Zeitlich assoziiert zur OIT	27/30 (90)	24/31 (77,4)	0,301
Zeitlich nicht assoziiert zur OIT	30/30 (100)	31/31 (100)	1,000
Steigerungsphase: Nebenwirkungen insgesamt	30/30 (100)	31/31 (100)	1,000
Erhaltungsphase: Nebenwirkungen insgesamt	25/28 (89,3)	19/27 (70,4)	0,101
<b>% Anzahl OIT-Gaben mit Nebenwirkungen pro Patient, Median (Spannweite)</b>			
Gesamter Zeitraum: Nebenwirkungen insgesamt	17,6 (1-56,6)	14,8 (6,15-57,6)	0,708
Zeitlich assoziiert zur OIT	2,7 (0-46,3)	0,4 (0-10,7)	<b>&lt;0,001</b>
Zeitlich nicht assoziiert zur OIT	15,9 (1-48,4)	14,6 (5,7-53,7)	0,686
Steigerungsphase: Nebenwirkungen insgesamt	20,8 (1,2-63,5)	15,8 (6,4-53,9)	0,644
Erhaltungsphase: Nebenwirkungen insgesamt	5,3 (0-100)	3,7 (0-88,1)	0,532

<sup>#</sup> statistischer Vergleich zwischen den Gruppen auf Basis der prozentualen Anzahl von OIT-Gaben mit Nebenwirkungen pro Patient im Median.

### Zeitlich assoziierte Nebenwirkungen

Nur ein geringer Anteil aller Nebenwirkungen war zeitlich assoziiert zur OIT Gabe (Tabelle 3.12). Bei Patienten der Verumgruppe handelte es sich dabei vorrangig um subjektive Symptome (Abbildung 3.6). In der Verumgruppe traten im Vergleich zur Placebogruppe subjektive Nebenwirkungen signifikant häufiger auf, sowohl in Bezug auf die Anzahl betroffener Patienten (Abbildung 3.6 A) als auch pro OIT-Gabe (Abbildung 3.6 B). Objektive Symptome kamen bei über der Hälfte der Patienten beider Gruppen vor, jedoch bei  $< 1\%$  aller OIT-Gaben. Hierbei zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen Verum und Placebo.

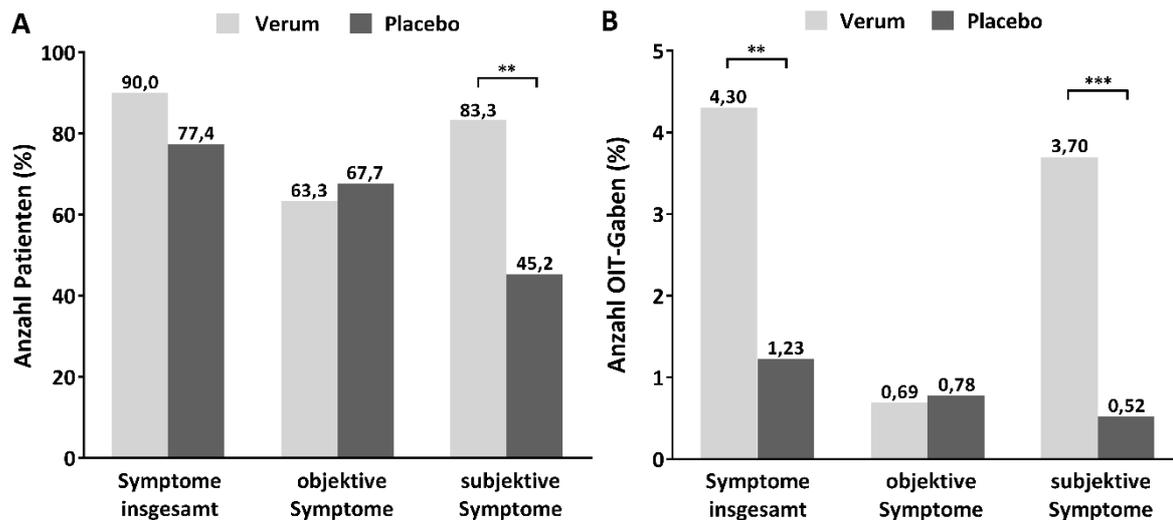


Abbildung 3.6: Häufigkeit zeitlich assoziierte Nebenwirkungen unter oraler Immuntherapie (OIT) bei Patienten der Verum- und Placebogruppe. (A) Patienten mit Nebenwirkungen (B) OIT-Gaben mit Nebenwirkungen. Nur statistisch signifikante inter- und intra-Gruppenunterschiede sind gekennzeichnet; \*\* p < 0,01; \*\*\* p < 0,001.

### Subjektive Symptome

In Tabelle 3.13 sind alle zeitlich assoziierten subjektiven Symptome unter OIT nach betroffenen Organsystemen aufgelistet. Vorrangig waren der Oropharynx und der Gastrointestinaltrakt betroffen, die häufigsten Symptome waren oraler Juckreiz und Bauchschmerzen. Es zeigte sich diesbezüglich ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen sowohl in Bezug auf die Anzahl betroffener Patienten (Tabelle 3.13) als auch pro OIT-Gabe (Anhang Tabelle A.5). Auch Kloßgefühl und Übelkeit traten häufiger in der Verumgruppe auf, hierfür zeigte sich jedoch nur ein statistischer Trend. Der Großteil subjektiver Symptome ereignete sich in der Steigerungsphase (Tabelle 3.13, Tabelle A.5, Abbildung A.1). Oraler Juckreiz trat als einziges Symptom auch in der Erhaltungsphase mit knapper statistischer Signifikanz häufiger bei Patienten der Verumgruppe auf im Vergleich zu Placebo. Insgesamt wurde hinsichtlich der Häufigkeit subjektiver Symptome eine große Heterogenität bei Patienten der Verumgruppe beobachtet: bei 13 Patienten waren <1% aller OIT-Gaben mit subjektiven Symptomen assoziiert, bei 10 Patienten zwischen 1-5% und bei sieben Patienten >5%, bei einem dieser sieben Patienten gingen sogar 46% aller OIT-Gaben mit subjektiven Symptomen einher.

Insgesamt neun Patienten der Verumgruppe (30%) berichteten bereits am ersten Tag der OIT von subjektiven zeitlich assoziierten Symptomen. Die Symptome traten in der Regel unmittelbar nach der OIT-Gabe auf. 6/9 Patienten berichteten über oralen Juckreiz und 3/9 Patienten über Bauchschmerzen. Eine medikamentöse Behandlung war in keinem Fall nötig. Am zweiten Tag der OIT kam es bei 8/9 Patienten erneut zu OAS bzw. Bauchschmerzen innerhalb von zwei Stunden nach der OIT-Gabe. Alle Patienten zeigten diese Symptome auch weiterhin im Laufe der OIT als

zeitlich assoziierte Nebenwirkungen. Die neun Patienten, die von OAS und/oder Bauchschmerzen am ersten oder zweiten Tag der OIT berichteten, waren jeweils für etwa die Hälfte der im Laufe der Studie auftretenden subjektiven OAS-Symptome (44,3%) sowie subjektiven gastrointestinalen Symptome (44,3%) verantwortlich. In der Placebogruppe berichteten nur zwei Patienten (6,5%) von zeitlich assoziierten Symptomen am ersten oder zweiten Tag der OIT, dabei handelte es sich jedoch um objektive Symptome. Bei einem Patienten kam es am ersten Tag zu perioralen Quaddeln 10 Minuten nach der OIT-Gabe, wobei am Abend erneut eine Quaddel auftrat. Eine Patientin hatte fünf Minuten nach der OIT-Gabe eine leichte Diarrhoe.

Tabelle 3.13: Anzahl an Patienten mit subjektiven zeitlich assoziierten Nebenwirkungen der Verum- und Placebogruppe unter oraler Immuntherapie (OIT).

Patienten mit $\geq 1$ Symptom, n (%)	Verum			Placebo			p-Wert		
	SP (n=30)	EP (n=28)	OIT (n=30)	SP (n=31)	EP (n=27)	OIT (n=31)	SP	EP	OIT
<b>Subjektive Symptome</b>			25 (83,3)			14 (45,2)			<b>0,002</b>
<u>OAS</u>	18 (60)	4 (14,3)	18 (60)	8 (25,8)	0 (0)	8 (25,8)	<b>0,007</b>	<b>0,041</b>	<b>0,007</b>
Juckreiz	18 (60)	4 (14,3)	18 (60)	8 (25,8)	0 (0)	8 (25,8)	<b>0,007</b>	<b>0,041</b>	<b>0,007</b>
Kloßgefühl	3 (10)	0 (0)	3 (10)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0,071	1,000	0,071
Räuspern	1 (3,3)	0 (0)	1 (3,3)	1 (3,2)	0 (0)	1 (3,2)	0,981	1,000	0,981
<u>GIT</u>	20 (66,7)	1 (3,6)	20 (66,7)	7 (22,6)	1 (3,7)	7 (22,6)	<b>0,001</b>	0,979	<b>0,001</b>
Bauchschmerzen	20 (66,7)	1 (3,6)	20 (66,7)	6 (19,4)	1 (3,7)	6 (19,4)	<b>&lt;0,001</b>	0,979	<b>&lt;0,001</b>
Übelkeit	7 (23,3)	0 (0)	7 (23,3)	2 (6,5)	0 (0)	2 (6,5)	0,063	1,000	0,063
<u>Haut</u>	7 (23,3)	0 (0)	7 (23,3)	7 (22,6)	0 (0)	7 (22,6)	0,944	1,000	0,944
Juckreiz	7 (23,3)	0 (0)	7 (23,3)	7 (22,6)	0 (0)	7 (22,6)	0,944	1,000	0,944
<u>Diverse Symptome</u>	6 (20)	1 (3,6)	6 (20)	2 (6,5)	1 (3,7)	2 (6,5)	0,117	0,979	0,147
Gelenkschmerzen	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1,000	1,000	1,000
Kopfschmerzen	5 (16,7)	1 (3,6)	5 (16,7)	1 (3,2)	1 (3,7)	1 (3,2)	0,078	0,979	0,078
Halsschmerzen	1 (3,3)	0 (0)	1 (3,3)	1 (3,2)	0 (0)	1 (3,2)	0,981	1,000	0,981

EP= Erhaltungsphase; GIT= Gastrointestinaltrakt; OAS= orales Allergiesyndrom; SP= Steigerungsphase.

### Objektive Symptome

In Tabelle 3.14 und Tabelle A.6 sind alle zeitlich assoziierten objektiven Symptome unter OIT nach betroffenen Organsystemen und Schweregrad aufgelistet. Objektive Symptome betrafen am häufigsten die Haut, die oberen und unteren Atemwege und den Gastrointestinaltrakt. Dabei kam es vorrangig zu milden bis moderaten Symptomen, wie Urtikaria, Husten, Erbrechen oder Diarrhoe (Tabelle A.6). Bezüglich der betroffenen Organsysteme und dem Schweregrad von objektiven Symptomen zeigten sich keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen beiden Gruppen, weder in Bezug auf die Anzahl betroffener Patienten (Tabelle 3.14) noch pro OIT-Gabe (Tabelle A.6).

Tabelle 3.14: Anzahl an Patienten mit objektiven zeitlich assoziierten Nebenwirkungen der Verum- und Placebogruppe unter oraler Immuntherapie (OIT).

Patienten mit $\geq 1$ Symptom, n (%)	Verum			Placebo			p-Wert		
	SP (n=30)	EP (n=28)	OIT (n=30)	SP (n=31)	EP (n=27)	OIT (n=31)	SP	EP	OIT
<b>objektive Symptome</b>	19 (63,3)	4 (14,3)	19 (63,3)	20 (64,5)	3 (11,1)	21 (67,7)	0,923	0,724	0,717
<u>Haut</u>	11 (36,7)	2 (7,1)	12 (40)	8 (25,8)	1 (3,7)	8 (25,8)	0,360	0,574	0,238
Kontakturtikaria	6 (20)	0 (0)	6 (20)	3 (9,7)	0 (0)	3 (9,7)	0,256	1,000	0,256
Flush	0 (0)	2 (7,1)	2 (6,7)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1,000	0,157	0,144
General. Urtikaria	6 (20)	2 (7,1)	7 (23,3)	6 (19,4)	1 (3,7)	6 (19,4)	0,949	0,574	0,704
Angioödem	3 (10)	0 (0)	3 (10)	4 (12,9)	0 (0)	4 (12,9)	0,722	1,000	0,722
<u>GIT</u>	8 (26,7)	1 (3,6)	8 (26,7)	7 (22,6)	0 (0)	7 (22,6)	0,711	0,332	0,711
Erbrechen	6 (20)	1 (3,6)	6 (20)	2 (6,5)	0 (0)	2 (6,5)	0,117	0,322	0,117
Diarrhoe	3 (10)	0 (0)	3 (10)	5 (16,1)	0 (0)	5 (16,1)	0,478	1,000	0,478
<u>Obere Atemwege</u>	8 (26,7)	1 (3,6)	9 (30)	9 (29)	2 (7,4)	10 (32,3)	0,837	0,531	0,849
Konjunktivitis	2 (6,7)	0 (0)	2 (6,7)	6 (19,4)	0 (0)	6 (19,4)	0,142	1,000	0,142
Rhinitis	3 (10)	0 (0)	3 (10)	2 (6,5)	0 (0)	2 (6,5)	0,614	1,000	0,614
Niesen	1 (3,3)	0 (0)	1 (3,3)	2 (6,5)	1 (3,7)	2 (6,5)	0,573	0,304	0,573
Rhinokonjunktivitis	3 (10)	1 (3,6)	4 (13,3)	4 (12,9)	1 (3,7)	5 (16,1)	0,722	0,979	0,758
<u>Larynx</u>	1 (3,3)	0 (0)	1 (3,3)	1 (3,2)	0 (0)	1 (3,2)	0,981	1,000	1,000
Heiserkeit	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (3,2)	0 (0)	1 (3,2)	0,321	1,000	0,321
Stridor	1 (3,3)	0 (0)	1 (3,3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0,305	1,000	0,305
<u>Untere Atemwege</u>	12 (40)	3 (10,7)	13 (43,3)	9 (29)	0 (0)	9 (29)	0,367	0,080	0,245
Husten	10 (33,3)	2 (7,1)	11 (36,7)	6 (19,4)	0 (0)	6 (19,4)	0,215	0,157	0,132
Pfeifende Atmung <sup>§</sup>	5 (16,7)	2 (7,1)	6 (20)	1 (3,2)	0 (0)	1 (3,2)	0,078	0,157	<b>0,040</b>
Atemnot	3 (10)	0 (0)	3 (10)	4 (12,9)	0 (0)	4 (12,9)	0,722	1,000	0,722
<u>Kardiovaskuläres System</u>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (3,2)	0 (0)	1 (3,2)	0,321	1,000	1,000
Blutdruckabfall	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1,000	1,000	1,000
Kreislaufstillstand/ Bewusstlosigkeit	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (3,2)	0 (0)	1 (3,2)	0,321	1,000	0,321
<u>Schweregrad</u>									
I	7 (23,3)	0 (0)	7 (23,3)	5 (16,1)	0 (0)	5 (16,1)	0,479	1,000	0,479
II	11 (36,7)	1 (3,6)	11 (36,7)	10 (32,3)	2 (7,4)	10 (32,3)	0,717	0,531	0,717
III	9 (30)	1 (3,6)	10 (33,3)	12 (38,7)	1 (3,7)	13 (41,9)	0,474	0,979	0,488
IV	7 (23,3)	2 (7,1)	7 (23,3)	4 (12,9)	0 (0)	4 (12,9)	0,289	0,157	0,289
V	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (3,2)	0 (0)	1 (3,2)	0,321	1,000	1,000

§= auch Giemen oder leichte pulmonale Obstruktion. EP= Erhaltungsphase; GIT= Gastrointestinaltrakt; OAS= orales Allergiesyndrom; SP= Steigerungsphase

Schwerere Reaktionen der unteren Atemwege, wie pfeifende Atmung und/oder Atemnot, die mit der OIT-Gabe zeitlich assoziiert waren, erlitten insgesamt sieben Patienten der Verumgruppe und vier Patienten der Placebogruppe (13% vs. 23%;  $p=0,289$ ). Vier der sieben Patienten der Verumgruppe und alle vier Patienten der Placebogruppe litten parallel an einem Asthma bronchiale. In Bezug auf die Häufigkeit einzelner objektiver Symptome, zeigte sich „pfeifende

Atmung“ als einziges Symptom, dass sowohl in Bezug auf die Anzahl betroffener Patienten (20% vs. 3,2%,  $p=0,040$ ), als auch pro OIT-Gabe (0,06% vs. 0,01%,  $p=0,045$ ) mit knapper statistischer Signifikanz häufiger in der Verumgruppe als in der Placebogruppe auftrat. Bezüglich „Atemnot“ ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen (Verums vs. Placebo Anzahl betroffener Patienten pro Gruppe: 10% vs. 12,9%,  $p=0,722$ ; pro OIT-Gabe: 0,02% vs. 0,03%;  $p=0,804$ ) (siehe Tabelle 3.14 und Tabelle A.6). Eine Patientin der Placebogruppe (#35) erlitt zeitlich assoziiert zur OIT-Gabe eine schwere allergische Reaktion, bei der es zur Bewusstlosigkeit kam (Schweregrad V). Die Patientin wurde vorzeitig von der Studie ausgeschlossen, Auslöser war wahrscheinlich ein akzidenteller Verzehr von Erdnuss (Details siehe Tabelle 3.18).

In der Steigerungsphase traten in der Verumgruppe insgesamt 81 objektive zeitlich assoziierte Nebenwirkungen auf, davon traten 6% (5/81) nach einer ambulanten Dosissteigerung und 94% (76/81) nach OIT-Gaben zu Hause auf. In der Placebogruppe traten in der Steigerungsphase insgesamt 99 objektive zeitlich assoziierte Nebenwirkungen auf, davon 11% (10/99) nach einer ambulanten Dosissteigerung und 89% nach OIT-Gaben zu Hause (89/99). Insgesamt kam es unter Verum-OIT bei 1,2% aller ambulanten Dosissteigerungen (5/420) und unter Placebo-OIT bei 2,4% aller ambulanten Dosissteigerungen (10/424) zu objektiven Symptomen ( $p=0,093$ ). Bei Patienten beider Gruppen kamen objektive Symptome in der Steigerungsphase insgesamt häufiger vor als in der Erhaltungsphase (Tabelle 3.14, Abbildung A.1). Jedoch traten bei vier Patienten der Verum- (14%) und bei drei Patienten der Placebogruppe (11%) auch unter der OIT-Erhaltungsdosis objektive Nebenwirkungen auf ( $p=0,717$ ). Zwei der vier Patienten der Verumgruppe erlitten dabei Reaktionen mit Beteiligung der unteren Atemwege des Schweregrad IV mit pfeifender Atmung bzw. leichter pulmonaler Obstruktion, die mit Medikamenten behandelt wurden. Symptome der Placebogruppe in der Erhaltungsphase betrafen dagegen die oberen Atemwege oder die Haut und verliefen mit mildem bis moderatem Schweregrad (Tabelle 3.14, Tabelle A.6).

### **Therapie zeitlich assoziierter Symptome**

Im Rahmen der OIT erhielten 40% der Patienten der Verum- und 29% der Patienten der Placebogruppe Medikamente aufgrund zeitlich assoziierter Symptome ( $p=0,367$ ) (Tabelle 3.15). Bezogen auf die Anzahl an OIT-Gaben waren es 0,2% aller Verum- und 0,1% aller Placebo-OIT-Gaben, bei denen aufgrund von Nebenwirkungen Medikamente verabreicht wurden. In der Steigerungsphase wurden Patienten häufiger mit Medikamenten behandelt als in der Erhaltungsphase (Tabelle 3.15). Keiner der Patienten erhielt i.m. Adrenalin aufgrund von zeitlich assoziierten Symptomen unter OIT. In beiden Gruppen wurden die Symptome am häufigsten mit Antihistaminika behandelt, gefolgt von einer Inhalation mit einem  $\beta$ 2-Sympathomimetika und der Gabe von Glukokortikoiden. Es zeigten sich diesbezüglich keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen beiden Gruppen.

Tabelle 3.15: Medikamentöse Behandlung von objektiven zeitlich assoziierten Nebenwirkungen unter oraler Immuntherapie (OIT) bei Patienten der Verum- und Placebogruppe.

	Verum		Placebo		p-Wert <sup>#</sup>
	Patienten	OIT-Gaben	Patienten	OIT-Gaben	
<b>Gesamte OIT, n (%)</b>	n=30	n=12412	n=31	n=13813	
Medikamente insgesamt	12 (40)	23 (0,19)	9 (29)	12 (0,09)	0,367
Antihistaminika	8 (26,7)	12 (0,1)	6 (19,4)	9 (0,07)	0,554
β2-Sympathomimetika	6 (20)	10 (0,08)	5 (16,1)	6 (0,04)	0,694
Glukokortikoide	4 (13,3)	5 (0,04)	4 (12,9)	4 (0,03)	1,000
Adrenalin	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1,000
<b>Steigerungsphase, n (%)</b>	n=30	n=10323	n=31	n=11838	
Antihistaminika	7 (23,3)	10 (0,1)	6 (19,4)	9 (0,08)	0,704
β2-Sympathomimetika	6 (20)	8 (0,08)	5 (16,1)	6 (0,05)	0,694
Glukokortikoide	4 (13,3)	4 (0,04)	4 (12,9)	4 (0,03)	1,000
Adrenalin	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1,000
<b>Erhaltungsphase, n (%)</b>	n=28	n=2089	n=27	n=1975	
Antihistaminika	2 (7,1)	2 (0,1)	0 (0)	0 (0)	0,491
β2-Sympathomimetika	2 (7,1)	2 (0,1)	0 (0)	0 (0)	0,491
Glukokortikoide	1 (3,6)	1 (0,05)	0 (0)	0 (0)	1,000
Adrenalin	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1,000

# statistischer Vergleich zwischen den Gruppen auf Basis der prozentualen Anzahl an Patienten, die mit Medikamenten behandelt wurden.

### Augmentationsfaktoren

Bei Patienten, die objektive zeitlich assoziierte Nebenwirkungen erlitten, lag bei 14/19 (73,7%) Patienten der Verumgruppe und bei 6/21 (28,6%) Patienten der Placebogruppe mindestens einmal parallel ein möglicher erkennbarer Augmentationsfaktor vor (Tabelle 3.16). Insgesamt lag bei 37,7% der objektiven Nebenwirkungen unter Verum-OIT und bei 14% aller objektiven Nebenwirkung unter Placebo-OIT parallel ein möglicher Augmentationsfaktor vor. Am häufigsten handelte es sich in beiden Gruppen um Infekte, gefolgt von einer Co-Exposition mit anderen Allergenen, z.B. Pollenflug in der Pollensaison bei einer parallel bestehender allergischen Rhinokonjunktivitis.

Tabelle 3.16: Augmentationsfaktoren bei objektiven, zeitlich assoziierten Nebenwirkungen unter oraler Immuntherapie (OIT).

	Verum		Placebo	
	Patienten mit objektiven NW (n=19)	OIT-Gaben mit objektiven NW (n=85)	Patienten mit objektiven NW (n=21)	OIT-Gaben mit objektiven NW (n=107)
<b>Augmentationsfaktor, n (%)</b>				
Augmentationsfaktor insgesamt	14 (73,7)	32 (37,7)	6 (28,6)	15 (14)
Infekte	11 (57,9)	16 (18,8)	6 (28,6)	11 (10,3)
Co-Exposition mit andere Allergenen <sup>§</sup>	3 (15,8)	10 (11,8)	2 (9,5)	3 (2,8)
Körperliche Aktivität	4 (21,1)	6 (7,1)	0 (0)	0 (0)
Warmes Bad	0 (0)	0 (0)	1 (4,8)	1 (0,9)

§= z.B. Pollenflug in der Pollensaison; NW = Nebenwirkung

Körperliche Aktivität als Augmentationsfaktor wurde nur von Patienten unter Verum-OIT berichtet.

### **Zeitlich nicht assoziierte Nebenwirkungen**

Die Häufigkeit aller subjektiven und objektiven zeitlich nicht assoziierten Symptome ist auf Basis betroffener Patienten je Gruppe (Tabelle A.7) und auf Basis der verabreichten OIT-Gaben (Tabelle A.8) im Anhang aufgelistet. Mit Ausnahme von Ohrenscherzen, die sich pro OIT-Gabe in der Steigerungsphase signifikant häufiger unter Placebo-OIT ereigneten ( $p=0,045$ ), zeigten sich dabei keine signifikanten Unterschiede zwischen der Verum- und Placebogruppe weder in Bezug auf die Anzahl betroffener Patienten pro Gruppe noch pro OIT-Gabe. Am häufigsten kam es zu Symptomen der unteren und oberen Atemwege, gefolgt von der Haut und dem Gastrointestinaltrakt. Vorrangig handelte es sich um Symptome mit milden bis moderaten Schweregrad wie Husten, Hautausschlag oder Rhinitis. Bei 10 Patienten der Verumgruppe (33,3%) und 11 der Placebogruppe (35,5%) kam es jedoch auch mindestens einmal zu Atemnot im Laufe der OIT ( $p=0,860$ ). Bei dem Großteil dieser Patienten (Verum 7/10 (70%), Placebo 10/11 (91%)) bestand parallel ein Asthma bronchiale. Bei einem Patient der Verumgruppe kam es zu einer allergischen Reaktion des Schweregrad V mit Bewusstlosigkeit woraufhin die Gabe von i.m. Adrenalin und eine stationäre Aufnahme erfolgte. Dabei bestand der Verdacht auf eine unbeabsichtigte Ingestion von Erdnuss (Details siehe Kapitel 3.3.5). Subjektive Symptome, insbesondere OAS, die besonders häufig als zeitlich assoziierte Symptome vorkamen, traten vergleichsweise selten als zeitlich nicht assoziierte Symptome auf. Auch hinsichtlich der Häufigkeit verabreichter Medikamente aufgrund zeitlich nicht assoziierter Nebenwirkungen zeigten sich keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen der Verum- und Placebogruppe (Tabelle A.9). In beiden Gruppen wurden  $\beta$ 2-Sympathomimetika am häufigsten verabreicht. Der Einsatz von  $\beta$ 2-Sympathomimetika war in beiden Gruppen bei Kindern mit einem parallel bestehendem Asthma bronchiale signifikant höher als bei Kindern ohne Asthma (Verum: Patienten ohne Asthma Median  $n=0$  (Spannweite 0-38) vs. Patienten mit Asthma Median  $n=10,5$  (Spannweite 0-25)  $p<0,001$ ; Placebo: Patienten ohne Asthma Median  $n=1$  (Spannweite 0-5) vs. Patienten mit Asthma Median  $n=7,5$  (Spannweite 0-48)  $p=0,003$ ).

### **3.3.3 Häufigkeit von Dosisreduktion und Infekt-Schemata**

Eine Dosisreduktion aufgrund von Infekten um mindesten eine Stufe erfolgte insgesamt 139-mal (Median 4 (Spannweite 0-14)) bei 27 Patienten der Verumgruppe (90%) und 176-mal (Median 5 (Spannweite 0-18);  $p=0,495$ ) bei 29 Patienten der Placebogruppe (93,6%). Mindestens eine Dosisreduktion aufgrund von Nebenwirkungen erfolgte bei 12 Patienten der Verumgruppe (40%) und 14 Patienten der Placebogruppe (45%). Bei Patienten der Verumgruppe erfolgten insgesamt 20 Dosisreduktionen aufgrund von Nebenwirkungen (Median 0 (Spannweite 0-3)) und bei Patienten der Placebogruppe insgesamt 27 Dosisreduktionen (Median 0 (Spannweite 0-5);  $p=0,628$ ).

### 3.3.4 Schwerwiegende unerwünschte Ereignisse (SAEs)

Schwerwiegende unerwünschte Ereignisse (SAEs) wurden wie in Kapitel 2.6.1 beschrieben definiert. Insgesamt kam es bei drei Patienten der Verumgruppe (10%) und fünf Patienten der Placebogruppe (16,1%) zu einem SAE (Tabelle 3.17). Alle SAEs traten im Laufe der Steigerungsphase der OIT auf. Sieben der acht Reaktionen wurden als SAE definiert, da ein stationärer Aufenthalt im Krankenhaus aufgrund der allergischen Reaktion erfolgte. Die Nebenwirkung eines Placebopatienten (#35) wurde aufgrund der besonderen Reaktionsschwere mit Bewusstlosigkeit als SAE definiert. Bei je einem Patient der Verumgruppe (#40) und der Placebogruppe (#35) war das Auftreten des SAE zeitlich assoziiert zur OIT-Gabe, woraufhin beide Patienten gemäß der SOPs vorzeitig aus der Studie ausgeschlossen wurden. Bei 2/3 Patienten der Verumgruppe stand die Reaktion zeitlich nicht in Assoziation zur OIT-Gabe, in beiden Fällen bestand der Verdacht auf eine allergische Reaktion nach akzidenteller Ingestion von Erdnuss. Bei 4/5 Patienten der Placebogruppe mit einem SAE bestand der Verdacht einer allergischen Reaktion nach akzidenteller Ingestion von Erdnuss. Weitere Details zu allen allergischen Reaktionen nach möglichem akzidentellem Verzehr von Erdnuss sind im folgenden Kapitel zu finden.

### 3.3.5 Akzidentelle Reaktionen

Im Laufe der OIT kam es bei 5 Patienten (16,7%) der Verumgruppe zu insgesamt acht allergischen Reaktionen nach Verdacht eines akzidentellen Verzehrs von Erdnuss (Tabelle 3.18). Drei Kinder erlitten eine, ein Kind zwei und ein Kind drei allergische Reaktionen nach akzidentellem Verzehr. Alle Reaktionen waren zeitlich nicht assoziiert zur OIT-Gabe. Alle Reaktionen erfolgten in der OIT-Steigerungsphase unter niedrigen OIT-Dosen (4-160 mg Erdnuss). Die Reaktionsschwere der Symptome verlief bei 7/8 Reaktionen mit Schweregrad I – III. Ein Patient (#23) erlitt eine Reaktion mit Schweregrad V, er befand sich in der Steigerungsphase unter 18 mg Erdnuss-OIT. In der Placebogruppe erlitten 14 Patienten (45,2%) mindestens eine allergische Reaktion nach Verdacht auf eine akzidentelle Erdnussingestion. Insgesamt kam es zu 24 akzidentelle Reaktionen. 22/24 Reaktionen erfolgten im Laufe der Steigerungsphase unter 2-700 mg Placebo-OIT und zwei Reaktionen im Rahmen der Erhaltungsphase. Die Reaktionen verliefen mit unterschiedlichem Schweregrad (Spannweite I-V). Neun Reaktionen verliefen mit Schweregrad IV und eine mit Schweregrad V. Eine Patientin (#41) erlitt vier akzidentelle Reaktionen und reagierte bei drei dieser Reaktionen mit Atemnot (Schweregrad IV). Insgesamt zeigten signifikant weniger Patienten unter Verum-OIT allergische Reaktionen nach Verdacht eines akzidentellen Verzehrs von Erdnuss verglichen mit Patienten unter Placebo-OIT (16,7% vs. 45,2%;  $p=0,016$ ).

Tabelle 3.17: Details zu schwerwiegenden unerwünschten Ereignissen (SAEs) im Laufe der oralen Immuntherapie (OIT).

Patient	Tag unter OIT	OIT Dosis	Zeitl. Zusammenhang mit OIT	Augmentationsfaktor bzw. potentieller Auslöser <sup>1</sup>	Reaktion	Schweregrad	Behandlung
<b>Verum</b>							
#40	342	500 mg	<b>Zeitlich assoziiert:</b> 45 min nach OIT	Körperliche Aktivität	Bauchschmerzen, Rhinokonjunktivitis, Angioödem, Juckreiz, generalisierte Urtikaria, Husten	III	Salbutamol, Antihistaminika Notarzt: Kortikosteroide → stationäre Aufnahme → <b>vorzeitiger Studienabbruch</b>
#23	230	18 mg	nicht assoziiert: 3,5 h nach OIT	V.a. akzidentelle Reaktion nach Erdnussexposition. Vorliegender Infekt	Husten, Somnolenz, Schlappheitsgefühl	V	Adrenalin i.m. Notarzt: Antihistaminika, Kortikosteroide → stationäre Aufnahme
#61	15	4 mg	nicht assoziiert: 23 h nach OIT	V.a. akzidentelle Reaktion nach Erdnussexposition.	OAS, Husten, Juckreiz, Rhinokonjunktivitis	III	Notarzt: Antihistaminika, Kortikosteroide → stationäre Aufnahme
<b>Placebo</b>							
#35	118	18 mg	<b>Zeitlich assoziiert:</b> 75 min nach OIT	V.a. akzidentelle Reaktion nach Erdnussexposition.	Bauchschmerzen, Müdigkeit, Rhinokonjunktivitis, Erbrechen, Bewusstlosigkeit	V	Antihistaminika, Kortikosteroide Notarzt → <b>vorzeitiger Studienabbruch</b>
#18	270	600 mg	nicht assoziiert: 24 h nach OIT	V.a. akzidentelle Reaktion nach Erdnussexposition.	OAS, Angioödem, Bauchschmerzen, Husten, generalisierte Urtikaria	III	Antihistaminika, Kortikosteroide, Salbutamol, Notarzt → stationäre Aufnahme
#41	106	14 mg	nicht assoziiert: 24 h nach OIT	V.a. akzidentelle Reaktion nach Erdnussexposition. Körperliche Aktivität	Konjunktivitis, Heiserkeit, Husten, Flush, Engegefühl	IV	Keine Medikamente Notarzt → stationäre Aufnahme
#47	88	80 mg	nicht assoziiert: 17 h nach OIT	V.a. akzidentelle Reaktion nach Erdnussexposition.	Bauchschmerzen, generalisierte Urtikaria, Husten, pulmonale Obstruktion	IV	Antihistaminika, Kortikosteroide Notarzt: Adrenalin inhal. → stationäre Aufnahme
#60	168	7 mg	nicht assoziiert: 16 h nach OIT	Allergische Reaktion nach Verzehr von roher Möhre Vorliegender Infekt	oraler Juckreiz, Husten	III	Antihistaminika, Kortikosteroide Kinderarzt → stationäre Aufnahme

<sup>1</sup> = falls zeitlich nicht assoziiert zur oralen Immuntherapie-Gabe; i.m. = intramuskulär; inhal. = inhalativ; OAS= orales Allergiesyndrom; V.a. = Verdacht auf

Tabelle 3.18: Details zu allergischen Reaktionen nach Verdacht auf einen akzidentellen Erdnussverzehr im Laufe der oralen Immuntherapie (OIT).

Patient	Phase der OIT	OIT Dosis	Zeitl. Zusammenhang mit OIT	Potentieller Auslöser	Reaktion	SG	Behandlung
<b>Verum</b>							
#4	SP	36 mg	nicht assoziiert	Schokolade aus Adventskalender in der Kita	Rhinokonjunktivitis, OAS	III	Antihistaminika
#21	SP	160 mg	nicht assoziiert	Unklar, nach Aufenthalt im Freien in der Kita	periorale Quaddeln	I	-
#23	SP	18 mg	nicht assoziiert	Pekingente mit Erdnuss	Husten, Somnolenz, Schlapptheitsgefühl	V	Adrenalin i.m. Notarzt: Antihistaminika, Kortikosteroide → stationäre Aufnahme (SAE)
	SP	52 mg	nicht assoziiert	Unklar, in der Kita	gerötetes Gesicht, generalisierte Urtikaria	II	Antihistaminika
	SP	52 mg	nicht assoziiert	Unklar, in der Kita	Angioödem	II	Antihistaminika → Notarzt
#31	SP	52 mg	nicht assoziiert	Kinderschokolade	Erbrechen	II	-
	SP	70 mg	nicht assoziiert	Schokoladenkeks	Angioödem, Niesen	II	Antihistaminika
#61	SP	4 mg	nicht assoziiert	Sushi im Restaurant	OAS, Husten, Rhinokonjunktivitis	III	Antihistaminika, Kortikosteroide → stationäre Aufnahme (SAE)
<b>Placebo</b>							
#3	SP	180 mg	nicht assoziiert	Eis von der Eisdielen	Übelkeit	-	-
	SP	200 mg	nicht assoziiert	Laugenbrezel	OAS	-	-
	SP	280 mg	nicht assoziiert	Vorverpacktes Eis	Urtikaria	I	-
#5	SP	700 mg	nicht assoziiert	Mehrkornbrötchen	generalisierte Urtikaria, Angioödem, Pfeifen, Atemnot	IV	Antihistaminika, Salbutamol
#6	SP	160 mg	nicht assoziiert	Vollkornkeks	generalisierte Urtikaria	II	Antihistaminika, Kortikosteroide
	SP	180 mg	nicht assoziiert	Milchschmitte	trockener Husten, pulmonale Obstruktion	IV	Salbutamol
#12	SP	140	nicht assoziiert	Milchreis	generalisierte Urtikaria	II	Antihistaminika
	SP	100	nicht assoziiert	Erdnussriegel wurde im selben Raum ausgepackt	Husten	III	-

#18	SP	600 mg	nicht assoziiert	Erdnusssoße bei Barbecue	OAS, Angioödem, Bauchschmerzen, Husten, generalisierte Urtikaria	III	Antihistaminika, Salbutamol, Kortikosteroide → Notarzt → stationäre Aufnahme (SAE)
#19	SP	2 mg	nicht assoziiert	in der Kita	Angioödem, Juckreiz	II	Antihistaminika
#28	EP	1000 mg	zeitlich assoziiert	Zimtstern vom Bäcker	Rhinokonjunktivitis	III	-
#34	SP	200 mg	nicht assoziiert	in der Schule	Urtikaria	II	-
#35	SP	18 mg	zeitlich assoziiert	Keks vom Bäcker (lose Ware)	Bauchschmerzen, Müdigkeit, Rhino-konjunktivitis, Erbrechen, Bewusstlosigkeit	V	Antihistaminika, Kortikosteroide Notarzt → vorzeitiger Studienabbruch (SAE)
#38	SP	180 mg	nicht assoziiert	Unklare Genese	OAS, Atemnot	IV	Antihistaminika, Salbutamol,
#41	SP	4 mg	nicht assoziiert	Kontakt mit Erdnussflip	Rhinokonjunktivitis	III	-
	SP	10 mg	nicht assoziiert	Erdnussreste an Trinkflasche	Husten, Atemnot	IV	Salbutamol
	SP	14 mg	nicht assoziiert	Mundschleimhautkontakt mit Erdnuss, Sport	Konjunktivitis, Heiserkeit, Husten, Flush, Ergegegefühl	IV	Keine Medikamente, Notarzt → stationäre Aufnahme (SAE)
	SP	17 mg	nicht assoziiert	Kinderschokolade	Heiserkeit, Atemnot, Konjunktivitis	IV	-
#47	SP	70 mg	nicht assoziiert	Abendessen, Chips	Bauchschmerzen, Husten, pulmonale Obstruktion,	IV	-
	SP	80 mg	nicht assoziiert	Zwischenmahlzeit in der Schule	Bauchschmerzen, generalisierte Urtikaria, Husten, pulmonale Obstruktion	IV	Antihistaminika, Kortikosteroide → Notarzt: Adrenalin inhal. → stationäre Aufnahme (SAE)
#51	SP	2 mg	nicht assoziiert	Erdnussinhalation in der Schule	OAS, Juckreiz	II	Antihistaminika
	SP	4 mg	zeitlich assoziiert	Kontakt mit Erdnuss-Flip	Konjunktivitis	II	Antihistaminika
	SP	80 mg	nicht assoziiert	Kindergeburtstag	Konjunktivitis, Atemnot	IV	Antihistaminika
#62	EP	1000 mg	nicht assoziiert	Eis von der Eisdiele	periorale Quaddeln	I	-

i.m. = Intradumskulär; inhal. = inhalativ; OAS= orales Allergiesyndrom; SG = Schweregrad; SP= Steigerungsphase; EP= Erhaltungsphase

### 3.3.6 Verlauf parallel bestehender atopischer Erkrankungen

Vor OIT zeigten sich keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Häufigkeit parallel bestehender atopischer Erkrankungen (Asthma bronchiale, allergischer Rhinokonjunktivitis oder atopischer Dermatitis) zwischen Patienten beider Gruppen (siehe Kapitel 3.1.2, Tabelle 3.1). Auch unter OIT ergaben sich keine relevanten Unterschiede im Verlauf dieser atopischen Erkrankungen zwischen Patienten beider Gruppen (Abbildung 3.7). Im Laufe der OIT kam es bei insgesamt sechs Patienten der Verumgruppe (20%) und acht Patienten der Placebogruppe (25,8%) zum Auftreten eines Asthma bronchiale, das vorher noch nicht diagnostiziert war, oder einer Verschlechterung des bestehenden Asthmas. Bei insgesamt drei Patienten mit bestehendem Asthma, einem Patienten der Verum- und zwei Patienten der Placebogruppe, kam es zu einer Verbesserung des Krankheitsbildes (Abbildung 3.7 A). Auch hinsichtlich eines Neuauftretens oder der Veränderung des Krankheitsbildes bei allergischer Rhinokonjunktivitis oder atopischer Dermatitis zeigten sich unter OIT keine maßgeblichen Unterschiede zwischen Patienten beider Gruppen (Abbildung 3.7 B und C). Unter OIT kam es zu keiner signifikanten Veränderung des SCORADs im Median in der Verum- oder Placebogruppe, (Verum: Median 0 (Spannweite -12,9 – 17,5), Placebo: Median 0 (-15,7 – 11,9);  $p=0,157$ ).

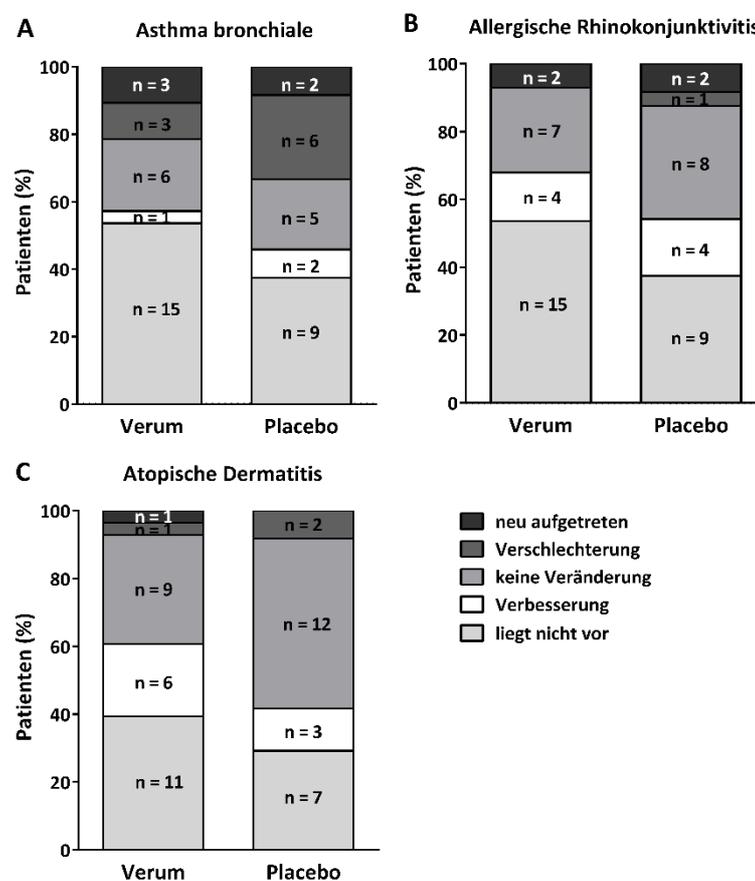


Abbildung 3.7: Verlauf des Krankheitsbildes gleichzeitig bestehender atopischer Erkrankungen unter oraler Immuntherapie bei Patienten der Verum- und Placebogruppe (Per-Protocol Studienpopulation). (A) Verlauf des Asthma bronchiale, (B) Verlauf der allergischen Rhinokonjunktivitis und (C) Verlauf der atopischen Dermatitis.

### 3.3.7 Laborchemische Sicherheitsparameter

#### Hämatologische Parameter

Mit Ausnahme der eosinophilen Granulozyten zeigten sich keine Unterschiede im Blutbild zwischen beiden Gruppen nach OIT (Tabelle 3.19). Bereits vor OIT wiesen Patienten der Placebogruppe eine leicht erhöhte Anzahl eosinophiler Granulozyten im Vergleich zu Patienten der Verumgruppe auf, dieser Unterschied blieb auch nach OIT bestehen. Unter OIT kam es bei Patienten der Verumgruppe zu einem leichten, jedoch statistisch signifikanten Abfall eosinophiler Granulozyten im Blut ( $p=0,036$ ).

#### Klinisch-chemische Parameter

Parameter der klinischen Chemie wurden nach OIT erhoben. Die Werte befanden sich nach ärztlicher Einschätzung im Normbereich für die Altersgruppe des Patientenkollektivs und es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen Patienten der Verum- und Placebogruppe (Tabelle 3.20).

Tabelle 3.19: Parameter des Blutbildes nach oraler Immuntherapie (OIT) bei Patienten der Verum- und Placebogruppe (Per-Protocol-Studienpopulation).

Parameter, Median (Spannweite)	Verum (n= 28)	Placebo (n= 24)	p-Wert
Thrombozyten, (Anzahl/nl) <sup>2</sup>	299 (209-487)	313 (234-531)	0,568
Hämoglobin (g/dl) <sup>2</sup>	13,2 (14,4-14,6)	13 (9,9-15,2)	0,424
Leukozyten (Anzahl/nl) <sup>2</sup>	5,91 (4,61-13,18)	6,39 (4,44-9,60)	0,736
Basophile Granulozyten (Anzahl/nl) <sup>2</sup>	0,04 (0,01-0,07)	0,04 (0,01-0,25)	0,254
Eosinophile Granulozyten (Anzahl/nl)	0,32 (0,06-0,85)	0,58 (0,06-1,99)	<b>0,012</b>

Hochgestellte Zahlen hinter den Variablennamen stehen für die Anzahl an fehlender Daten.

Tabelle 3.20: Parameter der klinischen Chemie nach oraler Immuntherapie (OIT) bei Patienten der Verum- und Placebogruppe (Per-Protocol-Studienpopulation).

Endpunkt	Verum		Placebo		p-Wert
	n <sup>#</sup>	Median (Spannweite)	n <sup>#</sup>	Median (Spannweite)	
Kreatinin (mg/dl)	20	0,49 (0,32-0,76)	19	0,44 (0,29-0,77)	0,428
Harnstoff (mg/dl)	16	26 (17-31)	14	26 (15-34)	0,608
Protein (g/dl)	18	6,85 (6,10-7,60)	15	7,01 (6,48-7,80)	0,135
AST (U/l)	20	31 (20-43)	18	31 (18-39)	0,496
ALT (U/l)	21	19 (13-34)	19	19 (13-40)	0,979
GGT (U/l)	21	12 (9-20)	18	12 (8-19)	0,426

#= Anzahl vorhandener Daten pro Gruppe.

### 3.4 Immunologische Veränderungen unter oraler Immuntherapie

Die folgenden Ergebnisse zu immunologischen Veränderungen unter OIT wurden, falls im Text nicht anders beschrieben, jeweils anhand der „Per Protocol“-Studienpopulation (n=52) berechnet.

#### 3.4.1 Veränderungen auf B-Zell-Ebene

##### Immunglobulin Level

Die Bestimmung der Level an gesamt IgE, sIgE gegen Erdnuss und gegen Ara h 2 sowie sIgG<sub>4</sub> gegen Erdnuss im Serum erfolgte vor und nach OIT mittels ImmunoCap®, wie in Kapitel 2.4.4 beschrieben. Hinsichtlich der Werte zu Studienbeginn (V1) zeigten sich keine Unterschiede zwischen Patienten beider Gruppen (siehe Kapitel 3.1.3). Aufgrund geringer Serummengen konnte nach OIT von einem Patienten der Placebogruppe kein sIgE gegen Ara h 2, und von insgesamt drei Patienten (Verum n=1, Placebo n=2) kein sIgG<sub>4</sub> gegen Erdnuss bestimmt werden. Sowohl unter Verum- als auch unter Placebo-OIT wurden konstante Level an gesamt IgE, sIgE gegen Erdnuss und sIgE gegen Ara h 2 beobachtet, ohne signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen (Abbildung 3.8 A, B und C). Nach OIT zeigten sich im Serum von Patienten der Verumgruppe signifikant höhere sIgG<sub>4</sub>-Level gegen Erdnuss als bei Patienten der Placebogruppe ( $p < 0,05$ ) (Abbildung 3.8 D). Bei Patienten der Verumgruppe kam es unter OIT zu einem im Median 3,8-fachen Anstieg der erdnusspezifischen IgG<sub>4</sub>-Level ( $p < 0,001$ ). Bei Patienten der Placebogruppe zeigten sich hingegen keine wesentlichen Veränderungen der erdnusspezifischen sIgG<sub>4</sub>-Level im Median unter OIT.

Wurde das Verhältnis von erdnusspezifischem IgE zu gesamt IgE bzw. von Ara h 2-spezifischem IgE zu erdnusspezifischem IgE untersucht, unterschieden sich diese nicht wesentlich vor und nach OIT in beiden Gruppen (Abbildung 3.9 A und B). Erwartungsgemäß zeigten Patienten der Verumgruppe nach OIT deutlich niedrigere Werte des Ratios von erdnusspezifischem IgE zu IgG<sub>4</sub> im Vergleich zu Patienten der Placebogruppe ( $p < 0,01$ ) (Abbildung 3.9 C).

Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich einer Sensibilisierung gegen Inhalationsallergene der Außenluft (Birke, Beifuß, Lieschgras) und des Innenraums (Katzenschuppen, Hundeschuppen, Dermatophagoide pteronyssinus, Cladosporium herbarum) im Serum weder zwischen Patienten der Verum- und Placebogruppe nach OIT noch beim Vergleich innerhalb der Verum- oder Placebogruppe vor und nach OIT (Daten nicht gezeigt).

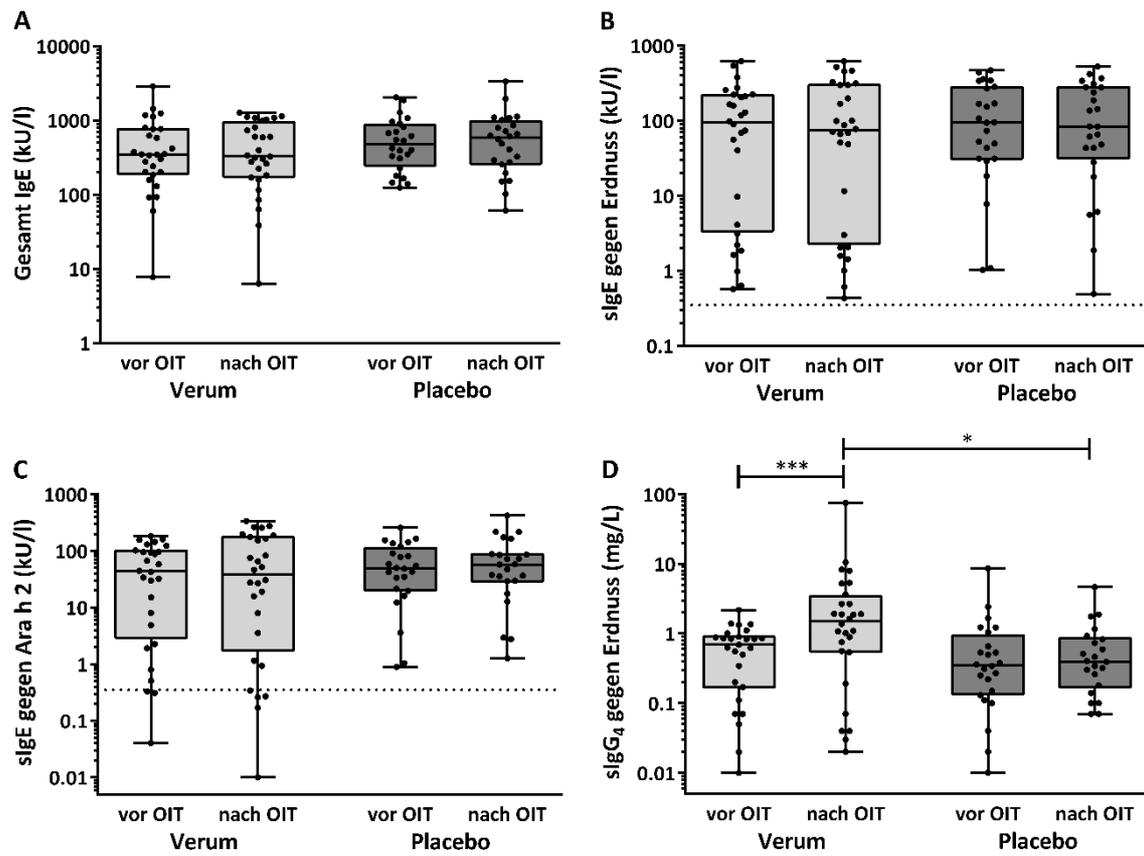


Abbildung 3.8: Immunglobulin-Level vor und nach oraler Immuntherapie (OIT) bei Patienten der Verum- und Placebogruppe (Per Protocol- Studienpopulation). (A) Gesamt Immunglobulin E (IgE) (B) Spezifisches Immunglobulin E (sIgE) gegen Erdnuss (C) sIgE gegen Ara h 2 (D) Spezifisches Immunglobulin G<sub>4</sub> gegen Erdnuss. Antikörper wurden mit ImmunoCAP®-System im Serum bestimmt. Boxen repräsentieren 25% bis 75% Quartile, Whisker repräsentieren die Spannweite, Linien repräsentieren den Median, gestrichelte Linien zeigen den Cut off für einen positiven sIgE-Befund ( $\geq 0,35$  kU/l). Nur statistisch signifikante inter- und intra-Gruppenunterschiede sind gekennzeichnet;  $p^* < 0,05$ ;  $p^{**} < 0,01$ .

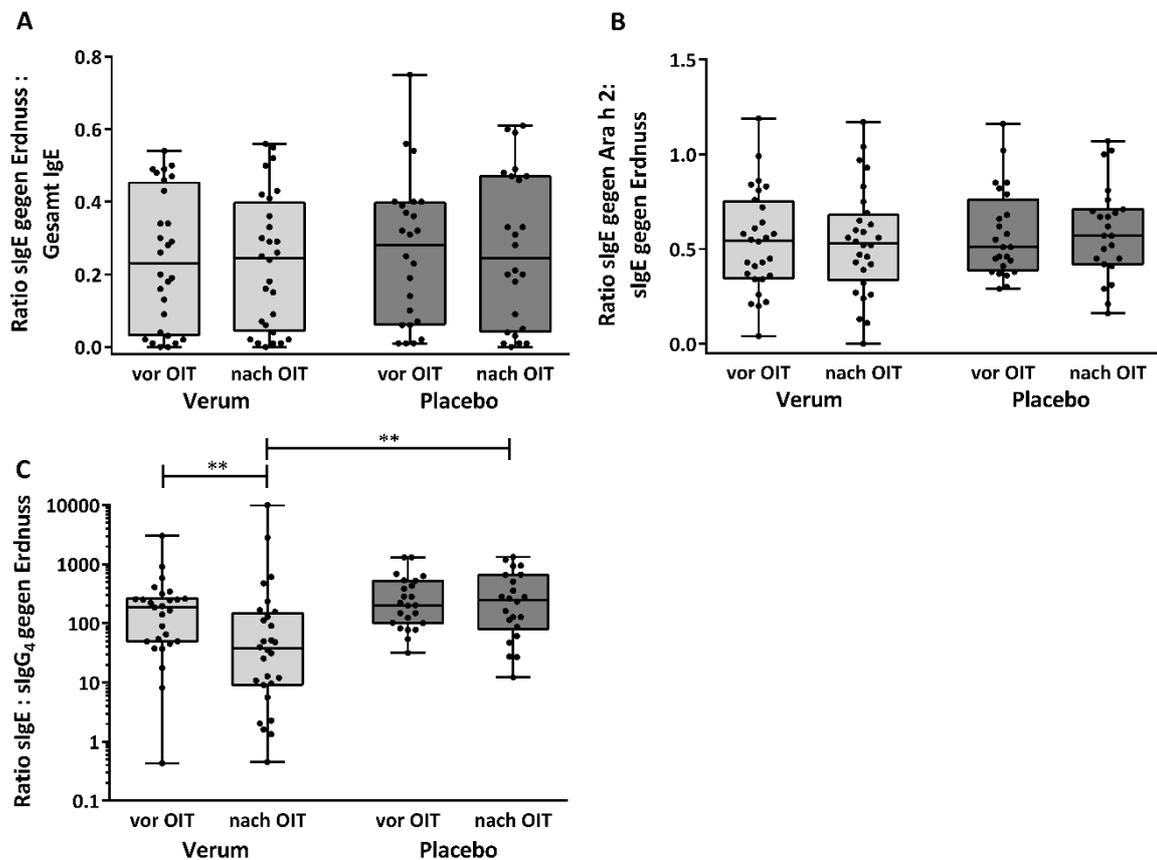


Abbildung 3.9: Verhältnis von Immunglobulin-Leveln vor und nach oraler Immuntherapie (OIT) bei Patienten der Verum- und Placebogruppe (Per Protocol- Studienpopulation). (A) Verhältnis von erdnusspezifischem- zu gesamt IgE. (B) Verhältnis von Ara h 2-spezifischem- zu erdnusspezifischem IgE. (C) Verhältnis von erdnusspezifischem-IgE zu -IgG<sub>4</sub>. Antikörper wurden mit ImmunoCAP®-System im Serum bestimmt. Boxen repräsentieren 25% bis 75% Quartile, Whisker repräsentieren die Spannweite, Linien repräsentieren den Median. Nur statistisch signifikante inter- und intra-Gruppenunterschiede sind gekennzeichnet;  $p^{**}<0,01$ .

### 3.4.2 Veränderung auf Effektor-Zell-Ebene

#### Hautpricktest (Mastzellreaktivität)

Ein Prick-to-Pricktest mit gerösteter Erdnuss wurde wie in Kapitel 2.3.5 beschrieben vor und nach OIT durchgeführt. Alle Patienten zeigten sowohl vor als auch nach OIT im Hautpricktest einen Quaddeldurchmesser  $\geq 3$  mm auf die Positivkontrolle mit Histamin und einen Quaddeldurchmesser  $\leq 1$  mm auf die Negativkontrolle mit Natriumchlorid. Somit konnten Ergebnisse des Hautpricktest von allen Patienten herangezogen werden. Vor OIT unterschied sich der erdnusspezifische Quaddeldurchmesser nicht zwischen Patienten beider Gruppen (siehe Kapitel 3.1.3). Nach OIT zeigten Patienten der Verumgruppe einen signifikant kleineren erdnusspezifischen Quaddeldurchmesser als Patienten der Placebogruppe (Verum: Median 5,8 mm (Spannweite 0-13 mm) vs. Placebo: Median 8 mm (Spannweite 5-15 mm),  $p<0,01$ ) (Abbildung 3.10). Bei zwei Patienten der Verumgruppe lag der erdnusspezifische Quaddeldurchmesser nach OIT unterhalb

des Cut-offs von 3 mm (= negativer Hauttest auf Erdnuss). Unter Placebo-OIT zeigte sich keine signifikante Veränderung des erdnusspezifischen Quaddeldurchmessers.

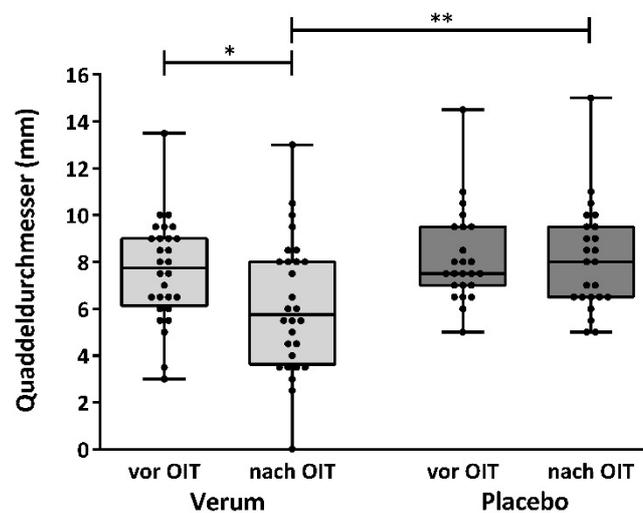


Abbildung 3.10: Erdnusspezifischer Quaddeldurchmesser im Hautpricktest vor und nach oraler Immuntherapie (OIT) bei Patienten der Verum- und Placebogruppe (Per Protocol- Studienpopulation). Boxen repräsentieren 25% bis 75% Quartile, Whisker repräsentieren die Spannweite, Linien repräsentieren den Median. Nur statistisch signifikante inter- und intra-Gruppenunterschiede sind gekennzeichnet;  $p < 0,05$ ;  $p^{**} < 0,01$ .

### Basophilenaktivierungstest

Die Aktivierung basophiler Granulozyten wurde anhand der CD63-Expression am Durchflusszytometer gemessen (siehe Kapitel 2.4.6). Bei zwei Patienten (Verum #1, Placebo #28) konnte bei V1 nicht genügend Blutvolumen abgenommen werden, um den Basophilenaktivierungstest durchzuführen. Weitere zwei Patienten (Verum #4 und #61) zeigten sich bei V1 als „Non-Responder“ (3,9%), da sie eine Basophilenaktivierung  $< 10\%$  nach Stimulation mit anti-Fc $\epsilon$ RI im Vergleich zur Negativkontrolle aufwiesen. Bei insgesamt vier Patienten (Verum  $n=2$ , Placebo  $n=2$ ) konnten einzelne Werte aufgrund technischer Probleme im Rahmen der FACS-Analyse nicht gewertet werden. Daher konnten für die Auswertung der Basophilenaktivierung insgesamt komplette Datensätze von 44/52 Patienten (Verum  $n=23$ , Placebo  $n=21$ ) herangezogen werden.

### Spontane CD63 Expression und CD63 Expression nach unspezifischer Stimulation

Die Inkubation mit Medium allein führte erwartungsgemäß zu sehr niedrigen Leveln an CD63<sup>+</sup> Zellen bei Patienten beider Gruppen (Abbildung 3.11 A). Unter Verum- oder Placebo-OIT kam es zu keiner Veränderung der spontanen CD63 Expression basophiler Granulozyten. Die Stimulation mit anti-Fc $\epsilon$ RI als IgE-abhängiges Stimulanz führte bei den Patienten zu einem deutlichen Anstieg der Basophilenaktivierung im Vergleich zur Inkubation mit Medium allein (Abbildung 3.11 C). Auch die Stimulation mit fMLP als IgE-unabhängiges Stimulanz basophiler Granulozyten führte bei den

meisten Patienten zu einem deutlichen Anstieg des prozentualen Anteils an CD63<sup>+</sup> Zellen im Vergleich zur Inkubation mit Medium allein, jedoch in geringerem Maße als anti-FcεRI (Abbildung 3.11 B). Es zeigten sich keine statistisch signifikanten Unterschiede der CD63 Expression nach Stimulation mit anti-FcεRI oder fMLP nach OIT zwischen der Verum- und Placebogruppe.

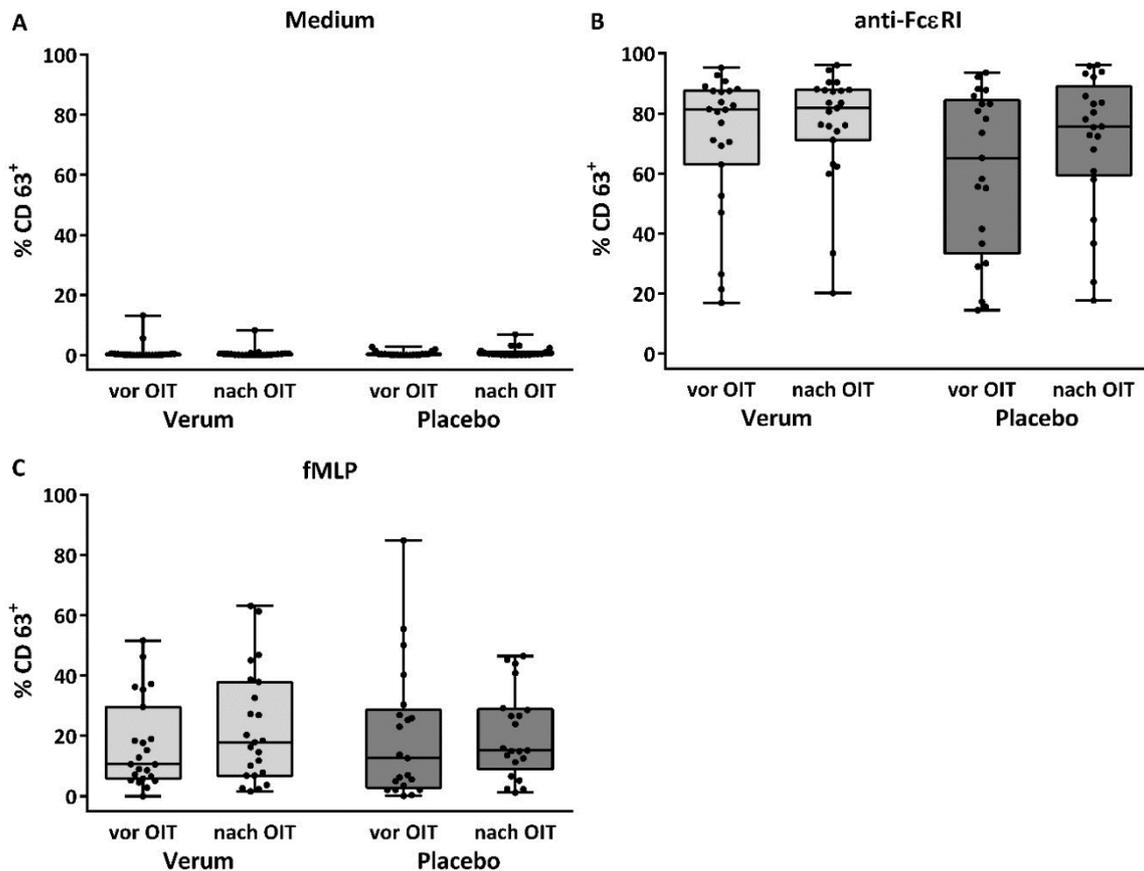


Abbildung 3.11: CD63-Expression von basophilen Granulozyten vor und nach oraler Immuntherapie (OIT) bei Patienten der Verum- (n=23) und Placebogruppe (n=21). Nach Stimulation mit (A) RPMI-Medium allein (=Negativkontrolle), (B) anti-FcεRI (0,6 µg/ml) und (C) fMLP (5 µM). Vollblut der Patienten wurde für 20 Minuten mit entsprechenden Stimuli inkubiert. Nach Oberflächenmarkierung mit fluoreszenzmarkierten Antikörpern und Zellyse wurde die Expression des Oberflächenmarkers CD63 mittels Durchflusszytometrie bestimmt. Für die Werte der Positivkontrollen wurde die CD63 Expression der Mediumkontrolle abgezogen. Boxen repräsentieren 25% bis 75% Quartile, Whisker repräsentieren die Spannweite, Linien repräsentieren den Median. Nur statistisch signifikante inter- und intra-Gruppenunterschiede sind gekennzeichnet.

### CD63 Expression nach Erdnussstimulation

Vor OIT wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen Patienten der Verum- und Placebogruppe bezüglich des prozentualen Anteils an CD63<sup>+</sup> basophilen Granulozyten nach Stimulation mit einer der vier verschiedenen Erdnussproteinkonzentrationen beobachtet (Abbildung 3.12 A-D). Nach OIT führte die Stimulation mit der niedrigsten Erdnussproteinkonzentration (0,0005 µg/ml) zu einer signifikant niedrigeren Basophilenaktivierung in der Verumgruppe verglichen mit der Placebogruppe ( $p < 0,05$ ) (Abbildung 3.12 A). Innerhalb der

Verumgruppe kam es jedoch zu keiner Veränderung der CD63-Expression im Median nach Stimulation mit dieser Erdnusskonzentration unter OIT ( $p=0,184$ ). Nach Stimulation mit den drei höheren Erdnusskonzentrationen zeigten sich nach OIT keine Unterschiede der Basophilenaktivierung zwischen der Verum- und Placebogruppe (Abbildung 3.12 B-D). CDmax, die maximale CD63 Expression bei einer der vier Erdnussstimulationen, lag nach Verum-OIT im Median etwas erniedrigt, jedoch ohne statistisch signifikanten Unterschied zu Placebo (Verum: Median 36,8% (Spannweite 1,3%-93,8%); Placebo Median 44,4% (Spannweite 15,1%-80,9%);  $p=0,565$ ). Über die Hälfte der Patienten beider Gruppen zeigten CDmax bereits nach der Stimulation mit 0,05  $\mu\text{g/ml}$  Erdnussprotein.

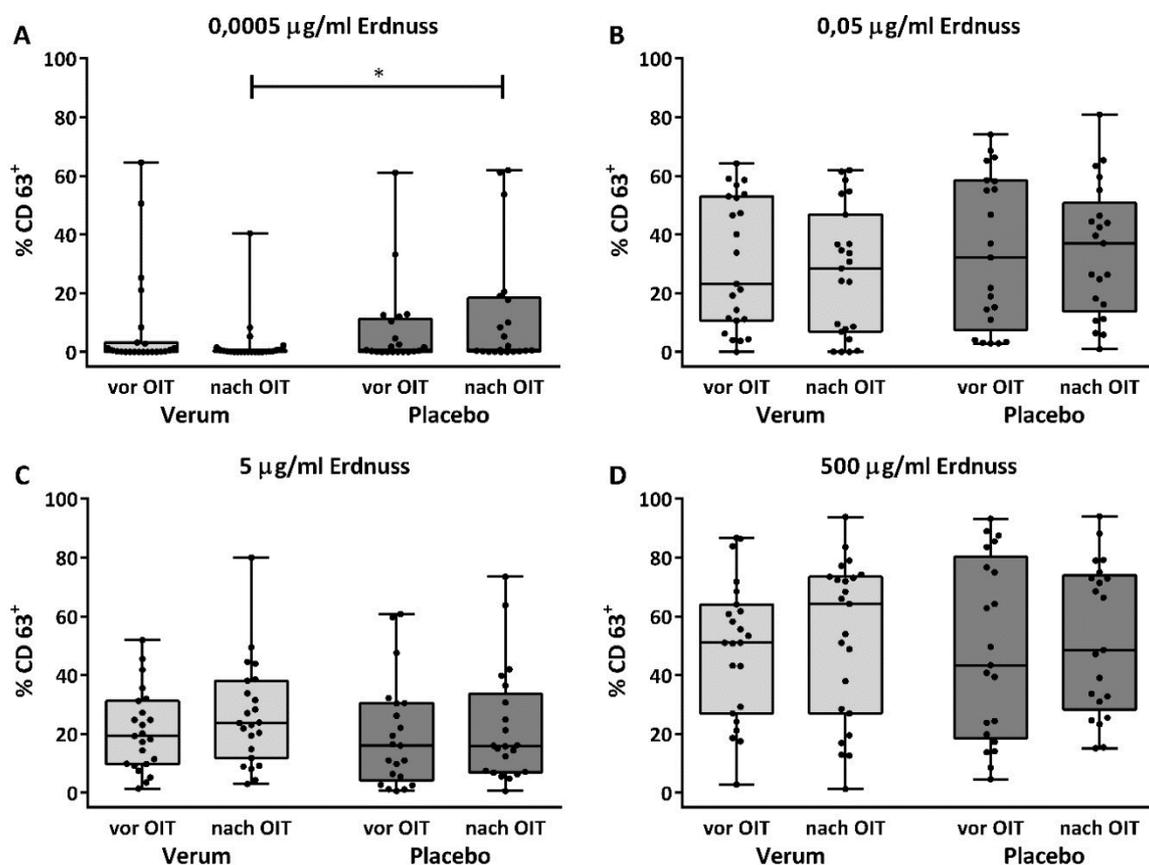


Abbildung 3.12: CD63-Expression von basophilen Granulozyten vor und nach oraler Immuntherapie (OIT) bei Patienten der Verum- ( $n=23$ ) und Placebogruppe ( $n=21$ ) nach Stimulation mit vier verschiedenen Erdnusskonzentrationen. Vollblut der Patienten wurde für 20 Minuten mit Erdnussextrakt stimuliert. Nach Oberflächenmarkierung mit fluoreszenzmarkierten Antikörpern und Zelllyse wurde die Expression des Oberflächenmarkers CD63 mittels Durchflusszytometrie bestimmt. Für die Werte der Positivkontrollen wurde die CD63 Expression der Mediumkontrolle abgezogen. Boxen repräsentieren 25% bis 75% Quartile, Whisker repräsentieren die Spannweite, Linien repräsentieren den Median. Nur statistisch signifikante inter- und intra-Gruppenunterschiede sind gekennzeichnet;  $p^* < 0,05$ .

### 3.4.3 Veränderungen auf T-Zell Ebene

Zytokine im Überstand wurden nach in vitro Stimulation von PBMCs für 48 Stunden mit Erdnuss, PHA und Kulturmedium allein vor und nach OIT mittels CBA am Durchflusszytometer quantifiziert (siehe Kapitel 2.4.7). Bei insgesamt drei Patienten (Verum n= 2, Placebo n=1) konnte entweder vor oder nach OIT nicht genügend Blutvolumen gewonnen werden, um die Analyse durchzuführen. Daher konnten für die Auswertung insgesamt Datensätze von 49/52 Patienten (Verum n=26, Placebo n=23) herangezogen werden.

#### Zytokinprofil nach Stimulation mit Medium allein oder PHA

Nach Inkubation mit Medium allein zeigten sich keine relevanten Zytokin-Level im Überstand vor und nach OIT, in der Regel befanden sich die Werte unterhalb der entsprechenden Nachweisgrenze (Anhang Tabelle A.10 und A.11). Die Stimulation mit PHA als unspezifisches Stimulanz führte wie erwartet im Vergleich zur Inkubation mit Medium allein zu einem signifikanten Anstieg hinsichtlich aller gemessenen Zytokine bei Patienten beider Gruppen vor und nach OIT (Daten nicht gezeigt). Vor OIT wiesen Patienten beider Gruppen besonders hohe Werte bezüglich IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-5 und IL-10, sowie niedrige Werte bezüglich IL-2 und IL-4 auf (Abbildung 3.13 und Abbildung 3.14).

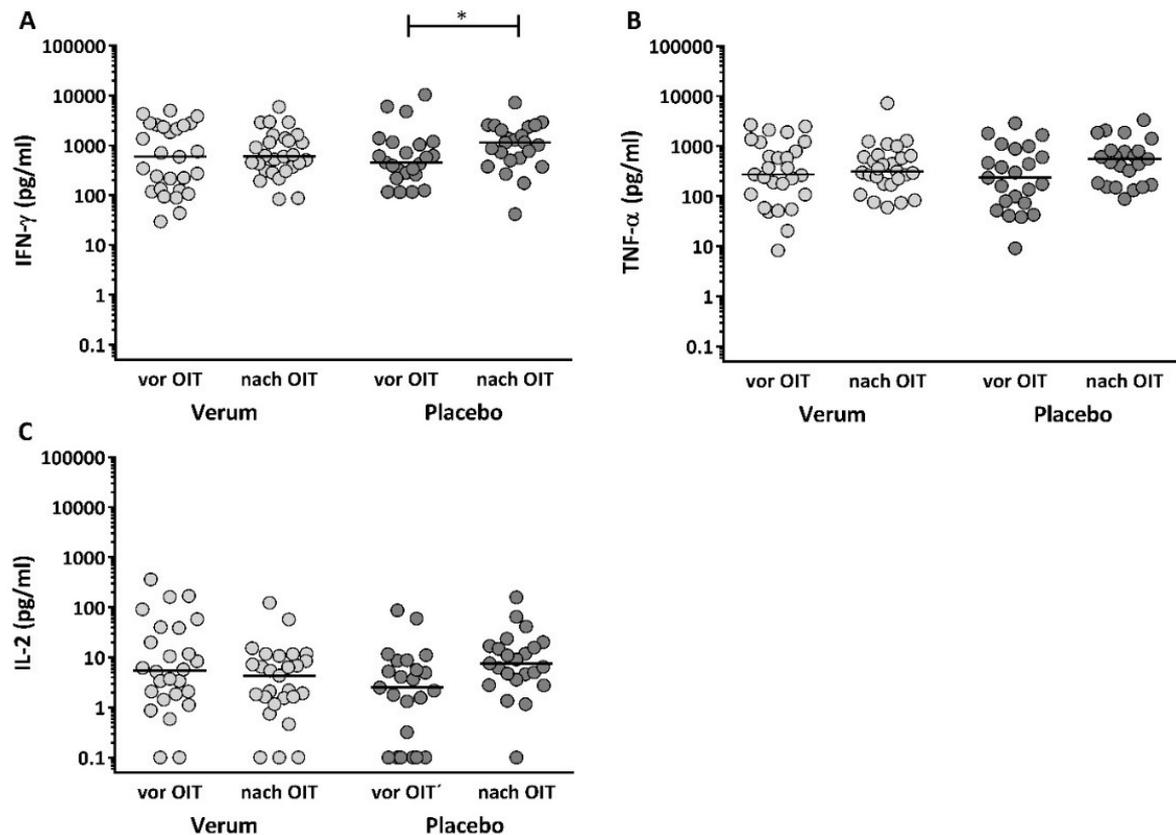


Abbildung 3.13: Sekretion von IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  (Th1-spezifisch) und IL-2 nach Stimulation mit PHA vor und nach oraler Immuntherapie (OIT) bei Patienten der Verum-(n=23) und Placebogruppe (n=21). Periphere mononukleäre Zellen wurden aus Vollblut isoliert und mit PHA (20  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) stimuliert und für 48 Stunden kultiviert. Die Bestimmung der Zytokine im Überstand erfolgte mittels Cytometric Bead Assay und Messung am Durchflusszytometer. Ergebnisse zeigen Werte nach PHA-Stimulation abzüglich Medium. Linien repräsentieren den Median. Nur statistisch signifikante inter- und intra-Gruppenunterschiede sind gekennzeichnet;  $p^* < 0,05$ .

Unter Verum-OIT zeigte sich keine Veränderung der Zytokin-Spiegel nach PHA-Stimulation. Auch unter Placebo-OIT waren konstante Level an TNF- $\alpha$ , IL-2 und IL-4 zu beobachten, jedoch kam es bei Patienten der Placebogruppe zu einem signifikanten Anstieg der bereits vor OIT hohen IFN- $\gamma$ , IL-5- und IL-10-Spiegel (Abbildung 3.13 A, Abbildung 3.14 B C).

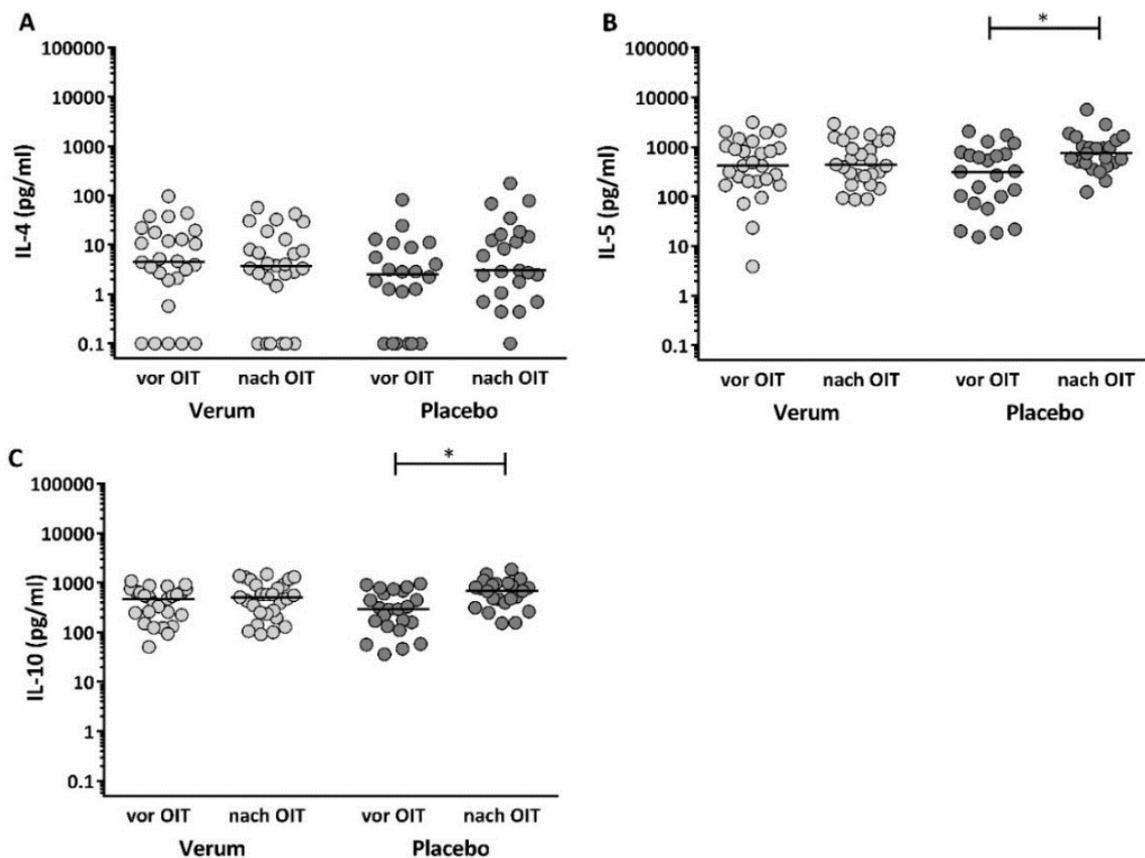


Abbildung 3.14: Sekretion von IL-4, IL-5 (Th2-spezifisch) und IL-10 nach Stimulation mit PHA vor und nach oraler Immuntherapie (OIT) bei Patienten der Verum-(n=23) und Placebogruppe (n=21). Periphere mononukleäre Zellen wurden aus Vollblut isoliert und mit PHA (20  $\mu$ g/ml) stimuliert und für 48 Stunden kultiviert. Die Bestimmung der Zytokine im Überstand erfolgte mittels Cytometric Bead Assay und Messung am Durchflusszytometer. Ergebnisse zeigen Werte nach PHA-Stimulation abzüglich Medium. Linien repräsentieren den Median. Nur statistisch signifikante inter- und intra-Gruppenunterschiede sind gekennzeichnet;  $p < 0,05$ .

### Zytokinprofil nach Stimulation mit Erdnuss

Auch die allergenspezifische Stimulation der PBMCs mit Erdnussextrakt führte erwartungsgemäß zu einem signifikanten Anstieg der Sekretion aller erfassten Zytokine im Vergleich zur Inkubation mit Medium allein bei Patienten der Verum- und Placebogruppe vor und nach OIT (Daten nicht gezeigt). Vor OIT waren keine Unterschiede hinsichtlich des Zytokinprofils zwischen Patienten der Verum- und Placebogruppe zu beobachten. Insgesamt zeigten Patienten vor OIT besonders hohe Konzentrationen an IL-5 (Th2-spezifisch) und IL-2 im Überstand nach Erdnusstimulation (Abbildung 3.15 C und Abbildung 3.16 B). IL-4 und IL-10 lagen in moderaten Konzentrationen und die Th1-

spezifischen Zytokine IFN- $\gamma$  und TNF- $\alpha$  in sehr geringen Mengen vor (Abbildung 3.15, Abbildung 3.16). Somit wiesen die Patienten vor OIT insgesamt ein eher Th2-gerichtetes Zytokinprofil auf.

Unter OIT kam es bei Patienten der Verumgruppe zu einem statistisch hochsignifikanten Abfall der IL-4 und IL-5-Spiegel (Th2-spezifisch) nach Erdnussstimulation ( $p < 0,001$ ). Die Level dieser Zytokine lagen nach OIT bei Patienten der Verumgruppe im Median signifikant niedriger als bei Patienten der Placebogruppe ( $p < 0,01$ ). Wenn auch in geringerem Maße und ohne statistisch signifikanten Unterschied zur Placebogruppe, zeigte sich unter Verum-OIT auch eine Abnahme der Level an IL-10 und IL-2 sowie der Th1-spezifischen Zytokine IFN- $\gamma$  und TNF- $\alpha$  nach Erdnussstimulation (Abbildung 3.15, Abbildung 3.16 C) Bei Patienten der Placebogruppe wurden keine statistisch signifikante Unterschiede im Median hinsichtlich aller gemessenen Zytokin-Level nach allergenspezifischer Stimulation unter OIT beobachtet.

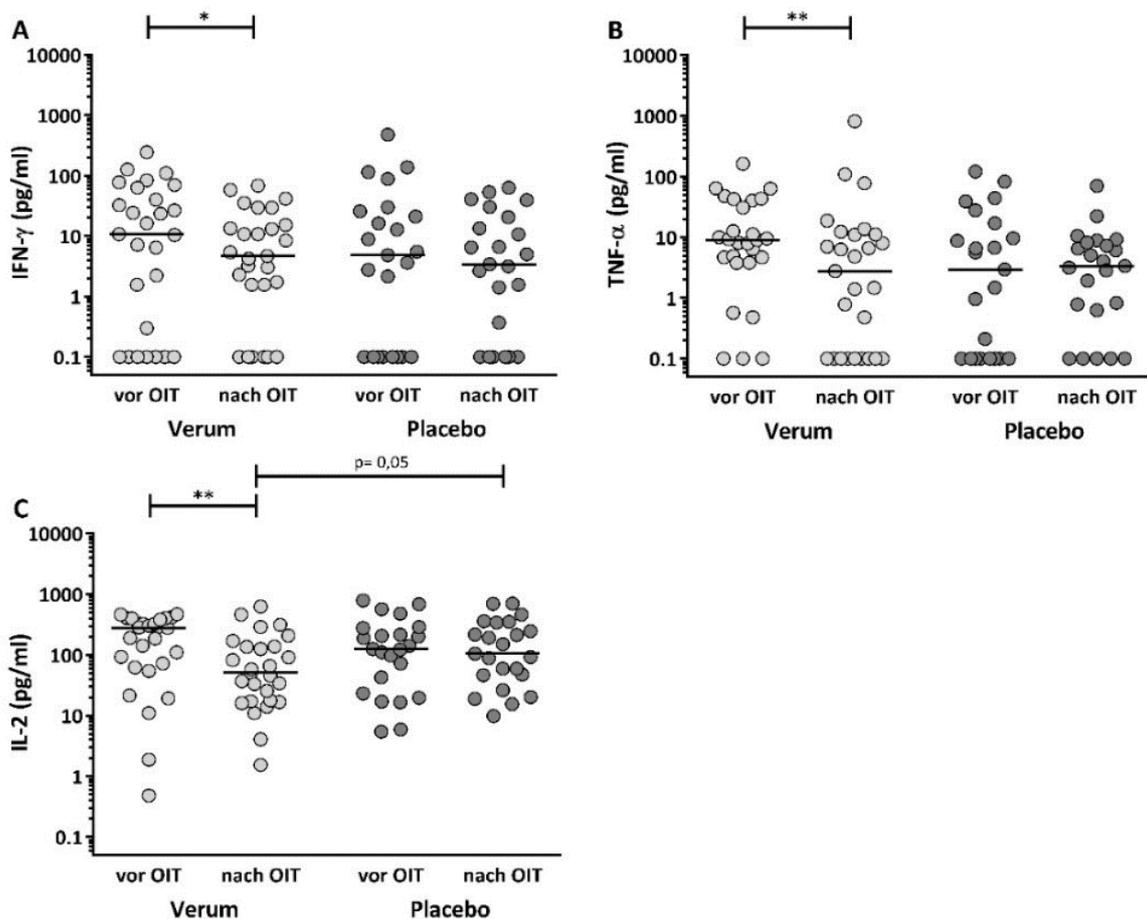


Abbildung 3.15: Sekretion von IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  (Th1-spezifisch) und IL-2 nach Stimulation mit Erdnussextrakt vor und nach oraler Immuntherapie (OIT) bei Patienten der Verum- ( $n=23$ ) und Placebogruppe ( $n=21$ ). Periphere mononukleäre Zellen wurden aus Vollblut isoliert und mit Erdnussextrakt ( $50 \mu\text{g/ml}$ ) stimuliert und für 48 Stunden kultiviert. Die Bestimmung der Zytokine im Überstand erfolgte mittels Cytometric Bead Assay und Messung am Durchflusszytometer. Ergebnisse zeigen Werte nach Erdnuss-Stimulation abzüglich Medium. Linien repräsentieren den Median. Nur statistisch signifikante inter- und intra-Gruppenunterschiede sind gekennzeichnet;  $p^* < 0,05$ ;  $p^{**} < 0,01$ .

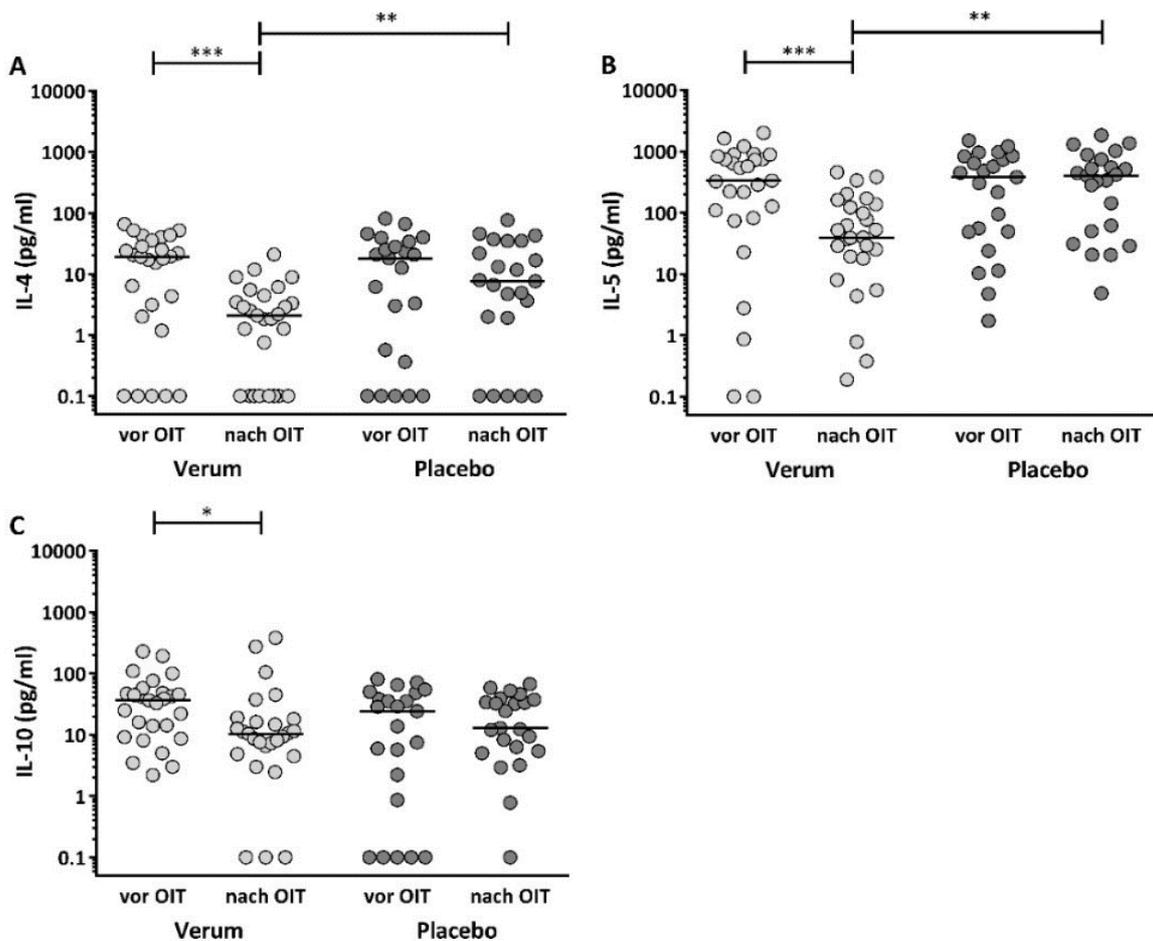


Abbildung 3.16: Sekretion von IL-4, IL-5 (Th2-spezifisch) und IL-10 nach Stimulation mit Erdnussextrakt vor und nach oraler Immuntherapie (OIT) bei Patienten der Verum-(n=23) und Placebogruppe (n=21). Periphere mononukleäre Zellen wurden aus Vollblut isoliert und mit Erdnussextrakt (50 µg/ml) stimuliert und für 48 Stunden kultiviert. Die Bestimmung der Zytokine im Überstand erfolgte mittels Cytometric Bead Assay und Messung am Durchflusszytometer. Ergebnisse zeigen Werte nach Erdnuss-Stimulation abzüglich Medium. Linien repräsentieren den Median. Nur statistisch signifikante inter- und intra-Gruppenunterschiede sind gekennzeichnet;  $p^* < 0,05$ ;  $p^{**} < 0,01$ ;  $p^{***} < 0,001$ .

### 3.5 Lebensqualität und Therapiebelastung unter oraler Immuntherapie

Die Lebensqualität vor und nach OIT sowie die Therapiebelastung während OIT bei Patienten und deren Eltern wurden anhand standardisierter Fragebögen, wie in Kapitel 2.7 beschrieben, erfasst.

#### 3.5.1 Lebensqualität

Nach OIT lagen von Müttern (von Kindern zwischen 3-12 Jahren) zur Einschätzung der Lebensqualität ihres Kindes 20/27 vollständig ausgefüllte Fragebögen der Verum- und 18/21 Fragebögen der Placebogruppe vor. Von Kindern (zwischen 8-12 Jahren) lagen zur Selbsteinschätzung ihrer Lebensqualität nach OIT 9/11 vollständige Fragebögen der Verum- und 8/9 Fragebögen der Placebogruppe vor. Aufgrund der geringen Fallzahl vorhandener Fragebögen von Jugendlichen (Verum 1/1, Placebo 2/3) sind Daten für diese Altersgruppe im Folgenden nicht aufgeführt. Die Fragebögen zur Lebensqualität nach OIT wurden von Kindern im Median nach 11

Wochen (Spannweite 5-25 Wochen) und von Müttern im Median nach 9,5 Wochen (Spannweite 4-106 Wochen) nach der Abschlussvisite (V3) ausgefüllt. Vor OIT zeigten sich keine Unterschiede bezüglich des Gesamtscores der Lebensqualität zwischen Patienten der Verum- und Placebogruppe im FAQLQ-CF und FAQLQ-PF (Tabelle 3.4). Nach OIT wiesen Kinder der Verumgruppe eine statistisch signifikante und klinisch relevante Verbesserung des Gesamtscores der Lebensqualität im Vergleich zu vor OIT auf ( $p < 0,05$ ), wohingegen keine maßgebliche Änderung des Lebensqualitäts-Gesamtscores bei Kindern der Placebogruppe zu beobachten war (Abbildung 3.17 A und Abbildung 3.18 A).

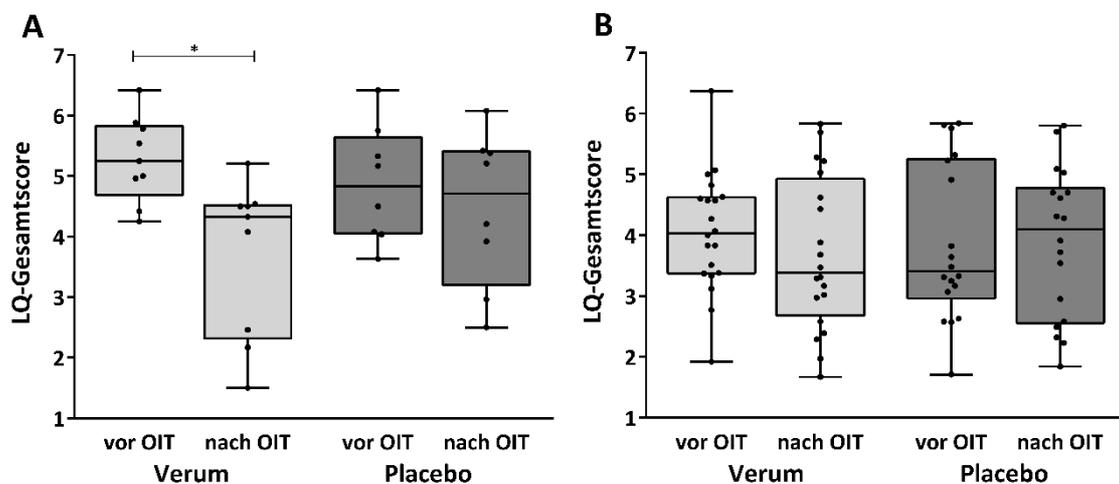


Abbildung 3.17: Gesamtscore der Lebensqualität (LQ) vor und nach oraler Immuntherapie (OIT). (A) Selbsteinschätzung der LQ von Kindern (8-12 Jahre) der Verum- (n=9) und Placebogruppe (n=8), (B) Einschätzung der LQ des Kindes (3-12 Jahre) von Müttern der Verum- (n=20) und Placebogruppe (n=18). Fragen zur LQ wurden anhand einer Likert-7-Punkte-Skala bewertet (von 1 „gar nicht beeinträchtigt“ bis 7 „extrem beeinträchtigt“). Boxen repräsentieren 25% bis 75% Quartile, Whisker repräsentieren die Spannweite, Linien repräsentieren den Median. Nur statistisch signifikante inter- und intra-Gruppenunterschiede sind gekennzeichnet;  $p < 0,05$ .

Der Lebensqualitäts-Gesamtscore nach OIT unterschied sich jedoch nicht signifikant zwischen Kindern der Verum- und Placebogruppe ( $p = 0,236$ ). Insgesamt zeigten 77,8% der Kinder der Verumgruppe (7/9) eine klinisch relevante Verbesserung des Gesamtscores (=Verbesserung des Skalenwertes um mindestens 0,5 (=MID), siehe Kapitel 2.7.1) und bei 22,2% der Kinder (2/9) kam es zu keiner relevanten Veränderung. Bei Kindern der Placebogruppe wiesen nur 37,5% (3/8) eine klinisch relevante Verbesserung vor und bei 62,5% (5/8) kam es entweder zu keiner Veränderung oder eine klinisch relevante Verschlechterung des Gesamtscores.

Mütter von Patienten zwischen 3-12 Jahren der Verum- und Placebogruppe beurteilten die Lebensqualität ihrer Kinder nach OIT ähnlich wie vor Beginn der OIT (Abbildung 3.17 B und Abbildung 3.18 B). Hinsichtlich des Gesamtscores im Median unter OIT ergaben sich keine statistisch signifikanten oder klinisch relevanten Veränderungen bei Müttern der Verum- oder Placebogruppe. Insgesamt zeigte sich bei der Befragung der Mütter der Verumgruppe zur

Lebensqualität des Kindes bei 40% (8/20) eine klinisch relevante Verbesserung und bei 60% (12/20) entweder keine Veränderung oder eine klinisch relevante Verschlechterung des Lebensqualitäts-Gesamtscores. Bei Müttern der Placebogruppe lag bei nur 22% (4/18) eine klinisch relevante Verbesserung und bei 78% (14/18) entweder keine Veränderung oder eine klinisch relevante Verschlechterung des Gesamtscores vor. Um den Einfluss der OIT auf die Lebensqualität noch genauer zu untersuchen, wurden auch Veränderungen hinsichtlich der einzelnen Domänen der Lebensqualität des FAQLQ-CF und -PF unter OIT analysiert (Abbildung 3.18).

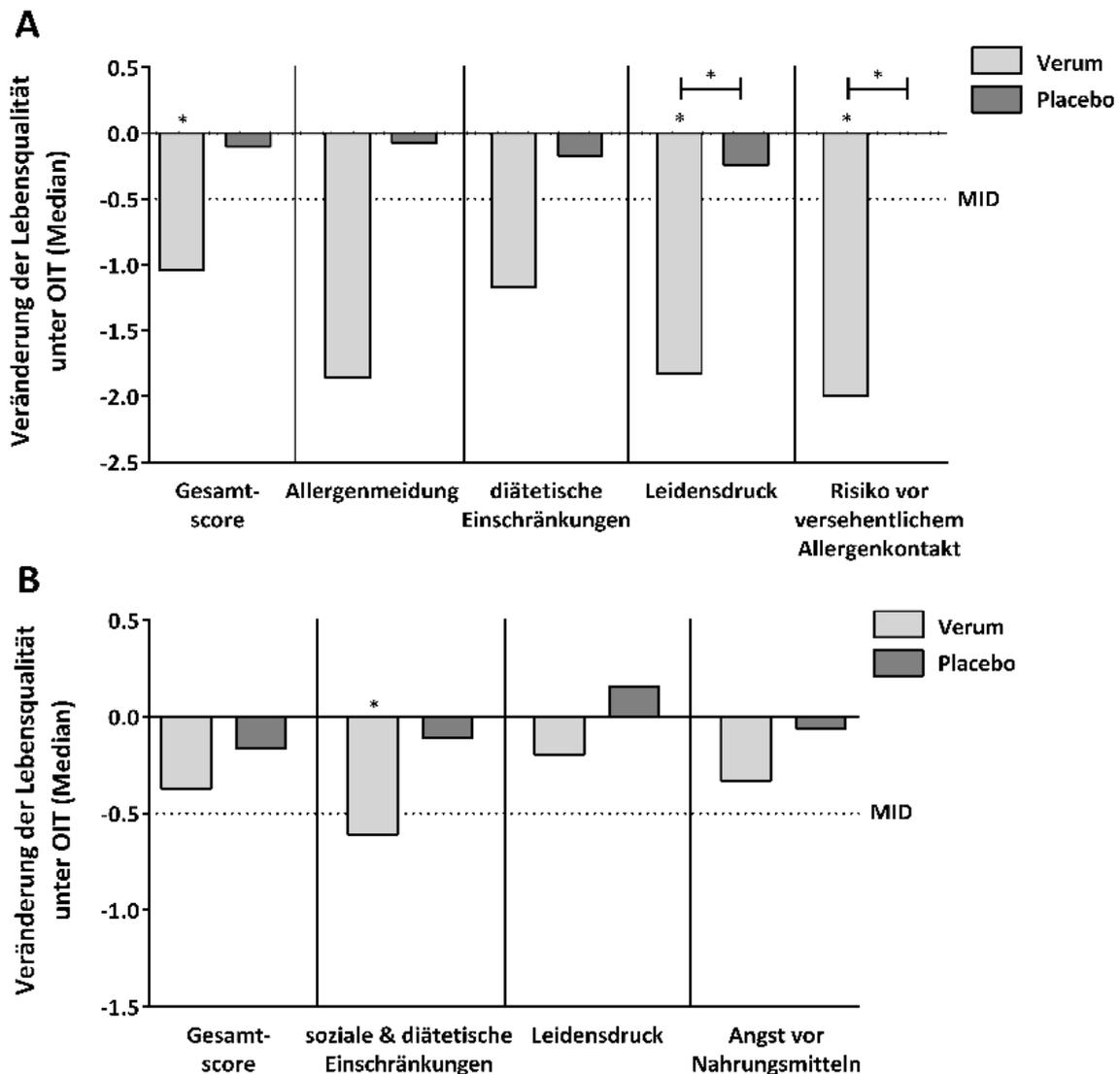


Abbildung 3.18: Veränderung der Lebensqualität (LQ) nach einzelnen Domänen unter oraler Immuntherapie (OIT). (A) Selbsteinschätzung der LQ von Kindern (8-12 Jahre) der Verum- (n=9) und Placebogruppe (n=8), (B) Einschätzung der LQ des Kindes (3-12 Jahre) von Müttern der Verum (n=20) und Placebogruppe (n=18). Fragen zur LQ wurden anhand einer Likert-7-Punkte-Skala bewertet (von 1 „gar nicht beeinträchtigt“ bis 7 „extrem beeinträchtigt“). Dargestellt ist die Veränderung des LQ unter OIT im Median pro Gruppe. Gestrichelte Linie steht für MID (=minimal clinically important difference, minimale klinisch relevante Verbesserung). Nur statistisch signifikante inter- und intra-Gruppenunterschiede sind gekennzeichnet; \*p<0,05.

Bei Kindern der Verumgruppe zeigte sich eine klinisch relevante Verbesserung in allen vier Domänen unter OIT (= MID < -0,5) (Abbildung 3.18 A). Dagegen konnte bei Kindern der Placebogruppe in keiner der vier Domänen eine klinisch relevante Verbesserung beobachtet werden. Hinsichtlich der Domänen „Leidensdruck“ und „Risiko vor akzidentellen Reaktionen“ zeigte sich die Lebensqualität unter Verum-OIT im Vergleich zu Placebo als statistisch signifikant verbessert. Bei der Bewertung der einzelnen Lebensqualitäts-Domänen durch Mütter der Verumgruppe, ging „soziale und diätetische Einschränkung“ als einzige der drei Domänen knapp mit einer klinisch relevanten Verbesserung unter Verum-OIT einher (Abbildung 3.18 B). Der Unterschied war innerhalb der Verumgruppe nach OIT im Vergleich zu vor OIT statistisch signifikant ( $p=0,035$ ), jedoch nicht im Vergleich zu Placebo. Bei Müttern der Placebogruppe waren keine klinisch relevante Veränderungen in der Einschätzung der einzelnen Domänen unter OIT zu beobachten, ähnlich zu den Ergebnissen der eigenen Einschätzung der Kinder der Placebogruppe.

### 3.5.2 Therapiebelastung

Von Müttern lagen zur Therapiebelastung (BoT) während anfänglicher OIT 27/30 Fragebögen der Verum- und 23/26 Fragebögen der Placebogruppe vor, und nach OIT von 23/27 der Verum- und 20/21 der Placebogruppe. Von Kindern zwischen 8-12 Jahren lagen während OIT 11/13 Fragebögen der Verum- und 10/10 der Placebogruppe vor, und nach OIT 10/11 der Verumgruppe und 9/9 der Placebogruppe. Aufgrund der geringen Fallzahl vorhandener Fragebögen von Jugendlichen (Verum 1/1, Placebo 3/5) sind Daten für diese Altersgruppe im Folgenden nicht aufgeführt. Mütter füllten den BoT-Fragebogen während OIT im Median nach 21 Wochen (Spannweite 15-38 Wochen) nach Therapiebeginn aus, Kinder im Median nach 20 Wochen (Spannweite 16-38 Wochen). Die Fragebögen nach Studienabschluss wurden von Müttern im Median nach 10 Wochen (Spannweite 3-40 Wochen) nach der Abschlussvisite und von Kindern im Median nach 11 Wochen (Spannweite 4-25 Wochen) ausgefüllt.

Während OIT empfanden 82% der Kinder der Verum- und 90% der Kinder der Placebogruppe die Therapie als insgesamt positiv (= BoT-Skala 1-3) und nur 18% der Kinder der Verum- und 10% der Placebogruppe als insgesamt negativ (= BoT-Skala 4-7) (siehe Abbildung 3.19 A). Keines der Kinder beider Gruppen bewertete die Therapie zu diesem Zeitpunkt mit einem BoT-Skalenwert von 6 oder 7 („negativ“ oder „sehr negativ“). 73% ( $n=8$ ) der Kinder der Verumgruppe gaben an, dass sie die OIT erneut als Therapie durchführen würden (Tabelle 3.21). Ähnliche Zahlen zeigten sich bei Kindern der Placebogruppe. Nach der Abschlussvisite und Entblindung empfanden 90% der Kinder der Verum- jedoch nur noch 56% der Placebogruppe die Therapie als insgesamt positiv (= BoT-Skala 1-3) und 10% der Verum- und 44% der Placebogruppe als insgesamt negativ (= BoT-Skala 4-7) (Abbildung 3.19 A). Ein Kind der Verum- und zwei Kinder der Placebogruppe bewerteten die

Therapie zu diesem Zeitpunkt mit einem BoT-Skalenwert von 6 oder 7 („negativ“ oder „sehr negativ“). Diese drei Kinder gaben auch an, eine OIT nicht erneut durchführen zu wollen (Tabelle 3.21).

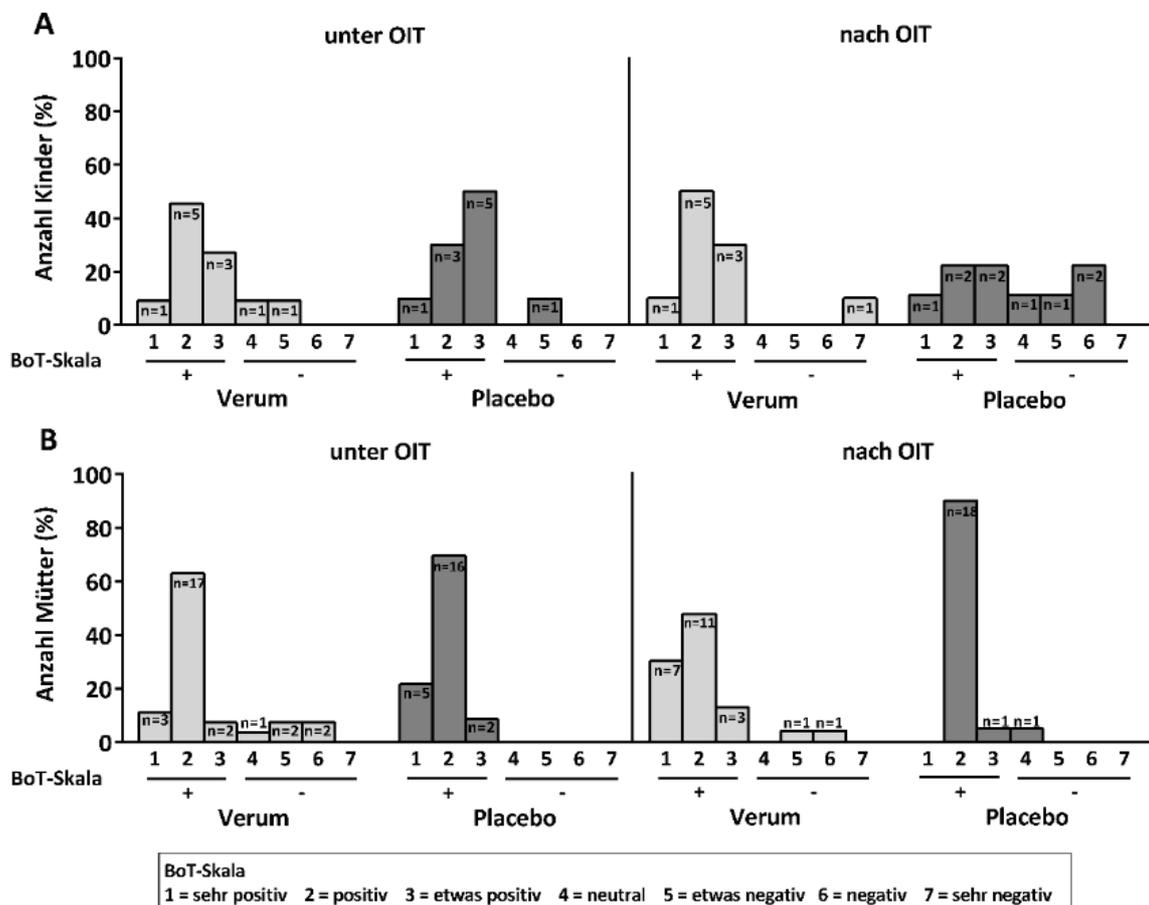


Abbildung 3.19: Ergebnisse des Fragebogens zur Therapiebelastung (BoT) unter oraler Immuntherapie (OIT). (A) Kinder zwischen 8-12 Jahren (Verum n=11, Placebo n=10). (B) Mütter von Kindern zwischen 3-12 Jahren (Verum n=27, Placebo n=23) Unter OIT = 4-5 Monate nach Therapiestart (V2.1), nach OIT = 4-5 Wochen nach Abschlussvisite (V3).

Vergleichbar zur Einschätzung der Therapiebelastung durch die Kinder während OIT, bewertete auch der Großteil Mütter die Therapie als insgesamt positiv (= BoT-Skala 1-3): in der Verumgruppe waren es 82% der Mütter und in der Placebogruppe 100% (Abbildung 3.19 B). Nach OIT zeigte sich bei den Müttern ein ähnliches Bild: 91% der Verumgruppe und 95% der Placebogruppe bewerteten die Therapie nach wie vor als insgesamt positiv. Der Anteil der Mütter in der Verumgruppe, die die Therapie als „sehr positiv“ (=BoT-Skala 1) bewerteten stieg dabei von 11% auf 30% an. Nahezu alle Mütter gaben zu beiden Zeitpunkten an die OIT als Therapieoption erneut durchführen zu wollen, sowohl in der Verum- als auch in der Placebogruppe (Tabelle 3.21). Alle drei teilnehmenden Familien der Placebogruppe, die im BoT-Fragebogen nach OIT angaben, die OIT nicht erneut als Therapieoption wählen zu würden (Kinder (n=2) und Mütter (n=1)), entschieden sich nach

Entblindung gegen die optionale nachfolgenden aktive OIT mit Erdnuss. Von den drei Kindern der Verumgruppe, die im BoT-Fragebogen nach OIT angaben, die OIT nicht wieder als Therapieoption zu wählen, entschied sich eine Familie gegen die weitere Fortführung der OIT kurze Zeit nach der Abschlussvisite.

Tabelle 3.21: Ergebnisse des Fragebogens zur Therapiebelastung (BoT) unter oraler Immuntherapie (OIT). (A) Kinder zwischen 8-12 Jahren (Verum n=11, Placebo n=10). (B) Mütter von Kindern zwischen 3-12 Jahren (Verum n=27, Placebo n=23) Unter OIT = 4-5 Monate nach Therapiestart (V2.1), nach OIT= 4-5 Wochen nach Abschlussvisite (V3)

Erneutes Durchführen der oralen Immuntherapie	Kinder		Mütter	
	Verum	Placebo	Verum	Placebo
<b>Während OIT</b>	<b>(n=11/13)</b>	<b>(n=10/19)</b>	<b>(n=27/30)</b>	<b>(n=23/26)</b>
Ja	8 (73%)	7 (78%)	26 (96%)	21 (91%)
Nein	1 (9%)	1 (11%)	1 (4%)	2 (9%)
Unbekannt	2 (18%)	1 (11%)	0 (0%)	0 (0%)
<b>Nach OIT</b>	<b>(n=10/11)</b>	<b>(n=9/9)</b>	<b>(n=23/27)</b>	<b>(n=20/21)</b>
Ja	7 (70%)	7 (78%)	23 (100%)	19 (95%)
Nein	3 (30%)	2 (22%)	0 (0%)	1 (5%)

## 4 Diskussion

### 4.1 Studienkollektiv und Studiendesign

#### 4.1.1 Studienkollektiv

In die randomisierte, doppelblind, Placebo-kontrollierte OIT-Studie mit Erdnuss wurden insgesamt 62 Kinder mit einer durch Provokation nachgewiesenen IgE-vermittelten Erdnussallergie eingeschlossen. Das Patientenkollektiv der vorliegenden Studie zeigte sich erwartungsgemäß als Hochrisikokollektiv für anaphylaktische Reaktionen. Die Patienten der vorliegenden Studie wiesen zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses ein hohes sIgE gegen Erdnuss sowie die Erdnusskomponente Ara h 2 sowie einen großen erdnusspezifischen Quaddeldurchmesser im Hautpricktest auf. Ein hoher Sensibilisierungsgrad wird mit einem erhöhten Risiko für eine niedrige Reaktionsdosis und schweren Reaktionen auf Erdnuss assoziiert [206, 207]. Patienten und deren Familien wurden vor Beginn der Studie ausführlich über den großen zeitlichen Aufwand der Intervention (Dosissteigerung alle 14 Tage unter ärztlicher Aufsicht, tägliche Überwachung der OIT-Gaben durch die Eltern und Tagebuchführung), dem Risiko für allergische Reaktionen unter Verum-Therapie, sowie die nur 50-prozentige Chance tatsächlich die wirksame Therapie zu erhalten aufgeklärt. Hierdurch wurden bereits Patienten und Familien mit besonders hohem Leidensdruck für die Teilnahme selektiert. Dies zeigte sich bereits an den Daten zur Lebensqualität der Patienten vor Beginn der Studie. Verglichen mit Studienpopulationen bisher publizierten OIT-Studien mit Erdnuss, Kuhmilch und Hühnerei, die Daten zur Lebensqualität erhoben haben, wiesen die Patienten der vorliegenden Studie eine besonders schlechte Lebensqualität auf [164, 208, 209]. Allergische Reaktionen nach akzidentellem Erdnussverzehr vor Studieneinschluss waren häufig und über die Hälfte der Kinder erlitt dabei bereits mindesten eine schwere, anaphylaktische Reaktion. Bei mehr als der Hälfte der Kinder bestand neben der Erdnussallergie parallel ein Asthma bronchiale oder hyperreagibles Bronchialsystem. Unter oraler Provokation vor Studienbeginn reagierten über ein Drittel der Kinder mit den unteren Atemwegen. Bei Nahrungsmittelallergikern werden ein parallel bestehendes Asthma bronchiale sowie eine vorausgegangene anaphylaktische Reaktion auf das Nahrungsmittelallergen mit einem besonders hohen Anaphylaxierisiko assoziiert [104]. Eine Therapie ist daher insbesondere für diese Kinder von besonders hoher Relevanz und andere OIT-Studien schlossen Kinder mit hohem Anaphylaxierisiko teilweise explizit von der Teilnahme aus (siehe Kapitel 4.1.4 und Tabelle 4.1).

Einige Daten zu den Charakteristika des vorliegenden Studienkollektiv wurden bereits im Rahmen einer anderen Fragestellung von Blümchen et al. publiziert [173]. Verglichen mit den vorliegenden

Ergebnissen zeigten sich dabei leichte Unterschiede. (1) Bei der Anzahl an Patienten mit akzidentellen Reaktionen auf Erdnuss in der Vergangenheit: die in der vorliegenden Arbeit höhere Anzahl betroffener Patienten ( $n=+4$ ) ist dadurch begründet, dass in der Publikation von Blümchen et al. ausschließlich allergische Reaktionen eingeschlossen wurden, die nach absolut gesichertem, isoliertem Verzehr von Erdnuss auftraten. (2) Bei der Anzahl an Patienten die von weiteren Nahrungsmittelallergien betroffen waren: die in der vorliegenden Arbeit geringere Anzahl ( $n=-3$ ) an betroffenen Kindern ist dadurch begründet, dass strengere Kriterien für die Definition einer klinisch relevanten Nahrungsmittelallergie herangezogen wurden (= nachgewiesene Sensibilisierung sowie positive Provokation und/oder klare Sofortreaktion in der Vergangenheit auf das entsprechende Nahrungsmittel). (3) Bei der Anzahl an Patienten mit einer Reaktion der unteren Atemwege bei der Provokation vor OIT: die in der vorliegenden Arbeit höhere Anzahl ( $n=+1$ ) ist dadurch begründet, dass neue klinische Informationen für den entsprechenden Patienten aufgefunden wurden.

#### 4.1.2 Studiendesign

Randomisierte, doppelblind, Placebo-kontrollierte Studien stellen den Goldstandard bei Interventionsstudien in der klinischen Forschung dar, um die Wirksamkeit und Sicherheit einer neuartigen Therapieform zu untersuchen [210]. Bezüglich demographischer, klinischer und immunologischer Parameter zu Studienbeginn zeigten sich keine relevanten Unterschiede zwischen Patienten der Verum- und Placebogruppe (Kapitel 3.1). Dies spricht für eine gute Strukturgleichheit der Gruppen anhand der gewählten stratifizierten Randomisierung nach Alter und erdnusspezifischem IgE. Durch das doppelblinde Design wurde gewährleistet, dass sowohl der beurteilende Arzt, als auch der Patient und dessen Familie hinsichtlich der Gruppeneinteilung verblindet waren. Dies erhöht maßgeblich die Objektivierbarkeit der Studienergebnisse. Eine weitere Stärke der vorliegenden Studie liegt in der Durchführung einer oralen Provokation mit Erdnuss vor Beginn der OIT. Somit konnten zusätzliche Parameter zur klinischen Wirksamkeit, wie die Veränderung der Reaktionsschwelle bzw. -schwere unter oraler Provokation vor und nach OIT erhoben werden. Zur besseren Bestimmung der Reaktionsdosis unter Provokation wurde außerdem ein abgewandeltes Protokoll mit einem zeitlichen Abstand von zwei Stunden zwischen den Gaben gewählt. Dies bewies sich als sinnvoll, da ein Großteil der Patienten unter Provokation sowohl vor als auch nach OIT objektive Symptome erst nach über 50 Minuten zeigten. 86% der Schweregrads IV-Reaktionen unter Provokation traten innerhalb von 1-3 Stunden nach Verzehr einer Erdnussgabe auf. Im Vergleich zu dem sonst üblichen zeitlichen Abstand von 30 Minuten zwischen den Dosisstufen wie er in anderen Studien zur OIT eingehalten wurde, konnten so sowohl der Schwellenwert als auch der Schweregrad unter Provokation besser bestimmt werden. Ein Nachteil der vorliegenden Studie besteht darin, dass eine offene Provokation mit Erdnuss und keine DBPCFC, dem Goldstandard zur Diagnosestellung einer Nahrungsmittelallergie, vor und nach OIT

durchgeführt wurde. Jedoch bestand bereits vor Studieneinschluss bei dem Großteil der Patienten eine ärztliche Diagnose der Erdnussallergie aufgrund einer vorausgegangenen DBPCFC oder aufgrund mindestens einer klaren allergischen Soforttypreaktion nach isolierter Erdnussexposition. Daher diente die Provokation in der vorliegenden Studie vielmehr zur Bestimmung des Schwellenwerts bei den Patienten vor OIT als zur Diagnosestellung. Die Beurteilung der Provokation verlief nach standardisierten Kriterien und stets durch dieselbe Studienärztin. Nur vorab definierte objektive Reaktionen, die international anerkannt sind, galten als Abbruchkriterien [101]. In der vorliegenden Studie wurde ein OIT-Protokoll mit einer langsamen Steigerungsphase, beginnend mit einer geringen, individuellen Startdosis, und anschließender Erhaltungsphase angewandt. Aufgrund der Ergebnisse der vorausgegangenen „rush“-Immuntherapiestudie mit Erdnuss wurde zur Steigerung keine schnelle „rush“-Steigerungsphase gewählt, da sich dieses Protokoll als weniger effektiv und weniger sicher im Vergleich zu einer langsamen Steigerung zeigte [143]. Wie bereits in der Einleitung beschrieben, konnte in dieser Studie der Großteil der Patienten ihre Erdnuss-Reaktionsschwelle im Rahmen der „rush“-Steigerungsphase gar nicht oder nur geringfügig erhöhen und es kam häufig zu objektiven Nebenwirkungen (siehe Kapitel 1.6.4) [143].

#### **4.1.3 Studiennahrung**

In der vorliegenden Studie wurde eine standardisierte Rezeptur für die Studiennahrung verwendet, die zum einen der vollständigen Verblindung der Patienten und des Studienarztes diente und zum anderen einen konstanten Proteingehalt der Verum-OIT durch eine einheitliche Matrix gewährleistete. Die zubereitete und eingesetzte Studiennahrung (Kapitel 2.5) wurde ursprünglich zur Verblindung von Provokationsmahlzeiten etabliert [196]. Es handelt sich dabei um eine komplett allergenfreie Matrix, die den Vorteil hat, dass sie auch für den Verzehr von Kinder mit multiplen Nahrungsmittelallergien geeignet ist. Cochrane et al. konnten anhand sensorischer Testverfahren zeigen, dass eine Verblindung von bis zu 1 g Haselnussprotein mit dieser Schokoladenmatrix möglich war (Proteinkonzentration 6 mg/ml). In der vorliegenden Studie wurden zwar keine entsprechenden validierten oder standardisierten sensorischen Analysen zur Verblindungskapazität der Matrix durchgeführt, jedoch lag die maximal zu verblindende Erdnussproteinkonzentration der Matrix unterhalb der zur Verblindung validierten Haselnussproteinkonzentration (Erdnussproteinkonzentration der „hoch-dosis“ OIT-Verum-Studiennahrung: 5 mg/ml; maximal zu verzehrende Erdnussproteindosis 250 mg/Tag). Außerdem verzehrten die Patienten ausschließlich eine der beiden Rezepturen -Verum oder Placebo- während des gesamten Studienzeitraums und nicht wie im Rahmen einer Provokation beide Rezepturen an Folgetagen, wodurch von einer hinreichenden Verblindung ausgegangen werden kann, da kein direkter Vergleich möglich war. Verschiedene Formen des Nahrungsmittels, die Zubereitungsform oder auch die Matrix, mit der das Allergen verzehrt wird, können Einfluss auf dessen allergene

Wirkung haben [211]. Es konnte beispielsweise bezüglich Hitzeeinwirkung gezeigt werden, dass die Allergenität von gerösteter Erdnuss höher ist, als die von gekochter Erdnuss [75]. In dieser Arbeit wurde für die Verum-Studiennahrung ein Erdnussmehl mit standardisiertem Röstgehalt verwendet. Auch der Fettgehalt der Matrix scheint eine Rolle auf das allergene Potential von Erdnuss zu haben [212]. Die verzehrfertige Studiennahrung beider Dosierungsstufen enthielt einen konstanten und geringen Fettgehalt von <9%. Durch die Überprüfung jeder Charge des Erdnussmehls und der Studiennahrung auf den Erdnussproteingehalt (siehe Kapitel 2.5.2) sowie der Dosierung mit Hilfe der Messlöffel durch die Patienten, kann von einer guten Einhaltung der Dosierung der OIT entsprechend des vorgegebenen Steigerungsschemas ausgegangen werden.

#### **4.1.4 Vergleich mit bisher publizierten Studien zur oralen Immuntherapie mit Erdnuss**

Wie bereits in Kapitel 1.6.4 erwähnt, wurden im Verlauf der Durchführung der hier beschriebenen Studie neben der vorausgegangenen „rush“-OIT-Studie bei Erdnussallergie [143] vier weitere Studien zur OIT bei Kindern mit Erdnussallergie von zwei Arbeitsgruppen aus Großbritannien und den USA veröffentlicht (Tabelle 4.1) [161, 163-165]. Je zwei der Studien beinhalteten ein randomisiertes, kontrolliertes Design, eine davon ebenfalls doppelblind, Placebo-kontrolliert. Wie in Tabelle 4.1 aufgeführt, zeigen sich bereits große Unterschiede sowohl im Studiendesign als auch im OIT-Protokoll zwischen den Studien verschiedener Arbeitsgruppen. Hinsichtlich der Studienkollektive bestehen beispielsweise Unterschiede im Alter der eingeschlossenen Patienten (Alter im Median zwischen 4,8 bis 12,4 Jahre) oder dem Einschluss bzw. Ausschluss von Patienten mit einem erhöhtem Anaphylaxierisiko.

Auch hinsichtlich der durchgeführten Nahrungsmittelprovokationsprotokolle zeigen sich große Differenzen (offen oder doppelblind; kumulative Dosis zwischen 900–6600 mg Erdnussprotein; zeitlicher Abstand zwischen den Gaben) (Tabelle 4.2, Spalte 4). In einer Studie galten auch subjektive Symptome unter Provokation als Abbruchkriterium [163]. Zwei Studien zur Erdnuss-OIT aus den USA führten im Gegensatz zur vorliegenden Studie zu Studienbeginn keine orale Provokation mit Erdnuss durch (Tabelle 4.1) [161, 165]. Patienten wurden auf Basis der Anamnese und der sIgE-Level gegen Erdnuss eingeschlossen. Dabei kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass auch Kinder ohne eine klinische Relevanz eingeschlossen wurden und somit das Ergebnis der klinischen Wirksamkeit der OIT möglicherweise überschätzt wurde. Laut Autoren war davon auszugehen, dass aufgrund der Höhe der sIgE-Werte und der auftretenden Nebenwirkungen unter anfänglicher OIT, nur Patienten mit einer klinisch relevanten Erdnussallergie eingeschlossen wurden [161, 165]. Daten zur Voraussage einer klinischen Relevanz anhand von sIgE-Werten zeigen jedoch, dass auch Patienten mit einem hohen sIgE gegen Erdnuss eine orale Toleranz nach

Exposition aufweisen können [71]. Außerdem konnte durch die fehlende orale Provokation vor OIT kein Vergleich mit der Reaktionsdosis unter Provokation nach OIT vorgenommen werden.

Entsprechend zur vorliegenden Studie sah der Großteil der Studien ein OIT-Protokoll mit einer langsamen Steigerungsphase und anschließender Erhaltungsphase vor (Tabelle 4.1). Jedoch gibt es kein einheitliches Steigerungsschema und große Unterschiede hinsichtlich der Dosis (zwischen 125-4000 mg Erdnussprotein) und dem Zeitraum der Erhaltungsphase (zwischen 2-19 Wochen). Zwei der Erdnuss OIT-Studien führten vor Beginn der langsamen Steigerungsphase vorab einen sogenannten initialen Steigerungstag durch [161, 165], dies entspricht dem typischen Vorgehen von OIT-Protokollen aus den USA [213]. Dies kann als eine Art modifiziertes „mini-rush-OIT“ Verfahren angesehen werden.

Die vorliegende Studie ist die erste OIT-Studie mit Erdnuss, die eine standardisierte Matrix als Studiennahrung verwendet. Für die OIT mit Nahrungsmitteln existieren bislang keine standardisierten Allergenpräparate, wie beispielsweise für die SIT mit Insektengift oder Inhalationsallergenen. In den anderen Erdnuss-OIT Studien wurde keine einheitliche Matrix genutzt. In der Regel erhielten die Patienten vordosiertes geröstetes Erdnussmehl, das sie unter ein Nahrungsmittel ihrer Wahl mischen sollten (Tabelle 4.1). In der zweiten doppelblind, Placebo-kontrollierten Studie wurde als Placebo Hafermehl verwendet [165]. Aufgrund des sehr intensiven Eigengeruchs und Geschmacks des Erdnussmehls kann bei diesem Vorgehen nicht sicher davon ausgegangen werden, dass die Patienten und deren Familien hinsichtlich der Gruppeneinteilung tatsächlich voll verblindet waren.

## **4.2 Klinische Wirksamkeit der oralen Immuntherapie**

### **4.2.1 Erfolgreiche Desensibilisierung**

In der vorliegenden Studie zeigte sich eine sehr gute klinische Wirksamkeit der Erdnuss-OIT. Dies konnte hinsichtlich verschiedener Endpunkte gezeigt werden. Bezüglich des primären Endpunktes („partielle Desensibilisierung“) zeigte sich ein hochsignifikanter Unterschied zwischen Patienten der Verum- und Placebogruppe nicht nur in der PP- Analyse, sondern auch im Rahmen ITT- und Worst case-Analyse. Auch hinsichtlich der sekundären Endpunkte der klinischen Wirksamkeit zeigten sich signifikante Verbesserungen unter Verum-OIT im Vergleich zu Placebo. Hingegen konnte kein maßgeblicher Einfluss der OIT auf den Schweregrad der Reaktion unter Provokation beobachtet werden.

Tabelle 4.1: Übersicht über Design und Protokoll bisher publizierte Studien zur oralen Immuntherapie (OIT) mit Erdnuss bei Kindern.

	Studiendesign	Patienten pro Gruppe	Alter in Jahren, Median (Spannweite)	Einschlusskriterien bzgl. Erdnussallergie	Schweres Asthma oder Anaphylaxie = Ausschlusskriterien	OIT-Protokoll (Gesamtdauer)	Intervention
Jones et al. 2009 [161]	Offen, nicht kontrolliert	39	4,8 (1-9,3)	Erdnuss in Vorgesichte, sIge >15 kU/!\$ & SPT >3mm	ja	„rush“ Steigerungstag, langsame Steigerungsphase, Erhaltungsphase (~10 Monate)	Geröstetes Erdnussmehl in NIM der Wahl
Blumchen et al. 2010 [143]	Offen, nicht kontrolliert	23	5,6 (3-14)	DBPCFC	nein	„rush“ Steigerungsphase, langsame Steigerungsphase, Erhaltungsphase (9 Monate)	Geröstete, zerkleinerte Erdnusskerne
Anagnostou et al. 2011 [163]	Offen, nicht kontrolliert	22	11 (4-18)	DBPCFC	nein	langsame Steigerungsphase, Erhaltungsphase (14 Monate)	Geröstetes Erdnussmehl in NIM der Wahl <sup>\$\$\$</sup>
Anagnostou et al. 2014 [164]	Offen, randomisiert (1:1), kontrolliert (Eliminationsdiät)	49 Verum 50 Kontrolle	12,4 (7,2-16,3)	DBPCFC	nein	langsame Steigerungsphase, Erhaltungsphase (6,5 Monate)	Geröstetes Erdnussmehl in NIM der Wahl
Varshney et al. 2011 [165]	Doppelblind, randomisiert (2:1), Placebo-kontrolliert	19 Verum 9 Placebo	5,8 (2,3-10,5)	allergische Reaktion auf Erdnuss in Vorgesichte, sIge >15 kU/!\$ & SPT >3mm	ja <sup>\$\$</sup>	„rush“ Steigerungstag, langsame Steigerungsphase, Erhaltungsphase (12 Monate)	Geröstetes Erdnussmehl bzw. Hafermehl in NIM der Wahl
Vorliegende Studie	Doppelblind, randomisiert (1:1), Placebo-kontrolliert	31 Verum 31 Placebo	6,8 (3,2-17,8)	OFC	nein	langsame Steigerungsphase, Erhaltungsphase (16 Monate)	Standardisierte Matrix ± geröstetes Erdnussmehl

\$= sIge >7 kU/! bei allergischen Reaktion innerhalb der letzten sechs Monate vor Studieneinschluss; \$\$= Ausschluss von Patienten mit moderaterem bis schwerem Asthma; \$\$\$= in Erhaltungsphase wahlweise geröstete Erdnusskerne; DBPCFC= doppelblind, Placebo-kontrollierte Nahrungsmittelprovokation; NM= Nahrungsmittel; OFC= offene Nahrungsmittelprovokation

Tabelle 4.2: Übersicht der Ergebnisse zur klinischen Wirksamkeit bisher publizierte Studien zur oralen Immuntherapie (OIT) mit Erdnuss bei Kindern.

Erhaltungsphase: Dosis*/Dauer	Patienten, die Erhaltungsdosis erreichten	Verbreichte kumulative Dosis* unter Provokation vor → nach OIT	Maximal tolerierte Dosis* (Median) unter Provokation vor → nach OIT	Anzahl Patienten ohne Reaktion unter Provokation nach OIT (Desensibilisierung)#	
Jones et al. 2009 [161]	300 mg/ 19 Wochen	74%	Keine Provokation → OFC (3900 mg)	unbekannt	69%\$
Blumchen et al. 2010 [143]	125 mg bis ≤500 mg/ 8 Wochen	61%	DBPCFC (1000 mg) gefolgt von OFC (1000 mg) → DBPCFC (1000 mg) gefolgt von OFC (1000 mg)	48 mg → 250 mg (zwei Wochen nach OIT-Pause)	13% (1 nach zwei Wochen OIT-Pause 1)
Anagnostou et al. 2011 [163]	800 mg/ 30 Wochen	86%	DBPCFC (256 mg) gefolgt von OFC (900 mg) → OFC (6600 mg <sup>\$\$</sup> )	6 mg → 6459 mg	64%
Anagnostou et al. 2014 [164]	800 mg/ ~2 Wochen	67%	DBPCFC (1455 mg) → DBPCFC (1455 mg)	V: 5 mg → 1400 mg K: 5 mg → 5 mg	49%
Varshney et al. 2011 [165]	4000 mg/ 4 Wochen	84%	Keine Provokation → DBPCFC (5000 mg)	V: n. d. → 5000 mg <sup>1</sup> P: n. d. → 280 mg <sup>1</sup>	79%
Vorliegende Studie	125 bis ≤250 mg/ 9,5 Wochen	50%	OFC (4500 mg) → OFC (4500 mg)	V: 30 mg → 1000 mg P: 30 mg → 20 mg	42% (74% <sup>\$\$\$</sup> ) 3% (16% <sup>\$\$\$</sup> )

\*= Erdnussprotein; #=jeweils anhand der Intention to treat-Population berechnet; \$= auch Patienten mit „mildern“ Symptomen, nur 28% der Patienten ohne Symptome; \$\$= 8 Gaben à 830 mg, keine aufsteigende Titration; \$\$\$= Anzahl Patienten ohne Reaktion auf ≥1200 mg Erdnuss unter Provokation nach OIT („partielle Desensibilisierung“); DBPCFC= doppelblind, Placebo-kontrollierte Nahrungsmittelprovokation; K= Kontrolle; OFC= offene Nahrungsmittelprovokation; P= Placebo; V= Verum.

Das primäre Ziel der OIT bei Erdnussallergie ist es, Patienten vor schweren, lebensbedrohlichen Reaktionen nach akzidentellem Verzehr zu schützen [214]. Eine Desensibilisierung, also die Fähigkeit eine bestimmte Allergenmenge unter laufender Therapie zu vertragen, kann diesen Schutz ermöglichen. Gerade für erdnussallergische Patienten mit bereits schweren allergischen Reaktionen nach akzidentellem Verzehr in der Vergangenheit und einer schlechten Chance für eine natürliche Toleranzentwicklung, wäre dies von großer Relevanz. In der vorliegenden Studie konnte gezeigt werden, dass ein Großteil der Patienten eine relevante Menge Erdnuss, im Median 8 Erdnüsse, im Rahmen einer oralen Provokation unter laufender Therapie tolerieren konnte. Neben der Verträglichkeit einer hohen Erdnusssdosis unter einmaliger Provokation nach OIT, konnten bereits auch im Rahmen der OIT-Erhaltungsphase insgesamt 60,7% der Patienten täglich mindestens 500 mg Erdnuss (125 mg Erdnussprotein, ~1 Erdnusskern) ohne Symptome über mehrere Wochen zu sich nehmen, 32% sogar 1000 mg Erdnuss (250 mg Erdnussprotein, ~2 Erdnusskerne). Es kann davon ausgegangen werden, dass die Patienten unter anhaltender Therapie somit mindestens vor allergischen Reaktionen auf sogenannte „Spuren“ von Erdnuss im Alltag geschützt sind. Zwar gibt es kaum Daten über die Menge an Erdnuss, die bei Patienten zu Reaktionen nach akzidenteller Ingestion unter Alltagsbedingungen führt, es wird jedoch angenommen, dass dies eine Menge von maximal einer Erdnuss nicht übersteigt [128]. In einer kürzlich publizierten groß angelegten französischen Beobachtungsstudie zur Erdnussallergie konnte dies bestätigt werden [215]. Bei 35% der Patienten mit einer akzidentellen Reaktion konnte die verzehrte Menge an Erdnuss, die zur Reaktion geführt hatte, von dem behandelnden Allergologen geschätzt werden und lag im Median bei 125 mg Erdnussprotein (~1 Erdnusskern). Studien, die den Gehalt an Erdnussprotein in Produkten mit und ohne Spurenhinweis untersuchten, zeigen, dass die darin nachweisbaren Mengen häufig nur im Milligrammbereich liegen [112, 114, 216]. Jedoch stellen für Erdnussallergiker auch stückige Einträge eine Gefahr dar, die bei diesen Untersuchungen nicht unbedingt erfasst werden können.

Einschließlich der in dieser Arbeit vorgestellten Studie wurden bisher insgesamt sechs OIT-Studien bei Kindern mit Erdnussallergie veröffentlicht (siehe Tabelle 4.1, Tabelle 4.2). Die Vergleichbarkeit der einzelnen Studienergebnisse wird jedoch sehr erschwert, da sich die Studien im Design und Protokoll, wie bereits in Kapitel 4.1.4 beschreiben, stark unterscheiden und dies einen maßgeblichen Einfluss auf die jeweiligen Ergebnisse haben kann. Die klinische Wirksamkeit der OIT kann anhand unterschiedlicher Parameter erfasst werden (siehe Tabelle 1.1, Kapitel 1.6.4). In bisher publizierten Studien wurde am häufigsten der Endpunkt einer „vollständigen“ Desensibilisierung gewählt, also die Anzahl der Patienten, die keine Reaktion auf die Höchstdosis unter der oralen Provokation nach OIT aufweisen. Insgesamt zeigten alle Studien, vergleichbar mit den Daten der vorliegenden Studie, eine gute Wirksamkeit hinsichtlich einer Desensibilisierung (42-79% in der

Gruppen mit aktiver OIT und 0-3% in den Kontrollgruppen) (Tabelle 4.2). Die zweite Erdnuss-OIT Studie mit Placebo-kontrolliertem Design jedoch kleinerem Patientenkollektiv wurde 2011 von einer amerikanischen Arbeitsgruppe publiziert [165]. Es wurden 28 erdnussensibilisierte Kinder mit einer allergischen Reaktion auf Erdnuss in der Vorgeschichte in die Studie eingeschlossen und im Verhältnis 2:1 entweder der Verum- (n=19) oder Placebogruppe (n=9) zugeordnet. Das OIT-Protokoll sah einen initialen schnellen Steigerungstag gefolgt von einer langsamen Steigerungsphase über etwa 44 Wochen bis zu einer sehr hohen Erhaltungsdosis von 4000 mg Erdnussprotein (= 16000 mg Erdnuss) und eine Erhaltungsphase über vier Wochen vor. 84% der Kinder der Verumgruppe erreichten im Laufe der Steigerung die Zieldosis. Nach insgesamt 12 Monaten unter OIT zeigten 79% der Patienten der Verumgruppe und kein Kind der Placebogruppe eine „vollständige“ Desensibilisierung unter oraler Provokation nach OIT (kumulative Dosis = 5000 mg Erdnussprotein/ 20000 mg Erdnuss). Diese, im Vergleich zur vorliegenden Studie höhere Rate, könnte durch die bereits erwähnten methodischen Unterschiede im Studienprotokoll begründet sein (siehe Kapitel 4.1.4). So wurde in der Studie von Varshney et al. keine orale Provokation mit Erdnuss bei Studienbeginn zur Diagnosesicherung und Schwellenwertbestimmung durchgeführt, Patienten mit erhöhtem Anaphylaxierisiko wurden nicht eingeschlossen und die Erhaltungsdosis der OIT lag deutlich höher (4000 mg Erdnussprotein in der Studie von Varshney et al. vs. 125 mg Erdnussprotein in der vorliegenden Studie). Die bisher größte Studie zur Erdnuss-OIT wurde in Großbritannien durchgeführt [164]. Es wurden 99 Kinder zwischen 7 und 13 Jahren mit einer durch orale Provokation nachgewiesenen Erdnussallergie eingeschlossen. Die Kinder wurden 1:1 entweder der aktiven OIT (n= 49) oder der Kontrollgruppe (reine Eliminationsdiät, n=50) zugeteilt. Patienten mit einem erhöhten Anaphylaxierisiko wurden ebenfalls eingeschlossen. Die OIT begann mit einer langsamen Steigerungsphase bis zu einer Erhaltungsdosis von 800 mg Erdnussprotein (= 3200 mg Erdnuss). Nach insgesamt 6,5 Monaten unter OIT wurden die Patienten erneut provoziert. Dabei tolerierten 49% der Verumgruppe und kein Kind der Kontrollgruppe die kumulative Dosis von 1400 mg Erdnussprotein (= 5600 mg Erdnuss). Die maximal tolerierte Dosis stieg bei Patienten der Verumgruppe signifikant an (von im Median 5 mg Erdnussprotein vor OIT auf 1400 mg Erdnussprotein nach OIT), wohingegen Patienten der Kontrollgruppe keine Veränderung der Reaktionsdosis zeigten (im Median 5 mg Erdnussprotein vor und nach OIT). Die kumulative Erdnussdosis unter Provokation nach OIT lag im Vergleich zu anderen Studien jedoch recht niedrig, möglicherweise führte dies zu einer Überschätzung der Desensibilisierungsrate (siehe Tabelle 4.2). Eine ausreichend hohe Dosis sowie eine kumulative Gabe im Rahmen der oralen Provokation mit Erdnuss sind wichtig, da etwa 10% der Patienten mit Erdnussallergie erst bei hohen Mengen Reaktionen zeigen [88, 174]. Im Gegensatz dazu verwendete eine vorausgegangene nicht kontrollierte Erdnuss-OIT-Studie derselben Arbeitsgruppe eine sehr hohe kumulative Dosis von

6600 mg Erdnussprotein (=26400 mg Erdnuss) bei der Provokation nach OIT [163] (Tabelle 4.2). Es zeigte sich eine Steigerung der maximal tolerierten Dosis unter Provokation von im Median 6 mg Erdnussprotein vor OIT auf etwa 6500 mg Erdnussprotein nach OIT. Eine deutlichere Steigerung der Reaktionsdosis wäre möglicherweise auch in anderen Studien zu beobachten gewesen, wenn eine höhere kumulative Erdnussdosis bei der finalen Provokation eingesetzt worden wäre. Ein weiterer möglicher Grund für die unterschiedlichen Ergebnisse der klinischen Wirksamkeit kann auch die Länge der Erhaltungsphase gespielt haben. Sowohl bei Anagnosotou et al. als auch Jones et al. verzehrten die Patienten ihre tägliche Erhaltungsdosis über einen mindestens doppelt so langen Zeitraum wie in der vorliegenden Studie (19 bzw. 30 Wochen vs. 8 Wochen in der vorliegenden Studie) [161, 163]. Jedoch könnte auch die Höhe der Erhaltungsdosis unter OIT einen Einfluss auf die Wirksamkeit haben. In unserer Studie wurden Patienten entweder auf eine Erhaltungsdosis von 500 mg oder 1000 mg Erdnuss gesteigert, jedoch war dies abhängig von der Reaktionsdosis auf Erdnuss unter Provokation vor OIT. Um einen Einfluss der Höhe der Erhaltungsdosis auf die Wirksamkeit der OIT zu untersuchen, müsste in zukünftigen Studien ein Studiendesign durchgeführt werden, bei dem parallel zwei Patientengruppen mit je unterschiedlicher Erhaltungsdosis untersucht werden, unabhängig von der individuellen Reaktionsschwelle unter Provokation.

#### **4.2.2 Weniger akzidentelle Reaktionen bei Patienten der Verumgruppe**

Eine weitere Möglichkeit die klinisch Wirksamkeit der OIT zu untersuchen besteht darin, die Anzahl auftretender allergischer Reaktionen nach einem akzidentellen Verzehr von Erdnuss unter Verum-OIT und unter Placebo zu vergleichen. Im Gegensatz zu einer stationären oralen Provokation spiegelt dies auch eher die „Alltagssituation“ der Patienten wieder. Jedoch ist eine statistische Auswertung dieses Endpunktes aufgrund des kurzen Beobachtungszeitraums und bei einem kleinen Patientenkollektiv im Rahmen von OIT-Studien schwierig. Studien, die die Häufigkeit akzidenteller Reaktionen untersuchen, erfassten Daten von großen Patientenkollektiven (n= >100) prospektiv oder retrospektiv über bis zu 5 Jahre. Daten dieser Studien zeigen eine jährliche Inzidenz akzidenteller Reaktionen zwischen 12-55% [90-92]. Daten der vorliegenden Studie weisen trotz der geringen Fallzahl auf einen möglichen Schutz der OIT vor akzidentellen Reaktionen im Verlauf des Beobachtungszeitraums von im Median 16 Monaten hin. So kam es unter Verum-OIT zu signifikant weniger und weniger schweren akzidentellen Reaktionen als unter Placebo-OIT. Dabei war auch zu beobachten, dass die allergischen Reaktionen in der Verumgruppe ausschließlich frühzeitig in der Steigerungsphase auftraten. Der jeweilige Auslöser der aufgetretenen Soforttypreaktionen konnte zwar nicht immer sicher auf Erdnuss zurückgeführt werden, jedoch war der prozentuale Anteil an Kindern mit parallel bestehenden weiteren Nahrungsmittelallergien, Asthma oder Rhinokonjunktivitis in der Verum- und Placebogruppe gleich. Auf Basis dieser Daten ergibt sich eine

jährliche Inzidenzrate akzidenteller Reaktionen von 64% für Patienten der Placebogruppe und 25% für Patienten der Verumgruppe. Dies zeigt abermals, trotz eines erfolgten Tertiärmanagement wie z.B. einer Ernährungsberatung vor Studieneinschluss bei allen Patienten, das hohe Risiko akzidenteller Reaktionen für Patienten mit einer Erdnussallergie. Andere kontrollierte OIT-Studien mit Erdnuss haben bisher keine Daten zu allergischen Reaktionen nach akzidenteller Ingestion von Erdnuss publiziert. Allein in der nicht-kontrollierten Studie von Jones et al. wurde berichtet, dass es unter einer Erhaltungsphase von 300 mg Erdnussprotein zu keinen akzidentellen Reaktionen kam [162].

#### **4.2.3 Therapie-Non-Responder**

Die Erdnuss-OIT über 16 Monate führte bei etwa einem Viertel der Patienten der Verumgruppe zu keiner Desensibilisierung, da sie ihre OIT-Startdosis aufgrund von wiederholt auftretenden Infekten und Nebenwirkungen bzw. Dosisreduktionen nicht wesentlich steigern konnten. Ob eine anhaltende Therapie dennoch zu einer Steigerung der Reaktionsschwelle bei diesen Patienten führen kann, wird derzeit im Langzeit-Follow-up der Patienten untersucht. Interessanterweise konnten auch in der Placebogruppe etwa ein Fünftel der Patienten ihre Startdosis unter OIT kaum steigern und erreichten am Ende der Steigerungsphase  $\leq 20\%$  ihrer angestrebten Zieldosis. Parallel bestand bei allen diesen Kindern ein Asthma bronchiale. Generell zeigte sich in der vorliegenden Studie ein ähnlicher Verlauf der OIT bei Patienten der Verum- und Placebogruppe. Entgegen der Erwartung, dass Patienten, die Placebo erhielten, die Steigerungsphase schneller und bis zu einer „höheren“ Placebo-Erhaltungsdosis durchlaufen, als solche die Verum erhielten, zeigten sich keine Unterschiede zwischen den Gruppen hinsichtlich: der Höhe der erreichten Erhaltungsdosis, dem Zeitraum bis zum Erreichen der Erhaltungsdosis, der Patientenanzahl, die die angestrebte Erhaltungsdosis erreichte oder der Anzahl an OIT-Dosisreduktionen. Je die Hälfte der Patienten beider Gruppen erreichte die angestrebte Zieldosis von mindestens 500 mg Erdnuss bzw. Placebo. Die Häufigkeit von Patienten, die von einem Asthma bronchiale oder einer allergischen Rhinokonjunktivitis betroffen waren, war in beiden Gruppen gleich verteilt. Möglicherweise waren vielmehr diese parallel bestehenden atopischen Erkrankungen als die OIT selbst für den Großteil der Nebenwirkungen und die Problematik einer Dosissteigerung bei den Patienten verantwortlich. Weitere mögliche Gründe hierfür werden im Rahmen der Sicherheit der OIT in Kapitel 4.3.3 diskutiert. Ein Vergleich der Verlaufsdaten der Placebo- und Verum-OIT mit anderen Studien ist leider nicht möglich, da entsprechende Daten zum OIT-Verlauf der Placebogruppe in den wenigen bisher publizierten Placebo-kontrollierten Studien nicht dargestellt wurden [150, 156, 165].

#### 4.2.4 Natürlicher Verlauf der Erdnussallergie bei Patienten der Placebogruppe

Auch die Provokationsdaten von Patienten unter Placebo-OIT sind interessant, da sie Auskunft darüber geben können, in wie weit der Schwellenwert oder der Schweregrad der Reaktion unter wiederholter Provokation mit Erdnuss nach 16 Monaten stabil bleiben. Hinsichtlich der Reaktionsdosis zeigten etwa je ein Drittel der Patienten eine stabile Dosis, bzw. eine erhöhte oder niedrigere Reaktionsdosis. Zwei Kinder (8,3%) zeigten eine erniedrigte oder erhöhte Reaktionsdosis von mehr als zwei Dosisschritten. Bezüglich des Schweregrads unter Provokation zeigte die Hälfte der Patienten einen stabilen Schweregrad, drei Kinder (12,5%) zeigten jedoch eine Reaktion mit höherem Schweregrad unter Reprovokation nach 16 Monaten. Ähnlich zu diesen Daten konnte auch Leung et al. im Rahmen einer doppelblind, Placebo-kontrollierten Therapiestudie mit Anti-IgE bei Patienten mit Erdnussallergie zeigen, dass unter Placebo eine relativ stabile Reaktionsschwelle unter Reprovokation nach etwa 20 Wochen zu beobachten war [128]. Fünf von 23 Kindern (21,7%) wiesen eine erhöhte Reaktionsdosis über zwei Dosisschritte auf. Eine andere Studie führte bei 27 erdnussallergischen Kindern eine DBPCFC und nach 14 Tagen eine einfachblinde, Placebo-kontrollierte Reprovokation mit Erdnuss durch, um die Stabilität der Reaktionsdosis und des Schweregrads zu überprüfen [103]. Dabei zeigten 5/27 Kindern (18,5%) eine Veränderung des Schweregrads um mindestens zwei Gradeinheiten und 3/27 Kindern (11,1%) eine Veränderung der Reaktionsdosis von mehr als zwei Dosisschritten unter Reprovokation.

Eine Patientin der Placebogruppe (4,2%) zeigte unter Reprovokation nach 12 Monaten eine natürliche orale Toleranzentwicklung (= keine Reaktion auf die Höchstdosis von 18 g Erdnuss unter Placebo-OIT). In der doppelblind, Placebo-kontrollierten Studie von Varshney et al. und der kontrollierten Studie von Anagnostou et al. entwickelte nach 12 bzw. 6 Monaten unter Placebo-OIT bzw. reiner Eliminationsdiät kein Kind der Kontrollgruppen eine orale Toleranz gegen Erdnuss [164, 165]. Studien zum natürlichen Verlauf der Erdnussallergie bei Kindern berichten von 20-55%, die eine natürliche orale Toleranz entwickeln [95, 96, 217, 218]. Die im Vergleich dazu in der vorliegenden und anderen OIT-Studien beobachtete niedrige Rate der Toleranzentwicklung ist möglicherweise damit zu erklären, dass die Studien zum natürlichen Verlauf der Erdnussallergie die Patienten über einen längeren Beobachtungszeitraum (~3-6 Jahre) verfolgten und in einigen Studien ein sehr junges Patientenkollektiv (~1 bis 2 Jahre alt) beobachtet wurde [95, 218]. In andere Studien wurden außerdem Patienten teilweise auch aufgrund ihres sIgE gegen Erdnuss oder positiven SPT eingeschlossen und ohne durch eine orale Provokation gesicherte Diagnose, auf Grund dessen hatte möglicherweise ein Teil der nachverfolgten Patienten keine klinisch relevante Erdnussallergie [96, 218]. Zusätzlich ist bei dem Vergleich der Toleranz-Raten zu beachten, dass in klinischen OIT-Studien eher ein Kollektiv aus Patienten mit besonders schwerer Erdnussallergie eingeschlossen wird (siehe Kapitel 4.1.1), die aufgrund von Parametern wie einem hohen sIgE noch

schlechtere Chancen auf eine Toleranzentwicklung haben verglichen mit Erdnussallergikern aus einem Kollektiv, welches beispielsweise aus einer bevölkerungsbasierten Kohortenstudie stammt [95].

### **4.3 Sicherheit der oralen Immuntherapie**

#### **4.3.1 Ähnliches Sicherheitsprofil in der Verum- und Placebogruppe**

Insgesamt weisen die vorliegenden Ergebnisse der klinischen und laborchemischen Sicherheitsparameter auf ein ähnliches Sicherheitsprofil unter Verum- und Placebo-OIT hin. Es waren keine relevanten Unterschiede zwischen Patienten der Verum- und Placebogruppe bezüglich der Häufigkeit von Nebenwirkungen insgesamt, SAEs, Nebenwirkungen die mit Medikamenten behandelt wurden, Dosisreduktionen wegen Nebenwirkungen sowie des Schweregrads der Nebenwirkungen zu beobachten. Je zwei Patienten der Verum- und Placebogruppe beendeten die Studie vorzeitig aufgrund von Nebenwirkungen. Den überwiegenden Anteil zeitlich assoziierter Nebenwirkungen stellten subjektive lokale Symptome wie oraler Juckreiz oder gastrointestinale Beschwerden wie Bauchschmerzen unmittelbar nach der OIT-Gabe dar, diese Nebenwirkungen ereigneten sich signifikant häufiger unter Verum-OIT im Vergleich zu Placebo. Interessanterweise zeigte sich hingegen kein Unterschied in der Anzahl objektiver Nebenwirkungen wie Urtikaria, Erbrechen oder Husten zwischen Patienten der Verum- und Placebogruppe. Schwere Nebenwirkungen der unteren Atemwege ereigneten sich selten und ebenfalls ohne statistisch signifikante Unterschiede zwischen Verum- und Placebo-OIT.

Ein genauer systematischer Vergleich mit den anderen Erdnuss-OIT-Studien ist nur bedingt möglich, da auch Daten zur Verträglichkeit der OIT von den Autoren sehr unterschiedlich (z.B. Häufigkeit der Nebenwirkungen entweder pro Patient oder pro OIT-Gabe; keine einheitlichen Bewertungsschemata für den Schweregrad von Nebenwirkungen) und teilweise nicht im Detail beschrieben wurden (Tabelle 4.3). In den folgenden Absätzen werden die Ergebnisse zur Sicherheit der Therapie mit anderen Erdnuss-OIT Studien verglichen.

#### **Subjektive gastrointestinale Nebenwirkungen**

Subjektive gastrointestinale Nebenwirkungen waren auch in anderen Studien zur Erdnuss-OIT die vorherrschenden Symptome und ereigneten sich teilweise noch häufiger als in der vorliegenden Studie. In der großen kontrollierten Studie aus Großbritannien waren die häufigsten Symptome unter Erdnuss-OIT oraler Juckreiz, Bauchschmerzen und Übelkeit. Insgesamt kam es bei 81% der Patienten und 6,3% aller OIT-Gaben zu oraler Allergiesymptomatik [164]. Im Rahmen der Placebo-kontrollierten Studie von Varshney et al. sowie der „rush“-Immuntherapiestudie unserer Arbeitsgruppe wurden subjektive Symptome unter OIT nicht erfasst und ausgewertet [143, 165].

Die zwei nicht-kontrollierten Studien von Anagnostou et al. und Jones et al. berichteten ebenfalls von oralem Juckreiz und Bauchschmerzen als vorherrschende Nebenwirkungen unter OIT, wobei die Häufigkeit dieser Symptome im Verlauf der OIT, entsprechend zu den vorliegenden Daten, abnahm [162, 163]. Bei Anagnostou et al. waren in der Steigerungsphase 5% aller Gaben mit oralem Juckreiz und 4% aller Gaben mit Bauchschmerzen assoziiert [163]. Ein Patient brach die OIT wegen Bauchschmerzen nach der ersten Dosissteigerung ab und bei zwei Patienten musste auch in der Erhaltungsphase die OIT-Dosis wegen wiederholtem Auftreten von OAS und Bauchschmerzen drastisch reduziert werden [163]. Auch in anderen Studien mussten zwischen 5-15% der Patienten unter Erdnuss-OIT die Studie aufgrund von gastrointestinalen Beschwerden vorzeitig beenden [161, 165, 219]. In einer Phase I Studie zur OIT bei Erdnussallergie mit Patienten zwischen 3-65 Jahren wurden drei Patienten (13%) aufgrund schwerer gastrointestinaler Nebenwirkungen mit i.m. Adrenalin behandelt [220].

In der vorliegenden Studie klagten ein Drittel der Patienten der Verumgruppe bereits bei der Startdosis am ersten Tag der OIT über subjektive Symptome wie OAS und Bauchschmerzen. Die Proteindosis betrug dabei jedoch nur 1/10 der Menge, die unter Provokation mit Erdnuss zuvor eine allergische Reaktion auslöste. Interessanterweise waren diese Patienten, die bereits am ersten Tag der OIT OAS und/oder Bauchschmerzen aufwiesen, für etwa die Hälfte dieser Symptome im Laufe der Studie verantwortlich. Zum einen wurden subjektive Symptome, die zwar nicht als Abbruchkriterium der oralen Provokation galten, bei einem Teil der Patienten unter Provokation jedoch bereits auf eine Dosis unterhalb der Reaktionsdosis, die zu objektiven Reaktionen führte, beobachtet. Zum anderen wurde im Rahmen der Verum-OIT Erdnuss in Form von Erdnussmehl verwendet, für die Provokation jedoch gemörserte Erdnuss. Eine Rolle bei der auftretenden Symptomatik könnte daher auch ein unterschiedlicher Gehalt der Erdnussallergenkomponenten z.B. Ara h 2 in beiden Produkten gespielt haben.

Einerseits werden subjektive Symptome allgemein und von Autoren publizierter Erdnuss-OIT Studien als vermeintlich „milde“ Nebenwirkungen bezeichnet. Andererseits stellen persistierende gastrointestinale Symptome, insbesondere Bauchschmerzen, den häufigsten Grund eines vorzeitigen Studienabbruchs der Erdnuss-OIT in bisher publizierten Studien dar. Einige Fallberichte und nicht-kontrollierte Studien beschrieben darüber hinaus einen Zusammenhang zwischen dem Auftreten einer eosinophilen Ösophagitis (EoE) unter OIT bei Kindern mit Erdnuss-, Kuhmilch- oder Hühnereiallergie [162, 221-224]. Bei einer eosinophilen Ösophagitis kommt es zu einer schweren intraepithelialen Infiltration des Ösophagus mit eosinophilen Granulozyten. Die Patienten leiden häufig unter rezidivierenden gastrointestinalen Symptomen wie Bauchschmerzen, Erbrechen oder Reflux, welche unbehandelt auch zur Dysphagie führen können [225]. In einer kürzlich erschienenen Metaanalyse zum Vorkommen einer EoE unter OIT bei IgE-vermittelten Nahrungsmittelallergien

ergab sich eine Prävalenz von 2,7% [226]. Die Autoren wiesen darauf hin, dass bei diesen Patienten vor Beginn der OIT zwar keine Hinweise auf eine EoE vorlagen, es jedoch nicht ausgeschlossen werden kann, dass diese Erkrankung bereits vor OIT bestanden hatte. Die Entwicklung einer EoE wurde häufig als Folge einer langfristiger OIT beschrieben. Kürzlich wurde jedoch von drei Kindern berichtet, bei denen bereits nach anfänglicher Erdnuss-OIT eine EoE diagnostiziert wurde [222]. Möglicherweise könnte die OIT daher ebenfalls als Trigger für das Auslösen einer EoE wirken. Bisher wird in klinischen OIT-Studien vor Studieneinschluss kein invasives EoE-Screening in Form einer Endoskopie oder Biopsie durchgeführt. Ohne Verdachtsdiagnose wäre dies auch in einem pädiatrischen Patientenkollektiv ethisch schwer vertretbar. Auch in der vorliegenden Studie wurde keine Biopsie zum Ausschluss einer EoE durchgeführt, es bestand jedoch auch bei keinem der Patienten unter dem gesamten OIT-Zeitraum der Verdacht einer EoE.

### **Schwerere objektive Nebenwirkungen**

Insgesamt zeigte sich in der vorliegenden Studie eine gute Verträglichkeit mit wenigen objektiven Symptomen unter Verum-OIT, die vorrangig mit mildem bis moderatem Schweregrad verliefen. Zwar kam es bei etwa einem Viertel der Patienten der Verumgruppe auch zu schwereren Nebenwirkungen der unteren Atemwege (= Schweregrad IV), jedoch in vergleichbarer Häufigkeit auch bei Patienten unter Placebo-OIT, ohne statistisch signifikanten Unterschiede. Auf einzelner Symptomebene ereignete sich eine pulmonale Obstruktion häufiger unter Verum-OIT, jedoch nur mit knapper statistischer Signifikanz. Hierbei ist außerdem zu beachten, dass im Rahmen der explorativen Analyse der Sicherheitsdaten keine Bonferroni-Korrektur für multiples Testen angewandt wurde. Somit scheinen pulmonale Nebenwirkungen aufgrund der Erdnuss-OIT eine untergeordnete Rolle zu spielen und womöglich eher parallel bestehende allergische Erkrankungen wie Asthma bronchiale für die Symptomatik verantwortlich zu sein.

Vergleichbar mit den vorliegenden Ergebnissen kam es auch in beiden Studien von Anagnostou et al., eine davon kontrolliert, bei bis zu 22% der Patienten der Verumgruppe zu schwereren Symptomen der unteren Atemwege [163, 164]. Jedoch fehlten in diesen Studien zum Vergleich Daten aus entsprechenden Kontrollgruppen. Die eine Studie war nicht-kontrolliert und in der anderen Studie wurden im Beobachtungszeitraum keine entsprechenden Symptome der Kontrollgruppe erfasst. Die Daten der hier vorgestellten Placebo-kontrollierten Studie sprechen daher dafür, dass das erhöhte Risiko für objektive, insbesondere respiratorische Symptome unter OIT, in den beiden oben genannten Studien möglicherweise auf die fehlende Placebogruppe zurückzuführen ist und diese Symptome möglicherweise nicht in Zusammenhang mit der Erdnuss-OIT standen.

Auch in einer weiteren nicht-kontrollierten Studie aus den USA wurde von schweren Symptomen der unteren Atemwege unter OIT berichtet: so lag das Risiko für pfeifende Atmung am ersten „rush“-Steigerungstag bei 18%, im Rahmen ambulanter Dosissteigerungen bei 1,7% und im Rahmen der OIT-Gaben zu Hause bei 0,3% [162]. Die Autoren wiesen auf eine mögliche Assoziation von Asthma und pfeifender Atmung unter OIT hin. 40% der Patienten mit pfeifender Atmung in der Steigerungsphase und sogar 100% der Patienten mit diesen Symptomen im Laufe der Erhaltungsphase litten parallel an einem Asthma bronchiale [162]. Auch in der vorliegenden Studie litt ein Großteil der Patienten beider Gruppen, bei denen es zu zeitlich assoziierten, schwereren Nebenwirkungen der unteren Atemwege im Laufe der OIT kam, parallel an einem Asthma bronchiale. Um die Verträglichkeit der Erdnuss-OIT anhand eines größeren Patientenkollektivs zu untersuchen, wurden kürzlich in einer Studie von Virkud et al. Daten von 104 Kindern aus drei verschiedenen Erdnuss-OIT Studien ([161, 165] und eine weitere noch nicht publizierte Placebo-kontrollierte Studie) gemeinsam retrospektiv ausgewertet [227]. Dabei zeigte sich, dass ein vorbestehendes Asthma oder eine allergische Rhinokonjunktivitis sowie ein großer erdnusspezifischer Quaddeldurchmesser im Hauttest bei Studieneinschluss das Risiko für häufige Nebenwirkungen unter OIT signifikant erhöht [227]. Eine allergische Rhinokonjunktivitis zeigte sich zusätzlich als Risikofaktor für ein vermehrtes Auftreten systemischer Reaktionen. Asthma zeigte hierfür keine signifikante Risikoerhöhung, jedoch schlossen alle drei Studien, die für diese Analyse herangezogen wurden, aus Sicherheitsgründen Patienten mit moderatem und schwerem Asthma bronchiale aus. Von entsprechenden Daten bei Patienten der Placebogruppe wurde in dieser Auswertung leider nicht berichtet.

Varshney et al. erfassten in ihrer doppelblind, Placebo-kontrollierten Studie nur moderate bis schwere „klinisch relevante“ Symptome und solche, die eine Behandlung mit Antihistaminika oder Adrenalin erforderten, leider ohne genauere Angaben zu Art der Symptome und betroffenen Organsystemen [165]. Im Rahmen der initialen Steigerungstages kam es unter Verum-OIT bei 47% der Patienten und bei ambulanten Steigerungen bei 1,2% der OIT-Dosen zu Symptomen, wohingegen sich unter Placebo-OIT keine „klinisch relevanten“ Symptome in diesen Zeiträumen ereigneten. Bezüglich des längsten Studienzeitraumes - der OIT-Gaben zu Hause - wurden von den Autoren leider keine Daten zu auftretenden Nebenwirkungen berichtet, jedoch benötigte ein Patient der Placebogruppe i.m. Adrenalin nach einer Placebo-OIT-Gabe zu Hause und kein Patient der Verumgruppe [165].

Als alternative Möglichkeit die Sicherheit der OIT zu bewerten berichten viele Studien, wie häufig i.m. Adrenalin wegen Symptomen unter OIT eingesetzt werden musste. Jedoch ist die Indikation eines Einsatzes von Notfallmedikamenten unter OIT nicht standardisiert. Zum einen herrschen international, insbesondere für die Selbstmedikation mit i.m. Adrenalin, unterschiedliche

Handlungsempfehlungen für Patienten mit Nahrungsmittelallergien [104, 108, 228]. Zum anderen ist die Gabe von Adrenalin auch stark von der individuellen Bereitschaft der Eltern oder des behandelnden Arztes abhängig, und somit auch davon in welchem Umfeld die allergische Reaktion stattfindet (z.B. zu Hause oder unter ärztlicher Aufsicht bei einer Dosissteigerung).

Tabelle 4.3: Übersicht der Ergebnisse zur Sicherheit bisher publizierter Studien zur oralen Immuntherapie (OIT) mit Erdnuss bei Kindern.

		Insgesamt Nebenwirkungen unter OIT	Einsatz von i.m. Adrenalin (Patienten)	Studienabbruch
<b>Jones et al. 2009 [161], Hofman et al 2009 [162]</b>		92% der Patienten am ersten Steigerungstag. 3,7% der OIT-Gaben zu Hause 46% der OIT-Gaben im Rahmen ambulanter Steigerungen	18% (14% am ersten Steigerungstag, 7% in Steigerungsphase)	26% (10% wegen NW)
<b>Blumchen et al. 2010 [143]</b>		3% der OIT-Gaben insgesamt <sup>§</sup>	0%	35% (17% wegen NW)
<b>Anagnostou et al. 2011 [163]</b>		86% der Patienten insgesamt	0%	5% (5% wegen NW)
<b>Anagnostou et al. 2014 [164]</b>	Verum	keine Angaben	2% (in Erhaltungsphase)	12% (8% wegen NW)
	Kontrolle	keine Angaben	keine Angaben	2% (0% wegen NW)
<b>Varshney et al. 2011 [165]</b>	Verum	47% am ersten Steigerungstag <sup>§</sup> 1,2% der OIT Gaben im Rahmen ambulanter Steigerungen <sup>§</sup>	11% (am ersten Steigerungstag)	16% (16% wegen NW)
	Placebo	0% der Patienten am ersten Steigerungstag <sup>§</sup> 0% der OIT Gaben im Rahmen ambulanter Steigerungen <sup>§</sup>	11% (in Erhaltungsphase)	0%
<b>Vorliegende Studie</b>	Verum	90% der Patienten insgesamt <sup>§§</sup> 4% der OIT-Gaben insgesamt <sup>§§</sup>	3% (in Steigerungsphase) <sup>§§</sup>	10% (6% wegen NW)
	Placebo	77% der Patienten insgesamt <sup>§§</sup> 1% der OIT-Gaben insgesamt <sup>§§</sup>	0%	23% (6% wegen NW)

§= nur „klinisch relevante“, objektive Symptome erfasst; §§= nur zeitlich assoziierte Nebenwirkungen (=innerhalb von 2 Stunden nach OIT-Gabe); §§= aufgrund eines akzidentellen Verzehrs

Darüber hinaus ist es ein Unterschied, ob Adrenalin bereits beim Auftreten einer Urtikaria oder bei einer Anaphylaxie mit zwei Organsystemen oder respiratorischen Beschwerden eingesetzt wird. Somit stellt die Angabe von eingesetztem Adrenalin nicht unbedingt den besten Parameter zur Bewertung des Schwergrads von Nebenwirkungen und der Sicherheit der OIT dar. Die Gabe von i.m. Adrenalin aufgrund von Nebenwirkungen in den in Tabelle 4.3 aufgeführten Studien schwankte zwischen 0-18% unter Erdnuss-OIT und 0-11% unter Placebo-OIT. Dabei kam i.m. Adrenalin

besonders häufig in Studien mit einem ersten „rush“-Steigerungstag zum Einsatz [161, 165]. In der bereits erwähnte Studie von Virkud et al., die eine retrospektive Analyse von 104 Kindern unter Erdnuss-OIT aus drei verschiedenen Studien durchführten, berichteten die Autoren dass insgesamt 12% der Kinder unter Erdnuss-OIT i.m. Adrenalin benötigten, 4% der Kinder in der Steigerungs- und sogar 11% in der Erhaltungshase [227]. Ein vorzeitiger Abbruch der OIT wegen Nebenwirkungen erfolgte in den in Tabelle 4.3 aufgeführten Studien bei 5-17% der Patienten der Verumgruppen und 0-6% der Kontrollgruppen.

### **Nebenwirkungen im Verlauf der oralen Immuntherapie**

In der vorliegenden Studie ereigneten sich unter ambulanter Dosissteigerung der OIT nur selten objektive Nebenwirkungen (1,2%) und es zeigte sich hierbei auch kein Unterschied zwischen Verum- und Placebo-OIT. Auch Varshney et al. berichtete, dass es bei 1,2% der ambulanten Dosissteigerungen zu Nebenwirkungen kam [165]. Im Gegensatz dazu traten in zwei nicht-kontrollierten Studien bei etwa der Hälfte der ambulanten Dosissteigerungen Nebenwirkungen auf [162, 163]. Ein Grund für die höhere Rate an Symptomen nach ambulanter Dosissteigerung in diesen Studien könnte einerseits sein, dass dort auch subjektive Nebenwirkungen eingeschlossen wurden. Im Gegensatz dazu erfasste unserer Auswertung und die von Varshney et al. während ambulanter Dosissteigerung nur objektive zeitlich assoziierte Symptome. Zum anderen wurde in einer der oben genannten Studie von Anagnostou et al. ein schnelleres Steigerungsschema angewandt [163], verglichen mit dem hier angewandten Steigerungsschema und dem von Varshney et al. [165]. Die OIT-Dosis wurde dabei von 0,5 mg auf 800 mg Erdnussprotein in nur 10 Schritten in einem Zeitraum von über fünf Monaten gesteigert. Dabei wurde die Dosis in der Regel verdoppelt (z.B. von 400 mg auf 800 mg), wohingegen bei uns die Dosis nur um jeweils etwa 20% gesteigert wurde und im Median etwa 17 Dosissteigerungen erfolgten. In der „rush“-Immuntherapiestudie bei Erdnussallergie unserer Arbeitsgruppe waren im Rahmen der schnellen Steigerungsphase 2,8% und während der langsamen Steigerungsphase und Erhaltungshase 1,3% der OIT-Gaben mit Reaktionen der unteren Atemwege assoziiert [143]. Aufgrund der Beobachtung dieser Studie und der Studien mit einem initialen „rush“-Steigerungstag [162, 165], scheint daher eine langsamere Steigerungsphase und möglicherweise eine mit mehreren kleineren Dosissteigerungen wie in der vorliegenden Studie mit weniger Nebenwirkungen einherzugehen.

Daten der vorliegenden und anderer Studien weisen darauf hinweisen, dass die Häufigkeit von Nebenwirkungen im Verlauf der OIT generell abnimmt [162, 163, 229]. Trotzdem besteht auch in der Erhaltungshase der OIT nach Gaben zu Hause ein Risiko selbst für schwere Nebenwirkungen der unteren Atemwege oder Nebenwirkungen, die den Gebrauch von i.m. Adrenalin erforderten [164, 227]. In der vorliegenden Studie kam es bei zwei Patienten der Verumgruppe in der Erhaltungshase zu zeitlich assoziiert Symptomen der unteren Atemwege mit einem Schweregrad

IV (7,1%). Dabei lag in beiden Fällen parallel ein Augmentationsfaktor (Infekt bzw. körperliche Aktivität) vor. In Studien zur OIT mit Erdnuss-, Hühnerei- oder Kuhmilch wurde bereits beschrieben, dass Symptome unter OIT mit dem Vorliegen bestimmter Co-Faktoren wie Infekte, körperlicher Aktivität, Menstruation, Stress oder Belastung durch anderer Allergene wie Pollen assoziiert waren [157, 163, 229, 230]. Es wird daher vermutet, dass diese Co-Faktoren als sogenannte Augmentationsfaktoren die Reaktionsschwelle herabsetzen können und es so zu einer Reaktion auf eine OIT-Dosis kommt, die vorher bereits ohne Symptome vertragen wurde. Auch die Ergebnisse der vorliegenden Studien weisen darauf hin, dass Augmentationsfaktoren bei dem Auftreten objektiver Nebenwirkungen eine relevante Rolle spielen. Die häufigsten Augmentationsfaktoren bei Patienten unter Verum-OIT waren Infekte, Co-Exposition mit anderen Allergenen und Sport. Den Familien wurde bereits prophylaktisch angeraten beim Auftreten eines Infektes der Kinder die OIT-Dosis im Rahmen eines Infektschemas zu reduzieren und zwei Stunden nach der OIT-Gabe keinen Sport zu betreiben (siehe Kapitel 2.6.2). Möglicherweise wurde mit dieser Vorsichtsmaßnahme bereits ein Teil der dadurch zusätzlich getriggerten Nebenwirkungen verhindert. In zukünftigen Studien sollten daher weiterhin den Patienten entsprechende Handlungsanweisungen bezüglich der beobachteten Augmentationsfaktoren empfohlen werden, um die Sicherheit der Therapie zu verbessern.

#### **4.3.2 Einteilung der Symptome nach zeitlichem Auftreten**

In der vorliegenden Studie wurden nur Symptome, die innerhalb von 2 Stunden nach der OIT-Gabe auftraten, als Nebenwirkungen gewertet, die in einem Zusammenhang oder möglichem Zusammenhang mit der OIT-Gabe stehen. Diese Einteilung zur Beurteilung einer Assoziation auftretender Symptome mit der OIT-Gabe scheint sinnvoll. Betrachtet man alle positiv verlaufenden oralen Provokationen, die im Rahmen der vorliegenden Studie vor und nach OIT mit dem angewandten modifizierten Provokationsschemas durchgeführt wurden (Anzahl n=100), ereigneten sich dabei 94% der Reaktionen innerhalb von 2 Stunden nach Erdnussverzehr. Subjektive Symptome wie OAS und Bauchschmerzen traten unter Verum-OIT deutlich seltener nach 2 Stunden auf als innerhalb von 2 Stunden nach OIT-Gabe. Auch andere Studien zur OIT und SLIT bei Nahrungsmittelallergien erfassten Symptome ausschließlich innerhalb von zwei Stunden nach OIT-Gabe [147, 162, 231]. Als typische objektive allergische Spätreaktionen hätten möglicherweise die Verschlechterung eines bestehenden Ekzems und Hautauschlag ebenfalls als assoziierte Symptome gewertet werden können. Zwischen Patienten der Verum- und Placebogruppe zeigten sich auch hinsichtlich dieser Symptome keine Unterschiede unter OIT. Im Gegensatz zu zeitlich assoziierten Nebenwirkungen kam es bei Patienten beider Gruppen sehr viel häufiger zu Symptomen, die zeitlich nicht mit der OIT assoziiert waren. Auch Symptome der unteren Atemwege traten vergleichsweise häufig als zeitlich nicht assoziiert Symptome auf, ohne signifikante

Unterschiede zwischen Patienten der Verum- und Placebo-Gruppe. Der Großteil der Patienten mit diesen Symptomen litt parallel an Asthma bronchiale. Es ist davon auszugehen, dass für den Großteil zeitlich nicht assoziierter Beschwerden daher neben viralen und bakteriellen Infekten parallel bestehende atopische Erkrankungen wie Asthma bronchiale oder auch allergische Rhinokonjunktivitis und atopische Dermatitis eine Rolle spielen.

### **4.3.3 Symptome unter Placebo**

Abgesehen von zeitlich assoziierten subjektiven Symptomen und allergischen Reaktionen nach akzidentellem Verzehr von Erdnuss zeigte sich in der vorliegenden Studie ein vergleichbares Sicherheitsprofil zwischen Patienten der Verum- und Placebogruppe. Ähnlich wie in Bezug auf zeitlich nicht assoziierte Symptome, könnten für die Symptome unter Placebo-OIT virale und bakterielle Infekte oder parallel bestehende atopische Erkrankungen verantwortlich gewesen sein. Ein weiterer möglicher Erklärungsansatz für das Auftreten der Symptome sind Faktoren psychologischen Ursprungs. Das Phänomen eines „Nocebo“-Effekts ist definiert als eine negative Wirkung durch die Behandlung mit einem Scheinpräparat (Placebo) [232]. Dabei handelt es sich um ein psychologisches Phänomen, das z.B. durch individuelle Erfahrungen des Patienten sowie die damit verbundene negative Erwartungshaltung beeinflusst und verstärkt werden kann. Auch eine negative Beeinflussung durch behandelndes medizinisches Personal durch verbale und nonverbale Kommunikation kann dabei eine Rolle spielen [232]. Objektive Symptome zeigten sich unter Placebo-OIT genauso häufig wie unter Verum-OIT. Interessanterweise traten bei Patienten der Placebogruppe sogar zwei Drittel aller objektiven, zeitlich assoziierten Nebenwirkungen nach einer ambulanten Dosissteigerung auf. Psychischer Stress und Angst vor dem Verzehr einer größeren Menge des vermeintlichen Nahrungsmittelallergens, welches vorher akribisch in der Ernährung gemieden wurde, könnten dabei eine Rolle gespielt haben. Über die Hälfte der Patienten der Placebogruppe hatte in der Vorgeschichte bereits mindestens eine anaphylaktische Reaktion (Schweregrad IV oder V) nach akzidentellem Erdnussverzehr erlitten. Zudem wurden die Patienten vor Beginn der OIT detailliert über mögliche Nebenwirkungen der Therapie aufgeklärt und informiert. Bekannt ist, dass Nahrungsmittelallergiker häufig eine Aversion gegen das auslösende Allergen entwickeln [233]. Dabei scheint eine klassische Konditionierung z.B. durch allergische Reaktionen nach akzidenteller Ingestion eine wichtige Rolle zu spielen. Zu einem „Nocebo“-Effekt unter SIT bei Nahrungsmittelallergien gibt es bisher keine Daten. Bezüglich vorkommender Nebenwirkungen bei Patienten der Placebo- oder Kontrollgruppen gab es in den zwei anderen kontrollierten Erdnuss-OIT Studien kaum Angaben [164, 165]. Eine Studie, die die Häufigkeit von Nebenwirkungen unter einer oralen Provokation mit Placebo bei Erwachsenen mit Medikamentenallergie untersuchte, zeigte, dass 27% der Patienten vorrangig mit subjektiven Symptomen wie Juckreiz, Übelkeit oder Kopfschmerzen auf Placebo reagierten [234]. In unserer

Studie zeigten sich jedoch objektive Symptome unter Placebo-OIT. Weitere doppelblind, Placebo-kontrollierte Studien, die Daten zu Nebenwirkungen unter Placebo detailliert erfassen, sind nötig um zu untersuchen, ob parallel Therapie-unabhängige Faktoren, wie bestehende atopische Erkrankungen der Patienten bzw. Infekte oder auch ein möglicher „Nocebo“-Effekt der OIT bei Nebenwirkungen unter Placebo von Bedeutung sind.

## **4.4 Immunologische Veränderungen unter oraler Immuntherapie**

### **4.4.1 Veränderungen auf B-Zell-Ebene**

Nach 16 Monaten unter OIT konnte in der vorliegenden Studie keine Veränderung der sIgE-Level im Median gegen Erdnuss oder Ara h 2 im Serum zwischen Patienten der Verum- und Placebogruppe beobachtet werden. Bisherige Studien zur Erdnuss-OIT zeigen unterschiedliche Daten zur Veränderung des erdnusspezifischen IgE, dies hängt möglicherweise mit dem Messzeitpunkt unter OIT zusammen. So beobachteten Anagnostou et al. nach sechs Monaten unter Erdnuss-OIT einen signifikanten Anstieg der erdnusspezifischen IgE-Werte [164]. Auch Varshney et al. konnten nach zwei, drei und neun Monaten unter Erdnuss-OIT vorerst einen signifikanten Anstieg des sIgE gegen Erdnuss bei Patienten der Verumgruppe messen, wohingegen es nach 12 Monaten OIT, zum Zeitpunkt der zweiten Provokation, wieder auf ein Level vergleichbar zum Zeitpunkt vor OIT abfiel [165]. Bei Patienten der Placebogruppe zeigten sich dagegen zu keinem Zeitpunkt relevante Veränderungen der erdnusspezifischen IgE-Spiegel [165]. Auch in der Studie von Jones et al. kam es nach drei und sechs Monaten unter Erdnuss-OIT zu einem kurzzeitigen Anstieg des sIgEs gegen Erdnuss, jedoch im weiteren Verlauf nach 18 Monaten zu einem kontinuierlichen Abfall der sIgE-Spiegel [161]. Erst nach 24 und 33 Monaten unter OIT konnten signifikant niedrigere sIgE-Level als vor Therapiebeginn beobachtet werden [161]. Spezifisches IgE gegen das Samenspeicherprotein Ara h 2 wird mit einer klinisch relevanten Erdnussallergie assoziiert [71]. In der vorliegenden Studie zeigte sich unter OIT keine Veränderung des sIgE-Levels gegen Ara h 2. Entsprechende Vergleichsdaten lieferten bisher nur Vickery et al., die Patienten unter langfristiger Erdnuss-OIT bis zu fünf Jahren untersucht haben [235]. Dort wurde zum Ende des Beobachtungszeitraums ein Abfall des sIgE gegen Ara h 2 beobachtet. Zusammenfassend weisen die Daten darauf hin, dass es unter anfänglicher Erdnuss-OIT kurzfristig zu einem Anstieg der sIgE-Level kommt und ein gradueller Abfall des sIgE-Levels erst nach etwa zwei Jahren OIT messbar ist. Im Laufe der vorliegenden Studie wurde sIgE nur zu zwei Zeitpunkten, vor Beginn und nach 16 Monaten unter OIT, gemessen. Der zweite Messzeitpunkt des sIgE gegen Erdnuss und Ara h 2 liegt somit möglicherweise nach dem kurzzeitigen Anstieg der sIgE-Level und noch vor einem langfristigen, persistierenden Abfall des freien sIgEs im Serum der Patienten. Diese Ergebnisse würden im Einklang mit Daten zum Verlauf des sIgE unter SCIT mit Inhalationsallergenen stehen

[166]. Der genaue zugrunde liegende Mechanismus ist noch unklar. Da die Halbwertszeit von freiem sIgE im Blut nur 2-3 Tage beträgt [236], liegt ein möglicher Erklärungsansatz für den späten Abfall des sIgE-Spiegel unter SIT darin, dass die Spiegel durch langlebige, sich im Knochenmark befindende, ausdifferenzierte IgE-produzierende Plasmazellen lange aufrecht erhalten werden, trotz einer bereits etablierten klinischen Desensibilisierung unter SIT [164, 166].

Der in der vorliegenden Studie beobachtete signifikante Anstieg von sIgG<sub>4</sub> unter OIT bei Patienten der Verumgruppe stehen im Einklang mit Ergebnissen weiteren bisher publizierten Studien zur Erdnuss-OIT [143, 161, 165, 237]. In zwei dieser Studien wurden die sIgG<sub>4</sub>-Level gegen Erdnuss zu mehreren Zeitpunkten gemessen und es konnte bereits nach zwei bzw. drei Monaten unter Erdnuss-OIT ein signifikanter Anstieg des erdnusspezifischen IgG<sub>4</sub> beobachtet werden [161, 165]. Im Verlauf der OIT nahmen die sIgG<sub>4</sub>-Spiegel kontinuierlicher zu und verglichen mit den Werten der vorliegenden Daten war in diesen Studien ein noch deutlicherer Anstieg nach 12 bzw. 16 Monaten unter OIT zu beobachten. Ein Grund hierfür könnte die höhere OIT-Erhaltungsdosis in diesen Studien gewesen sein, so wurde in der Studie von Varshney et al. auf eine Erhaltungsdosis von bis zu 4000 mg Erdnussprotein gesteigert verglichen mit maximal 250 mg Erdnussprotein in vorliegender Studie [165]. Einerseits wird sIgG<sub>4</sub> nicht zur Diagnostik von Nahrungsmittelallergien empfohlen, da davon ausgegangen wird, dass deren Präsenz im Serum allein eine andauernde orale Exposition mit dem Nahrungsmittel widerspiegelt [238]. Andererseits scheint sIgG<sub>4</sub> bei der Entwicklung und Aufrechterhaltung einer oralen Toleranz wichtig zu sein. Santos et al. konnten zeigen, dass erdnussensibilisierte Kinder mit einer Toleranz gegenüber Erdnuss höhere sIgG<sub>4</sub>: sIgE-Spiegel zeigten als Kinder mit einer Erdnussallergie [239]. Auch unter OIT spielen ansteigende sIgG<sub>4</sub>-Level eine relevante Rolle im Desensibilisierungsprozess. Es wird vermutet, dass unter OIT gebildete sIgG<sub>4</sub>-Antikörper als „blockierende Antikörper“ wirksam sein könnten, indem sie mit sIgE-Antikörpern um die Bindung des Allergens konkurrieren und somit die Aktivierung von Effektorzellen wie Mastzellen oder basophilen Granulozyten blockieren [239-241]. Nachfolgend würde dies zu einer eingeschränkten Ausschüttung proinflammatorischer Mediatoren wie Histamin führen [23]. Möglicherweise kommt es unter OIT neben einer vermehrten Produktion von sIgG<sub>4</sub> auch zu einer Ausbildung neuer spezifischer Epitoperkennungsmuster sowie einer Zunahme somatischer Mutationen der sIgG<sub>4</sub>-Antikörper, die mit einer erhöhten Allergen-Bindungsaffinität einhergehen [237, 242].

#### **4.4.2 Veränderungen auf Effektor-Zell-Ebene**

In der vorliegenden Arbeit kam es nach 16 Monaten unter Erdnuss-OIT auf Effektor-Zell-Ebene zu deutlichen Veränderungen hinsichtlich der erdnusspezifischen Mastzellreaktivität, jedoch konnte keine relevante Veränderung der erdnusspezifischen in vitro Basophilenaktivität nachgewiesen

werden. So zeigte sich nach OIT eine signifikante Abnahme des erdnusspezifischen Quaddeldurchmessers im Hautpricktest bei Patienten der Verumgruppe, unter Placebo kam es hingegen zu keiner Veränderung. Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit Ergebnissen der „rush“-Erdnuss-OIT-Studie unserer Arbeitsgruppe und anderen bisher publizierten Studien zur Erdnuss-OIT [143, 161, 163-165]. Ähnlich zu den Beobachtungen hinsichtlich der  $\text{IgG}_4$ -Level unter OIT, zeigte sich hierbei eine deutlichere Veränderung im Hautpricktest in Studien mit höherer OIT-Erhaltungsdosis. So kam es beispielsweise bei Varshney et al. nach 12 Monaten OIT und einer Erhaltungsdosis von 4000 mg Erdnussprotein zu einer Reduktion des Quaddeldurchmessers um im Median 5,8 mm (vs. 2 mm in der vorliegenden Studie) [165]. In einer Studie zeigte sich bereits nach sechs Wochen unter OIT eine Reduktion des erdnusspezifischen Quaddeldurchmessers [163]. Diese Ergebnisse deuten auf eine verringerte, allergenspezifische Mastzellreaktivität möglicherweise bereits frühzeitig unter OIT hin. In Studien zur SCIT mit Gräserpollen oder Wespengift konnte bereits nach der ersten Allergeninjektion eine verringerte Aktivität von Mastzellen beobachtet werden [166].

Hingegen konnte in der vorliegenden Studie kein relevanter Einfluss der Erdnuss-OIT auf die Aktivität von basophilen Granulozyten nach Erdnussstimulation *in vitro* beobachtet werden. Allein nach Stimulation mit einer sehr geringen Erdnussproteinkonzentration (0,0005  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) kam es zu einer leichten, jedoch signifikant herabgesetzten CD63-Expression *in vitro* unter Verum-OIT im Vergleich zu Placebo. Nach allergenspezifischer Stimulation mit höheren Erdnussproteinkonzentrationen sowie nach unspezifischer Stimulation (IgE-abhängig und -unabhängig) zeigte sich keine verminderte Basophilenaktivierung nach OIT. Auch Anagnostou et al. untersuchten die Basophilenaktivierung nach Stimulation mit ähnlichen Erdnusskonzentrationsstufen bei einem Teil der Patienten unter Erdnuss-OIT ( $n=22$ ) bzw. in der Kontrollgruppe ( $n=13$ ) vor Beginn der Studie und nach 6,5 Monaten und konnten ebenfalls keine signifikanten Veränderungen unter OIT beobachten [164]. Ähnlich zu den vorliegenden Ergebnissen konnte unter Verum-OIT jedoch ein Trend hinsichtlich einer verminderten CD63-Expression nach Stimulation mit niedrigen Erdnussproteinkonzentrationen (0,001  $\mu\text{g}/\text{ml}$  und 0,01  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) beobachtet werden. Im Gegensatz dazu zeigte sich in der doppelblind, Placebo-kontrollierten Erdnuss-OIT Studie aus den USA, dass es bereits nach etwa vier Monaten unter Verum-OIT zu einer signifikanten Hemmung der allergenspezifischen Basophilenaktivierung kam, jedoch nicht unter Placebo-OIT [243]. Eine ähnliche frühzeitige Suppression der erdnusspezifischen CD-63 Expression wurde auch in zwei weiteren nicht-kontrollierten Studien an einem kleinen Patientenkollektiv beobachtet [161, 244]. Widersprüchliche Daten gibt es außerdem dazu, ob die Erdnuss-OIT möglicherweise auch allergenunspezifisch zu einer Herabregulation der Basophilenaktivität führt. Zwei Studien beobachteten unter Verum-OIT zusätzlich eine verminderte Basophilenaktivierung nach

Stimulation mit Ovalbumin bzw. Hausstaubmilbe [243, 244]. In der vorliegenden Arbeit wurde dies nicht untersucht. Thyagarajan et al. beobachteten darüber hinaus eine verminderte Expression von CD-63 nach Stimulation mit anti-IgE unter Verum-OIT [243]. Dies konnte jedoch weder in der vorliegenden Studie noch in zwei weiteren Studien zur Erdnuss-OIT bestätigt werden [161, 244]. Alle bisherigen Daten zeigen jedoch, dass die OIT keinen Einfluss auf eine IgE-Rezeptor-unabhängige CD-63 Expression nach Stimulation mit fMLP zu haben scheint [161, 243, 244]. Thyagarajan et al. schlussfolgerten, dass eine kontinuierliche Allergenexposition im Rahmen der OIT möglicherweise zu einer Signalweg-spezifischen (über den FcεRI-Rezeptor), jedoch allergenunspezifischen Anergie basophiler Granulozyten führt [243]. Bei dem Vergleich der Studienergebnisse zur Basophilenaktivierung ist zu beachten, dass der Basophilenaktivierungstest mit Erdnuss bisher keine standardisierte Untersuchungsmethode darstellt [192, 245]. Daher wurden in den Studien unterschiedliche Protokolle genutzt, was einen maßgeblichen Einfluss auf die Ergebnisse haben könnte [184, 192]. Zum einen fehlen, im Gegensatz zur Basophilenaktivierung mit Wespengift oder Gräserpollen, standardisierte Allergenextrakte für die Stimulation mit Erdnuss. Zum anderen gab es vor Durchführung der vorliegenden Studie keinen Konsens über die einzusetzenden Konzentrationen für die allergenspezifische Stimulation mit Erdnuss. Die in der vorliegenden Studie experimentell gewählte höchste Konzentration von 500 µg/ml Erdnussprotein führte bei den meisten Patienten zu einer unspezifischen Hochregulation von CD63. Zum damaligen Zeitpunkt war jedoch aufgrund fehlender Daten zur Basophilenaktivierung unter Erdnuss-OIT noch unklar, in welchem Maße die OIT zu einer verminderten Sensitivität der basophilen Granulozyten führt. Ein kürzlich publiziertes Review der European Academy of Allergy and Clinical Immunology (EAACI) schlägt auf Basis bisher publizierter Daten zum Basophilenaktivierungstest mit Erdnuss Erdnussextrakt-Konzentrationen von 0,1 ng/ml - 1 ng/ml - 10 ng/ml - 100 ng/ml und 1 µg/ml vor [246]. Ein weiterer methodischer Unterschied besteht im Zusatz von IL-3 als Primer im Stimulationsmedium. IL-3 wirkt als autokrines Stimulanz basophiler Granulozyten und soll die analytische Sensitivität des Tests erhöhen [246]. Studien aus den USA setzten IL-3 dem Stimulationsmedium zu [161, 231, 243]. Im Rahmen von Doppeltansätzen bei der Methodenetablierung zum Zeitpunkt vor OIT in einer vorausgegangenen Doktorarbeit (bisher nicht publizierte Daten) als auch zum Zeitpunkt nach OIT zeigte sich jedoch kein relevanter Einfluss von IL-3 auf die CD63-Expression (siehe Anhang Abbildung A.2 und Abbildung A.3).

Der zugrundeliegende Mechanismus für die womöglich frühzeitige, verminderte Aktivität von Effektorzellen unter OIT ist noch nicht bekannt. Es wird vermutet, dass die permanente Konfrontation der Effektorzellen mit niedrigen Allergenmengen zu einem chronischen FcεRI-Signal führt und durch die damit verbundene minimale Ausschüttung von Mediatoren wie Histamin, der Schwellenwert für die Zellaktivierung und Degranulation angehoben wird (= „frühe

allergenspezifische Desensibilisierung“) [161, 166, 240, 243]. Ähnliches konnte bereits im Rahmen der SIT mit Bienen- und Wespengift, sowie für die Desensibilisierung bei Arzneimittelallergien beobachtet werden, wobei auch dort zum Zeitpunkt der sogenannten Effektorzell-Desensibilisierung noch keine klinische Desensibilisierung beobachtet wurde [166, 168]. Denkbar wären auch andere Mechanismen wie z.B. eine verringerte Anzahl von rezeptorgebundenen IgE-Antikörpern oder eine niedrigere IgE-Rezeptordichte auf den Zellen nach OIT, die zu einer verminderten Mastzellaktivität führen [247, 248].

#### 4.4.3 Veränderung auf T-Zell-Ebene

Zu Beginn der Studie konnte nach *in vitro* Stimulation der PBMCs mit Erdnussextrakt ein Th2-polarisiertes Zytokin-Profil bei den Patienten beobachtet werden (IL-4<sup>hoch</sup>, IL-5<sup>hoch</sup>, IFN- $\gamma$ <sup>niedrig</sup>, TNF- $\alpha$ <sup>niedrig</sup>), wie es bereits für Kinder mit Erdnussallergie beschrieben wurde [32]. Die Verum-OIT führte zu einer signifikanten Abnahme der Th2-spezifischen (IL-4 und IL-5), sowie, wenn auch in geringerem Maße, der Th-1 spezifischen Zytokinlevel (IFN- $\gamma$  und TNF- $\alpha$ ) und der Level an IL-10 und IL-2 nach Stimulation mit Erdnuss. Im Gegensatz dazu zeigten sich unter Placebo-OIT keine relevanten Veränderungen der durch Erdnuss stimulierten Zytokinproduktion. Vergleichbar mit diesen Ergebnissen kam es auch im Rahmen der vorausgegangenen „rush“-OIT-Studie bei Erdnussallergie zu einer verminderten erdnusspezifischen Produktion von IL-4, IL-5 und IL-2 unter OIT, während die Level an IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  und IL-10 vor und nach OIT unverändert niedrig lagen [143]. Nur wenige Studien anderer Arbeitsgruppen haben mögliche Immunmechanismen der Erdnuss-OIT auf T-Zell-Ebene untersucht und im Gegensatz zu der vorliegenden Untersuchung wurde dabei für die Analysen nur ein kleiner Teil des jeweiligen Patientenkollektivs herangezogen [161, 165, 244, 249]. In der zweiten Placebo-kontrollierten Studie zur Erdnuss-OIT von Varshney et al. wurde die Zytokinproduktion im Überstand nach Stimulation von PBMCs mit Erdnuss oder Medium allein mittels ELISA vor OIT sowie 9 und 12 Monate nach OIT bei neun Patienten der Verum- und acht Patienten der Placebogruppe quantifiziert [165]. Unter Verum-OIT wurde ebenfalls ein signifikanter Abfall Th2-spezifischer Zytokine (IL-5 und IL-13) nach Erdnussstimulation beobachtet, jedoch nicht unter Placebo-OIT. Keine Veränderungen zeigten sich hinsichtlich der erdnusspezifischen Produktion von IFN- $\gamma$  und IL-10 unter Verum- oder Placebo-OIT. Eine weitere Studie untersuchte die allergenspezifische Zytokinproduktion in Co-Kulturen von dendritischen Zellen und T-Zellen bei Kindern unter OIT oder SLIT mit Erdnuss [244]. Auch in dieser Studie kam es unter Therapie zu einer generellen Unterdrückung der durch erdnussstimulierten Zytokin-Sekretion: sowohl die Spiegel Th2- (IL-5 und IL-13) als auch Th1-spezifischer Zytokine (IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ ) sowie IL-10 waren nach 12 Monaten unter OIT signifikant niedriger als vor Therapiebeginn [244]. Im Gegensatz zu diesen Ergebnissen zeigten Jones et al., dass die OIT zu einem signifikanten Anstieg der erdnussstimulierten IL-5 und TNF- $\alpha$ -Produktion führte [161]. Jedoch basierten diese Ergebnisse auf

T-Zell-Analysen von nur fünf Patienten und im Gegensatz zu sonstigen Daten zeigten sich in dieser Studie sehr niedrige IL-5 Level zu Studienbeginn. Auch alle weiteren quantifizierten Zytokine (IL-4, IL-2, IL-10 und INF- $\gamma$ ) waren in dieser Studie nach Erdnussstimulation weder vor noch nach OIT in relevanten Mengen nachweisbar.

Die hier beobachteten Veränderungen auf T-Zell-Ebene unter Verum-OIT waren allergenspezifisch, da sie ausschließlich nach Stimulation mit Erdnuss auftraten. Eine unspezifische Stimulation mit PHA führte zu einer konstanten Zytokin-Produktion vor und nach Verum-OIT. Auch in der „rush“-OIT-Studie bei Erdnussallergie zeigten sich nach Stimulation der PBMCs mit einem anderen, klinisch nicht relevanten Allergen, Casein, stabile Zytokin-Spiegel unter OIT [143]. Interessanterweise kam es unter Placebo-OIT zu einem schwachen, jedoch signifikanten Anstieg gewisser Zytokine (INF- $\gamma$ , IL-5 und IL-10) nach PHA-Stimulation unter OIT. Möglicherweise könnte dies ein Hinweis auf einen Fortlauf des „atopischen Marschs“ bei Patienten der Placebogruppe sein. Dagegen spricht jedoch, dass unter Placebo-OIT kein signifikanter Anstieg der gesamt IgE-Level und keine vermehrte Sensibilisierungsrate gegen Inhalationsallergene beobachtet wurde. Der hier gewählte Kulturzeitraum von 48 Stunden wurde bei der Methodenetablierung im Rahmen einer vorausgegangenen Doktorarbeit festgelegt (bisher nicht publizierte Daten), da in diesem Zeitraum nach Erdnussstimulation das Sekretionsmaximum von IL-2 und des Th2-spezifischen IL-5 im Kulturüberstand ermittelt wurde. Verschiedene Zytokine weisen ihr jeweiliges Sekretionsmaximum zu unterschiedlichen Kulturzeiten auf, auch abhängig von dem jeweiligen Stimulanz. Möglicherweise wäre daher auch die verminderte erdnusspezifische Produktion der anderen Zytokine unter Verum-OIT bei einem unterschiedlichen Kulturzeitraum noch deutlicher gewesen. Aufgrund des einheitlichen Kulturzeitraums könnten sich auch die, verglichen mit den anderen Zytokinspiegeln, niedrigen Level an IL-2 und IL-4 nach PHA-Stimulation erklären lassen. Bezüglich IL-2, das als Wachstumsfaktor für T-Lymphozyten für Produktion von IL-5 und IL-10 notwendig ist, wurde nach Stimulation mit PHA beobachtet, dass die Zytokinlevel im Kulturüberstand stark vermindert sind, da sezerniertes IL-2 schnell an entsprechende Zell-Oberflächenrezeptoren bindet [250].

Die Beobachtungen auf T-Zell-Ebene stehen teilweise in Einklang mit Daten zur SCIT bei Wespengift- und Inhalationsallergenen, die einen Shift weg von einer vorher hochregulierten Th2-Antwort zeigten [166]. Wie es für die SIT postuliert wurde, führt die Erdnuss-OIT hingegen scheinbar zu keinem Shift in Richtung eines Th1-Zytokinmusters [166, 251]. Vor allem die allergenspezifische deutliche Herabregulation des Proliferationsmarkers IL-2 unter OIT lässt vermuten, dass die Mechanismen der OIT auf T-Zell-Ebene eher auf einer klonalen Anergie oder Deletion beruhen [252, 253]. IL-2 wirkt als wichtiger autokriner und parakriner T-Zellwachstumsfaktor, ein Ausbleiben dieses Zytokins als Co-stimulierendes Signal führt dazu, dass T-Zellen auch nach Allergenstimulation

nicht mehr aktiviert werden können und folglich zu einem Ausbleiben der Zytokinproduktion und verminderten T-Zell-Proliferation führen.

Die Rolle von Treg-Zellen bei den Immunmechanismen der OIT ist noch nicht ausreichend geklärt. In bisherigen Studien zur Erdnuss-OIT, die Zytokine in Zellkulturüberständen nach Erdnussstimulation vor und nach 6-12 Monaten unter OIT gemessen haben, konnte kein Anstieg von IL-10 beobachtet werden, Zytokine wurden dabei vor und nach 9-16 Monaten nach OIT quantifiziert [143, 161, 165, 244]. In der vorliegenden Studie zeigte sich sogar ein schwacher, signifikanter Abfall der erdnuss-induzierten IL-10 Produktion unter OIT. Varshney et al. beobachteten nach 9 Monaten Verum-OIT hingegen einen leichten, transienten Anstieg von TGF- $\beta$ . Einige Studien wiesen bei Patienten unter OIT oder SLIT mit Erdnuss eine erhöhte Anzahl allergenspezifischer Foxp3<sup>+</sup>Treg-Zellen nach [161, 165, 231, 249]. Auch auf Genebene wurde kürzlich die Relevanz von Foxp3<sup>+</sup>Treg Zellen für die Ausbildung einer klinischen Desensibilisierung unter Erdnuss-OIT genauer untersucht [249]. Dabei konnte eine vermehrte Hypomethylierung des Foxp3-Locus allergeninduzierter Treg-Zellen bei Patienten mit einer klinischen Toleranz unter OIT im Gegensatz zu Patienten ohne klinische Toleranz festgestellt werden. Bisherige Daten zu Treg-Zellen beruhen jedoch auf geringen Fallzahlen und liefern daher nur erste Hinweise auf eine mögliche Rolle dieser Zellen bei den Immunmechanismen der OIT. Ob Treg-Zellen dabei über IL-10 und TGF- $\beta$  oder auch über Zell-Zell-Kontakte immunsuppressiv wirken ist ebenfalls unklar. Möglicherweise kommt es unter OIT zu einer frühzeitigen Induktion von IL-10 und TGF- $\beta$  produzierenden Treg-Zellen. Um dies zu untersuchen, wären mehrfache Messungen der Zytokinlevel bereits nach anfänglicher OIT nötig.

In der vorliegenden Studie wie auch in anderen OIT-Studien, wurden für die Analyse auf T-Zell-Ebene die Zytokinproduktion nach Allergenstimulation in PBMC-Kulturen gemessen. Da zirkulierende allergenspezifische T-Zellen nur in geringen Konzentrationen in PBMC-Suspensionen vorhanden sind, können Analysen auf Einzel-Zell-Ebene z.B. nach entsprechender Klonierung allergenspezifischer T-Zellen eine verfeinerte Methode für deren Charakterisierung darstellen [32, 254]. Für die Identifikation und Isolation allergenspezifischer T-Zellen aus PBMCs können beispielsweise MHC-II-Tetramer-Assays oder eine vorherige Färbung der PBMCs mit Carboxyfluoreszein-Diazetat-Succinimidyl-Ester (CFSE) zur Proliferationsmessung bzw. Markierung zellspezifischer Oberflächenmarker eingesetzt werden [254]. Mit Hilfe durchflusszytometrischer Methoden können allergenspezifische T-Zellen dann identifiziert und isoliert werden und nach anschließender Langzeitkultivierung und Bildung allergenspezifischer Klone ist so die Analyse einer größeren Kultur erdnusspezifischer T-Zellen möglich. Jedoch sind diese Analysen Kosten- und Zeitintensiver und auch hierfür sind größere Blutvolumina nötig, was in dem hier vorliegenden pädiatrischen Kollektiv ein Problem darstellt.

#### 4.4.4 Zusammenfassung möglicher Immunmechanismen der oralen Immuntherapie

Die Veränderungen der Immunantwort unter Erdnuss-OIT, die zu einer klinischen Desensibilisierung führen, scheinen komplex zu sein und auf verschiedenen Ebenen stattzufinden. Zum Großteil entsprechen sie den Beobachtungen, die auch bei Patienten mit einer natürlichen Toleranzentwicklung bei Erdnussallergie und solchen, die unter SIT bei Inhalationsallergenen und Wespengift beschrieben wurden. Zusammenfassend konnten in der vorliegenden Studie die in der vorausgegangenen „rush“-OIT-Studie bei Erdnussallergie beobachteten immunologischen Veränderungen anhand eines großen Patientenkollektivs und mit einem doppelblinden Design reproduziert werden und stehen im Einklang mit den meisten Beobachtungen anderer Erdnuss-OIT Studien mit kleinerem Kollektiv. Zum einen kam es unter OIT zu einer verminderten allergischen Immunantwort auf Effektor-Zell-Ebene mit einem verringerten erdnusspezifischen Quaddeldurchmesser im Hauttest und einer herabgesetzten Basophilenaktivierung nach Stimulation mit niedrigen Erdnusskonzentrationen. Unter SCIT wird diese Beobachtung als „frühzeitige Effektorzell-Desensibilisierung“ bezeichnet [166]. Die herabgesetzte allergenspezifische Immunantwort der Effektorzellen kann darüber hinaus auch indirekt über erhöhte sIgG<sub>4</sub> Serumspiegel bedingt sein. Auf humoraler Ebene konnte ein signifikanter Anstieg von sIgG<sub>4</sub> und eine verminderte sIgG<sub>4</sub>:IgE-Ratio unter OIT beobachtet werden, was für einen Immunglobulinklassenwechsel der B-Zellen spricht. Andere Studien zur Erdnuss-OIT zeigen außerdem ein Absinken der sIgE-Level unter langfristiger OIT [235]. Auch hinsichtlich der natürlichen Toleranzentwicklung bei Erdnuss werden eine Abnahme des sIgE sowie des erdnusspezifischen Quaddeldurchmessers mit einer natürlichen Toleranzentwicklung assoziiert [95, 96]. Es wird vermutet, dass die Effekte auf B-Zell und Effektorzell-Ebene unter OIT auf einer veränderten T-Zell-Antwort beruhen. In der vorliegenden Studie zeigte sich eine deutlich herabgesetzte allergenspezifische TH2-Antwort (IL4 und IL5) nach OIT. IL-4 und IL-5 aktivieren normalerweise die Effektor-Zellen im Rahmen einer allergischen Immunantwort. Eine verminderte Produktion dieser Zytokine zieht dagegen eine verringerte B-Zell-Aktivierung mit verminderter IgE-Produktion (IL-4<sup>niedrig</sup>) sowie eine verminderte Stimulation eosinophiler Granulozyten (IL-5<sup>niedrig</sup>) nach sich. Ein Shift zu einer Th1-gerichteten Immunantwort, wie es in der SCIT und in Studien zur natürlichen Toleranzentwicklung bei Erdnussallergie beschrieben wurde [32, 251], wurde hingegen nicht beobachtet. Die Daten der vorliegenden Studie zeigten dagegen eine generelle Hemmung der T-Zell-Zytokinproduktion, was eher auf eine klonale Anergie der T-Effektorzellen hinweist. Die hohen Spiegel an sIgG<sub>4</sub> unter OIT würden zwar für einen Einfluss von Treg-Zellen im Rahmen der OIT sprechen, da die von ihnen sezernierten Zytokin IL-10 und TGF- $\beta$  den Klassenwechsel der B-Zellen entsprechend fördern [240], jedoch konnte in bisherigen Studien kein Anstieg dieser Zytokine am Ende der OIT beobachtet werden. Denkbar wäre eine frühzeitige Induktion IL-10 und

TGF- $\beta$  produzierender Treg-Zellen unter OIT die immunsuppressiv auf Effektorzellen wirken. Um den Zusammenhang sowie das zeitliche Auftreten dieser Immunmechanismen unter OIT mit der Entwicklung einer klinischen Desensibilisierung genauer zu untersuchen sind weitere Studien nötig. Hierfür wären wiederholte Messzeitpunkte unter laufender einschließlich frühzeitiger OIT hilfreich, wiederholte Blutentnahmen sind jedoch in einem pädiatrischen Patientenkollektiv aus ethischen Gründen problematisch. In zukünftigen OIT-Protokollen sollten basierend auf bisherigen Untersuchungen, z.B. bei der Durchführung des Basophilenaktivierungstests, standardisierte Vorgehensweisen angewendet werden, um die Vergleichbarkeit der Ergebnisse zu erleichtern.

## **4.5 Lebensqualität und Therapiebelastung unter oraler Immuntherapie**

### **4.5.1 Lebensqualität**

In der vorliegenden Arbeit konnte anhand von validierten, alters- und krankheitsspezifischen Fragebögen gezeigt werden, dass die Erdnuss-OIT zu einer signifikanten und klinisch relevanten Verbesserung der Lebensqualität bei Kindern zwischen 8-12 Jahren führt im Vergleich zu Placebo. Bei über drei Viertel der Kinder der Verumgruppe zeigte sich eine klinisch relevante Verbesserung des Gesamtscore der Lebensqualität nach OIT. Auch bezüglich aller vier verschiedenen Domänen der Lebensqualität zeigte sich eine deutliche Verbesserung, insbesondere bei den Domänen „Leidensdruck“ und „Risiko vor akzidentellen Reaktionen“. Auf die Lebensqualität erdnussallergischer Kindern dieser Altersgruppe hat die Erdnuss-OIT somit einen bedeutsamen positiven Einfluss.

Dagegen berichteten die Mütter der Patienten der Verumgruppe von einer weniger starken Verbesserung der Lebensqualität ihres Kindes unter Erdnuss-OIT. Für eine homogene Verteilung wurden in der vorliegenden Arbeit ausschließlich Mütter mit dem FAQLQ-PF zur Lebensqualität ihres Kindes befragt. In Familien mit Kindern mit einer Nahrungsmittelallergie scheinen Mütter besonders stark von Angst und Stress betroffene Familienmitglieder zu sein [122, 255, 256]. Interessanterweise zeigten die vorliegenden Daten jedoch, dass Mütter die Lebensqualität ihres Kindes als deutlich weniger stark eingeschränkt einschätzten, als die Kinder selbst. Vor Therapiebeginn war zudem zu beobachten, dass Mütter und Kinder die Einschränkung der Lebensqualität in den verschiedenen Domänen unterschiedlich beurteilten. So wurde z.B. der Leidensdruck von Kindern als besonders hoch bewertet, wohingegen Mütter diese Domäne als am wenigsten eingeschränkt einstufen. Ähnliches konnten zwei weitere Studien zeigen, die sowohl Kinder als auch Eltern bezüglich der Lebensqualität des Kindes mit den gleichen Fragebögen befragten [209, 257]. King et al. beobachteten dagegen, dass Mütter von Kindern mit einer Erdnussallergie den negativen Einfluss der Erkrankung auf die Lebensqualität des Kindes

überschätzten [122], jedoch nutzten sie als Erhebungsinstrument unterschiedliche Fragebögen. Die Fragebögen zur Lebensqualität nach OIT wurden etwa 2-3 Monate nach der Abschlussvisite (V3), also nach Entblindung, von den Patienten ausgefüllt. Der Großteil der Verumpatienten war zu diesem Zeitpunkt vor allergischen Reaktionen nach akzidentellem Verzehr im Alltag geschützt, da sie im Laufe der OIT eine Erhaltungsdosis von  $\geq 500$  mg Erdnuss erreicht hatten. Nach Erreichen dieser Erhaltungsdosis und Abschluss der Provokation nach OIT, wurde den Patienten erklärt, dass sie nun keine Produkte mit sogenannten „Spurenhinweisen“ mehr im Alltag meiden müssen. Hinsichtlich der Domäne „(soziale &) diätetische Einschränkung“ hätte daher ein deutlicherer Effekt zwischen Placebo und Verum bei Kindern und insbesondere bei den Müttern erwartet werden können. Vermutlich haben die Familien aber aufgrund der jahrelangen Gewohnheit der Vermeidung von Produkten mit potenzieller Erdnusskontamination die neuen Empfehlungen in dem untersuchten Zeitraum nach OIT noch nicht vollständig im Alltag umgesetzt und Mütter scheinen diesbezüglich noch vorsichtiger zu sein als die Kinder. In der Placebogruppe hatte ein Teil der Patienten zum Zeitpunkt des zweiten Fragebogens zwar bereits mit der aktiven OIT begonnen, war jedoch erst bei einer sehr geringen Erdnussproteindosis angelangt, die noch keinerlei Schutz vor allergischen Reaktionen nach akzidentellem Verzehr bot. Wenige Patienten der ehemaligen Placebogruppe hatten sich zu diesem Zeitpunkt aber auch gegen eine weitere Teilnahme an der aktiven OIT entschieden. Alle befragten Patienten der ehemaligen Placebogruppe mussten zu diesem Zeitpunkt nach wie vor eine strenge Eliminationsdiät durchführen und Produkte mit Warnhinweisen meiden. Die Enttäuschung über die Gruppenzugehörigkeit könnte in der Placebogruppe durchaus eine Rolle bei der Bewertung der Lebensqualität nach OIT gespielt haben. Hingegen war in der Placebogruppe weder im FAQLQ-CF noch FAQLQ-PF eine signifikante Verschlechterung der Lebensqualität zu beobachten. Möglicherweise spielten hierbei auch der enge Kontakt zu Ärzten und Ernährungsfachkräften sowie die erneute Durchführung der oralen Provokation eine Rolle. Studien konnten bereits zeigen, dass eine orale Nahrungsmittelprovokation, unabhängig von einem positiven oder negativen Ergebnis, sowie ein enger Kontakt zu medizinischem Fachpersonal die Lebensqualität bei Patienten und Familienangehörigen verbessern können [118, 126, 127, 258].

Bisher gibt es wenige Studien, die die LQ von Patienten unter OIT mit Nahrungsmitteln untersucht haben [164, 208, 209, 259, 260]. Nur zwei dieser Studien untersuchten Patienten unter Erdnuss-OIT. Anagnostou et al. erfassten in ihrer offenen, kontrollierten Studie die Lebensqualität von Patienten zwischen 7-12 Jahren anhand der Einschätzung der Eltern ebenfalls mit dem FAQLQ-PF vor Beginn und nach OIT, die Kinder selbst wurden in dieser Studie nicht befragt [164]. Eltern bewerteten die Lebensqualität der Kinder zu Studienbeginn ähnlich wie in der vorliegenden Studie. Jedoch wurde unter Erdnuss-OIT eine signifikante und klinisch relevante Verbesserung der

Einschätzung der Lebensqualität des Kindes durch die Eltern beobachtet (LQ-Gesamtscore Median -1,6). Vergleichsdaten aus der Kontrollgruppe nach der ersten Studienphase sowie eine Veränderung der einzelnen Domänen der Lebensqualität wurden von den Autoren leider nicht publiziert. Auch eine nicht-kontrollierte Studie zur Erdnuss-OIT aus den USA verwendete zur Erfassung der Lebensqualität der Patienten die gleichen FAQLQs für die drei entsprechenden Altersgruppen [259]. Die Fragebögen wurden zu Beginn der OIT und nach Erreichen der Erhaltungsdosis von 450 mg Erdnussprotein von insgesamt 90 Patienten bzw. deren Eltern ausgefüllt. Unter Erdnuss-OIT konnte in jeder Altersgruppe eine deutliche Verbesserung in allen Domänen beobachtet werden, mit Ausnahme der Domäne „Leidensdruck“ bei der Befragung jugendlicher Patienten. Mögliche Gründe für die stärkere Verbesserung der Lebensqualität, insbesondere bei den Eltern, in diesen beiden Studien im Vergleich zu vorliegender Studie könnten einerseits länderspezifischen Ursprungs sein [261]. Erdnuss spielt in der alltäglichen Ernährung in den USA eine bedeutendere Rolle als in Deutschland. Andererseits könnte auch das Alter der Patienten eine Rolle gespielt haben [261]. In der vorliegenden Studie wurden Eltern von Kindern zwischen 3-12 Jahren befragt und die Kinder waren im Median 6,8 Jahre alt, bei Factor et al. bzw. Anagnosotou et al. waren es Eltern von Kindern zwischen 5-12 bzw. 7-12 Jahren, die Kinder waren im Median 9 bzw. 12 Jahre alt [164, 259]. Eine weitere Rolle könnte das Studiendesign hinsichtlich des unterschiedlichen Zeitpunkts der Befragung sowie der unterschiedlichen Höhe der OIT-Erhaltungsdosis gespielt haben. Bei beiden Studien handelte es sich jeweils um eine offene Studie und die Erhaltungsdosis lag mit 450 mg bzw. 800 mg Erdnussprotein weit über der Erhaltungsdosis der vorliegenden Studie (Median 125 mg Erdnussprotein).

#### **4.5.2 Therapiebelastung**

Bisher ist nicht bekannt wie schwer Patienten mit einer Nahrungsmittelallergie die Therapiebelastung unter einer OIT empfinden. In der vorliegenden Studie zeigte sich, dass während der verblindeten Phase der OIT (4-5 Monate nach V1) sowohl der Großteil der Kinder zwischen 8-12 Jahren, als auch der Mütter von Kindern zwischen 3-12 Jahren beider Gruppen die OIT als positiv bewerteten und erneut als Therapieoption wählen würden. Es zeigte sich dabei eine vergleichbare Bewertung zwischen Patienten der Verum- und Placebogruppe sowie zwischen Kindern und Müttern. Nach Studienende und Entblindung (2-3 Monate nach V3) steigerte sich die positive Einstellung zur OIT bei Patienten der Verumgruppe, vor allem bei Müttern. In der Placebogruppe blieb die Einstellung zur Therapiebelastung der Mütter relativ konstant, wohingegen Kinder der Placebogruppe die OIT nun als deutlich negativer bewerteten im Vergleich zu der ersten Befragung. Dieser Unterschied ist höchstwahrscheinlich durch die Enttäuschung der Kinder über die nun bekannte Gruppenzugehörigkeit begründet (Aussicht, die aktive OIT erneut für ein Jahr „von Null

an“ durchführen zu müssen; Frustration, da keine Steigerung oder sogar niedrigere Reaktionsdosis unter Provokation nach Placebo-OIT bestand).

Die OIT ist eine sehr zeitaufwendige Therapieoption für Kinder und deren Eltern. Kinder mussten täglich für zwei Stunden nach der Dosisaufnahme von ihren Eltern überwacht werden und alle zwei Wochen mussten die Familien teilweise mit langen Anfahrtswegen für die ambulante Dosissteigerung in eine Klinik fahren. Außerdem mussten jegliche Symptome und Nebenwirkungen der Patienten von den Eltern erfasst und dokumentiert werden. Es ist davon auszugehen, dass Kinder durch die tägliche Einnahme der OIT-Studiennahrung sowie die auftretenden Nebenwirkungen die Belastung durch die OIT anders wahrnehmen als ihre Eltern. Insgesamt gaben nach OIT in beiden Gruppen mehr Mütter als Kinder an, die OIT als Therapieoption erneut durchzuführen. Trotz der auftretenden Nebenwirkungen unter OIT, zeigen die Ergebnisse zur Therapiebelastung jedoch, dass sowohl Kinder als auch Mütter die OIT als positiv bewerteten und somit der Therapieerfolg bei der abschließenden Therapiebeurteilung zu überwiegen scheint. Auch wenn insgesamt die OIT als sehr positiv bewertet wurde, gaben nach der Doppelblindphase, etwa 17 Monate nach OIT-Beginn, etwa 1/3 der Kinder der Verum- und 1/4 der Placebogruppe an, die Therapie nicht erneut als Therapieoption durchführen zu wollen. Ein Teil dieser Kinder brach die fortlaufende aktive OIT tatsächlich ab bzw. entschied sich gegen den Start einer aktiven OIT nach der Placebo-Intervention. Das Kind der Verumgruppe, welches die Erdnuss-OIT nach der Doppelblindphase abbrach, gab als Hauptgrund für den Abbruch Aversion gegen die Studiennahrung an. Daher ist zu vermuten, dass eine längerfristige OIT, die möglicherweise für die Etablierung einer oralen Toleranz nötig ist, eine noch höhere Rate an Studienabbrechern nach sich ziehen würde. Bisher gibt es keine weitere OIT-Studie mit Nahrungsmittelallergenen, die Patienten oder Eltern hinsichtlich der Therapiebelastung unter Therapie befragt hat, daher ist ein Vergleich der Ergebnisse mit anderen Daten leider nicht möglich.

Kritisch zu beurteilen sind die vorliegenden Daten zur Lebensqualität und Therapiebelastung hinsichtlich der kleinen Fallzahl vorliegender Fragebögen von Kindern und Jugendlichen. Die Auswertung eines Einflusses der OIT hinsichtlich dieser Endpunkte bei Jugendlichen war aufgrund der wenigen Patienten dieser Altersgruppe nicht möglich. Ein weiterer Nachteil besteht darin, dass Studienabbrecher, z.B. aufgrund von mangelnder Compliance oder auftretenden Nebenwirkungen, nicht erneut nach Studienabbruch zur Lebensqualität und Therapiebelastung befragt wurden. Dies könnte zu einer Überschätzung der Verbesserung der Lebensqualität unter OIT und der Bewertung der Therapiebelastung geführt haben. Obwohl in dieser Studie das langfristige Ziel einer anhaltenden oralen Toleranzentwicklung noch nicht untersucht werden konnte, sondern der Großteil der Kinder allein eine Desensibilisierung erreichte, führte dies bereits zu einer relevanten Verbesserung der Lebensqualität der Patienten. Der Großteil der Patienten und der Mütter

bewertete die OIT als insgesamt positive Therapieoption. Im Einklang mit Ergebnissen anderer OIT-Studien zur Lebensqualität scheint die Erdnuss-OIT somit eine auf mehreren Ebenen wirksame und vielversprechende Therapieoption zu sein. Weitere, größer angelegte Placebo-kontrollierte Erdnuss-OIT-Studien sowie die Nachverfolgung der Patienten unter Langzeit-OIT sind nötig, um die vorliegenden Ergebnisse, insbesondere zur Therapiebelastung, zu bekräftigen. Zukünftig sollten auch mögliche Einflussfaktoren wie die Häufigkeit von Nebenwirkungen unter OIT, der Therapieerfolg oder das parallele Vorliegen weiterer Nahrungsmittelallergien auf die Lebensqualität und Therapiebelastung unter OIT genauer untersucht werden.

## 4.6 Fazit und Ausblick

### 4.6.1 Ist die orale Immuntherapie bei Erdnussallergie reif für die Praxis?

Bei Kindern mit einer Kuhmilch- und Hühnereiallergie konnte bereits in mehreren kontrollierten OIT-Studien sowie Metaanalysen eine gute klinische Wirksamkeit beobachtet werden [158-160]. Für die Erdnussallergie gibt es einschließlich der vorliegenden Arbeit bisher nur drei kontrollierte OIT-Studien, zwei davon Placebo-kontrolliert (siehe Tabelle 4.1). Auch hierbei zeigte sich eine gute klinische Wirksamkeit hinsichtlich einer Desensibilisierung unter OIT bei Kindern mit Erdnussallergie (siehe Tabelle 4.2). Trotz dieser vielversprechenden Hinweise der OIT als mögliche Therapieoption für Erdnussallergiker sollte für die Bewertung der Sicherheit und der Langzeiteffekte der OIT eine derzeit laufende, multizentrische, doppelblind Placebo-kontrollierte Phase III-Studie zur Erdnuss-OIT mit großem Patientenkollektiv ( $n \approx 500$ ) abgewertet werden, die unter Arzneimittelgesetz-Bedingungen durchgeführt wird [262, 263]. Bisher fehlen außerdem systematische Metaanalysen zur Erdnuss-OIT, die mehrere kontrollierte Studien einschließen.

Eine kürzlich erschienene Metaanalyse untersuchte die Wirksamkeit und Sicherheit der allergenspezifischen IT bei verschiedenen IgE-vermittelten Nahrungsmittelallergien vorrangig Hühnerei-, Kuhmilch-, Erdnuss-, Haselnuss- oder Fischallergie bei Kindern und Erwachsenen [264]. Für die Bewertung der Wirksamkeit der OIT wurden 23 kontrollierte Studien eingeschlossen mit insgesamt über 1000 Patienten, bei denen im Anschluss an die Therapie eine DBPCFC mit dem entsprechenden Allergen durchgeführt wurde. Dabei zeigte sich, dass Patienten die eine aktive OIT erhielten, eine höhere Chance hinsichtlich der Entwicklung einer Desensibilisierung hatten im Vergleich zu Patienten der Kontrollgruppen ( $RR=0,17$ ; 95% Konfidenzintervall 0,01-0,27). In Hinblick auf die Bewertung der Sicherheit wurden dagegen nur wenige Studien herangezogen, da Sicherheitsdaten in den verschiedenen Studien sehr unterschiedlich dargestellt wurden. Anhand von fünf OIT-Studien ergab sich ein erhöhtes Risiko für systemische Reaktionen unter OIT ( $RR$  (für das „Nicht-Auftreten“ systemischer Nebenwirkungen in den Kontrollgruppen)=1,16; 95%

Konfidenzintervall 1,03-1,30). Ein deutlich erhöhtes Risiko zeigte sich für das Auftreten lokaler Nebenwirkungen unter OIT im Vergleich zu Kontrollgruppen auf Basis von sieben kontrollierten OIT-Studien (RR für das „Nicht-Auftreten“ lokaler Nebenwirkungen in den Kontrollgruppen= 1,78: 95% Konfidenzintervall 1,35-2,33). Wie auch ein kürzlich erschienener systematischer Übersichtsartikel der EAACI betonte, wird ein Vergleich bisheriger Ergebnisse zur OIT bei Nahrungsmittelallergien dadurch erschwert, dass die verschiedenen Arbeitsgruppen sehr unterschiedliche OIT-Protokolle nutzen [265]. Dies ist ein weiterer Grund, weshalb die Umsetzung der Erdnuss-OIT in die klinische Routine noch nicht möglich ist. Um ein standardisiertes Studienprotokoll für eine gute Wirksamkeit und Sicherheit für die Erdnuss-OIT zu etablieren, sollten zukünftige Studien beispielsweise unterschiedliche OIT-Zeiträume, Dosissteigerungsschemata oder verschiedene OIT-Erhaltungsdosen direkt miteinander vergleichen. In Kürze sollen Leitlinien der EAACI für die SIT bei IgE-vermittelten Nahrungsmittelallergien veröffentlicht werden, die möglicherweise Empfehlungen für die Standardisierung von OIT-Protokollen aussprechen und somit zu einer verbesserten Vergleichbarkeit von zukünftigen Studienergebnissen führen [266]. Die Daten zur Verträglichkeit der OIT stammen aus klinischen Studien, in denen die Therapie unter strengen, kontrollierten Bedingungen und intensiver Betreuung durch erfahrenes, geschultes Personal in spezialisierten Settings durchgeführt wurde. Dieser enorme zeit- und kostenintensive Aufwand wäre so in der klinische Routine schwer umsetzbar (z.B. 24 h Notfallnummer, wöchentliche Anrufe, genaue Anweisungen zur Dosisreduktion bei Augmentationsfaktoren). Eine Studie aus den USA zeigt zudem, dass die Durchführung der Erdnuss-OIT außerhalb eines spezialisierten Settings unter weniger streng kontrollierten Bedingungen in allergologischen Praxen zu einer hohen Rate an Adrenalin-bedürftigen Nebenwirkungen führte [267]. Bisher fehlen Studien, die Daten zu gesundheitsökonomischen Aspekten wie dem Kosten-Nutze-Verhältnis der OIT bei Nahrungsmittelallergien aufzeigen.

Von großer Bedeutung ist außerdem die Untersuchung möglicher klinischer oder immunologischer Prädiktoren, die helfen sollen, Patienten die besonders gut auf die OIT ansprechen und wenige Nebenwirkungen erleiden, bereits vor Therapiebeginn zu identifizieren. In der vorliegenden Arbeit wurde dies noch nicht untersucht, ist aber ein Bestandteil zukünftiger Analysen. Für Patienten bei denen eine Desensibilisierung durch OIT aufgrund persistierender Nebenwirkungen nicht möglich ist, könnten andere Formen der SIT oder an diese „Hochrisikogruppe“ angepasste OIT-Protokolle hilfreich sein (siehe auch Kapitel 4.6.3). Erste Daten aus Studien zu SLIT und OIT bei Erdnuss-, Kuhmilch und Hühnereiallergie weisen darauf hin, dass ein niedriges erdnusspezifisches IgE sowie ein kleinerer Quaddeldurchmesser zu Studienbeginn mit einer erfolgreichen Desensibilisierung und weniger Nebenwirkungen unter OIT assoziiert sind [147, 164, 219, 229, 235, 268]. Hinsichtlich klinischer Parameter zeigt der Vergleich bisheriger Studien, dass Patienten mit einem parallel

bestehenden Asthma bronchiale, einer niedrigen Reaktionsschwelle auf das Nahrungsmittelallergen oder einer Anaphylaxie in der Vergangenheit weniger gute Chancen auf eine erfolgreiche OIT zu haben scheinen [146, 147, 152, 163, 229]. Die Sicherheit der OIT würde durch Ausschluss dieser Patienten womöglich verbessert werden, jedoch würden insbesondere diese Patienten von einer Desensibilisierung profitieren.

#### **4.6.2 Toleranzinduktion durch langfristige orale Immuntherapie?**

Unbekannt ist auch wie lange eine tägliche regelmäßige Einnahme der Erdnussdosis erfolgen muss, um den erreichten Schutz aufrecht zu erhalten und ob Patienten durch die OIT auch eine komplette orale Toleranz vergleichbar mit der natürlichen Toleranzentwicklung erreichen können, so dass die Patienten Erdnuss *ad libitum* konsumieren können ohne die Notwendigkeit einer andauernden OIT. Im Rahmen der in dieser Arbeit vorgestellten Doppelblindphase der OIT-Studie wurde nur die Wirksamkeit hinsichtlich einer Desensibilisierung unter Erdnuss-OIT erfasst. Ob durch die Erdnuss-OIT auch eine anhaltende klinische Verträglichkeit bzw. orale Toleranz induziert werden kann, wird derzeit in der Langzeitverfolgung der Patienten untersucht. Hierfür wird die OIT-Erhaltungsdosis von den Patienten zunächst für mehrere Monate weiter eingenommen, bevor die OIT für zwei Wochen unterbrochen wird und dann erneut eine orale Provokation mit Erdnuss durchgeführt wird (Prinzip siehe Kapitel 1.6.3; Abbildung 1.3). Prinzip der oralen Immuntherapie (OIT) bei Nahrungsmittelallergien. Im Laufe der Steigerungsphase wird die OIT-Dosis langsam gesteigert. In der anschließenden Erhaltungsphase wird die erreichte Zieldosis über einen längeren Zeitraum täglich oral eingenommen. Um den Erfolg der OIT zu messen, wird vor und nach OIT eine orale Provokation durchgeführt. Eine Desensibilisierung (A) ist erreicht, wenn unter oraler Provokation bei laufender OIT, also regelmäßiger Allergenaufnahme, keine Reaktion auftritt. Eine anhaltende, „robuste“ Toleranz (B) ist erreicht, wenn die OIT im Anschluss an die Erhaltungsphase für einen bestimmten Zeitraum gestoppt wird und dann unter erneuter Provokation keine Reaktion auftritt (eigene Darstellung publiziert in [141]).). Auch zur Bewertung einer klinischen Toleranzentwicklung durch OIT gibt es bisher noch kein einheitliches Vorgehen. Unbekannt ist, welcher Zeitraum der Erhaltungsphase nötig ist und wie lang der Zeitraum der Therapieunterbrechung eingehalten werden sollte, um eine mögliche langfristige klinische und immunologische Wirksamkeit zu überprüfen. In der vorausgegangenen „rush“-OIT-Studie erreichten nach 9 Monaten unter OIT und anschließender zweiwöchiger OIT-Pause nur 13% der ITT-Population eine orale Toleranz [143]. Kürzlich wurden drei weitere nicht-kontrollierte Studien zur Langzeitwirkung der Erdnuss-OIT publiziert [219, 235, 269]. In die Studie von Narisety et al. wurden 21 Kinder eingeschlossen und erhielten über etwa 18 Monate entweder OIT oder SLIT mit nachfolgender OIT bevor die Therapie für 4 Wochen unterbrochen wurde [219]. Im Rahmen der nachfolgenden oralen Provokation mit Erdnuss zeigten 19% Patienten (n=4) eine klinische Toleranz. Ein Patient benötigte im Laufe der OIT-

Erhaltungsphase i.m. Adrenalin. Vickery et al. lieferten die ersten Ergebnisse bezüglich einer Toleranzentwicklung unter einer langfristigen OIT über mehrere Jahre [235]. Von ursprünglich 39 eingeschlossenen Kindern wurden 24 Kinder über bis zu fünf Jahren unter OIT nachverfolgt. Im Anschluss wurde die OIT für 4 Wochen pausiert und eine erneute orale Provokation durchgeführt. 31% der ITT-Population zeigten dabei eine orale Toleranz gegenüber der Höchstdosis. Insgesamt beendeten 38% der ursprünglich eingeschlossenen Teilnehmer die Studie vorzeitig, 15% aufgrund von Nebenwirkungen und 23% aufgrund persönlicher Gründe. Daten zu Nebenwirkungen wurden in diesen Studien nicht dargestellt. Verglichen mit den Erfolgsraten zur Desensibilisierung unter OIT fallen diese Ergebnisse eher ernüchternd aus. Zwar fehlte zum direkten Vergleich diesen Studien eine Placebo- oder Kontrollgruppe, jedoch sind diese Zahlen nicht wesentlich höher als die Daten einer natürlichen Toleranzentwicklung bei Erdnussallergie (~20%) [95, 96]. Eine erste Studie zur OIT bei Säuglingen und Kleinkindern, Alter im Median bei Studieneinschluss 29 Monate, zeigte hingegen bessere Erfolgschancen [269]. Von 37 Kindern, die über etwa 2,5 Jahre eine OIT mit Erdnuss erhielten, zeigten 79% nach einer vierwöchigen Unterbrechung der OIT eine klinische Toleranz. Auch dieser Studie fehlte leider eine entsprechende Kontrollgruppe. Erste Daten in Bezug auf immunologische Parameter unter langfristiger Erdnuss-OIT zeigen außerdem, dass ein Teil der beobachteten Veränderungen nicht von Dauer ist und nach einer Unterbrechung der OIT wieder aufgehoben ist [143, 244, 249]. So wurde in der vorausgegangenen „rush“-OIT-Studie beobachtet, dass es nach der OIT-Pause zu einem erneuten Abfall der vorab erhöhten sIgG<sub>4</sub>-Level und einem signifikant größeren erdnusspezifischen Quaddeldurchmesser kam [143]. Auch Mechanismen auf T-Zell-Ebene zeigten sich als transient, so konnte teilweise eine Aufhebung der zuvor unterdrückten Th-2 Antwort beobachtet werden [143, 244]. Ob die OIT neben einer Desensibilisierung also tatsächlich zu einer Toleranzinduktion führen kann, die immunologisch und klinisch vergleichbar mit einer natürlichen Toleranzentwicklung ist, muss noch in weiteren, insbesondere kontrollierten, Langzeitstudien, überprüft werden. Möglicherweise müssen die Patienten also ihr Leben lang täglich die Erdnussdosis zu sich nehmen, um den erreichten Schutz zu erhalten. Die hohen Drop-out Raten erster Studien zeigen jedoch, dass die Compliance unter langfristiger OIT ein Problem darstellt. Für viele Patienten ist die tägliche Einnahme von Erdnuss belastend, da sie nach wie vor eine starke Aversion gegen den Geschmack von Erdnuss haben. So berichteten 57% der Eltern von Kindern unter langfristiger Erdnuss-OIT, dass das Kind nur mit Widerwillen die Erdnussgabe verzehrt, bei 19% sogar bei der Hälfte der Zeit [235]. Weitere Studien müssen außerdem zur Bewertung der Verträglichkeit unter langfristiger OIT abgewartet werden, da Daten zur Sicherheit unter langfristiger OIT bisher kaum publiziert wurden.

### 4.6.3 Mögliche weitere zukünftige Formen der Immuntherapie bei Erdnussallergie

Mit dem Ziel ein besseres Sicherheitsprofil der OIT zu erreichen, wurden in den letzten Jahren auch erste unkontrollierte Studien zur OIT mit parallelem Einsatz von humanisierten anti-IgE-Antikörpern (Omalizumab) durchgeführt [270-272]. Kürzlich wurden zwei erste doppelblind, Placebo-kontrollierte OIT-Studien bei Kuhmilch- bzw. Erdnussallergie mit einer parallelen Anwendung von Omalizumab veröffentlicht [273, 274]. In der Studie zur Erdnuss-OIT konnte gezeigt werden, dass Patienten, die parallel Anti-IgE erhielten, eine deutlich höhere Erdnussdosis unter Provokation nach OIT vertrugen als Kinder der Placebogruppe [273]. Jedoch zeigten sich keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich des Nebenwirkungsprofils. Insgesamt brachen drei Patienten, darunter auch zwei Patienten der Verumgruppe (Erdnuss-OIT und Omalizumab), die Studie aufgrund von schweren, gastrointestinalen Symptomen ab. Dahingegen zeigte sich in der Studie zur Kuhmilch-OIT eine signifikante Reduktion der Nebenwirkungsrate in der Gruppe die parallel Omalizumab erhielt im Vergleich zu Patienten unter ausschließlicher Kuhmilch-OIT [274]. In einer ersten doppelblind, Placebo-kontrollierten Studie bei Kindern mit Erdnussallergie in Australien wurde eine kombinierte Behandlung von Erdnuss-OIT mit Probiotika untersucht [275]. 60 Patienten erhielten über 18 Monate entweder eine Erdnuss-OIT zusammen mit einer definierten Menge an Probiotika (*Lactobacillus rhamnosus*) oder ausschließlich ein Placebo. Insgesamt erreichten 84% der Verumgruppe (OIT plus Probiotika) und nur 6,5% der Placebogruppe eine Desensibilisierung. Leider beinhaltete das Studiendesign keinen Patientenarm, der die Erdnuss-OIT ohne den Zusatz von Probiotika erhielt, sodass der potenzielle zusätzliche Effekt der Probiotika-Gabe auf die Wirksamkeit und das Nebenwirkungsprofil nicht direkt untersucht werden konnte. Da ein Großteil der Kinder mit einer Erdnussallergie auch auf weitere Nahrungsmittel, wie z.B. Baumnüsse, allergisch ist, wäre eine OIT mit gleichzeitiger Anwendung mehrerer Nahrungsmittel von großem Interesse, um die Lebensqualität der Patienten entscheidend zu verbessern. Eine erste Pilotstudie zeigte ein ähnliches Sicherheitsprofil zwischen Patienten, die entweder ausschließlich eine OIT mit Erdnuss oder eine OIT mit bis zu vier weiteren Nahrungsmittelallergenen gleichzeitig erhielten [276].

Darüber hinaus wurde als kausale Therapiemöglichkeit bei Erdnussallergie auch eine IT über andere Applikationsformen, vorrangig sublingual und neuerdings auch epikutan, untersucht. Die sublinguale Immuntherapie (SLIT) und epikutane Immuntherapie (EPIT) folgen dabei einem ähnlichen Prinzip wie die OIT (siehe Abbildung 1.3). Bei der SLIT wird das Allergen nicht direkt verzehrt, sondern in gelöster Form unter die Zunge des Patienten gegeben und nach kurzer Zeit entweder ausgespuckt oder geschluckt. In einer randomisierten, Placebo-kontrollierten Studie zur SLIT bei 18 erdnussallergischen Kindern vertrugen Kinder der Verumgruppe nach 12 Monaten Therapie eine im Median 20fach höhere Erdnussproteinmenge unter oraler Provokation im

Vergleich zu Kindern der Placebogruppe (1710 mg Erdnussprotein = 6840 mg Erdnuss ~13 kleine Erdnüsse vs. 85 mg Erdnussprotein = 340 mg Erdnuss ~ 2/3 Erdnuss) [231]. 11,5% der verabreichten Verumgaben und 8,6% der Placebogaben waren mit Nebenwirkungen assoziiert, vorrangig handelte es sich dabei um Symptome des Oropharynx wie Juckreiz im Mund- und Rachenraum. Zu ähnlichen Ergebnissen hinsichtlich der Wirksamkeit und Sicherheit kam auch eine weitere Placebo-kontrollierte SLIT-Studie bei Kindern und Erwachsenen mit Erdnussallergie [277]. Im Laufe der drei Jahre andauernden Langzeitverfolgung brach jedoch mehr als die Hälfte der Patienten die Therapie ab, primär aufgrund von Compliance-Problemen. Am Ende der Studie wurde die SLIT für 2 Wochen unterbrochen, um anschließend erneut eine orale Provokation durchzuführen. Nur etwa jeder zehnte Patient zeigte dabei eine anhaltende klinische Verträglichkeit. Kürzlich wurden auch erste Ergebnisse von Pilotstudien bzw. Phase I und II-Studien zur EPIT publiziert, teilweise jedoch nur als Abstract [278-281]. Bei der EPIT erfolgt der Allergenkontakt über die Haut, das Nahrungsmittelallergen wird mit Hilfe eines Patches auf der Hautoberfläche appliziert. Es wird vermutet, dass dabei das Allergen nach Applikation auf der Haut nicht in den systemischen Blutkreislauf gelangt, sondern epidermale Dendritische Zellen aktiviert und somit eine Immunmodulation verursachen kann [213]. In einer Phase I Studie erhielten 80 Patienten die Verum-EPIT, mit einer Allergendosis zwischen 20-500 µg Erdnussprotein auf dem Pflaster, und 20 Patienten Placebo [281]. Bei Patienten der Verumgruppe kam es signifikant häufiger zu milden bis moderaten lokalen Hautreaktionen, jedoch zeigte sich kein Unterschied hinsichtlich nicht-lokaler Nebenwirkungen zwischen Verum und Placebo. Erste Ergebnisse der Phase II Studie mit dem Erdnuss-Pflaster zeigten erste positive Ergebnisse hinsichtlich einer Desensibilisierung bei Patienten die über 12 Monate ein Pflaster mit 250 µg Erdnussprotein appliziert hatten [280]. Derzeit läuft eine groß angelegte, multizentrische, doppelblind, Placebo-kontrollierte Studie zur EPIT, die die Wirksamkeit der Therapie im Vergleich zu Placebo untersucht [282]. Insgesamt zeigen die ersten publizierten Daten zu SLIT und EPIT vielversprechende Ergebnisse hinsichtlich eines guten Sicherheitsprofils. Jedoch scheinen beide Behandlungsmethoden um ein Vielfaches weniger wirksam zu sein hinsichtlich einer Desensibilisierung bzw. Toleranzinduktion als die OIT. Für dieses Phänomen werden unterschiedliche mögliche Gründe diskutiert. So könnte z.B. die unterschiedliche immunologische Allergenpräsentation (Darm- vs. Mundschleimhaut vs. Hautoberfläche) oder die applizierten Allergenmengen (niedrige vs. hohe Dosis) zu den Unterschieden in der Wirksamkeit führen. In bisherigen Studien zur SLIT lag die angestrebte Zieldosis zwischen 1,4–2 mg des entsprechenden Nahrungsmittelproteins, im Vergleich dazu wurden in OIT-Studien bis zu 3000fach höhere Proteinmengen als Zieldosis eingesetzt [141] (siehe Tabelle 4.2). Im Rahmen der EPIT können dagegen sogar nur Proteindosen im Mikrogrammbereich appliziert werden. Möglicherweise könnte auch die EPIT, ähnlich wie es für die SLIT bereits gezeigt

wurde [219], in Zukunft im Rahmen einer Kombinationstherapie mit anschließender OIT zum Einsatz kommen, um so die Wirksamkeit zu verbessern bzw. eine Option für „Hochrisiko“-Patienten hinsichtlich eines verbesserten Sicherheitsprofil zu sein. Auch wenn von der subkutanen IT aufgrund der inakzeptablen Rate an schweren Nebenwirkungen Abstand genommen wurde, so könnten in Zukunft als weitere Fortentwicklung dieses Ansatzes möglicherweise modifizierte, rekombinante Allergenextrakte mit einer herabgesetzten Allergenität zum Einsatz kommen [283-286].

#### **4.6.4 Schlussfolgerung**

Zusammenfassend stellt die Erdnuss-OIT ein wirksames und sicheres Behandlungskonzept für Kinder mit Erdnussallergie im Rahmen klinischer Studien dar. In der vorliegenden doppelblind, Placebo-kontrollierten Studie konnte der Großteil der Kinder unter Erdnuss-OIT eine Desensibilisierung und eine deutlich erhöhte Reaktionsschwelle auf Erdnuss erreichen. Zudem ereigneten sich unter Erdnuss-OIT deutlich seltener allergische Reaktionen nach akzidentellem Erdnussverzehr als unter Placebo-OIT. Somit sind Kinder unter laufender Therapie vor akzidentellen Reaktionen geschützt. Im Rahmen der kontrollierten Studienbedingungen zeigte sich unter Erdnuss-OIT ein akzeptables Sicherheitsprofil, mit vorrangig subjektiven, lokalen Symptomen. Objektive Symptome, einschließlich schwererer pulmonaler Symptome, scheinen unter Erdnuss-OIT eine untergeordnete Rolle zu spielen, da sie sich mit vergleichbarer Häufigkeit unter Placebo-OIT ereigneten. Die klinische Desensibilisierung unter Erdnuss-OIT, ging mit einer verminderten allergischen Immunantwort auf Effektor-Zell-, B-Zell- und T-Zell-Ebene einher. Kinder zeigten nach Erdnuss-OIT eine deutlich verbesserte Lebensqualität und der Großteil der Kinder und Mütter bewertete die OIT als positiv. Somit zeigt sich die OIT als eine auf mehreren Ebenen wirksame und erfolgsversprechende Therapieoption bei Kindern mit Erdnussallergie. In zukünftigen Studien sollte untersucht werden, ob und durch welche Wirkmechanismen die OIT auch langfristig zu einer oralen Toleranz bei erdnussallergischen Kindern führen kann.

## Literaturverzeichnis

1. Rona RJ, Keil T, Summers C, Gislason D, Zuidmeer L, Sodergren E, et al. The prevalence of food allergy: a meta-analysis. *J Allergy Clin Immunol* 2007;120(3):638-646.
2. Nwaru BI, Hickstein L, Panesar SS, Roberts G, Muraro A, Sheikh A, et al. Prevalence of common food allergies in Europe: a systematic review and meta-analysis. *Allergy* 2014;69(8):992-1007.
3. Werfel T, Ballmer-Weber B, Eigenmann PA, Niggemann B, Rance F, Turjanmaa K, et al. Eczematous reactions to food in atopic eczema: position paper of the EAACI and GA2LEN. *Allergy* 2007;62(7):723-728.
4. Martin PE, Eckert JK, Koplin JJ, Lowe AJ, Gurrin LC, Dharmage SC, et al. Which infants with eczema are at risk of food allergy? Results from a population-based cohort. *Clin Exp Allergy* 2015;45(1):255-264.
5. Schmitz R, Atzpodien K, Schlaud M. Prevalence and risk factors of atopic diseases in German children and adolescents. *Pediatr Allergy Immunol* 2012;23(8):716-723.
6. Carlsten C, Dimich-Ward H, Ferguson A, Watson W, Rousseau R, Dybuncio A, et al. Atopic dermatitis in a high-risk cohort: natural history, associated allergic outcomes, and risk factors. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2013;110(1):24-28.
7. van der Hulst AE, Klip H, Brand PL. Risk of developing asthma in young children with atopic eczema: a systematic review. *J Allergy Clin Immunol* 2007;120(3):565-569.
8. Spergel JM. From atopic dermatitis to asthma: the atopic march. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2010;105(2):99-106; quiz 107-109, 117.
9. Osborne NJ, Koplin JJ, Martin PE, Gurrin LC, Lowe AJ, Matheson MC, et al. Prevalence of challenge-proven IgE-mediated food allergy using population-based sampling and predetermined challenge criteria in infants. *J Allergy Clin Immunol* 2011;127(3):668-676 e661-662.
10. Sicherer SH, Munoz-Furlong A, Godbold JH, Sampson HA. US prevalence of self-reported peanut, tree nut, and sesame allergy: 11-year follow-up. *J Allergy Clin Immunol* 2010;125(6):1322-1326.
11. Keil T, McBride D, Grimshaw K, Niggemann B, Xepapadaki P, Zannikos K, et al. The multinational birth cohort of EuroPrevall: background, aims and methods. *Allergy* 2010;65(4):482-490.
12. Zuberbier T, Edenharter G, Worm M, Ehlers I, Reimann S, Hantke T, et al. Prevalence of adverse reactions to food in Germany - a population study. *Allergy* 2004;59(3):338-345.
13. Venter C, Hasan Arshad S, Grundy J, Pereira B, Bernie Clayton C, Voigt K, et al. Time trends in the prevalence of peanut allergy: three cohorts of children from the same geographical location in the UK. *Allergy* 2010;65(1):103-108.
14. Grundy J, Matthews S, Bateman B, Dean T, Arshad SH. Rising prevalence of allergy to peanut in children: Data from 2 sequential cohorts. *J Allergy Clin Immunol* 2002;110(5):784-789.
15. Valenta R, Hochwallner H, Linhart B, Pahr S. Food allergies: the basics. *Gastroenterology* 2015;148(6):1120-1131.e1124.
16. Vickery BP, Chin S, Burks AW. Pathophysiology of food allergy. *Pediatr Clin North Am* 2011;58(2):363-376, ix-x.
17. Schulke S, Scheurer S. [Immunological background and pathomechanisms of food allergies]. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz* 2016;59(6):723-731.
18. De Benedetto A, Kubo A, Beck LA. Skin barrier disruption: a requirement for allergen sensitization? *J Invest Dermatol* 2012;132(3 Pt 2):949-963.
19. Berin MC, Sampson HA. Mucosal immunology of food allergy. *Curr Biol* 2013;23(9):R389-400.
20. Holländer GA, Barthlott T, Keller MP, Krenger W, Piali L. Kapitel 5 - T-Zell-System. In: Pädiatrische Allergologie und Immunologie (Fourth Edition). Munich: Urban & Fischer; 2005. p. 82-133.

21. Sokol CL, Chu NQ, Yu S, Nish SA, Laufer TM, Medzhitov R. Basophils function as antigen-presenting cells for an allergen-induced T helper type 2 response. *Nat Immunol* 2009;10(7):713-720.
22. Caubet JC, Masilamani M, Rivers NA, Mayer L, Sampson HA. Potential non-T cells source of interleukin-4 in food allergy. *Pediatr Allergy Immunol* 2014;25(3):243-249.
23. Kucuksezer UC, Ozdemir C, Akdis M, Akdis CA. Mechanisms of immune tolerance to allergens in children. *Korean J Pediatr* 2013;56(12):505-513.
24. Mosmann TR, Sad S. The expanding universe of T-cell subsets: Th1, Th2 and more. *Immunol Today* 1996;17(3):138-146.
25. Holländer GA, Barthlott T, Keller MP, Krenger W, Piali L. Kapitel 7 - Zytokine und ihre Netzwerke. In: Pädiatrische Allergologie und Immunologie (Fourth Edition). Munich: Urban & Fischer; 2005. p. 147-182.
26. Boyman O, Sprent J. The role of interleukin-2 during homeostasis and activation of the immune system. *Nat Rev Immunol* 2012;12(3):180-190.
27. Malek TR. The biology of interleukin-2. *Annu Rev Immunol* 2008;26:453-479.
28. Perrier C, Cortesy B. Gut permeability and food allergies. *Clin Exp Allergy* 2011;41(1):20-28.
29. Pabst O, Mowat AM. Oral tolerance to food protein. *Mucosal Immunol* 2012;5(3):232-239.
30. Taylor A, Verhagen J, Blaser K, Akdis M, Akdis CA. Mechanisms of immune suppression by interleukin-10 and transforming growth factor-beta: the role of T regulatory cells. *Immunology* 2006;117(4):433-442.
31. Flinterman AE, Pasmans SG, den Hartog Jager CF, Hoekstra MO, Bruijnzeel-Koomen CA, Knol EF, et al. T cell responses to major peanut allergens in children with and without peanut allergy. *Clin Exp Allergy* 2010;40(4):590-597.
32. Turcanu V, Maleki SJ, Lack G. Characterization of lymphocyte responses to peanuts in normal children, peanut-allergic children, and allergic children who acquired tolerance to peanuts. *J Clin Invest* 2003;111(7):1065-1072.
33. de Jong EC, Spanhaak S, Martens BP, Kapsenberg ML, Penninks AH, Wierenga EA. Food allergen (peanut)-specific TH2 clones generated from the peripheral blood of a patient with peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol* 1996;98(1):73-81.
34. Wisniewski JA, Commins SP, Agrawal R, Hulse KE, Yu MD, Cronin J, et al. Analysis of cytokine production by peanut-reactive T cells identifies residual Th2 effectors in highly allergic children who received peanut oral immunotherapy. *Clin Exp Allergy* 2015;45(7):1201-1213.
35. Chehade M, Mayer L. Oral tolerance and its relation to food hypersensitivities. *J Allergy Clin Immunol* 2005;115(1):3-12; quiz 13.
36. Pelz BJ, Bryce PJ. Pathophysiology of Food Allergy. *Pediatr Clin North Am* 2015;62(6):1363-1375.
37. Allam J-P, Novak N. Mucosal homeostasis and oral tolerance. *Allergo Journal* 2013;22(5):317-323.
38. Ozdemir C, Akdis M, Akdis CA. T-cell response to allergens. *Chem Immunol Allergy* 2010;95:22-44.
39. Chen Y, Inobe J, Marks R, Gonnella P, Kuchroo VK, Weiner HL. Peripheral deletion of antigen-reactive T cells in oral tolerance. *Nature* 1995;376(6536):177-180.
40. Kuklina EM. Molecular mechanisms of T-cell anergy. *Biochemistry (Mosc)* 2013;78(2):144-156.
41. Burks AW, Laubach S, Jones SM. Oral tolerance, food allergy, and immunotherapy: implications for future treatment. *J Allergy Clin Immunol* 2008;121(6):1344-1350.
42. Torgerson TR, Ochs HD. Immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked: forkhead box protein 3 mutations and lack of regulatory T cells. *J Allergy Clin Immunol* 2007;120(4):744-750; quiz 751-742.
43. Shreffler WG, Wanich N, Moloney M, Nowak-Wegrzyn A, Sampson HA. Association of allergen-specific regulatory T cells with the onset of clinical tolerance to milk protein. *J Allergy Clin Immunol* 2009;123(1):43-52.e47.
44. Karlsson MR, Rugtveit J, Brandtzaeg P. Allergen-responsive CD4+CD25+ regulatory T cells in children who have outgrown cow's milk allergy. *J Exp Med* 2004;199(12):1679-1688.

45. Bannon GA. What makes a food protein an allergen? *Curr Allergy Asthma Rep* 2004;4(1):43-46.
46. Maleki SJ, Chung SY, Champagne ET, Raufman JP. The effects of roasting on the allergenic properties of peanut proteins. *J Allergy Clin Immunol* 2000;106(4):763-768.
47. Lehmann K, Schweimer K, Reese G, Randow S, Suhr M, Becker WM, et al. Structure and stability of 2S albumin-type peanut allergens: implications for the severity of peanut allergic reactions. *Biochem J* 2006;395(3):463-472.
48. Okada H, Kuhn C, Feillet H, Bach JF. The 'hygiene hypothesis' for autoimmune and allergic diseases: an update. *Clin Exp Immunol* 2010;160(1):1-9.
49. Yazdanbakhsh M, Kremsner PG, van Ree R. Allergy, parasites, and the hygiene hypothesis. *Science* 2002;296(5567):490-494.
50. Johansson SG, Hourihane JO, Bousquet J, Brujnzeel-Koomen C, Dreborg S, Haahtela T, et al. A revised nomenclature for allergy. An EAACI position statement from the EAACI nomenclature task force. *Allergy* 2001;56(9):813-824.
51. Sicherer SH, Sampson HA. Food allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2010;125(2):116-25.
52. Sicherer SH, Furlong TJ, Munoz-Furlong A, Burks AW, Sampson HA. A voluntary registry for peanut and tree nut allergy: characteristics of the first 5149 registrants. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108(1):128-132.
53. Green TD, LaBelle VS, Steele PH, Kim EH, Lee LA, Mankad VS, et al. Clinical characteristics of peanut-allergic children: recent changes. *Pediatrics* 2007;120(6):1304-1310.
54. Moneret-Vautrin DA, Rance F, Kanny G, Olsewski A, Gueant JL, Dutau G, et al. Food allergy to peanuts in France--evaluation of 142 observations. *Clin Exp Allergy* 1998;28(9):1113-1119.
55. Trendelenburg V, Rohrbach A, Schulz G, Schwarz V, Beyer K. Molecular sIgE profile in infants and young children with peanut sensitization and eczema. *Allergo J Int* 2014;23(5):152-157.
56. Edelbauer M, Loibichler C, Nentwich I, Gerstmayr M, Urbanek R, Szepefalusi Z. Maternally delivered nutritive allergens in cord blood and in placental tissue of term and preterm neonates. *Clin Exp Allergy* 2004;34(2):189-193.
57. Vadas P, Wai Y, Burks W, Perelman B. Detection of peanut allergens in breast milk of lactating women. *Jama* 2001;285(13):1746-1748.
58. Fox AT, Sasieni P, du Toit G, Syed H, Lack G. Household peanut consumption as a risk factor for the development of peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2009;123(2):417-423.
59. Brough HA, Makinson K, Penagos M, Maleki SJ, Cheng H, Douiri A, et al. Distribution of peanut protein in the home environment. *J Allergy Clin Immunol* 2013;132(3):623-629.
60. Trendelenburg V, Ahrens B, Wehrmann A-K, Kalb B, Niggemann B, Beyer K. Peanut allergen in house dust of eating area and bed--a risk factor for peanut sensitization? *Allergy* 2013;68(11):1460-1462.
61. Rodriguez E, Baurecht H, Herberich E, Wagenpfeil S, Brown SJ, Cordell HJ, et al. Meta-analysis of filaggrin polymorphisms in eczema and asthma: robust risk factors in atopic disease. *J Allergy Clin Immunol* 2009;123(6):1361-1370.e1367.
62. Brown SJ, Asai Y, Cordell HJ, Campbell LE, Zhao Y, Liao H, et al. Loss-of-function variants in the filaggrin gene are a significant risk factor for peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2011;127(3):661-667.
63. Asai Y, Greenwood C, Hull PR, Alizadehfar R, Ben-Shoshan M, Brown SJ, et al. Filaggrin gene mutation associations with peanut allergy persist despite variations in peanut allergy diagnostic criteria or asthma status. *J Allergy Clin Immunol* 2013;132(1):239-242.
64. Du Toit G, Katz Y, Sasieni P, Mesher D, Maleki SJ, Fisher HR, et al. Early consumption of peanuts in infancy is associated with a low prevalence of peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2008;122(5):984-991.
65. Du Toit G, Roberts G, Sayre PH, Bahnson HT, Radulovic S, Santos AF, et al. Randomized trial of peanut consumption in infants at risk for peanut allergy. *N Engl J Med* 2015;372(9):803-813.
66. Koppelman SJ, Vlooswijk RA, Knippels LM, Hessing M, Knol EF, van Reijssen FC, et al. Quantification of major peanut allergens Ara h 1 and Ara h 2 in the peanut varieties Runner,

- Spanish, Virginia, and Valencia, bred in different parts of the world. *Allergy* 2001;56(2):132-137.
67. Souci S, Fachmann W, Kraut H. *Lebensmitteltabelle für die Praxis: Der kleine Souci/ Fachmann/ Kraut. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft* 2004; Auflage 3.
  68. Ballmer-Weber BK, Lidholm J, Fernandez-Rivas M, Seneviratne S, Hanschmann KM, Vogel L, et al. IgE recognition patterns in peanut allergy are age dependent: perspectives of the EuroPrevall study. *Allergy* 2015;70(4):391-407.
  69. Maleki SJ, Kopper RA, Shin DS, Park CW, Compadre CM, Sampson H, et al. Structure of the major peanut allergen Ara h 1 may protect IgE-binding epitopes from degradation. *J Immunol* 2000;164(11):5844-5849.
  70. Nicolaou N, Poorafshar M, Murray C, Simpson A, Winell H, Kerry G, et al. Allergy or tolerance in children sensitized to peanut: prevalence and differentiation using component-resolved diagnostics. *J Allergy Clin Immunol* 2010;125(1):191-197.e191-113.
  71. Beyer K, Grabenhenrich L, Hartl M, Beder A, Kalb B, Ziegert M, et al. Predictive values of component-specific IgE for the outcome of peanut and hazelnut food challenges in children. *Allergy* 2015;70(1):90-98.
  72. Brough HA, Liu AH, Sicherer S, Makinson K, Douiri A, Brown SJ, et al. Atopic dermatitis increases the effect of exposure to peanut antigen in dust on peanut sensitization and likely peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2015;135(1):164-170.
  73. Brough HA, Santos AF, Makinson K, Penagos M, Stephens AC, Douiri A, et al. Peanut protein in household dust is related to household peanut consumption and is biologically active. *J Allergy Clin Immunol* 2013;132(3):630-638.
  74. Lack G. Update on risk factors for food allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2012;129(5):1187-1197.
  75. Beyer K, Morrow E, Li XM, Bardina L, Bannon GA, Burks AW, et al. Effects of cooking methods on peanut allergenicity. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107(6):1077-1081.
  76. Mittag D, Akkerdaas J, Ballmer-Weber BK, Vogel L, Wensing M, Becker WM, et al. Ara h 8, a Bet v 1-homologous allergen from peanut, is a major allergen in patients with combined birch pollen and peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114(6):1410-1417.
  77. Becker WM, Jappe U. Peanut allergens. *Chem Immunol Allergy* 2014;100:256-267.
  78. Vereda A, van Hage M, Ahlstedt S, Ibanez MD, Cuesta-Herranz J, van Odijk J, et al. Peanut allergy: Clinical and immunologic differences among patients from 3 different geographic regions. *J Allergy Clin Immunol* 2011;127(3):603-607.
  79. Pansare M, Kamat D. Peanut allergy. *Curr Opin Pediatr* 2010;22(5):642-646.
  80. Sicherer SH, Burks AW, Sampson HA. Clinical features of acute allergic reactions to peanut and tree nuts in children. *Pediatrics* 1998;102(1):e6.
  81. Dyer AA, Rivkina V, Perumal D, Smeltzer BM, Smith BM, Gupta RS. Epidemiology of childhood peanut allergy. *Allergy Asthma Proc* 2015;36(1):58-64.
  82. Pumphrey RS. Lessons for management of anaphylaxis from a study of fatal reactions. *Clin Exp Allergy* 2000;30(8):1144-1150.
  83. Hompes S, Köhli A, Nemat K, Scherer K, Lange L, Rueff F, et al. Provoking allergens and treatment of anaphylaxis in children and adolescents – data from the anaphylaxis registry of German-speaking countries. *Pediatric Allergy and Immunology* 2011;22(6):568-574.
  84. Grabenhenrich LB, Dolle S, Moneret-Vautrin A, Kohli A, Lange L, Spindler T, et al. Anaphylaxis in children and adolescents: The European Anaphylaxis Registry. *J Allergy Clin Immunol* 2016;137(4):1128-1137.e1121.
  85. Bruijnzeel-Koomen C, Ortolani C, Aas K, Bindslev-Jensen C, Bjorksten B, Moneret-Vautrin D, et al. Adverse reactions to food. European Academy of Allergology and Clinical Immunology Subcommittee. *Allergy* 1995;50(8):623-635.
  86. Muraro A, Roberts G, Clark A, Eigenmann PA, Halcken S, Lack G, et al. The management of anaphylaxis in childhood: position paper of the European academy of allergology and clinical immunology. *Allergy* 2007;62(8):857-871.
  87. Bock SA, Munoz-Furlong A, Sampson HA. Further fatalities caused by anaphylactic reactions to food, 2001-2006. *J Allergy Clin Immunol* 2007;119(4):1016-1018.

88. Taylor SL, Moneret-Vautrin DA, Crevel RW, Sheffield D, Morisset M, Dumont P, et al. Threshold dose for peanut: Risk characterization based upon diagnostic oral challenge of a series of 286 peanut-allergic individuals. *Food Chem Toxicol* 2010;48(3):814-819.
89. Cherkaoui S, Ben-Shoshan M, Alizadehfar R, Asai Y, Chan E, Cheuk S, et al. Accidental exposures to peanut in a large cohort of Canadian children with peanut allergy. *Clin Transl Allergy* 2015;5:16.
90. Yu JW, Kagan R, Verreault N, Nicolas N, Joseph L, St Pierre Y, et al. Accidental ingestions in children with peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2006;118(2):466-472.
91. Nguyen-Luu NU, Ben-Shoshan M, Alizadehfar R, Joseph L, Harada L, Allen M, et al. Inadvertent exposures in children with peanut allergy. *Pediatr Allergy Immunol* 2012;23(2):133-139.
92. Ewan PW, Clark AT. Efficacy of a management plan based on severity assessment in longitudinal and case-controlled studies of 747 children with nut allergy: proposal for good practice. *Clin Exp Allergy* 2005;35(6):751-756.
93. Schoemaker AA, Sprickelman AB, Grimshaw KE, Roberts G, Grabenhenrich L, Rosenfeld L, et al. Incidence and natural history of challenge-proven cow's milk allergy in European children-EuroPrevall birth cohort. *Allergy* 2015;70(8):963-972.
94. Xepapadaki P, Fiocchi A, Grabenhenrich L, Roberts G, Grimshaw KE, Fiandor A, et al. Incidence and natural history of hen's egg allergy in the first 2 years of life-the EuroPrevall birth cohort study. *Allergy* 2016;71(3):350-357.
95. Peters RL, Allen KJ, Dharmage SC, Koplin JJ, Dang T, Tilbrook KP, et al. Natural history of peanut allergy and predictors of resolution in the first 4 years of life: A population-based assessment. *J Allergy Clin Immunol* 2015;135(5):1257-1266.e1251-1252.
96. Skolnick HS, Conover-Walker MK, Koerner CB, Sampson HA, Burks W, Wood RA. The natural history of peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107(2):367-374.
97. Niggemann B, Beyer K, Erdmann S, Fuchs T, Kleine-Tebbe J, Lepp U, et al. Standardisierung von oralen Provokationstests bei Verdacht auf Nahrungsmittelallergie. *Allergo Journal* 2011;20: 149-160.
98. Asero R, Ballmer-Weber BK, Beyer K, Conti A, Dubakiene R, Fernandez-Rivas M, et al. IgE-mediated food allergy diagnosis: Current status and new perspectives. *Mol Nutr Food Res* 2007;51(1):135-147.
99. Kleine-Tebbe J, Reese I, Ballmer-Weber BK. Keine Empfehlung für IgG und IgG4-Bestimmungen gegen Nahrungsmittel. Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Allergologie und klinische Immunologie (DGAKI), des Ärztverbandes Deutscher Allergologen (ÄDA), der Gesellschaft für Pädiatrische Allergologie und Umweltmedizin (GPA), der Österreichischen Gesellschaft für Allergologie und Immunologie (ÖGAI) und der Schweizerischen Gesellschaft für Allergologie und Immunologie (SGAI) nach Übernahme des Task Force Report der European Academy of Allergology and Clinical Immunology (EAACI). *Allerg J* 2009;18:267-273.
100. Ruëff F, Bergmann K-C, Brockow K, Fuchs T, Grübl A, Jung K, et al. Skin tests for diagnostics of allergic immediate-type reactions. *Allergo Journal* 2010;19(6):402-415.
101. Sampson HA, Gerth van Wijk R, Bindslev-Jensen C, Sicherer S, Teuber SS, Burks AW, et al. Standardizing double-blind, placebo-controlled oral food challenges: American Academy of Allergy, Asthma & Immunology-European Academy of Allergy and Clinical Immunology PRACTALL consensus report. *J Allergy Clin Immunol* 2012;130(6):1260-1274.
102. Niggemann B, Lange L, Finger A, Ziegert M, Müller V, Beyer K. Accurate oral food challenge requires a cumulative dose on a subsequent day. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2012;130(1):261-263.
103. Glaumann S, Nopp A, Johansson SG, Borres MP, Nilsson C. Oral peanut challenge identifies an allergy but the peanut allergen threshold sensitivity is not reproducible. *PLoS One* 2013;8(1):e53465.
104. Muraro A, Werfel T, Hoffmann-Sommergruber K, Roberts G, Beyer K, Bindslev-Jensen C, et al. EAACI food allergy and anaphylaxis guidelines: diagnosis and management of food allergy. *Allergy* 2014;69(8):1008-1025.
105. Burks AW. Peanut allergy. *Lancet* 2008;371(9623):1538-1546.

106. Sampson HA. Utility of food-specific IgE concentrations in predicting symptomatic food allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107(5):891-896.
107. Nicolaou N, Murray C, Belgrave D, Poorafshar M, Simpson A, Custovic A. Quantification of specific IgE to whole peanut extract and peanut components in prediction of peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2011;127(3):684-685.
108. Lepp US. Therapiemöglichkeiten bei der IgE-vermittelten Nahrungsmittelallergie; 2002.
109. Clark AT, Ewan PW. Good prognosis, clinical features, and circumstances of peanut and tree nut reactions in children treated by a specialist allergy center. *J Allergy Clin Immunol* 2008;122(2):286-289.
110. Verordnung (EU) Nr. 1169/2011 der europäischen Parlamentes und des Rates. Zugriff über (28.02.2017): <http://eur-lex.europa.eu/legalcontent/DE/TXT/PDF/?uri=CELEX:02011R1169-20140219&from=EN>
111. Furlong TJ, DeSimone J, Sicherer SH. Peanut and tree nut allergic reactions in restaurants and other food establishments. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108(5):867-870.
112. Hefle SL, Furlong TJ, Niemann L, Lemon-Mule H, Sicherer S, Taylor SL. Consumer attitudes and risks associated with packaged foods having advisory labeling regarding the presence of peanuts. *J Allergy Clin Immunol* 2007;120(1):171-176.
113. DunnGalvin A, Chan CH, Crevel R, Grimshaw K, Poms R, Schnadt S, et al. Precautionary allergen labelling: perspectives from key stakeholder groups. *Allergy* 2015;70(9):1039-1051.
114. Ford LS, Taylor SL, Pacenza R, Niemann LM, Lambrecht DM, Sicherer SH. Food allergen advisory labeling and product contamination with egg, milk, and peanut. *J Allergy Clin Immunol* 2010;126(2):384-385.
115. Hefle SL, Furlong TJ, Niemann L, Lemon-Mule H, Sicherer S, Taylor SL. Consumer attitudes and risks associated with packaged foods having advisory labeling regarding the presence of peanuts. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2007;120(1):171-176.
116. Robertson ON, Hourihane JO, Remington BC, Baumert JL, Taylor SL. Survey of peanut levels in selected Irish food products bearing peanut allergen advisory labels. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess* 2013;30(9):1467-1472.
117. Neuman-Sunshine DL, Eckman JA, Keet CA, Matsui EC, Peng RD, Lenehan PJ, et al. The natural history of persistent peanut allergy. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2012;108(5):326-331 e323.
118. Brockow K, Schallmayer S, Beyer K, Biedermann T, Fischer J, Gebert N, et al. Effects of a structured educational intervention on knowledge and emergency management in patients at risk for anaphylaxis. *Allergy* 2015;70(2):227-235.
119. Lange L. Quality of life in the setting of anaphylaxis and food allergy. *Allergo J Int* 2014;23(7):252-260.
120. Primeau MN, Kagan R, Joseph L, Lim H, Dufresne C, Duffy C, et al. The psychological burden of peanut allergy as perceived by adults with peanut allergy and the parents of peanut-allergic children. *Clin Exp Allergy* 2000;30(8):1135-1143.
121. Avery NJ, King RM, Knight S, Hourihane JOB. Assessment of quality of life in children with peanut allergy. *Pediatr Allergy Immunol* 2003;14(5):378-382.
122. King RM, Knibb RC, Hourihane JO. Impact of peanut allergy on quality of life, stress and anxiety in the family. *Allergy* 2009;64(3):461-468.
123. Sicherer SH, Noone SA, Muñoz-Furlong A. The impact of childhood food allergy on quality of life. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2001;87(6):461-464.
124. Cummings AJ, Knibb RC, Erlewyn-Lajeunesse M, King RM, Roberts G, Lucas JS. Management of nut allergy influences quality of life and anxiety in children and their mothers. *Pediatr Allergy Immunol* 2010;21(4 Pt 1):586-594.
125. Flokstra-de Blok BMJ, Dubois AEJ, Vlieg-Boerstra BJ, Oude Elberink JNG, Raat H, DunnGalvin A, et al. Health-related quality of life of food allergic patients: comparison with the general population and other diseases. *Allergy* 2010;65(2):238-244.
126. Knibb RC, Ibrahim NF, Stiefel G, Petley R, Cummings AJ, King RM, et al. The psychological impact of diagnostic food challenges to confirm the resolution of peanut or tree nut allergy. *Clin Exp Allergy* 2012;42(3):451-459.

127. Franxman TJ, Howe L, Teich E, Greenhawt MJ. Oral Food Challenge and Food Allergy Quality of Life in Caregivers of Children with Food Allergy. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice* 2015;3(1):50-56.
128. Leung DYM, Sampson HA, Yunginger JW, Burks AWJ, Schneider LC, Wortel CH, et al. Effect of Anti-IgE Therapy in Patients with Peanut Allergy. *New England Journal of Medicine* 2003;348(11):986-993.
129. Sampson HA, Leung DYM, Burks AW, Lack G, Bahna SL, Jones SM, et al. A phase II, randomized, double-blind, parallel-group, placebo-controlled oral food challenge trial of Xolair (omalizumab) in peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2011;127(5):1309-1310.e1301.
130. Qu C, Srivastava K, Ko J, Zhang TF, Sampson HA, Li XM. Induction of tolerance after establishment of peanut allergy by the food allergy herbal formula-2 is associated with up-regulation of interferon-gamma. *Clin Exp Allergy* 2007;37(6):846-855.
131. Wang J, Jones SM, Pongracic JA, Song Y, Yang N, Sicherer SH, et al. Safety, clinical, and immunologic efficacy of a Chinese herbal medicine (Food Allergy Herbal Formula-2) for food allergy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2015;136(4):962-970.e961.
132. Calderon MA, Demoly P, Gerth van Wijk R, Bousquet J, Sheikh A, Frew A, et al. EAACI: A European Declaration on Immunotherapy. Designing the future of allergen specific immunotherapy. *Clin Transl Allergy* 2012;2(1):20.
133. Schofield A. A case of egg poisoning. *The Lancet* 1908;171(4410):716.
134. Keston BM, Waters I, Hopkins JG. Oral desensitization to common foods. *Journal of Allergy* 1935;6(5):431-436.
135. Patriarca C, Romano A, Venuti A, Schiavino D, Di Rienzo V, Nucera E, et al. Oral specific hyposensitization in the management of patients allergic to food. *Allergol Immunopathol (Madr)* 1984;12(4):275-281.
136. Mansfield L. Successful oral desensitization for systemic peanut allergy. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2006;97(2):266-267.
137. Patriarca G, Nucera E, Pollastrini E, Roncallo C, De Pasquale T, Lombardo C, et al. Oral specific desensitization in food-allergic children. *Dig Dis Sci* 2007;52(7):1662-1672.
138. Clark AT, Islam S, King Y, Deighton J, Anagnostou K, Ewan PW. Successful oral tolerance induction in severe peanut allergy. *Allergy* 2009;64(8):1218-1220.
139. Oppenheimer JJ, Nelson HS, Bock SA, Christensen F, Leung DY. Treatment of peanut allergy with rush immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1992;90(2):256-262.
140. Nelson H, Lahr J, Rule R, Bock A, Leung D. Treatment of anaphylactic sensitivity to peanuts by immunotherapy with injections of aqueous peanut extract. *J Allergy Clin Immunol* 1997;99(6):744-51
141. Trendelenburg V, Blumchen K. [Allergen-specific immunotherapy for food allergies in childhood. Current options and future perspectives]. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz* 2016;59(7):855-864.
142. Staden U, Blumchen K, Blankenstein N, Dannenberg N, Ulbricht H, Dobberstein K, et al. Rush oral immunotherapy in children with persistent cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2008;122(2):418-419.
143. Blumchen K, Ulbricht H, Staden U, Dobberstein K, Beschorner J, de Oliveira LC, et al. Oral peanut immunotherapy in children with peanut anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol* 2010;126(1):83-91 e81.
144. Trendelenburg V, Beyer K, Blumchen K. Efficacy and Safety Balance of Oral and Sublingual Immunotherapy in Food Allergy. *Current Treatment Options in Allergy* 2014;1(2):117-132.
145. Meglio P, Giampietro PG, Carello R, Gabriele I, Avitabile S, Galli E. Oral food desensitization in children with IgE-mediated hen's egg allergy: a new protocol with raw hen's egg. *Pediatr Allergy Immunol* 2013;24(1):75-83.
146. Dello Iacono I, Tripodi S, Calvani M, Panetta V, Verga MC, Miceli Sopo S. Specific oral tolerance induction with raw hen's egg in children with very severe egg allergy: a randomized controlled trial. *Pediatr Allergy Immunol* 2013;24(1):66-74.

147. Vazquez-Ortiz M, Alvaro M, Piquer M, Dominguez O, Machinena A, Martín-Mateos MA, et al. Baseline specific IgE levels are useful to predict safety of oral immunotherapy in egg-allergic children. *Clinical & Experimental Allergy* 2014;44(1):130-141.
148. Fuentes-Aparicio V, Alonso-Lebrero E, Zapatero L, Infante S, Lorente R, Angeles Munoz-Fernandez M, et al. Oral immunotherapy in hen's egg-allergic children increases a hypo-proliferative subset of CD4+ T cells that could constitute a marker of tolerance achievement. *Pediatr Allergy Immunol* 2012;23(7):648-653.
149. Escudero C, Rodríguez Del Río P, Sánchez-García S, Pérez-Rangel I, Pérez N, García-Fernández C, et al. Early Sustained Unresponsiveness After Short-course Egg Oral Immunotherapy: a Randomized Controlled Study in Egg Allergic Children. *Clin Exp Allergy* 2015.
150. Burks AW, Jones SM, Wood RA, Fleischer DM, Sicherer SH, Lindblad RW, et al. Oral Immunotherapy for Treatment of Egg Allergy in Children. *New England Journal of Medicine* 2012;367(3):233-243.
151. Caminiti L, Pajno GB, Crisafulli G, Chiera F, Collura M, Panasci G, et al. Oral Immunotherapy for Egg Allergy: A Double-Blind Placebo-Controlled Study, with Postdesensitization Follow-Up. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2015;3(4):532-539.
152. Longo G, Barbi E, Berti I, Meneghetti R, Pittalis A, Ronfani L, et al. Specific oral tolerance induction in children with very severe cow's milk-induced reactions. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2008;121(2):343-347.
153. Pajno GB, Caminiti L, Ruggeri P, De Luca R, Vita D, La Rosa M, et al. Oral immunotherapy for cow's milk allergy with a weekly up-dosing regimen: a randomized single-blind controlled study. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology* 2010;105(5):376-381.
154. Martorell A, De la Hoz B, Ibáñez MD, Bone J, Terrados MS, Michavila A, et al. Oral desensitization as a useful treatment in 2-year-old children with cow's milk allergy. *Clinical & Experimental Allergy* 2011;41(9):1297-1304.
155. Salmivesi S, Korppi M, Mäkelä MJ, Paassilta M. Milk oral immunotherapy is effective in school-aged children. *Acta Paediatrica* 2013;102(2):172-176.
156. Skripak JM, Nash SD, Rowley H, Brereton NH, Oh S, Hamilton RG, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled study of milk oral immunotherapy for cow's milk allergy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2008;122(6):1154-1160.
157. Staden U, Rolinck-Werninghaus C, Brewé F, Wahn U, Niggemann B, Beyer K. Specific oral tolerance induction in food allergy in children: efficacy and clinical patterns of reaction. *Allergy* 2007;62(11):1261-1269.
158. Romantsik O, Bruschetti M, Tosca MA, Zappettini S, Della Casa Alberighi O, Calevo MG. Oral and sublingual immunotherapy for egg allergy. *Cochrane Database Syst Rev* 2014;11:CD010638.
159. Yeung JP, Kloda LA, McDevitt J, Ben-Shoshan M, Alizadehfar R. Oral immunotherapy for milk allergy. *Cochrane Database Syst Rev* 2012;11:CD009542.
160. Brožek JL, Terracciano L, Hsu J, Kreis J, Compalati E, Santesso N, et al. Oral immunotherapy for IgE-mediated cow's milk allergy: a systematic review and meta-analysis. *Clinical & Experimental Allergy* 2012;42(3):363-374.
161. Jones SM, Pons L, Roberts JL, Scurlock AM, Perry TT, Kulis M, et al. Clinical efficacy and immune regulation with peanut oral immunotherapy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2009;124(2):292-300.e297.
162. Hofmann AM, Scurlock AM, Jones SM, Palmer KP, Lokhnygina Y, Steele PH, et al. Safety of a peanut oral immunotherapy protocol in children with peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2009;124(2):286-291, 291 e281-286.
163. Anagnostou K, Clark A, King Y, Islam S, Deighton J, Ewan P. Efficacy and safety of high-dose peanut oral immunotherapy with factors predicting outcome. *Clinical & Experimental Allergy* 2011;41(9):1273-1281.
164. Anagnostou K, Islam S, King Y, Foley L, Paisea L, Bond S, et al. Assessing the efficacy of oral immunotherapy for the desensitisation of peanut allergy in children (STOP II): a phase 2 randomised controlled trial. *Lancet* 2014;383(9925):1297-1304.

165. Varshney P, Jones SM, Scurlock AM, Perry TT, Kemper A, Steele P, et al. A randomized controlled study of peanut oral immunotherapy: Clinical desensitization and modulation of the allergic response. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2011;127(3):654-660.
166. Akdis CA, Akdis M. Mechanisms of allergen-specific immunotherapy and immune tolerance to allergens. *World Allergy Organ J* 2015;8(1):17.
167. Shamji MH, Durham SR. Mechanisms of immunotherapy to aeroallergens. *Clin Exp Allergy* 2011;41(9):1235-1246.
168. Akdis CA, Akdis M. Mechanisms of allergen-specific immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 2011;127(1):18-27; quiz 28-19.
169. Aslam A, Chan H, Warrell DA, Misbah S, Ogg GS. Tracking antigen-specific T-cells during clinical tolerance induction in humans. *PLoS One* 2010;5(6):e11028.
170. Miller MR, Hankinson J, Brusasco V, Burgos F, Casaburi R, Coates A, et al. Standardisation of spirometry. *Eur Respir J* 2005;26(2):319-338.
171. Bateman ED, Hurd SS, Barnes PJ, Bousquet J, Drazen JM, FitzGerald M, et al. Global strategy for asthma management and prevention: GINA executive summary. *Eur Respir J* 2008;31(1):143-178.
172. Severity scoring of atopic dermatitis: the SCORAD index. Consensus Report of the European Task Force on Atopic Dermatitis. *Dermatology* 1993;186(1):23-31.
173. Blumchen K, Beder A, Beschorner J, Ahrens F, Gruebl A, Hamelmann E, et al. Modified oral food challenge used with sensitization biomarkers provides more real-life clinical thresholds for peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2014;134(2):390-398.
174. Rolinck-Werninghaus C, Niggemann B, Grabenhenrich L, Wahn U, Beyer K. Outcome of oral food challenges in children in relation to symptom-eliciting allergen dose and allergen-specific IgE. *Allergy* 2012;67(7):951-957.
175. Sampson HA. Anaphylaxis and emergency treatment. *Pediatrics* 2003;111(6 Pt 3):1601-1608.
176. Burks AW, Williams LW, Connaughton C, Cockrell G, O'Brien TJ, Helm RM. Identification and characterization of a second major peanut allergen, Ara h II, with use of the sera of patients with atopic dermatitis and positive peanut challenge. *J Allergy Clin Immunol* 1992;90(6 Pt 1):962-969.
177. Mattern T, Thanhauser A, Reiling N, Toellner KM, Duchrow M, Kusumoto S, et al. Endotoxin and lipid A stimulate proliferation of human T cells in the presence of autologous monocytes. *J Immunol* 1994;153(7):2996-3004.
178. Gyimesi E, Gonczi F, Szilasi M, Pal G, Barath S, Sipka S. The effects of various doses of bacterial lipopolysaccharide on the expression of CD63 and the release of histamine by basophils of atopic and non-atopic patients. *Inflamm Res* 2013;62(2):213-218.
179. Schroeder JT, MacGlashan DW, Jr., Lichtenstein LM. Human basophils: mediator release and cytokine production. *Adv Immunol* 2001;77:93-122.
180. Knol EF, Mul FP, Jansen H, Calafat J, Roos D. Monitoring human basophil activation via CD63 monoclonal antibody 435. *J Allergy Clin Immunol* 1991;88(3 Pt 1):328-338.
181. Buhning HJ, Seiffert M, Giesert C, Marxer A, Kanz L, Valent P, et al. The basophil activation marker defined by antibody 97A6 is identical to the ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 3. *Blood* 2001;97(10):3303-3305.
182. Shreffler WG. Evaluation of basophil activation in food allergy: present and future applications. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2006;6(3):226-233.
183. Boumiza R, Debard AL, Monneret G. The basophil activation test by flow cytometry: recent developments in clinical studies, standardization and emerging perspectives. *Clin Mol Allergy* 2005;3:9.
184. Eberlein B, Santos AF, Mayorga C, Nopp A, Ferrer M, Rouzair P, et al. Basophil activation testing in diagnosis and monitoring of allergic disease – an overview. *Allergo Journal International* 2016;25(4):106-113.
185. Santos AF, Douiri A, Becares N, Wu SY, Stephens A, Radulovic S, et al. Basophil activation test discriminates between allergy and tolerance in peanut-sensitized children. *J Allergy Clin Immunol* 2014;134(3):645-652.

186. Betters DM. Use of Flow Cytometry in Clinical Practice. *J Adv Pract Oncol* 2015;6(5):435-440.
187. Sack U, Tarnok A, G R. Zelluläre Diagnostik. Grundlagen, Methoden und klinische Anwendungen der Durchflusszytometrie. *Karger* 2007:27-70.
188. BD Biosciences, Technical Bulletin, BD Flow Cytometry; 11/2008; Zugriff Über (07/2015): [http://static.bdbiosciences.com/documents/BD\\_Research\\_FlowCyto\\_TechBulletin.pdf](http://static.bdbiosciences.com/documents/BD_Research_FlowCyto_TechBulletin.pdf)
189. Sanz ML, Gamboa PM, De Weck AL. In vitro test - basophil activation test. *Drug Hypersensitivity* 2007:391-402.
190. Ebo DG, Bridts CH, Hagendorens MM, Aerts NE, De Clerck LS, Stevens WJ. Basophil activation test by flow cytometry: present and future applications in allergology. *Cytometry B Clin Cytom* 2008;74(4):201-210.
191. Ebo DG, Hagendorens MM, Bridts CH, Schuerwegh AJ, De Clerck LS, Stevens WJ. In vitro allergy diagnosis: should we follow the flow? *Clin Exp Allergy* 2004;34(3):332-339.
192. Kleine-Tebbe J, Erdmann S, Knol EF, MacGlashan DW, Jr., Poulsen LK, Gibbs BF. Diagnostic tests based on human basophils: potentials, pitfalls and perspectives. *Int Arch Allergy Immunol* 2006;141(1):79-90.
193. Santos AF, Lack G. Basophil activation test: food challenge in a test tube or specialist research tool? *Clin Transl Allergy* 2016;6:10.
194. Ocmant A, Mulier S, Hanssens L, Goldman M, Casimir G, Mascart F, et al. Basophil activation tests for the diagnosis of food allergy in children. *Clin Exp Allergy* 2009;39(8):1234-1245.
195. Nopp A, Johansson SG, Ankerst J, Bylin G, Cardell LO, Gronneberg R, et al. Basophil allergen threshold sensitivity: a useful approach to anti-IgE treatment efficacy evaluation. *Allergy* 2006;61(3):298-302.
196. Cochrane SA, Salt LJ, Wantling E, Rogers A, Coutts J, Ballmer-Weber BK, et al. Development of a standardized low-dose double-blind placebo-controlled challenge vehicle for the EuroPrevall project. *Allergy* 2012;67(1):107-113.
197. Stephan O, Vieths S. Development of a real-time PCR and a sandwich ELISA for detection of potentially allergenic trace amounts of peanut (*Arachis hypogaea*) in processed foods. *J Agric Food Chem* 2004;52(12):3754-3760.
198. Verordnung über die Anwendung der Guten Klinischen Praxis bei der Durchführung von klinischen Prüfungen mit Arzneimitteln zur Anwendung am Menschen (GCP-Verordnung - GCP-V). Zugriff über (01.02.2017): <https://www.gesetze-im-internet.de/gcp-v/index.html>
199. de Blok BM, Vlieg-Boerstra BJ, Oude Elberink JN, Duiverman EJ, DunnGalvin A, Hourihane JO, et al. A framework for measuring the social impact of food allergy across Europe: a EuroPrevall state of the art paper. *Allergy* 2007;62(7):733-737.
200. Flokstra-de Blok BM, DunnGalvin A, Vlieg-Boerstra BJ, Oude Elberink JN, Duiverman EJ, Hourihane JO, et al. Development and validation of the self-administered Food Allergy Quality of Life Questionnaire for adolescents. *J Allergy Clin Immunol* 2008;122(1):139-144, 144 e131-132.
201. Flokstra-de Blok BM, DunnGalvin A, Vlieg-Boerstra BJ, Oude Elberink JN, Duiverman EJ, Hourihane JO, et al. Development and validation of a self-administered Food Allergy Quality of Life Questionnaire for children. *Clin Exp Allergy* 2009;39(1):127-137.
202. DunnGalvin A, de BlokFlokstra BM, Burks AW, Dubois AE, Hourihane JO. Food allergy QoL questionnaire for children aged 0-12 years: content, construct, and cross-cultural validity. *Clin Exp Allergy* 2008;38(6):977-986.
203. Jaeschke R, Singer J, Guyatt GH. Measurement of health status. Ascertaining the minimal clinically important difference. *Control Clin Trials* 1989;10(4):407-415.
204. Oude Elberink JN, van der Heide S, Guyatt GH, Dubois AE. Analysis of the burden of treatment in patients receiving an EpiPen for yellow jacket anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol* 2006;118(3):699-704.
205. Moher D, Hopewell S, Schulz KF, Montori V, Gøtzsche PC, Devereaux PJ, et al. CONSORT 2010 explanation and elaboration: updated guidelines for reporting parallel group randomised trials. *BMJ* 2010;340:c869.

206. Vander Leek TK, Liu AH, Stefanski K, Blacker B, Bock SA. The natural history of peanut allergy in young children and its association with serum peanut-specific IgE. *J Pediatr* 2000;137(6):749-755.
207. Wainstein BK, Studdert J, Ziegler M, Ziegler JB. Prediction of anaphylaxis during peanut food challenge: usefulness of the peanut skin prick test (SPT) and specific IgE level. *Pediatr Allergy Immunol* 2010;21(4 Pt 1):603-611.
208. Carraro S, Frigo AC, Perin M, Stefani S, Cardarelli C, Bozzetto S, et al. Impact of oral immunotherapy on quality of life in children with cow milk allergy: a pilot study. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2012;25(3):793-798.
209. Vazquez-Ortiz M, Alvaro M, Piquer M, Dominguez O, Giner MT, Lozano J, et al. Impact of oral immunotherapy on quality of life in egg-allergic children. *Pediatr Allergy Immunol* 2015;26(3):291-294.
210. Kabisch M, Ruckes C, Seibert-Grafe M, Blettner M. Randomized controlled trials: part 17 of a series on evaluation of scientific publications. *Dtsch Arztebl Int* 2011;108(39):663-668.
211. Nowak-Wegrzyn A, Fiocchi A. Rare, medium, or well done? The effect of heating and food matrix on food protein allergenicity. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2009;9(3):234-237.
212. Grimshaw KE, King RM, Nordlee JA, Hefle SL, Warner JO, Hourihane JO. Presentation of allergen in different food preparations affects the nature of the allergic reaction--a case series. *Clin Exp Allergy* 2003;33(11):1581-1585.
213. Jones SM, Burks AW, Dupont C. State of the art on food allergen immunotherapy: oral, sublingual, and epicutaneous. *J Allergy Clin Immunol* 2014;133(2):318-323.
214. Cabrera CM, Urra JM. Food allergy and the oral immunotherapy approach. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 2015;63(1):31-39.
215. Deschildre A, Elegbede CF, Just J, Bruyere O, Van der Brempt X, Papadopoulos A, et al. Peanut-allergic patients in the MIRABEL survey: characteristics, allergists' dietary advice and lessons from real life. *Clin Exp Allergy* 2016;46(4):610-620.
216. Pele M, Brohee M, Anklam E, Van Hengel AJ. Peanut and hazelnut traces in cookies and chocolates: relationship between analytical results and declaration of food allergens on product labels. *Food Addit Contam* 2007;24(12):1334-1344.
217. Fleischer DM, Conover-Walker MK, Christie L, Burks AW, Wood RA. The natural progression of peanut allergy: Resolution and the possibility of recurrence. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2003;112(1):183-189.
218. Ho MH, Wong WH, Heine RG, Hosking CS, Hill DJ, Allen KJ. Early clinical predictors of remission of peanut allergy in children. *J Allergy Clin Immunol* 2008;121(3):731-736.
219. Narisety SD, Frischmeyer-Guerrero PA, Keet CA, Gorelik M, Schroeder J, Hamilton RG, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study of sublingual versus oral immunotherapy for the treatment of peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2015;135(5):1275-1282.e1271-1276.
220. Yu GP, Weldon B, Neale-May S, Nadeau KC. The safety of peanut oral immunotherapy in peanut-allergic subjects in a single-center trial. *Int Arch Allergy Immunol* 2012;159(2):179-182.
221. Ridolo E, De Angelis GL, Dall'aglio P. Eosinophilic esophagitis after specific oral tolerance induction for egg protein. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2011;106(1):73-74.
222. Semancik E, Sayej WN. Oral immunotherapy for peanut allergy induces eosinophilic esophagitis: three pediatric case reports. *Pediatr Allergy Immunol* 2016;27(5):239-541.
223. Sánchez-García S, Rodríguez Del Río P, Escudero C, Martínez-Gómez MJ, Ibáñez MD. Possible eosinophilic esophagitis induced by milk oral immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 2012;129(4):1155-1157.
224. Wasserman RL, Sugerman RW, Mireku-Akomeah N, Gallucci AR, Pence DM, Long NA. Peanut Oral Immunotherapy (OIT) of Food Allergy (FA) Carries a Significant Risk of Eosinophilic Esophagitis (EoE). *Journal of Allergy and Clinical Immunology*;127(2):AB28.
225. Chehade M, Aceves SS. Food allergy and eosinophilic esophagitis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2010;10(3):231-237.

226. Lucendo AJ, Arias A, Tenias JM. Relation between eosinophilic esophagitis and oral immunotherapy for food allergy: a systematic review with meta-analysis. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2014;113(6):624-629.
227. Virkud YV, Burks AW, Steele PH, Edwards LJ, Berglund JP, Jones SM, et al. Novel baseline predictors of adverse events during oral immunotherapy in children with peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2016. doi: 10.1016/j.jaci.2016.07.030. [Epub ahead of print].
228. Sampson HA, Munoz-Furlong A, Campbell RL, Adkinson NF, Jr., Bock SA, Branum A, et al. Second symposium on the definition and management of anaphylaxis: summary report--second National Institute of Allergy and Infectious Disease/Food Allergy and Anaphylaxis Network symposium. *Ann Emerg Med* 2006;47(4):373-380.
229. Vázquez-Ortiz M, Alvaro-Lozano M, Alsina L, Garcia-Paba MB, Piquer-Gibert M, Giner-Muñoz MT, et al. Safety and predictors of adverse events during oral immunotherapy for milk allergy: severity of reaction at oral challenge, specific IgE and prick test. *Clin Exp Allergy* 2013;43(1):92-102.
230. Varshney P, Steele PH, Vickery BP, Bird JA, Thyagarajan A, Scurlock AM, et al. Adverse reactions during peanut oral immunotherapy home dosing. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2009;124(6):1351-1352.
231. Kim EH, Bird JA, Kulis M, Laubach S, Pons L, Shreffler W, et al. Sublingual immunotherapy for peanut allergy: Clinical and immunologic evidence of desensitization. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2011;127(3):640-646.e641.
232. Hauser W, Hansen E, Enck P. Nocebo phenomena in medicine: their relevance in everyday clinical practice. *Dtsch Arztebl Int* 2012;109(26):459-465.
233. Teufel M, Biedermann T, Rapps N, Hausteiner C, Henningsen P, Enck P, et al. Psychological burden of food allergy. *World Journal of Gastroenterology : WJG* 2007;13(25):3456-3465.
234. Liccardi G, Senna G, Russo M, Bonadonna P, Crivellaro M, Dama A, et al. Evaluation of the nocebo effect during oral challenge in patients with adverse drug reactions. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2004;14(2):104-107.
235. Vickery BP, Scurlock AM, Kulis M, Steele PH, Kamilaris J, Berglund JP, et al. Sustained unresponsiveness to peanut in subjects who have completed peanut oral immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 2014;133(2):468-475.
236. Lawrence MG, Woodfolk JA, Schuyler AJ, Stillman LC, Chapman MD, Platts-Mills TA. Half-life of IgE in serum and skin: Consequences for anti-IgE therapy in patients with allergic disease. *J Allergy Clin Immunol* 2017;139(2):422-428.e4.
237. Vickery BP, Lin J, Kulis M, Fu Z, Steele PH, Jones SM, et al. Peanut oral immunotherapy modifies IgE and IgG4 responses to major peanut allergens. *J Allergy Clin Immunol* 2013;131(1):128-134.e121-123.
238. Stapel SO, Asero R, Ballmer-Weber BK, Knol EF, Strobel S, Vieths S, et al. Testing for IgG4 against foods is not recommended as a diagnostic tool: EAACI Task Force Report. *Allergy* 2008;63(7):793-796.
239. Santos AF, James LK, Bahnson HT, Shamji MH, Couto-Francisco NC, Islam S, et al. IgG4 inhibits peanut-induced basophil and mast cell activation in peanut-tolerant children sensitized to peanut major allergens. *J Allergy Clin Immunol* 2015;135(5):1249-1256.
240. Rachid R, Umetsu DT. Immunological mechanisms for desensitization and tolerance in food allergy. *Semin Immunopathol* 2012;34(5):689-702.
241. Nouri-Aria KT, Wachholz PA, Francis JN, Jacobson MR, Walker SM, Wilcock LK, et al. Grass pollen immunotherapy induces mucosal and peripheral IL-10 responses and blocking IgG activity. *J Immunol* 2004;172(5):3252-3259.
242. Hoh RA, Joshi SA, Liu Y, Wang C, Roskin KM, Lee J-Y, et al. Single B-cell deconvolution of peanut-specific antibody responses in allergic patients. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2016;137(1):157-167.
243. Thyagarajan A, Jones SM, Calatroni A, Pons L, Kulis M, Woo CS, et al. Evidence of pathway-specific basophil anergy induced by peanut oral immunotherapy in peanut-allergic children. *Clin Exp Allergy* 2012;42(8):1197-1205.

244. Gorelik M, Narisety SD, Guerrerio AL, Chichester KL, Keet CA, Bieneman AP, et al. Suppression of the immunologic response to peanut during immunotherapy is often transient. *J Allergy Clin Immunol* 2015;135(5):1283-1292.
245. Uyttebroek AP, Sabato V, Faber MA, Cop N, Bridts CH, Lapeere H, et al. Basophil activation tests: time for a reconsideration. *Expert Rev Clin Immunol* 2014;10(10):1325-1335.
246. Hoffmann HJ, Santos AF, Mayorga C, Nopp A, Eberlein B, Ferrer M, et al. The clinical utility of basophil activation testing in diagnosis and monitoring of allergic disease. *Allergy* 2015;70(11):1393-1405.
247. Chinthrajah RS, Hernandez JD, Boyd SD, Galli SJ, Nadeau KC. Molecular and cellular mechanisms of food allergy and food tolerance. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2016;137(4):984-997.
248. Schroeder JT, Bieneman AP, Chichester KL, Keet CA, Hamilton RG, MacGlashan DW, Jr., et al. Spontaneous basophil responses in food-allergic children are transferable by plasma and are IgE-dependent. *J Allergy Clin Immunol* 2013;132(6):1428-1431.
249. Syed A, Garcia MA, Lyu SC, Bucayu R, Kohli A, Ishida S, et al. Peanut oral immunotherapy results in increased antigen-induced regulatory T-cell function and hypomethylation of forkhead box protein 3 (FOXP3). *J Allergy Clin Immunol* 2014;133(2):500-510.
250. Claret E, Renversez JC, Zheng X, Bonnefoix T, Sotto JJ. Valid estimation of IL2 secretion by PHA-stimulated T-cell clones absolutely requires the use of anti-CD25 monoclonal antibody to prevent IL2 consumption. *Immunol Lett* 1992;33(2):179-185.
251. Bellinghausen I, Metz G, Enk AH, Christmann S, Knop J, Saloga J. Insect venom immunotherapy induces interleukin-10 production and a Th2-to-Th1 shift, and changes surface marker expression in venom-allergic subjects. *Eur J Immunol* 1997;27(5):1131-1139.
252. Hoyne GF, Tan K, Corsin-Jimenez M, Wahl K, Stewart M, Howie SE, et al. Immunological tolerance to inhaled antigen. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162(4 Pt 2):S169-174.
253. Weiner HL. Oral tolerance, an active immunologic process mediated by multiple mechanisms. *J Clin Invest* 2000;106(8):935-937.
254. Phetsouphanh C, Zaunders JJ, Kelleher AD. Detecting Antigen-Specific T Cell Responses: From Bulk Populations to Single Cells. *Int J Mol Sci* 2015;16(8):18878-18893.
255. Cummings AJ, Knibb RC, King RM, Lucas JS. The psychosocial impact of food allergy and food hypersensitivity in children, adolescents and their families: a review. *Allergy* 2010;65(8):933-945.
256. Waters E, Doyle J, Wolfe R, Wright M, Wake M, Salmon L. Influence of parental gender and self-reported health and illness on parent-reported child health. *Pediatrics* 2000;106(6):1422-1428.
257. van der Velde JL, Flokstra-de Blok BM, Dunngalvin A, Hourihane JO, Duiverman EJ, Dubois AE. Parents report better health-related quality of life for their food-allergic children than children themselves. *Clin Exp Allergy* 2011;41(10):1431-1439.
258. Baptist AP, Dever SI, Greenhawt MJ, Polmear-Swendris N, McMorris MS, Clark NM. A self-regulation intervention can improve quality of life for families with food allergy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2012;130(1):263-265.e266.
259. Factor JM, Mendelson L, Lee J, Nouman G, Lester MR. Effect of oral immunotherapy to peanut on food-specific quality of life. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2012;109(5):348-352 e342.
260. Otani IM, Begin P, Kearney C, Dominguez TL, Mehrotra A, Bacal LR, et al. Multiple-allergen oral immunotherapy improves quality of life in caregivers of food-allergic pediatric subjects. *Allergy Asthma Clin Immunol* 2014;10(1):25.
261. Dunn Galvin A, Hourihane JO. Health-related quality of life in food allergy : Impact, correlates, and predictors. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz* 2016;59(7):841-848.
262. Peanut Allergy Oral Immunotherapy Study of AR101 for Desensitization in Children and Adults (PALISADE). Zugriff über (01.02.2017): <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/record/NCT02635776?term=peanut+oral+immunotherapy&rank=20>.

263. PALISADE Follow-on Study (ARC004). Zugriff über (01.02.2007): <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/record/NCT02993107?term=peanut+oral+immunotherapy&rank=23>.
264. Nurmatov U, Dhimi S, Arasi S, Pajno GB, Fernandez-Rivas M, Muraro A, et al. Allergen immunotherapy for IgE-mediated food allergy: a systematic review and meta-analysis. *Allergy* 2017. doi: 10.1111/all.13124. [Epub ahead of print].
265. Jutel M, Agache I, Bonini S, Burks AW, Calderon M, Canonica W, et al. International consensus on allergy immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 2015;136(3):556-568.
266. Dhimi S, Nurmatov U, Pajno GB, Fernandez-Rivas M, Muraro A, Roberts G, et al. Allergen immunotherapy for IgE-mediated food allergy: protocol for a systematic review. *Clin Transl Allergy* 2016;6:24.
267. Wasserman RL, Factor JM, Baker JW, Mansfield LE, Katz Y, Hague AR, et al. Oral immunotherapy for peanut allergy: multipractice experience with epinephrine-treated reactions. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2014;2(1):91-96.
268. Burks AW, Wood RA, Jones SM, Sicherer SH, Fleischer DM, Scurlock AM, et al. Sublingual immunotherapy for peanut allergy: Long-term follow-up of a randomized multicenter trial. *J Allergy Clin Immunol* 2015;135(5):1240-1248.
269. Vickery BP, Berglund JP, Burk CM, Fine JP, Kim EH, Kim JI, et al. Early oral immunotherapy in peanut-allergic preschool children is safe and highly effective. *J Allergy Clin Immunol* 2017;139(1):173-181.e8.
270. Schneider LC, Rachid R, LeBovidge J, Blood E, Mittal M, Umetsu DT. A pilot study of omalizumab to facilitate rapid oral desensitization in high-risk peanut-allergic patients. *J Allergy Clin Immunol* 2013;132(6):1368-1374.
271. Begin P, Dominguez T, Wilson SP, Bacal L, Mehrotra A, Kausch B, et al. Phase 1 results of safety and tolerability in a rush oral immunotherapy protocol to multiple foods using Omalizumab. *Allergy Asthma Clin Immunol* 2014;10(1):7.
272. Nadeau KC, Schneider LC, Hoyte L, Borrás I, Umetsu DT. Rapid oral desensitization in combination with omalizumab therapy in patients with cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2011;127(6):1622-1624.
273. MacGinnitie AJ, Rachid R, Gragg H, Little SV, Lakin P, Cianferoni A, et al. Omalizumab facilitates rapid oral desensitization for peanut allergy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2016 doi: 10.1016/j.jaci.2016.08.010. [Epub ahead of print]
274. Wood RA, Kim JS, Lindblad R, Nadeau K, Henning AK, Dawson P, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled study of omalizumab combined with oral immunotherapy for the treatment of cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2016;137(4):1103-1110.
275. Tang MLK, Ponsonby A-L, Orsini F, Tey D, Robinson M, Su EL, et al. Administration of a probiotic with peanut oral immunotherapy: A randomized trial. *J Allergy Clin Immunol* 2015;135(3):737-744.e738.
276. Begin P, Winterroth LC, Dominguez T, Wilson SP, Bacal L, Mehrotra A, et al. Safety and feasibility of oral immunotherapy to multiple allergens for food allergy. *Allergy Asthma Clin Immunol* 2014;10(1):1.
277. Fleischer DM, Burks AW, Vickery BP, Scurlock AM, Wood RA, Jones SM, et al. Sublingual immunotherapy for peanut allergy: A randomized, double-blind, placebo-controlled multicenter trial. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2013;131(1):119-127.e117.
278. Dupont C, Kalach N, Soulaïnes P, Legoué-Morillon S, Piloquet H, Benhamou P-H. Cow's milk epicutaneous immunotherapy in children: a pilot trial of safety, acceptability, and impact on allergic reactivity. *J Allergy Clin Immunol* 2010;125(5):1165-1167.
279. Agbotounou W, Martin L, Dupont B, Pascal I, Vauléon C, Benhamou PH. Epicutaneous Immunotherapy (EPIT) Is Safe for the Treatment of Peanut Allergy in Allergic Patients. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2013;131(2):AB91.
280. Sampson HA, Agbotounou W, Thébault C, Charles R, Martin L, Yang WH, et al. Epicutaneous Immunotherapy (EPIT) Is Effective and Safe to Treat Peanut Allergy: A Multi-National Double-Blind Placebo-Controlled Randomized Phase IIb Trial. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2015;135(2):AB390.

281. Jones SM, Agbotounou WK, Fleischer DM, Burks AW, Pesek RD, Harris MW, et al. Safety of epicutaneous immunotherapy for the treatment of peanut allergy: A phase 1 study using the Viaskin patch. *J Allergy Clin Immunol* 2016;137(4):1258-1261.e1251-1210.
282. Efficacy and Safety of Viaskin Peanut in Children With Immunoglobulin E (IgE)-Mediated Peanut Allergy (PEPITES). Zugriff über (01.02.2017): <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02636699?term=PEPITES&rank=2>.
283. Li XM, Srivastava K, Grishin A, Huang CK, Schofield B, Burks W, et al. Persistent protective effect of heat-killed *Escherichia coli* producing "engineered," recombinant peanut proteins in a murine model of peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2003;112(1):159-167.
284. Wood RA, Sicherer SH, Burks AW, Grishin A, Henning AK, Lindblad R, et al. A phase 1 study of heat/phenol-killed, *E. coli*-encapsulated, recombinant modified peanut proteins Ara h 1, Ara h 2, and Ara h 3 (EMP-123) for the treatment of peanut allergy. *Allergy* 2013;68(6):803-808.
285. Zuidmeer-Jongejan L, Huber H, Swoboda I, Rigby N, Versteeg SA, Jensen BM, et al. Development of a hypoallergenic recombinant parvalbumin for first-in-man subcutaneous immunotherapy of fish allergy. *Int Arch Allergy Immunol* 2015;166(1):41-51.
286. Nowak-Wegrzyn A. New perspectives for use of native and engineered recombinant food proteins in treatment of food allergy. *Immunol Allergy Clin North Am* 2007;27(1):105-127.

## Anhang

### A.1 Anhang Methodenteil

#### A.1.1 Information über Gabe der OIT-Studiennahrung



CharitéCentrum für Frauen-, Kinder- und Jugendmedizin mit Perinatalzentrum und Humangenetik

Dr.K.Blümchen | Charité | CBF | Hindenburgdamm 30 | 12200 Berlin

Fragen zum Pudding:  
#####@charite.de  
###-### ## ##

**Klinik für Pädiatrie mit Schwerpunkt  
Pneumologie und Immunologie**  
Direktor: Prof. Dr. U. Wahn  
Dr. K. Blümchen  
Kinderambulanz  
[www.charite.de/pp](http://www.charite.de/pp)

### Information zur Gabe der oralen Erdnuss- Immuntherapie

Liebe Eltern,

**Vorgehensweise nach der positiv gewerteten Erdnuss-Provokation:**

- Ihr Kind erhält unter unserer Überwachung die ersten zwei Gaben (Tag 1 und Tag 2) der oralen Immuntherapie in Form eines Schokodesserts.
- Des Weiteren erhalten sie von unserem Studienpersonal einige große Plastikdosen mit einer Schokomasse (Basispudding). Diese sind bei Zimmertemperatur 6 Monate haltbar. (Das genaue Haltbarkeitsdatum steht auf den Dosen). Es gibt zwei Arten des Basispuddings: einer mit einer niedrigen Erdnussmenge (siehe Tabelle im Anhang, 1mg Erdnussprotein/ml) und ein Basispudding mit einer höheren Erdnussmenge (5mg Erdnussprotein/ml). Bei der Herstellung des Basispuddings wird auf Homogenität geprüft, um sicher zu stellen, dass der Basispudding immer 5 mg bzw. 1 mg Erdnussprotein/ml enthält. Zusätzlich wird der Basispudding regelmäßig auf mikrobielle Kontamination überprüft. Mit den von uns ausgehändigten Dosen mit dem Basispudding können Sie dann zu Hause selbst das Schokodessert für Ihr Kind zubereiten. Unsere Diätassistentin wird mit Ihnen, bevor sie nach Hause entlassen werden, die Herstellung des Schokodesserts üben. Im Folgenden finden Sie auch noch einmal die genaue Anleitung für die Dessertherstellung.

**Zubereitung des Schokodesserts**

- Messbecher oder anderes Gefäß auf Waage stellen und tarieren.
- **300 ml (=300g)** abgekochtes Wasser oder Stilles Mineralwasser in Messbecher mit Waage abwiegen und dann in die weiße Dose mit dem Basispudding geben. Das Wasser bitte nicht direkt in die Dose mit dem Schokoladenbasispudding abwiegen, da bei der versehentlichen Zugabe von zu viel Wasser, das Schokoladendessert verworfen werden muss.
- Mit einem Handrührgerät vorsichtig alles verrühren. Erst ohne Strom und dann mit Strom auf der kleinsten Stufe vorsichtig den Basispudding mit dem Wasser verrühren.
- Danach das Handrührgerät langsam auf mittlere bis hohe Geschwindigkeit schalten und das Dessert für mindestens 5 min rühren. Darauf achten, dass die Mixstäbe auch am Rand der Dose und am Boden des Gefäßes entlanggeführt werden, so dass die Schokomasse und das Wasser gut verrührt werden. Es muss ein sehr homogenes Dessert entstehen. Es dürfen keine Rückstände des Basispuddings am Boden oder an den Rän-

CHARITÉ - UNIVERSITÄTSMEDIZIN BERLIN  
Gliedkörperschaft der Freien Universität Berlin und der Humboldt-Universität zu Berlin  
Charitéplatz 1 | 10117 Berlin | Telefon +49 30 450-50 | [www.charite.de](http://www.charite.de)

- 2 -

dem bestehen bleiben, da sich sonst die Erdnussdosis des Desserts ändert. Zur Kontrolle, einen langen Löffel oder ein Besteckmesser am unteren Rand der Dose entlang führen, evt. Reste des Basispuddings abschaben und an den Mixstäben abstreifen. Danach das Schokodessert erneut 1-2 min rühren bis alle evtl. Reste gut verrührt sind.

- Stellen Sie das fertige Schokoladendessert für min. 30 min in den Kühlschrank.
- Nach 30 min rühren Sie das fertige Schokoladendessert mit dem Handrührgerät erneut um. Das ist wichtig für den Gefrierprozess, da dadurch verhindert wird, dass sich beim oder nach dem Auftauen Wasser auf der Oberfläche des Schokoladendesserts absetzt.
- Füllen Sie die jeweils erforderliche Menge in kleine Gefrierdosen ab und lagern diese bei mind. – 18°C im Gefrierfach. Pro Gefrierdose wird immer die Menge für 2 Tage abgefüllt. Die Haltbarkeit des Schokoladendesserts wurde für 40 Tage im Gefrierfach getestet. Sie dürfen also max. 20 Gefrierdosen (die Schoko-Dessert-Menge reicht dann entsprechend für 40 Tage) befüllen und einfrieren. 1 Gefrierdose bewahren Sie am besten im Kühlschrank auf und verbrauchen diese innerhalb von 2 Tagen nach der Herstellung. Die restlichen Gefrierdosen stellen Sie in das Gefrierfach und tauen jeweils 1 neue Dose auf, wenn die Dose aus dem Kühlschrank verbraucht ist.
- Am Ende dieser Anleitung finden Sie eine Tabelle mit den genauen Mengen, welche ihr Kind im Laufe der Steigerung benötigt. Des Weiteren befinden sich in dieser Tabelle die dazugehörigen Mengen, welche für jeweils 2 Tage in die Gefrierdosen abgefüllt werden sollen.

#### **Verabreichung des Schokodesserts**

Sie erhalten von uns ein Messlöffel-Set mit unterschiedlichem Volumen (0.5ml, 1ml, 2.5ml, 5ml, 10ml, 15ml, 25ml, 50ml). Das genaue Volumen dieser Messlöffel wurde von uns getestet, so dass wir sicher sind, dass Ihr Kind immer die exakte Dosis des Schokodesserts verabreicht bekommt. Die Messlöffel müssen nach jeder Benutzung per Hand mit Spülmittel gereinigt werden. **Die Messlöffel dürfen auf keinem Fall in der Spülmaschine gespült werden!** Die hohe Temperatur in der Spülmaschine führt zu Verformungen und somit zur Veränderung des jeweiligen Volumens der Messlöffel, sodass diese dann nicht mehr benutzt werden können.

#### **Reinigung der Messlöffel**

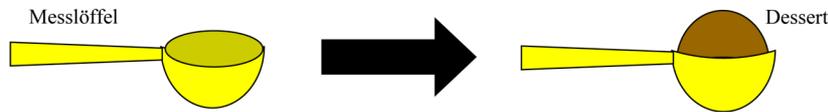
- Spülen sie die Messlöffel vor der ersten Benutzung und nach jeder weiteren Benutzung mit warmem Seifenwasser.
- Trocknen sie die Messlöffel nach dem Spülen mit einem Handtuch oder einem Papiertuch ab.

#### **Anwendung**

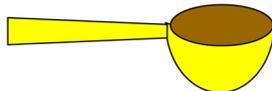
- Nehmen sie morgens eine Dose mit dem fertigen Schokoladendessert aus dem Gefrierfach und lassen dieses bei Zimmertemperatur, ca. 1 Stunde, auftauen. Stellen sie nach dem Auftauen das Dessert, sobald als möglich, in den Kühlschrank. Sie können das Schokodessert auch, z.B. über Nacht, im Kühlschrank auftauen und ca. 10-20 min vor der Verabreichung bei Zimmertemperatur aufbewahren.
- Sollte sich nach dem Auftauen Flüssigkeit auf dem Dessert absetzen, rühren sie das Dessert mit einem Löffel um. Nehmen sie die jeweils erforderlichen Messlöffel und füllen sie diese gehäuft voll, am besten mit einem Besteckmesser. Es ist wichtig, dass keine Luftblasen in den vollgefüllten Messlöffel eingeschlossen werden, da sonst das Volumen des Messlöffels verfälscht wird. Ihr Kind benötigt aber die genaue Millilitermenge, nicht

- 3 -

mehr und auch nicht weniger. Wenn man den Messlöffel ohne Messer befüllt, ist die zu



- Füllen Sie den Messlöffel bis zum Rand und streichen ihn oben glatt mit z.B. der glatten Seite eines Messers, so dass er gestrichen voll ist und eine glatte Oberfläche entsteht.



- Entfernen Sie mit dem Messer grob das Dessert von den Außenseiten des Messlöffels und wischen Sie das restliche Dessert mit einem Papiertuch ab.
- Verfahren Sie so mit jedem zu verabreichenden Messlöffel.
- Achten Sie darauf, dass Ihr Kind den Messlöffel stets vollständig verzehrt und möglichst auch nicht alles um den Mund herum verschmiert wird. Bei den größeren Messlöffeln sollten Sie das Dessert mit einem kleinen Teelöffel aus dem großen Messlöffel herausnehmen und Ihrem Kind geben. Achten Sie darauf, dass der Messlöffel restlos geleert wird!

#### Was müssen Sie bei den täglichen Dessertgaben zu Hause beachten?

- Nach der Dessertgabe sollte Ihr Kind 2 Stunden von Ihnen oder einer Person, die in ein Notfallmanagement eingewiesen wurde, überwacht werden. Ihr Kind sollte dabei auch nicht gerade zum Schlafen hingelegt werden.
- Während der 2 Stunden nach der Gabe sollte Ihr Kind kein Sport/ausgiebiges Toben durchführen. Natürlich sollen Kinder weiter spielen, nur nicht z. B. zum Trampolinspringen ermutigt werden.
- Bis 1 Stunde nach der Gabe sollte Ihr Kind keine größeren Mahlzeiten zu sich nehmen, damit die Aufnahme der Erdnuss/Placebo gleichmäßig verläuft und nicht verzögert wird, wie z. B. durch fettige Speisen. Trinken ist möglich.
- Wenn Ihr Kind eine Erkältung, Fieber, Entzündung oder jegliche andere Erkrankung hat, rufen Sie uns bitte an, um die nächste Schokodessertdosierung zu besprechen, da die Dosierung dann reduziert wird (siehe im Anhang Dosierungstabelle).
- Wenn Ihr Kind auf Grund einer Zweitallergenbelastung (z. B. Pollen oder Hausstaubmilben) Heuschnupfen- oder Asthmasymptome hat, rufen Sie uns bitte an. Höchstwahrscheinlich wird die Erdnuss-/Placebodosis dann von uns herunter gesetzt.
- Wenn Ihr Kind eine Reaktion jeglicher Art auf das Schokodessert hatte, auch wenn Sie denken, dies ist nicht mit dem Dessert zu assoziieren, rufen Sie uns bitte an. Aufgrund unserer Erfahrung können wir besser einschätzen, ob eine wirkliche aller-

- 4 -

gische Nebenwirkung vorliegt und würden dann die Dosis reduzieren. Wenn die Symptomatik, nach unserer Beurteilung, mit anderen Dingen zusammen hängt, kann das Schokodessert mit der bisherigen Dosis weiter verabreicht werden.

- Das Studienzentrum ruft Sie einmal pro Woche an, um alle Probleme, z. B. eventuelle Nebenwirkungen, abzufragen und die weiteren Steigerungstermine zu klären. Trotz dieses wöchentlichen „Check-ups“ sollten Sie Ihr Tagebuch täglich weiter fortführen.
- Bitte leere Dosen aufheben, nicht weg schmeißen, und dem Studienzentrum gesammelt zwischendurch zuschicken.

Mit freundlichen Grüßen,

Ihr SOTI-Studententeam

- 5 -

**Dosissteigerung**

Steigerungsschritte	Konzentration des Desserts (mg Protein/ml)	Erdnussmenge in mg	Tagesdosis des Desserts in ml	Dessertmenge in g für 2 Tage
1	Gelb 1.0	2.0	0.5	15
2	Gelb 1.0	4.0	1.0	15
3	Gelb 1.0	6.0	1.5	15
4	Gelb 1.0	10.0	2.5	20
5	Gelb 1.0	12.0	3.0	20
6	Gelb 1.0	14.0	3.5	20
7	Gelb 1.0	18.0	4.5	25
8	Gelb 1.0	22.0	5.5	30
9	Gelb 1.0	26.0	6.5	30
10	Gelb 1.0	32.0	8.0	40
11	Gelb 1.0	38.0	9.5	40
12	Gelb 1.0	44.0	11.0	40
13	Gelb 1.0	52.0	13.0	40
14	Gelb 1.0	60.0	15.0	40
15	Gelb 1.0	70.0	17.5	50
16	Gelb 1.0	80.0	20.0	60
17	Gelb 1.0	90.0	22.5	65
18	Gelb 1.0	100.0	25.0	70
19	Gelb 1.0	120.0	30.0	75
20	Grün 5.0	140.0	7.0	30
21	Grün 5.0	160.0	8.0	40
22	Grün 5.0	180.0	9.0	40
23	Grün 5.0	200.0	10.0	40
24	Grün 5.0	240.0	12.0	40
25	Grün 5.0	280.0	14.0	40
26	Grün 5.0	340.0	17.0	50
27	Grün 5.0	420.0	21.0	60
28	Grün 5.0	500.0	25.0	70
29	Grün 5.0	600.0	30.0	75
30	Grün 5.0	700.0	35.0	85
31	Grün 5.0	800.0	40.0	95
32	Grün 5.0	900.0	45.0	110
33	Grün 5.0	1,000.0	50.0	120

## A.1.2 Fragebögen zur Lebensqualität

German - Child version

Datum: \_\_\_\_ . \_\_\_\_ . \_\_\_\_

- vor oraler Immuntherapie  
 4-5 Wochen nach Studien-Ende

Orale Immuntherapie Erdnuss – ID

--	--	--

Patient Number

# FAQLQ-CF

## Fragebogen zu Lebensmittelallergie und Lebensqualität – Formular für Kinder (8-12 Jahre)



ALLERGIE - CENTRUM - CHARITÉ

Klinik für Pädiatrie mit Schwerpunkt Pneumologie/Immunologie  
 Direktor: Prof. Dr. Ulrich Wahn

**Der Fragebogen sollte persönlich überreicht oder geschickt werden an:**

Dr.K.Blümchen  
 Pädiatrie m.S. Pneumologie/Immunologie  
 Charité, CBF  
 Kinderambulanz, 7. Stock  
 Hindenburgdamm 30  
 12200 Berlin

Dieser Fragebogen ist für eine andere große europäische Studie (EuroPrevall) entwickelt und getestet worden. Nach Absprache mit den Erfindern des Fragebogens dürfen wir aber diesen für unsere Studie auch benutzen. Somit bitten wir Dich, die folgenden Fragen zu beantworten. Alle Informationen, die Du zur Verfügung stellst, werden mit Deiner Codenummer verschlüsselt. Die Informationen, die Du zur Verfügung stellst, wird nur von Forschern der Charité gesehen werden und wird wissenschaftlich und anonym ausgewertet werden. Die Ergebnisse werden zusammen mit den Informationen veröffentlicht werden, die alle Teilnehmer an dieser Befragung zur Verfügung gestellt haben. Alle Informationen, die Du zur Verfügung stellst, werden streng VERTRAULICH behandelt und absolut anonym sein.

**Anweisungen**

In diesen Fragen geht es um den Einfluss Deiner Lebensmittelallergie auf Deine Lebensqualität. Es ist wichtig, dass Du Deine Antworten selbst einträgst. Du kannst Deine Eltern um Hilfe bitten, aber Sie sollten Dir nicht sagen, welche Antwort Du geben sollst. Beantworte jede Frage, indem Du ein ‚x‘ in den entsprechenden Kasten einträgst. Du kannst aus den folgenden Antworten auswählen.



Wie unangenehm ist es Dir, in Anbetracht Deiner Lebensmittelallergie, wenn Du...



1 immer darauf achten musst was Du isst?	<input type="checkbox"/>						
2 weniger Dinge essen kannst?	<input type="checkbox"/>						
3 nur eingeschränkt Dinge kaufen kannst?	<input type="checkbox"/>						
4 Etiketten lesen musst?	<input type="checkbox"/>						
5 Lebensmittel ablehnen musst, wenn Du etwas mit anderen unternimmst?	<input type="checkbox"/>						
6 weniger einfach bei jemandem zum Essen bleiben kannst?	<input type="checkbox"/>						
7 weniger Speisen probieren kannst, wenn Du außer Haus isst? *	<input type="checkbox"/>						
8 im Voraus mitteilen musst was Du essen darfst, wenn Du außer Haus isst?*	<input type="checkbox"/>						
9 selbst prüfen musst, ob Du etwas essen kannst, wenn Du außer Haus isst?*	<input type="checkbox"/>						
10 unsicher beim Essen bestimmter Lebensmittel bist, wenn Du nicht weißt, ob diese unbedenklich sind?	<input type="checkbox"/>						
11 aufpassen musst, wenn Du bestimmte Lebensmittel berührst?	<input type="checkbox"/>						
12 nichts ab bekommst, wenn jemand in der Schule Süßigkeiten verteilt.	<input type="checkbox"/>						

\* z.B. Restaurant, Imbiss, Bäckerei etc.

 <b>nicht</b>	 <b>kaum</b>	 <b>ein wenig</b>	 <b>mäßig</b>	 <b>recht</b>	 <b>sehr</b>	 <b>extrem</b>
<b>Wie <u>unangenehm</u> ist es, wegen Deiner Lebensmittelallergie, ...</b>						      
13 wenn sich die Zutaten eines Lebensmittels ändern?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
14 wenn auf dem Etikett: "Kann Spuren von ... enthalten" steht?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
15 wenn Du anderen Menschen in Deiner Umgebung erklären musst, dass Du eine Lebensmittelallergie hast?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
16 wenn andere Menschen in Deiner Umgebung vergessen, dass Du eine Lebensmittelallergie hast?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
17 wenn die anderen Lebensmittel essen können, auf die Du allergisch bist, wenn ihr etwas mit unternimmt?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
18 dass Du nicht weißt, wie Dinge, die Du nicht essen kannst, schmecken?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>Wie viel Angst hast Du aufgrund Deiner Lebensmittelallergie ...</b>						      
19 vor einer allergischen Reaktion?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
20 davor, versehentlich etwas Falsches zu essen?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
21 etwas zu essen, dass Du vorher noch nie gegessen hast?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
22 davor, dass Du Deine Lebensmittelallergie nie loswerden wirst?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>Beantworte bitte folgende Fragen:</b>						      
23 Wie enttäuscht bist Du, wenn andere Menschen keine Rücksicht auf Deine Lebensmittelallergie nehmen?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
24 Wie traurig bist Du, dass Du eine Lebensmittelallergie hast?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

German - Parent form

Datum: \_\_\_\_ . \_\_\_\_ . \_\_\_\_

- vor oraler Immuntherapie  
 4-5 Wochen nach Studien-Ende

Orale Immuntherapie Erdnuss – ID

--	--	--

Patient Number

## FAQLQ-PF

### Fragebogen zu Lebensmittelallergie und Lebensqualität – Formular für Eltern (0-12 Jahre)



ALLERGIE - CENTRUM - CHARITÉ

Klinik für Pädiatrie mit Schwerpunkt Pneumologie/Immunologie  
Direktor: Prof. Dr. Ulrich Wahn

**Der Fragebogen sollte persönlich überreicht oder geschickt werden an:**

Dr.K.Blümchen  
Pädiatrie m.S. Pneumologie/Immunologie  
Charité, CBF  
Kinderambulanz, 7. Stock  
Hindenburgdamm 30  
12200 Berlin

Dieser Fragebogen ist für eine andere große europäische Studie (EuroPrevall) entwickelt und getestet worden. Nach Absprache mit den Entwicklern des Fragebogens dürfen wir aber diesen für unsere Studie auch benutzen. Somit bitten wir sie, die folgenden Fragen zu beantworten. Alle Informationen, die Sie zur Verfügung stellen, werden mit der Codenummer Ihres Kindes verschlüsselt. Die Informationen, die Sie zur Verfügung stellen, wird nur von Forschern der Charité gesehen werden und wird wissenschaftlich und anonym ausgewertet werden. Die Ergebnisse werden zusammen mit den Informationen veröffentlicht werden, die alle Teilnehmer an dieser Befragung zur Verfügung gestellt haben. Alle Informationen, die Sie zur Verfügung stellen, werden streng VERTRAULICH behandelt und absolut anonym sein.

### Anleitung für Eltern

- Bitte tragen Sie auf der ersten Seite das Datum ein. Kreuzen Sie bitte auch eines der Kästchen an, je nachdem, ob sich Ihr Kind momentan vor oder nach der oralen Immuntherapie (nach der zweiten Provokation) befindet.
- Wenn möglich, sollte bitte die Mutter des Studienkindes diese Fragen beantworten.
- Die folgenden Beispiele basieren auf Berichten von Eltern, deren Kinder durch Nahrungsmittelallergien in ihrer Lebensqualität beeinflusst waren.
- Bitte geben Sie an, wie stark eine Situation die Lebensqualität **Ihres Kindes** beeinflusst, indem Sie ein Kästchen von 0-6 (siehe nebenstehender Kasten) ankreuzen.

#### Antwortmöglichkeiten

- 0 = überhaupt nicht
- 1 = ein bisschen
- 2 = gering
- 3 = mäßig
- 4 = ziemlich viel
- 5 = sehr viel
- 6 = extrem

Dieser Fragebogen besteht aus 3 Teilen: A, B und C.

- Wenn Ihr Kind bis zu 3 Jahren alt ist, beantworten Sie bitte nur Teil A.
- Wenn Ihr Kind zwischen 4 und 6 Jahren alt ist, beantworten Sie bitte Teil A und B.
- Wenn Ihr Kind 7 Jahre alt oder älter ist, beantworten Sie bitte Teil A, B und C.

Teil A: für alle Altersgruppen

**Wegen seiner Nahrungsmittelallergie fühlt sich mein Kind.....**

	überhaupt nicht	→						extrem
	0	1	2	3	4	5	6	
1 ängstlich gegenüber Lebensmitteln	<input type="checkbox"/>							
2 anders als andere Kinder	<input type="checkbox"/>							
3 frustriert durch die Einschränkung bei der Auswahl an Lebensmitteln	<input type="checkbox"/>							
4 ängstlich, unbekannte Nahrungsmittel zu versuchen	<input type="checkbox"/>							
5 besorgt, dass ich vor einer möglichen allergischen Reaktion Angst habe	<input type="checkbox"/>							

**Wegen seiner Nahrungsmittelallergie.....**

	überhaupt nicht	→						extrem
	0	1	2	3	4	5	6	
6 erlebt mein Kind körperliches Unwohlsein	<input type="checkbox"/>							
7 erlebt mein Kind emotionales Unwohlsein	<input type="checkbox"/>							
8 hat mein Kind Einschränkungen in seiner Auswahl an Lebensmitteln	<input type="checkbox"/>							

**Wegen seiner Nahrungsmittelallergie ist mein Kind negativ beeinflusst, da...**

	überhaupt nicht	→						extrem
	0	1	2	3	4	5	6	
9 es mehr Aufmerksamkeit erhält, als andere Kinder im selben Alter	<input type="checkbox"/>							
10 es schneller erwachsen werden muss, als andere Kinder im selben Alter	<input type="checkbox"/>							
11 sein Alltag stärker eingeschränkt ist, als bei anderen Kindern im selben Alter	<input type="checkbox"/>							

**Wegen seiner Nahrungsmittelallergie ist die soziale Umwelt meines Kindes begrenzt, wegen Einschränkungen bei der Auswahl von.....**

	überhaupt nicht	→						extrem
	0	1	2	3	4	5	6	
12 Restaurants, die wir als Familie sicher besuchen können	<input type="checkbox"/>							
13 Ferenzielen, die wir als Familie sicher besuchen können	<input type="checkbox"/>							

Teil B: für Kinder zwischen 4 und 12 Jahren

	überhaupt nicht	→						extrem
	0	1	2	3	4	5	6	
<b>Wegen seiner Nahrungsmittelallergie ist die Möglichkeit meines Kindes eingeschränkt,.....</b>								
14 an sozialen Aktivitäten im Hause anderer teilzunehmen (Übernachtungen, Partys, Spielen)	<input type="checkbox"/>							

	überhaupt nicht	→						extrem
	0	1	2	3	4	5	6	
<b>Wegen seiner Nahrungsmittelallergie ist die Möglichkeit meines Kindes eingeschränkt,.....</b>								
15 in der Vorschule/Schule an Veranstaltungen teilzunehmen, bei denen es etwas zu Essen gibt (Mittagsessen, Belohnungen, Klassenfeier)	<input type="checkbox"/>							

	überhaupt nicht	→						extrem
	0	1	2	3	4	5	6	
<b>Wegen seiner Nahrungsmittelallergie fühlt sich mein Kind.....</b>								
16 besorgt, wenn es fremde Orte besucht	<input type="checkbox"/>							
17 besorgt, dass er /sie immer auf das Essen achten muss	<input type="checkbox"/>							
18 als Außenseiter bei Aktivitäten, bei denen es etwas zu essen gibt	<input type="checkbox"/>							
19 traurig, dass familiäre Unternehmungen immer vorab geplant werde müssen (keine Spontaneität möglich)	<input type="checkbox"/>							
20 besorgt, aus Versehen etwas zu essen, worauf es allergisch ist	<input type="checkbox"/>							
21 ängstlich, wenn es mit unbekanntem Erwachsenen oder Kindern etwas isst	<input type="checkbox"/>							
22 frustriert durch gesellschaftliche Einschränkungen	<input type="checkbox"/>							

	überhaupt nicht	→						extrem
	0	1	2	3	4	5	6	
<b>Wegen seiner Nahrungsmittelallergie.....</b>								
23 ist mein Kind allgemein ängstlicher, als andere Kinder im selben Alter	<input type="checkbox"/>							
24 ist mein Kind generell vorsichtiger, als andere Kinder im selben Alter	<input type="checkbox"/>							
25 ist mein Kind nicht so selbstsicher im sozialen Umfeld wie andere Kinder im selben Alter	<input type="checkbox"/>							
26 wünscht sich mein Kind, die Allergie würde verschwinden	<input type="checkbox"/>							

Teil C: für Kinder zwischen 7 und 12 Jahren

Wegen der Nahrungsmittelallergie.....	überhaupt nicht <span style="float: right;">extrem</span>						
	0	1	2	3	4	5	6
27 macht sich mein Kind Sorgen bzgl. der Zukunft	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
28 glaubt mein Kind, dass viele Leute nicht verstehen, wie ernst diese Allergie ist	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
29 ist mein Kind besorgt wegen der schlechten Kennzeichnung von Lebensmitteln	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
30 fühlt sich mein Kind generell in seinem Alltag eingeschränkt	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Dies ist das Ende des Fragebogens.

**Vielen Dank für das Ausfüllen des Fragebogens!**

### A.1.3 Fragebögen zur Therapiebelastung

German - Child version

Datum: \_\_\_\_ . \_\_\_\_ . \_\_\_\_

- 4-5 Monate nach Beginn der oraler Immuntherapie
- 4-5 Wochen nach Studien-Ende

Orale Immuntherapie Erdnuss – ID

--	--	--

Patient Number

## BoT-CF

### Fragebogen zur Therapiebelastung bei oraler Immuntherapie – Formular für Kinder (8-12 Jahre)



ALLERGIE - CENTRUM - CHARITÉ

Klinik für Pädiatrie mit Schwerpunkt Pneumologie/Immunologie  
Direktor: Prof. Dr. Ulrich Wahn

Der Fragebogen sollte persönlich überreicht oder geschickt werden an:

Dr.K.Blümchen  
Pädiatrie m.S. Pneumologie/Immunologie  
Charité, CBF  
Kinderambulanz, 7. Stock  
Hindenburgdamm 30  
12200 Berlin

Dieser Fragebogen enthält Fragen, wie belastend Du die orale Immuntherapie empfindest. Alle Informationen, die Du zur Verfügung stellst, werden mit Deiner eigenen Codenumber verschlüsselt. Die Informationen, die Du zur Verfügung stellst, wird nur von Forschern der Charité gesehen werden und wird wissenschaftlich und anonym ausgewertet werden. Die Ergebnisse werden zusammen mit den Informationen veröffentlicht werden, die alle Teilnehmer an dieser Befragung zur Verfügung gestellt haben. Alle Informationen, die Du zur Verfügung stellst, werden streng VERTRAULICH behandelt und absolut anonym sein.

### Anleitung für Kinder (8-12 Jahre alt)

- Bitte frage Deine Eltern, ob Sie Dir helfen können oder trage selbstständig auf der ersten Seite das Datum ein. Kreuze bitte auch eines der Kästchen an, je nachdem, ob Du Dich momentan 4-5 Monate nach Beginn der oralen Immuntherapie befindest oder ob Du schon die zweite Provokation erhalten hast und Dich somit am Studienende befindest.
- In diesen Fragen geht es darum, wie Du die Therapie mit den Erdnussgaben generell fandest. Es ist wichtig, dass Du Deine Antworten selbst einträgst. Du kannst Deine Eltern um Hilfe bitten, aber Sie sollten Dir nicht sagen, welche Antwort Du geben sollst.  
**Wie empfandest Du die orale Immuntherapie?** Bitte lese alle Aussagen dazu durch. Entscheide Dich für eine, die am besten Deine Antwort sein könnte auf diese Frage. Kreuze dann das dem entsprechende Kästchen an.

Wie fandest Du die Erdnuss-Therapie generell?		
Die Erdnuss-Therapie finde ich sehr gut. Ich habe absolut keine Probleme mit ihr.	<input type="checkbox"/>	
Die Erdnuss-Therapie finde ich gut. Ich habe keine wichtigen Probleme mit ihr, generell finde ich sie gut.	<input type="checkbox"/>	
Die Erdnuss-Therapie finde ich ein bisschen gut. Ich habe ein paar Probleme mit ihr, aber generell bin ich zufrieden mit ihr.	<input type="checkbox"/>	
Die Erdnuss-Therapie finde ich weder gut noch blöd.	<input type="checkbox"/>	
Die Erdnuss-Therapie finde ich ein bisschen blöd. Ich habe ein paar Probleme mit ihr und bin deswegen etwas unzufrieden.	<input type="checkbox"/>	
Die Erdnuss-Therapie finde ich ein blöd. Ich habe Probleme mit ihr und würde sie eher nicht nochmal durchführen.	<input type="checkbox"/>	
Die Erdnuss-Therapie finde ich richtig blöd. Ich würde sie nie wieder durchführen.	<input type="checkbox"/>	

<b>Würdest Du die Erdnuss-Therapie nochmals durchführen?</b>	
<input type="checkbox"/>	Ja
<input type="checkbox"/>	Nein

**Vielen Dank für das Ausfüllen des Fragebogens!**

German - Parent form

Datum: \_\_\_\_ . \_\_\_\_ . \_\_\_\_

- 4-5 Monate nach Beginn der oraler Immuntherapie
- 4-5 Wochen nach Studien-Ende

Orale Immuntherapie Erdnuss – ID

--	--	--

Patient Number

# BoT-PF

## Fragebogen zur Therapiebelastung bei oraler Immuntherapie– Formular für Eltern (0-12 Jahre)



ALLERGIE - CENTRUM - CHARITÉ

Klinik für Pädiatrie mit Schwerpunkt Pneumologie/Immunologie  
Direktor: Prof. Dr. Ulrich Wahn

**Der Fragebogen sollte persönlich überreicht oder geschickt werden an:**

Dr.K.Blümchen  
Pädiatrie m.S. Pneumologie/Immunologie  
Charité, CBF  
Kinderambulanz, 7. Stock  
Hindenburgdamm 30  
12200 Berlin

Dieser Fragebogen enthält Fragen, wie belastend Sie die orale Immuntherapie empfinden. Alle Informationen, die Sie zur Verfügung stellen, werden mit der Codennummer Ihres Kindes verschlüsselt. Die Informationen, die Sie zur Verfügung stellen, wird nur von Forschern der Charité gesehen werden und wird wissenschaftlich und anonym ausgewertet werden. Die Ergebnisse werden zusammen mit den Informationen veröffentlicht werden, die alle Teilnehmer an dieser Befragung zur Verfügung gestellt haben. Alle Informationen, die Sie zur Verfügung stellen, werden streng VERTRAULICH behandelt und absolut anonym sein.

### Anleitung für Eltern

- Bitte tragen Sie auf der ersten Seite das Datum ein. Kreuzen Sie bitte auch eines der Kästchen an, je nachdem, ob sich Ihr Kind momentan 4-5 Monate nach Beginn der oralen Immuntherapie befindet oder ob ihr Kind schon die zweite Provokation erhalten hat und sich somit am Studienende befindet.
- Wenn möglich, sollte bitte die Mutter des Studienkindes diese Fragen beantworten.
- In diesen Fragen geht es darum, wie belastend Sie die orale Immuntherapie für Ihr Kind und für sich selber generell empfanden. Bitte wägen Sie die Vor- und Nachteile der oralen Immuntherapie ab und fassen Sie Ihre eigene Beurteilung anhand der nachfolgenden Punkteskala (1-7) zusammen:

#### Wie empfanden Sie die orale Immuntherapie Ihres Kindes?

Bitte kreuzen Sie ein dementsprechendes Kästchen an.

Wie empfanden Sie die orale Immuntherapie?		
<b>Sehr positiv:</b> Die orale Immuntherapie hat klare Vorteile und keine bedeutenden Nachteile.	<input type="checkbox"/>	<b>1 sehr positiv</b>
<b>Positiv:</b> Die orale Immuntherapie hat mehr Vorteile als Nachteile.	<input type="checkbox"/>	<b>2 positiv</b>
<b>Leicht positiv:</b> Die orale Immuntherapie hat etwas mehr Vorteile als Nachteile.	<input type="checkbox"/>	<b>3 leicht positiv</b>
<b>Neutral:</b> Vorteile und Nachteile der oralen Immuntherapie sind gleich.	<input type="checkbox"/>	<b>4 neutral</b>
<b>Leicht negativ:</b> Die orale Immuntherapie hat etwas mehr Nachteile als Vorteile.	<input type="checkbox"/>	<b>5 leicht negativ</b>
<b>Negativ:</b> Die orale Immuntherapie hat mehr Nachteile als Vorteile.	<input type="checkbox"/>	<b>6 negativ</b>
<b>Sehr negativ:</b> Die orale Immuntherapie hat klare Nachteile und keine bedeutende Vorteile.	<input type="checkbox"/>	<b>7 sehr negativ</b>

#### Würden Sie die orale Immuntherapie nochmals bei Ihrem Kind durchführen?

- Ja
- Nein

**Vielen Dank für das Ausfüllen des Fragebogens!**

#### **A.1.4 Einhaltung der Höchstmengenbeschränkung für Polysorbat 60**

Die Studiennahrung enthielt als Emulgator Polysorbat 60 (Polyoxyethylen(20)-sorbitanmonostearat) (Tween 60™). Es handelt sich dabei um eine Verbindung aus Sorbit, Fettsäuren und Ethylenoxid, die in der Europäischen Union als Zusatzstoff E 435 für bestimmte Produkte in der Lebensmittelindustrie z.B. für Desserts als Emulgator und Stabilisator zugelassen ist [1]. In Desserts wie Schokoladenpudding dürfen entsprechend der EU-Verordnung für Lebensmittelzusatzstoffe (Nr. 1333/2008, Anhang II, Kategorie 16) Polysorbate bis zu einem Gehalt von 3000 mg/kg eingesetzt werden [1]. Außerdem gilt in Deutschland für Polysorbate eine akzeptierbare Tagesdosis (ADI = acceptable daily intake) von 10 mg/kg Körpergewicht [2]. Der Gehalt an Polysorbat 60 im verzehrfertigen Pudding betrug 0,21% (2100 mg/kg). Bezogen auf die maximale tägliche Menge von 50 ml (maximal 50 g) Studiennahrung, entspricht dies einer Menge von 105 mg Polysorbat 60 pro Tag. Das minimale Körpergewicht von Patienten der vorliegenden Studie lag bei 13 kg. Bei diesem Körpergewicht würde bei einer maximalen Verzehrsmenge von 50 ml Studiennahrung somit eine tägliche Aufnahme von Polysorbat 60 bei maximal 8,08 mg/kg und somit unterhalb der nationalen ADI-Empfehlung liegen.

- [1] EU-Verordnung für Lebensmittelzusatzstoffe. Zugriff über (01.08.2016): [https://ec.europa.eu/food/safety/food\\_improvement\\_agents/additives/database\\_en](https://ec.europa.eu/food/safety/food_improvement_agents/additives/database_en)
- [3] Informationen zu Lebensmittelzusatzstoffen. Bundesverband Die Verbraucher Initiative e.V. Zugriff über (01.08.2016): <http://www.zusatzstoffe-online.de/home/691.doku.html>

### **A.1.5 Standardisiertes Vorgehen bei Nebenwirkungen unter oraler Immuntherapie**

#### **Generelles Vorgehen und Dosisreduktion bei Nebenwirkungen unter OIT**

- Bei Auftreten von milden zeitlich assoziierten oder nicht assoziierten Symptomen (Schweregrad I) oder milden Symptomen im Rahmen einer OIT-Dosissteigerung oder subjektiven Symptomen, wurde die gleiche Dosis am nächsten Tag verabreicht.
- Bei Auftreten von objektiven, moderaten bis schweren zeitlich assoziierten Symptomen (Schweregrad II-IV) oder objektiven, moderaten Symptomen im Rahmen einer OIT-Dosissteigerung, wurde die Dosis je nach Entscheidung der Studienärztin entweder entsprechend des „Infekt-Schemas“ (siehe Kapitel 2.6.2) reduziert oder es erfolgte eine Reduktion der OIT-Dosis um einen Schritt.
- Bei Auftreten von objektiven, moderaten bis schweren zeitlich nicht assoziierten Symptomen (Schweregrad II-IV), wurde die Dosis je nach Entscheidung der Studienärztin entweder entsprechend des „Infekt-Schemas“ (siehe Kapitel 2.6.2) reduziert oder es erfolgte eine Reduktion der OIT-Dosis um einen Schritt oder die gleiche Dosis wurde weitere 14 Tage verabreicht bevor die Dosis gesteigert wurde.
- Bei wiederholtem Auftreten von milden zeitlich assoziierten oder nicht assoziierten Symptomen, insbesondere bei gastrointestinalen Symptomen, erfolgte eine Reduktion der OIT-Dosis um einen Schritt und mit dieser Dosis fortgefahren.
- Bei wiederholtem Auftreten von zeitlich assoziierten oder nicht assoziierten Symptomen der unteren Atemwege auf eine bestimmte individuelle OIT-Dosis, erfolgte eine deutlichere Reduktion der OIT-Dosis (um zwei bis 12 Schritte) je nach Entscheidung der Studienärztin. Im Folgenden wurde mit dieser Dosis fortgefahren und entsprechend des Steigerungsschemas alle 14 Tage die OIT-Dosis zu Hause gesteigert, bis die ursprüngliche Dosis erreicht wurde.
- Bei Auftreten von Symptomen, die als eine allergische Reaktionen nach einem akzidentellen Verzehr angesehen wurden, oder nachdem der Patient eine Impfung oder einen elektiven Eingriff erhalten hatte, wurde die OIT-Dosis an diesem Tag ausgelassen und für die nächsten Tage die Dosis entsprechend des „Infekt-Schemas“ reduziert (siehe Kapitel 2.6.2).

## A.2 Anhang Ergebnissteil

Tabelle A.1: Blutparameter der Patienten zu Studienbeginn (V1).

<b>Parameter, Median (Spannweite)</b>	<b>Verum (n= 31)</b>	<b>Placebo (n= 31)</b>
Thrombozyten, (Anzahl/nl)	301 (215-461)	327 (205-535)
Hämoglobin (g/dl)	13 (11,1-14,8)	12,9 (9,9-14,7)
Leukozyten (Anzahl/nl)	6,93 (4,59-14,47)	6,99 (4,56-12,77)
Basophile Granulozyten (Anzahl/nl) <sup>1</sup>	0,03 (0,01-0,09)	0,04 (0-0,12)
Eosinophile Granulozyten (Anzahl/nl)*	0,4 (0,1-1,51)	0,53 (0,13-1,44)

Hochgestellte Zahlen hinter den Variablennamen stehen für die Anzahl an fehlender Daten; \*p=0,030

Tabelle A.2: Übersicht über alle randomisierten Patienten, bei denen ein vorzeitiger Studienabbruch der oralen Immuntherapie (OIT) erfolgte (n=10).

Patient/ Gruppe	Zeitpunkt der Eingangsvisite			Zeitpunkt des Abbruchs		
	Alter (Jahre)	slgE gegen Erdnuss (kU/l)	Reaktionsdosis (mg)/ Schweregrad unter Provokation	Tage unter OIT/ Phase	OIT-Dosis (mg)	Grund
<b>Abbruch vor Erhalten der zugeordnete Intervention</b>						
#48/ Verum	8,8	35,5	40/ IV	0	-	Angst vor der OIT nach schwerer Reaktion unter Provokation (Entscheidung der Eltern)
<b>Abbruch der Intervention wegen Nebenwirkungen</b>						
#40/ Verum	6,3	259	1200/ III	342/ SP	500	Schweres unerwünschtes Ereignis zeitlich assoziiert mit der OIT-Gabe (→ frühzeitiger Ausschluss gemäß SOP)
#65/ Verum	9,6	50	400/ IV	79/ SP	26	Nebenwirkungen zeitlich nicht assoziiert zu OIT-Gabe (Entscheidung der Eltern)
#35/ Placebo	4,1	69,5	120/ III	113/ SP	-	Schweres unerwünschtes Ereignis zeitlich assoziiert mit der OIT-Gabe (→ frühzeitiger Ausschluss gemäß SOP)
#14/ Placebo	4,7	224	400/ II	95/ SP	-	Nebenwirkungen zeitlich nicht assoziiert zu OIT-Gabe (Entscheidung der Mutter)
<b>Abbruch der Intervention wegen Persönliche Gründe/ mangelnder Compliance</b>						
#70/ Placebo	16,5	95,4	40/ II	232/ SP	-	Compliance (Überwachung der Patientin nach OIT-Gabe nicht möglich; Entscheidung der Eltern & Studienärztin)
#38/ Placebo	16,5	54	400/ III	481/ EP	-	Compliance (Zeitmangel)
#60/ Placebo	4,3	2,88	40/ II	549/ EP	-	Compliance (Zeitmangel)
<b>Abbruch der Intervention wegen schwerer Verletzung des Studienprotokolls</b>						
#51/ Placebo	6,5	60,2	40/ III	-/ EP	-	Schwere Verletzung des Studienprotokolls (Verwechslung der OIT-Studiennahrung)
<b>Abbruch nach Intervention, Nachbeobachtung unvollständig aufgrund mangelnder Compliance</b>						
#49/ Placebo	11,6	17,7	4000/ II	494/ V3	-	Compliance (Abbruch der laufenden Provokation bei V3, Entscheidung der Patientin)

EP= Erhaltungsphase; SP= Steigerungsphase; SOP= Standard operating procedures bei auftretenden Nebenwirkungen im Rahmen der OIT-Studie; V3= Abschlussvisite, V.a. = Verdacht auf.

Tabelle A.3: Maximal tolerierten Erdnussdosis unter Provokation vor und nach oraler Immuntherapie (OIT) sowie Start- und Erhaltungsdosis der OIT bei Patienten der Verumgruppe.

Patient	Maximal tolerierte Dosis unter Provokation vor OIT (V1) (mg Erdnuss)	Startdosis der OIT (mg Erdnuss)	Erhaltungsdosis der OIT (mg Erdnuss)	Maximal tolerierte Dosis unter Provokation nach OIT (V3) (mg Erdnuss)	Gesamtdauer der OIT (Tage)
1	4000	200	1000	18000	244
2	12000	200	1000	18000	348
4	40	38	90	120	538
7	1200	200	1000	18000	249
8	120	100	500	1200	390
16	1200	120	1000	4000	486
21	40	12	200	4000	495
22	120	40	500	4000	327
23	40	12	60	4000	544
26	400	120	500	120	432
27	400	120	1000	4000	305
29	4000	120	900	18000	494
31	120	40	500	4000	362
33	40	12	26	400	495
36	120	40	90	400	488
37	120	40	500	1200	474
42	40	12	200	18000	488
46	1200	120	1000	18000	409
50	12000	120	900	18000	569
52	40	12	280	18000	404
55	1200	120	1000	18000	332
56	12	4	10	120	495
58	4	2	200	18000	509
61	12	4	280	4000	467
64	1200	120	1000	18000	480

67	12	4	180	4000	453
68	120	40	500	18000	424
69	12000	120	1000	18000	290
40	400	120	drop out <sup>§</sup>	drop out <sup>§</sup>	342
65	120	40	drop out <sup>§</sup>	drop out <sup>§</sup>	79

§ = drop out wegen Nebenwirkungen; V1 = Eingangsvisite; V3 = Abschlussvisite.

Tabelle A.4: Maximal tolerierten Erdnussdosis unter Provokation vor und nach oraler Immuntherapie (OIT) sowie Start- und Erhaltungsdosis der OIT bei Patienten der Placebogruppe.

Patient	Maximal tolerierte Dosis unter Provokation vor OIT (V1) (mg Erdnuss)	Startdosis der OIT (mg Erdnuss)	Erhaltungsdosis der OIT (mg Erdnuss)	Maximal tolerierte Dosis unter Provokation nach OIT (V3) (mg Erdnuss)	Gesamtdauer der OIT (Tage)
3	400	200	1000	400	515
5	1200	200	1000	18000	388
6	120	100	500	40	572
11	40	12	500	12	537
12	40	12	160	4	509
17	120	40	80	120	573
18	400	120	1000	40	396
19	12	4	22	40	495
20	40	12	14	40	495
24	40	12	280	4	488
28	4000	120	1000	4000	255
30	12	4	44	400	530
34	400	120	1000	120	466
41	4	2	160	40	488
44	120	40	32	120	509
45	120	40	500	40	390

47	120	40	500	1200	382
53	1200	120	600	1200	507
54	120	40	500	400	488
57	4	2	120	40	509
59	12	4	500	120	502
62	1200	120	1000	4000	438
66	12	4	140	12	502
72	40	12	160	12	495
38	120	40	240	drop out <sup>\$\$</sup>	481
49	1200	120	900	drop out <sup>\$\$</sup>	494
51	12	4	32	drop out <sup>\$\$\$</sup>	drop out <sup>\$\$\$</sup>
60	12	4	32	drop out <sup>\$\$</sup>	549
14	120	40	drop out <sup>§</sup>	drop out <sup>§</sup>	95
35	40	12	drop out <sup>§</sup>	drop out <sup>§</sup>	113
70	12	4	drop out <sup>\$\$</sup>	drop out <sup>\$\$</sup>	232

§= drop out wegen Nebenwirkungen im Laufe der Steigerungsphase; \$\$= drop out wegen Compliance; \$\$\$= drop out wegen schwerer Verletzung des Studienprotokolls.

Tabelle A.5: Anzahl an oralen Immuntherapie (OIT)-Gaben, die mit subjektiven zeitlich assoziierten Nebenwirkungen einhergingen in der Verum- und Placebogruppe.

	Verum			Placebo			p-Wert#		
	SP	EP	OIT	SP	EP	OIT	SP	EP	OIT
<b>Anzahl OIT-Gaben</b>	10323	2089	12412	11838	1975	13813			
<b>Subjektive Symptome, n (%)</b>			459 (3,7)			72 (0,52)	<b>0,003</b>	<b>0,043</b>	<b>0,003</b>
<u>OAS</u>	268 (2,62)	19 (0,91)	281 (2,26)	31 (0,26)	0 (0)	29 (0,21)	<b>0,003</b>	<b>0,043</b>	<b>0,003</b>
Juckreiz	262 (2,54)	19 (0,91)	275 (2,22)	29 (0,24)	0 (0)	27 (0,2)	0,004	0,043	0,003
Kloßgefühl	4 (0,04)	0 (0)	4 (0,03)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0,073	1,000	0,073
Räusperrn	2 (0,02)	0 (0)	2 (0,02)	2 (0,02)	0 (0)	2 (0,01)	1,000	1,000	0,981
<u>GIT</u>	123 (1,19)	1 (0,05)	124 (1)	27 (0,23)	1 (0,05)	28 (0,20)	<b>&lt;0,001</b>	1,000	<b>&lt;0,001</b>
Bauchschmerzen	110 (1,07)	1 (0,05)	111 (0,89)	19 (0,16)	1 (0,05)	20 (0,14)	0,000	1,000	0,000
Übelkeit	13 (0,13)	0 (0)	13 (0,1)	8 (0,07)	0 (0)	8 (0,06)	0,066	1,000	0,070
<u>Haut</u>	10 (0,1)	0 (0)	10 (0,1)	23 (0,19)	0 (0)	23 (0,17)	1,000	1,000	1,000
Juckreiz	10 (0,1)	0 (0)	10 (0,1)	23 (0,19)	0 (0)	23 (0,17)	1,000	1,000	1,000
<u>Diverse Symptome</u>	22 (0,21)	48 (2,3)	70 (0,56)	4 (0,03)	1 (0,05)	5 (0,04)	0,110	1,000	0,110
Gelenkschmerzen	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1,000	1,000	1,000
Kopfschmerzen	21 (0,2)	48 (2,3)	69 (0,56)	3 (0,03)	1 (0,05)	4 (0,03)	0,083	1,000	0,083
Halsschmerzen	1 (0,01)	0 (0)	1 (0,01)	1 (0,01)	0 (0)	1 (0,01)	0,963	1,000	0,963

# statistischer Vergleich zwischen den Gruppen auf Basis der prozentualen Anzahl von OIT-Gaben mit Nebenwirkungen pro Patient im Median; EP= Erhaltungsphase; GIT= Gastrointestinaltrakt; OAS= orales Allergiesyndrom; SP= Steigerungsphase.

Tabelle A.6: Anzahl an oralen Immuntherapie (OIT)-Gaben, die mit objektiven zeitlich assoziierten Nebenwirkungen einhergingen in der Verum- und Placebogruppe.

	Verum			Placebo			p-Wert#		
	SP	EP	OIT	SP	EP	OIT	SP	EP	OIT
<b>Anzahl OIT-Gaben</b>	10323	2089	12412	11838	1975	13813			
<b>Objektive Symptome, n (%)</b>	81 (0,78)	4 (0,19)	85 (0,68)	99 (0,84)	8 (0,41)	107 (0,77)	0,994	0,794	0,976
<u>Haut</u>	20 (0,19)	4 (0,19)	24 (0,19)	22 (0,19)	1 (0,05)	23 (0,17)	0,592	0,549	0,437
Kontakturtikaria	8 (0,08)	0 (0)	8 (0,06)	3 (0,03)	0 (0)	3 (0,02)	0,242	1,000	0,224
Flush	0 (0)	2 (0,1)	2 (0,02)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1,000	0,161	0,147
General. Urtikaria	6 (0,06)	2 (0,1)	8 (0,06)	13 (0,11)	1 (0,05)	14 (0,1)	0,803	0,549	0,928
Angioödem	6 (0,06)	0 (0)	6 (0,05)	6 (0,05)	0 (0)	6 (0,04)	0,764	1,000	0,764
<u>GI</u>	25 (0,24)	1 (0,05)	26 (0,21)	10 (0,08)	0 (0)	10 (0,07)	0,633	0,326	0,633
Erbrechen	7 (0,07)	1 (0,05)	8 (0,06)	2 (0,02)	0 (0)	2 (0,01)	0,134	0,326	0,127
Diarrhoe	17 (0,16)	0 (0)	17 (0,14)	8 (0,07)	0 (0)	8 (0,06)	0,555	1,000	0,572
<u>Oberer Atemwege</u>	9 (0,09)	1 (0,05)	10 (0,08)	51 (0,43)	7 (0,35)	58 (0,42)	0,695	0,507	0,641
Konjunktivitis	2 (0,02)	0 (0)	2 (0,02)	9 (0,08)	0 (0)	9 (0,07)	0,161	1,000	0,161
Rhinitis	3 (0,03)	0 (0)	3 (0,02)	3 (0,03)	0 (0)	3 (0,02)	0,638	1,000	0,638
Niesen	1 (0,01)	0 (0)	1 (0,01)	33 (0,28)	6 (0,3)	39 (0,28)	0,577	0,309	0,577
Rhinokonjunktivitis	3 (0,03)	1 (0,05)	4 (0,03)	6 (0,05)	1 (0,05)	7 (0,05)	0,686	0,959	0,691
<u>Larynx</u>	1 (0,01)	0 (0)	1 (0,01)	14 (0,12)	0 (0)	14 (0,10)	1,000	1,000	1,000
Heiserkeit	0 (0)	0 (0)	0 (0)	14 (0,12)	0 (0)	14 (0,1)	0,325	1,000	0,325
Stridor	1 (0,01)	0 (0)	1 (0,01)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0,309	1,000	0,309
<u>Untere Atemwege</u>	48 (0,46)	4 (0,19)	52 (0,42)	20 (0,17)	0 (0)	20 (0,14)	0,173	0,083	0,111
Husten	39 (0,38)	2 (0,1)	41 (0,33)	15 (0,13)	0 (0)	15 (0,11)	0,141	0,161	0,091
Pfeifende Atmung <sup>1</sup>	6 (0,06)	2 (0,1)	8 (0,06)	1 (0,01)	0 (0)	1 (0,01)	0,079	0,161	<b>0,045</b>
Atemnot	3 (0,03)	0 (0)	3 (0,02)	4 (0,03)	0 (0)	4 (0,03)	0,784	1,000	0,804
<u>Kardiovaskuläres System</u>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0,01)	0 (0)	1 (0,01)	0,325	1,000	0,325
Blutdruckabfall	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1,000	1,000	1,000
Kreislaufstillstand/Bewusstlosigkeit	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (3,2)	0 (0)	1 (3,2)	0,325	1,000	0,325



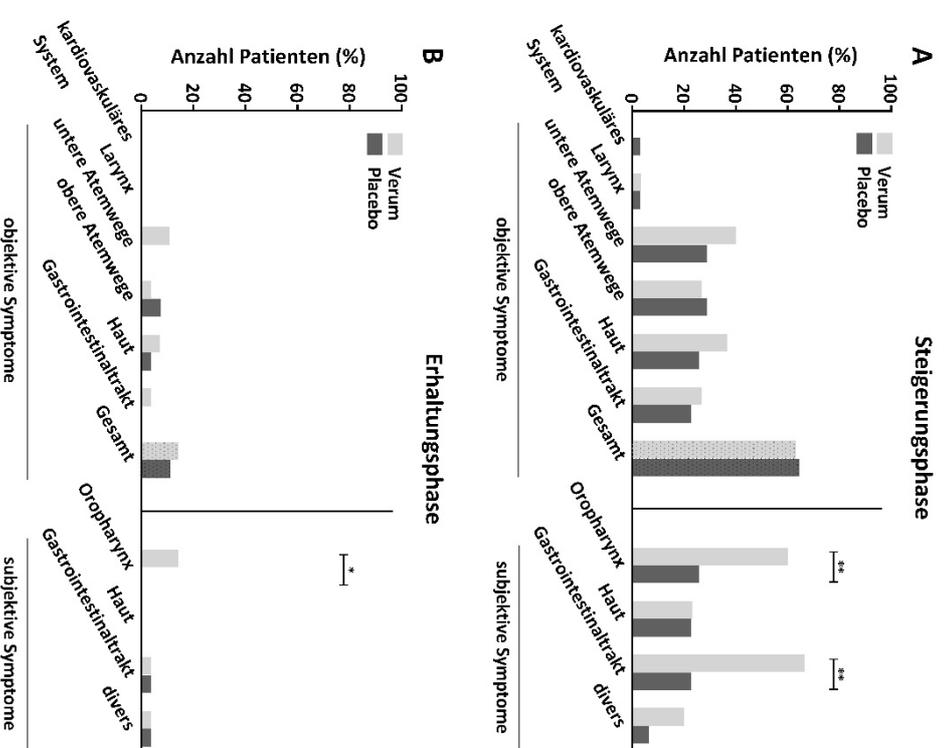


Abbildung A.1: Anzahl an Patienten mit zeitlich assoziierten objektiven und subjektiven Nebenwirkungen nach betroffenen Organsystemen der Verum- und Placebogruppe unter oraler Immuntherapie (OIT): (A) in der OIT-Steigerungsphase, (B) in der OIT-Erhaltungsphase. divers= Gelenkschmerzen, Kopfschmerzen, Haisschmerzen. Nur statistisch signifikante Inter- und Intra-Gruppenunterschiede sind gekennzeichnet; \* p < 0,05; \*\* p < 0,01.

Tabelle A.7: Anzahl an Patienten mit zeitlich nicht assoziierten Nebenwirkungen der Verum- und Placebogruppe unter oraler Immuntherapie (OIT).

	Verum			Placebo			p-Wert		
	SP (n=30)	EP (n=28)	OIT (n=30)	SP (n=31)	EP (n=27)	OIT (n=31)	SP	EP	OIT
<b>Patienten mit <math>\geq 1</math> Symptom, n (%) (zeitlich nicht assoziiert)</b>			30 (100)			31 (100)			1,000
Haut	20 (66,7)	4 (14,3)	20 (66,7)	22 (71)	6 (22,2)	23 (74,2)	0,717	0,446	0,519
Urtikaria und/ oder Angioödem	12 (40)	0 (0)	12 (40)	15 (48,4)	2 (7,4)	15 (48,4)	0,510	0,142	0,510
Hautausschlag	16 (53,3)	0 (0)	16 (53,3)	15 (48,4)	0 (0)	15 (48,4)	0,699	1,000	0,699
Ekzem- verschlechterung <sup>§</sup>	6 (20)	4 (14,3)	8 (26,7)	9 (29)	5 (18,5)	10 (32,3)	0,413	0,671	0,632
<u>GI</u>	26 (86,7)	6 (21,4)	26 (86,7)	27 (87,1)	3 (11,1)	27 (87,1)	0,960	0,301	1,000
Bauchschmerzen	16 (53,3)	3 (10,7)	17 (56,7)	13 (41,9)	1 (3,7)	13 (41,9)	0,373	0,317	0,250
Übelkeit	8 (26,7)	0 (0)	8 (26,7)	8 (25,8)	0 (0)	8 (25,8)	0,939	1,000	0,939
Erbrechen	20 (66,7)	4 (14,3)	21 (70)	16 (51,6)	2 (7,4)	17 (54,8)	0,232	0,413	0,222
Diarrhoe	16 (53,3)	1 (3,6)	16 (53,3)	15 (48,4)	2 (7,4)	15 (48,4)	0,699	0,531	0,699
<u>OAS</u>	7 (23,3)	1 (3,6)	8 (26,7)	7 (22,6)	1 (3,7)	7 (22,6)	0,944	0,979	0,711
Juckreiz	7 (23,3)	1 (3,6)	8 (26,7)	7 (22,6)	1 (3,7)	7 (22,6)	0,944	0,979	0,711
Kloßgefühl	0 (0)	1 (3,6)	1 (3,3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1,000	0,322	0,305
<u>Oberer Atemwege</u>	27 (90)	9 (32,1)	28 (93,3)	30 (96,8)	11 (40,7)	30 (96,8)	0,285	0,508	0,612
Konjunktivitis	5 (16,7)	1 (3,6)	6 (20)	10 (32,3)	5 (18,5)	12 (38,7)	0,157	0,075	0,109
Rhinitis	25 (83,3)	8 (28,6)	26 (86,7)	30 (96,8)	8 (29,6)	30 (96,8)	0,078	0,931	0,150
Niesen	3 (10)	1 (3,6)	4 (13,3)	6 (19,4)	3 (11,1)	6 (19,4)	0,303	0,282	0,525
<u>Larynx</u>	7 (23,3)	2 (7,1)	8 (26,7)	7 (22,6)	2 (7,4)	7 (22,6)	0,944	0,970	0,711
Heiserkeit	6 (20)	1 (3,6)	7 (23,3)	7 (22,6)	2 (7,4)	7 (22,6)	0,806	0,531	0,944
Stridor	2 (6,7)	1 (3,6)	2 (6,7)	0 (0)	1 (3,7)	1 (3,2)	0,144	0,979	0,534

<u>Untere Atemwege</u>	28 (93,3)	11 (39,3)	29 (96,7)	29 (93,5)	6 (22,2)	29 (93,5)	0,973	0,171	1,000
Husten	27 (90)	10 (35,7)	28 (93,3)	29 (93,5)	6 (22,2)	29 (93,5)	0,614	0,271	0,973
Pfeifen <sup>\$\$</sup>	12 (40)	1 (3,6)	12 (40)	18 (58,1)	1 (3,7)	18 (58,1)	0,158	0,979	0,158
Atemnot	8 (26,7)	2 (7,1)	10 (33,3)	11 (35,5)	1 (3,7)	11 (35,5)	0,457	0,574	0,860
<u>Kardiovaskuläres System</u>	1 (3,3)	0 (0)	1 (3,3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0,305	1,000	0,492
Blutdruckabfall	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1,000	1,000	1,000
Kreislaufstillstand/ Bewusstlosigkeit	1 (3,3)	0 (0)	1 (3,3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0,305	1,000	0,305
<u>Diverse Symptome</u>	27 (90)	12 (42,9)	27 (90)	29 (93,5)	6 (22,2)	29 (93,5)	0,671	0,103	0,671
Gelenkschmerzen	2 (6,7)	0 (0)	2 (6,7)	1 (3,2)	1 (3,7)	2 (6,5)	0,612	0,304	0,973
Kopfschmerzen	18 (60)	6 (21,4)	19 (63,3)	12 (38,7)	2 (7,4)	14 (45,2)	0,096	0,14	0,154
Halschmerzen	12 (40)	3 (10,7)	12 (40)	18 (58,1)	3 (11,1)	18 (58,1)	0,158	0,962	0,158
Ohrschmerzen	1 (3,3)	1 (3,6)	2 (6,7)	6 (19,4)	2 (7,4)	6 (19,4)	0,104	0,531	0,142
Fieber	19 (63,3)	4 (14,3)	20 (66,7)	18 (58,1)	2 (7,4)	18 (58,1)	0,674	0,413	0,488
sonstige Symptome	12 (40)	3 (10,3)	12 (40)	8 (25,8)	3 (11,1)	8 (25,8)	0,238	0,926	0,238
<u>Schweregrad</u>									
I	9 (30)	0 (0)	9 (30)	8 (25,8)	0 (0)	8 (25,8)	0,715	1,000	0,715
II	29 (96,7)	6 (21,4)	30 (100)	30 (96,8)	11 (40,7)	30 (96,8)	0,981	0,121	1,000
III	28 (93,3)	13 (46,4)	29 (96,7)	30 (96,8)	9 (33,3)	30 (96,8)	0,534	0,322	1,000
IV	17 (56,7)	4 (14,3)	18 (60)	24 (77,4)	4 (14,8)	24 (77,4)	0,084	0,956	0,142
V	1 (3,3)	0 (0)	1 (3,3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0,305	1,000	0,492

\$= mit Cortisonanwendung; \$\$= auch Giemen, signifikanter peak-flow Abfall oder leichte pulmonale Obstruktion; EP= Erhaltungsphase; GI= Gastrointestinaltrakt; OAS= orales Allergiesyndrom; SP= Steigerungsphase.

Tabelle A.8: Anzahl an oralen Immuntherapie (OIT)-Gaben, die mit zeitlich nicht assoziierten Nebenwirkungen einhergingen in der Verum- und Placebogruppe.

	Verum			Placebo			p-Wert#		
	SP	EP	OIT	SP	EP	OIT	SP	EP	OIT
<b>Anzahl OIT-Gaben</b>	10323	2089	12412	11838	1975	13813			
<b>zeitlich nicht assoziierte Symptome</b>			2107 (16,98)		2708 (16,60)				0,686
<u>Haut</u>	493 (4,78)	47 (2,25)	540 (4,35)	415 (3,51)	128 (6,48)	543 (3,93)	0,895	0,381	0,661
Urtikaria und/oder Angioödem	34 (0,33)	0 (0)	34 (0,27)	56 (0,47)	9 (0,46)	65 (0,47)	0,392	0,146	0,358
Hautausschlag	266 (2,58)	0 (0)	266 (2,14)	142 (1,2)	0 (0)	142 (1,03)	0,415	1,000	0,398
Ekzem-Verschlechterung <sup>s</sup>	193 (1,87)	47 (2,25)	240 (1,93)	217 (1,83)	119 (6,03)	336 (2,43)	0,434	0,583	0,496
<u>GI</u>	218 (2,11)	13 (0,62)	231 (1,86)	172 (1,45)	6 (0,30)	178 (1,29)	0,423	0,388	0,367
Bauchschmerzen	76 (0,74)	7 (0,34)	83 (0,67)	69 (0,58)	2 (0,1)	71 (0,51)	0,326	0,331	0,207
Übelkeit	35 (0,34)	0 (0)	35 (0,28)	17 (0,14)	0 (0)	17 (0,12)	0,823	1,000	0,808
Erbrechen	52 (0,5)	4 (0,19)	56 (0,45)	34 (0,29)	2 (0,1)	36 (0,26)	0,080	0,401	0,049
Diarrhoe	55 (0,53)	2 (0,1)	57 (0,46)	52 (0,44)	2 (0,1)	54 (0,39)	0,529	0,535	0,504
<u>OAS</u>	14 (0,14)	2 (0,1)	16 (0,13)	16 (0,14)	16 (0,81)	32 (0,23)	0,953	0,959	0,703
Juckreiz	14 (0,14)	1 (0,05)	15 (0,12)	16 (0,14)	16 (0,81)	32 (0,23)	0,953	0,959	0,717
Kloßgefühl	0 (0)	1 (0,05)	1 (0,01)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1,000	0,326	0,309
<u>Oberer Atemwege</u>	419 (4,06)	57 (2,73)	476 (3,83)	816 (6,89)	182 (9,22)	998 (7,23)	0,245	0,329	0,248
Konjunktivitis	56 (0,54)	4 (0,19)	60 (0,48)	89 (0,75)	55 (2,78)	144 (1,04)	0,218	0,082	0,147
Rhinitis	359 (3,48)	46 (2,2)	405 (3,26)	686 (5,79)	98 (4,96)	784 (5,68)	0,164	0,690	0,170
Niesen	4 (0,04)	7 (0,34)	11 (0,09)	41 (0,35)	29 (1,47)	70 (0,51)	0,293	0,295	0,516
<u>Larynx</u>	32 (0,31)	7 (0,34)	39 (0,31)	86 (0,73)	17 (0,86)	103 (0,75)	0,906	0,940	0,746
Heiserkeit	29 (0,28)	6 (0,29)	35 (0,28)	86 (0,73)	13 (0,66)	99 (0,72)	0,856	0,535	0,938
Stridor	3 (0,03)	1 (0,05)	4 (0,03)	0 (0)	4 (0,2)	4 (0,03)	0,147	0,959	0,564

<b>Untere Atemwege</b>	819 (7,93)	80 (3,83)	899 (7,24)	1022 (8,63)	63 (3,19)	1085 (7,85)	0,507	0,178	0,574
Husten	737 (7,14)	77 (3,69)	814 (6,56)	891 (7,53)	51 (2,58)	942 (6,82)	0,634	0,248	0,729
Pfeifen <sup>\$\$</sup>	47 (0,46)	1 (0,05)	48 (0,39)	92 (0,78)	11 (0,56)	103 (0,75)	0,191	0,959	0,213
Atemnot	35 (0,34)	2 (0,1)	37 (0,3)	39 (0,33)	1 (0,05)	40 (0,29)	0,550	0,608	0,932
<b>Kardiovaskuläres System</b>	1 (0,01)	0 (0)	1 (0,01)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0,309	1,000	0,309
Blutdruckabfall	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1,000	1,000	1,000
Kreislaufstillstand/ Bewusstlosigkeit	1 (3,3)	0 (0)	1 (3,3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0,309	1,000	0,309
<b>Diverse Symptome</b>	360 (3,49)	81 (3,88)	441 (3,55)	351 (2,97)	67 (3,39)	418 (3,03)	0,880	0,158	0,874
Gelenkschmerzen	15 (0,15)	0 (0)	15 (0,12)	3 (0,03)	10 (0,51)	13 (0,09)	0,513	0,309	0,946
Kopfschmerzen	101 (0,98)	53 (2,54)	154 (1,24)	72 (0,61)	2 (0,1)	74 (0,54)	0,098	0,161	0,085
Halsschmerzen	59 (0,57)	9 (0,43)	68 (0,55)	137 (1,16)	15 (0,76)	152 (1,1)	0,078	0,926	0,113
Ohrenschmerzen	2 (0,02)	6 (0,29)	8 (0,06)	32 (0,27)	4 (0,2)	36 (0,26)	<b>0,046</b>	0,564	0,140
Fieber	82 (0,79)	8 (0,38)	90 (0,73)	65 (0,55)	16 (0,81)	81 (0,59)	0,311	0,474	0,197
sonstige Symptome	101 (0,98)	5 (0,24)	106 (0,85)	42 (0,35)	20 (1,01)	62 (0,45)	0,183	0,926	0,195
<b>Schweregrad</b>									
I	16 (0,15)	0 (0)	16 (0,13)	15 (0,13)	0 (0)	15 (0,11)	0,681	1,000	0,681
II	288 (2,79)	34 (1,63)	322 (2,59)	496 (4,19)	151 (7,65)	647 (4,68)	0,462	0,100	0,399
III	816 (7,9)	78 (3,73)	894 (7,2)	1027 (8,68)	97 (4,91)	1124 (8,14)	0,498	0,530	0,545
IV	109 (1,06)	10 (0,48)	119 (0,96)	215 (1,82)	25 (1,27)	240 (1,74)	0,150	0,869	0,219
V	1 (0,01)	0 (0)	1 (0,01)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0,309	1,000	0,309

# statistischer Vergleich zwischen den Gruppen auf Basis der prozentualen Anzahl von OIT-Gaben mit Nebenwirkungen pro Patient im Median; \$= mit Cortisonanwendung; \$\$= auch Giemen, signifikanter peak-flow Abfall oder leichte pulmonale Obstruktion; EP= Erhaltungsphase; GIT= Gastrointestinaltrakt; OAS= orales Allergiesyndrom; SP= Steigerungsphase.

Tabelle A. 9: Medikamentöse Behandlung von zeitlich nicht assoziierten Nebenwirkungen unter oraler Immuntherapie (OIT) bei Patienten der Verum- und Placebogruppe.

Therapie	Verum		Placebo		p-Wert <sup>#</sup>
	Patienten	OIT-Gaben	Patienten	OIT-Gaben	
<b>Gesamte OIT, n (%)</b>	n=30	n=12412	n=31	n=13813	
Antiallergisch wirksame Medikamente insgesamt <sup>§</sup>	23 (76,7)	228 (1,84)	26 (83,9)	313 (2,27)	0,534
β2-Sympathomimetika	19 (63,3)	191 (1,54)	24 (77,4)	249 (1,80)	0,270
Antihistaminika	15 (50)	64 (0,52)	17 (54,8)	53 (0,38)	0,800
Glukokortikoide	7 (23,3)	11 (0,09)	9 (29)	29 (0,21)	0,772
Adrenalin	1 (3,3)	1 (0,01)	0 (0)	0 (0)	0,305
NSAID	10 (33,3)	41 (0,33)	14 (45,2)	44 (0,32)	0,434
Antibiotika	9 (30)	87 (0,7)	13 (41,9)	237 (1,72)	0,426

# statistischer Vergleich zwischen den Gruppen auf Basis der prozentualen Anzahl an Patienten, die mit Medikamenten behandelt wurden. §= β2-Sympathomimetika, Antihistaminika, Glukokortikoide oder Adrenalin; NSAID = nicht-steroidale Entzündungshemmer.

### A.2.1 Einfluss von IL-3 auf die Basophilenaktivierung

Um einen möglichen Einfluss einer parallelen Stimulation mit IL-3 auf die Expression von CD63 auf basophile Granulozyten zu prüfen, wurde bei sieben Patienten nach OIT ein Doppeltansatz mit und ohne den Zusatz von IL-3 im Stimulationsmedium durchgeführt. Durch den Einsatz von IL-3 zeigte sich bei keinem der unterschiedlichen Stimulationsansätze eine veränderte prozentuale Basophilenaktivierung (Abbildung A.2). Wie in Abbildung A.3 dargestellt, zeigte sich kein Einfluss einer parallelen IL-3-Stimulation auf die maximale Basophilenaktivierung (CD max) und auch die Erdnusskonzentration, die zu CD max führte, änderte sich nicht durch den Einsatz von IL-3.

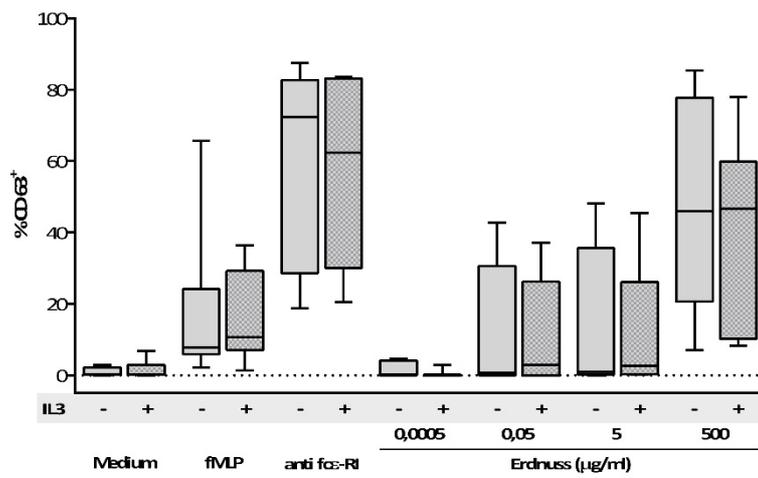


Abbildung A.2: CD63-Expression von basophilen Granulozyten nach Stimulation mit und ohne Zusatz von IL-3 (2ng/ml) im jeweiligen Stimulationsmedium bei sieben Patienten zum Zeitpunkt der Abschlussvisite. Vollblut der Patienten wurde für 20 Minuten mit RPMI-Medium allein, anti-FcεRI (0,6 µg/ml), fMLP (5 µM) oder Erdnussextrakt (Konzentrationen siehe Abbildung) inkubiert. Nach Oberflächenmarkierung mit fluoreszenzmarkierten Antikörpern und Zelllyse wurde die Expression des Oberflächenmarkers CD63 mittels Durchflusszytometrie bestimmt. Für die Werte der Positivkontrollen wurde die CD63 Expression der Mediumkontrolle abgezogen. Boxen repräsentieren 25% bis 75% Quartile, Whisker repräsentieren die Spannweite, Linien repräsentieren den Median.

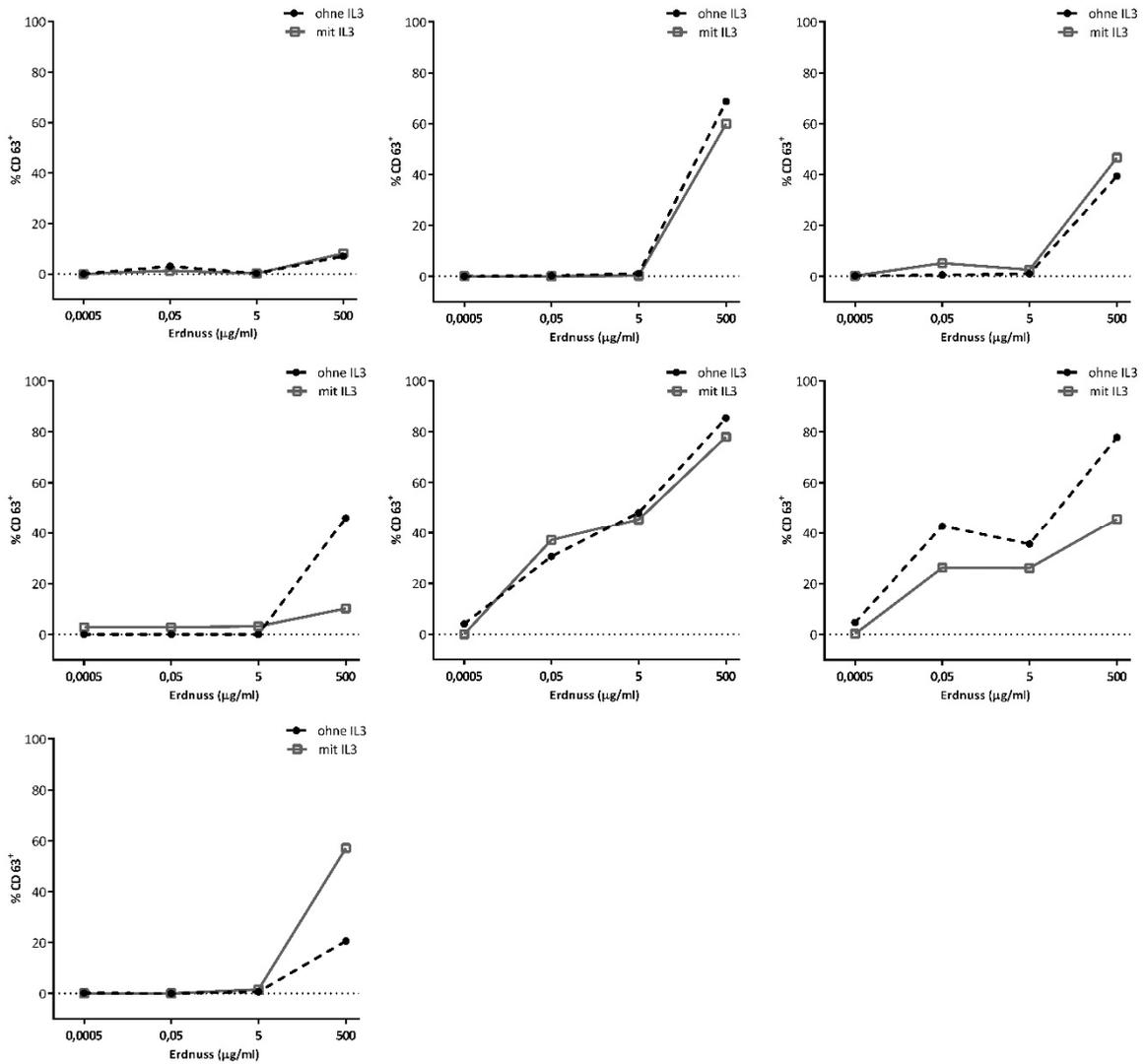


Abbildung A.3: Kurvenverlauf und maximale CD63-Expression von basophilen Granulozyten nach Stimulation mit verschiedenen Erdnusskonzentrationen mit und ohne Zusatz von IL-3 (2ng/ml) bei sieben Patienten zum Zeitpunkt der Abschlussvisite. Vollblut der Patienten wurde für 20 Minuten mit Erdnuss-extrakt (Konzentrationen siehe Abbildung) inkubiert. Nach Oberflächenmarkierung mit fluoreszenzmarkierten Antikörpern und Zellyse wurde die Expression des Oberflächenmarkers CD63 mittels Durchflusszytometrie bestimmt. Für die Werte der Positivkontrollen wurde die CD63 Expression der Mediumkontrolle abgezogen.

Tabelle A.10: Zytokinproduktion nach in vitro Stimulation von PBMCs mit RPMI-Medium allein vor oraler Immuntherapie bei Patienten der Verum- und Placebogruppe.

Zytokin (pg/ml)	Verum (n= 26)	Placebo (n= 23)	p-Wert
IFN- $\gamma$ , Median (Spannweite)	6,75 (0-289)	5,4 (0-126,36)	0,936
TNF- $\alpha$ , Median (Spannweite)	5,36 (0-31)	5 (0-160,81)	0,685
IL-2, Median (Spannweite)	1,84 (0-18)	2 (0-4,44)	0,452
IL-4, Median (Spannweite) <sup>2</sup>	2,16 (0-32)	2,22 (0-4,58)	0,812
IL-5, Median (Spannweite) <sup>1</sup>	0 (0-10)	1,35 (0-4,66)	0,756
IL-10, Median (Spannweite)	2,33 (0-34)	2,71 (0-36,83)	0,986

Hochgestellte Zahlen hinter den Variablennamen stehen für die Anzahl an fehlender Daten.

Tabelle A.11: Zytokinproduktion nach in vitro Stimulation von PBMCs mit RPMI-Medium allein nach oraler Immuntherapie bei Patienten der Verum- und Placebogruppe.

Zytokin (pg/ml)	Verum (n= 26)	Placebo (n= 23)	p-Wert
IFN- $\gamma$ , Median (Spannweite)	0,1 (0-303,16)	8,6 (0-66,54)	0,254
TNF- $\alpha$ , Median (Spannweite)	6,26 (0-34,29)	4,64 (0-23,28)	0,677
IL-2, Median (Spannweite)	0,74 (0-9,62)	1,72 (0-6)	0,708
IL-4, Median (Spannweite) <sup>2</sup>	0 (0-6,31)	2,39 (0-6,31)	0,275
IL-5, Median (Spannweite) <sup>1</sup>	0 (0-21,37)	1,62 (0-141,18)	0,219
IL-10, Median (Spannweite)	1,24 (0-131,9)	3,02 (0-17,75)	0,800

Hochgestellte Zahlen hinter den Variablennamen stehen für die Anzahl an fehlender Daten.

## Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Frau Prof. Dr. Kirsten Beyer für die Möglichkeit meine Dissertation über dieses spannende Thema anzufertigen und die Aufnahme in Ihre Arbeitsgruppe. Für Ihre immer freundliche und konstruktive Betreuung und ihr Vertrauen danke ich Ihr sehr.

Bei Herr Prof. Dr. Gerhard Püschel bedanke ich mich sehr für die nette „Wiederaufnahme nach Exil“ als Betreuer seitens der Universität Potsdam und seine dabei immerzu verlässliche Unterstützung.

Ganz großer und spezieller Dank geht an PD Dr. Katharina Blümchen, die mir als meine engagierte Mentorin in besonderer Weise in Höhen und Tiefen meiner gesamten Promotionszeit zur Seite stand und mich immer aufs Neue motivieren konnte. Mit niemand anderem hätte das Zählen von „Husten unter oraler Immuntherapie“ so viel Spaß gemacht!

Ein großes Dankeschön geht an Gabriele Schulz, Alexander Rohrbach und Christine Seib aus dem Allergielabor, die mich dort herzlich aufgenommen haben und mir stets mit Rat und Tat zur Seite standen. Auch Alena Beder danke ich sehr für die Einarbeitung in die Labormethoden.

Bedanken möchte ich mich auch bei allen meinen Kollegen des Kinderallergologischen Studienzentrums. Angela Scholz, Susanne Paschke-Goossens, Ingrid Lawnitzak, Birgit Kalb, Songül Yürek und Sebastian Tschirner für die liebe, hilfsbereite Unterstützung. Steven Sievers und Stefanie Heller, die mich in vielen Fragen zu biologischen Grundlagen unterstützt haben. Und vor allem Johanna Bellach, die immer ein offenes Ohr für mich hatte.

Für die nette Beratung bei statistischen Rückfragen danke ich Oliver Hartmann und Linus Grabenhenrich.

Meinen Eltern, Brüdern und meinen Freunden bin ich sehr dankbar für die stets aufmunternde und verlässliche Unterstützung und positive Ablenkung während der gesamten Anfertigung der Arbeit und darüber hinaus.

## **Curriculum Vitae**

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Dissertation nicht veröffentlicht.

## Eidesstattliche Erklärung

Hiermit versichere ich, dass die vorliegende Dissertation selbstständig und nur unter Benutzung der angegebenen Quellen und Hilfsmittel angefertigt wurde.

Diese Arbeit wurde weder in gleicher noch in ähnlicher Form an einer anderen Universität eingereicht.

An der in der vorliegenden Arbeit beschriebenen klinischen Studie wurde folgender eigener Beitrag geleistet:

Durchführung der oralen Provokationen und der in vitro Untersuchungen (Basophilen-aktivierungstest, T-Zell-Stimulation und Zytokinnachweis), Herstellung der Studiennahrung und Versorgung der Patienten mit der Studiennahrung, regelmäßiger telefonischer Patientenkontakt (bei Rückfragen zum Studienprotokoll oder der Studiennahrung), Erstellung der Datenbank sowie Dateneingabe und statistische Auswertung. Eine zusätzliche parallele statistische Auswertung erfolgte durch einen Statistiker (Oliver Hartmann), um gefundene Ergebnisse zu bestätigen.

Durch die studienärztliche Leitung erfolgte: die Studienkonzeption, die Patientenrekrutierung und-aufklärung, alle klinischen Untersuchungen (wie im Methodenteil definiert) sowie die Bewertung der oralen Provokation und Bewertung der Nebenwirkungen unter Therapie.

Berlin den 28.02.2017

Valérie Trendelenburg