Gezielte Mikronährstoff-Supplementierung mit holo-BLG basierend auf dem Bauernhof-Effekt bei Patienten mit Hausstaubmilben-induzierter Rhinokonjunktivitis – erste Evaluierung in einer Allergenexpositionskammer

KARL-CHRISTIAN BERGMANN^{1,2}, ANKE GRAESSEL^{3,4}, JENNIFER RAAB³, WERNER BANGHARD³, LINDA KRAUSE⁵, SYLVIA BECKER², SEBASTIAN KUGLER², TORSTEN ZUBERBIER^{1,2}, VERENA B. OTT³, MATTHIAS F. KRAMER^{3,4}, FRANZISKA ROTH-WALTER^{6,7}, ERIKA JENSEN-JAROLIM^{6,7,8}, SONJA GUETHOFF³

Schlüsselwörter

Allergen-expositions-kammer, Beta-Lactoglobulin, Bauernhof-Effekt, Hausstaubmilbenallergie, Immunresilienz, Lipocalin

¹Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergie, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Humboldt-Universität zu Berlin und Berlin Institute of Health, Berlin, Deutschland; ²ECARF – European Centre for Allergy Research Foundation, Berlin, Deutschland; ³Bencard Allergie GmbH, München, Deutschland; ⁴Allergy Therapeutics (UK) Ltd, Worthing, Vereinigtes Königreich; ⁵Institut für Medizinische Biometrie und Epidemiologie, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Deutschland; ⁶Interuniversitäres Messerli Forschungsinstitut der Veterinärmedizinischen Universität Wien, Medizinische Universität Wien und Universität Wien, Wien, Österreich; ⁷Institut für Pathophysiologie und Allergie Forschung, Zentrum für Pathophysiologie, Infektiologie und Immunologie, Medizinische Universität Wien, Wien, Österreich; ⁸Biomedical International R+D GmbH, Wien, Österreich

Zusammenfassung

Ziel: Evaluierung einer Lutschtablette zur Mikronährstoff-Supplementierung basierend auf dem Bauernhof-Effekt, bei Patienten mit Hausstaubmilben(HDM)- assoziierter allergischer Rhinokonjunktivitis (ARC) in einer standardisierten Allergen-Expositionskammer (AEC).

Methoden: Vor (V1) und nach (V3) täglicher Supplementierung mit holo-BLG (BLG, β -Lactoglobulin) über einen Zeitraum von drei Monaten wurden Patienten mit HDM-Allergie für jeweils zwei Stunden in einer AEC mit einem HDM-Extrakt provoziert. Die durch die HDM-Exposition ausgelösten nasalen, konjunktivalen, bronchialen und sonstigen Symptome wurden im Abstand von jeweils zehn Minuten durch die Patienten bewertet. Allgemeines Wohlbefinden, „peak nasal inspiratory

flow“ (PNIF) sowie Lungenfunktion wurden alle 30 Minuten evaluiert. Primärer Endpunkt der Studie war die Änderung der Summe der nasalen Symptome (TNSS, totaler nasaler Symptomscore) am Ende der zweiten Exposition (V3) im Vergleich zur ersten (V1). Ein wichtiger sekundärer Endpunkt war die vergleichende Analyse des zeitlichen Verlaufs aller Symptomscores während V1 zu V3 mittels eines gemischten linearen Modells.

Ergebnisse: 32 Patienten wurden in die Analyse eingeschlossen. Es wurde eine signifikante Verbesserung von 60 % ($p = 0,0034$) im primären Endpunkt-TNSS (V1: 2,5 [IQR: 1–4]; V3: 1,0 [IQR: 1–3]) gemessen sowie eine 40 %ige Verbesserung im totalen Symptomscore (TSS; V1: 5,0 [IQR: 3–9]; V3: 3,0 [IQR: 2–4]; Wilcoxon-Test: CI: 1,5–4,0; $p < 0,0003$).

Eingang

15. Dezember 2020

Annahme

6. Januar 2021

Englische Fassung

<https://link.springer.com/journal/40629>

Sowohl der zeitliche Verlauf aller Symptomscores als auch das persönliche Wohlbefinden verbesserten sich in einem klinisch relevanten Ausmaß, beispielsweise sichtbar durch den geringeren Anstieg der Symptome während der finalen HDM-Exposition. Es gab keine wesentlichen Änderungen für PNIF und Lungenfunktion. Die Sicherheit und Verträglichkeit der Lutschtablette wurden als hervorragend eingestuft.

Schlussfolgerung: Die Wirkung von holo-BLG, das durch gezielte Mikronährstoff-Supplementierung zur Immunresilienz bei Immunzellen führt, bietet

einen neuen Ansatz zur Eindämmung der aktuellen Allergie-Epidemie.

Zitierweise: Bergmann K-C, Graessel A, Raab J, Banghard W, Krause L, Becker S, Kugler S, Zuberbier T, Ott VB, Kramer MF, Roth-Walter F, Jensen-Jarolim E, Guethoff S. Targeted micronutrition via holo-BLG based on the farm effect in house dust mite allergic rhinoconjunctivitis patients – first evaluation in a standardized allergen exposure chamber. *Allergo J Int* 2021;30:141–9

<https://doi.org/10.1007/s40629-021-00163-9>

Hintergrund

Die Häufigkeit von Allergien und Asthma nimmt seit Jahrzehnten ständig zu [1]. Erfreulicherweise wurde das Phänomen des sogenannten Bauernhof-Effekts entdeckt und beschrieben, ein Schutzmechanismus gegen diese Erkrankungen dessen Ursprung schon lange intensiv diskutiert wird [2, 3, 4, 5]. Wie schon in früheren Studien gezeigt wurde [6, 7, 8, 9], haben Kinder, die auf einem Bauernhof mit traditioneller Milchwirtschaft geboren werden und aufwachsen, einen gewissen Schutz vor allergischer

Sensibilisierung, Asthma und Heuschnupfen. Diese Krankheitsbilder treten nachweislich viel seltener bei Bauernhofkindern auf als bei Kindern, die in urbanen Umgebungen aufwachsen [10, 11, 12]. Der frühe Kontakt mit möglichst vielen verschiedenen Mikroben in der unmittelbaren Umgebung, der einen maßgeblichen und prägenden Einfluss auf den Immunstatus von Bauernfamilien hat, ist eine wichtige Komponente des Bauernhof-Effekts [10]. Zudem haben Untersuchungen eine klare Assoziation zwischen dem schützenden Effekt durch die Expo-

Abkürzungen

AE	„adverse event“, unerwünschtes Ereignis	PEF	„peak expiratory flow“, expiratorischer Spitzenfluss
AEC	„allergen exposure chamber“, Allergenexpositions-kammer	PNIF	„peak nasal inspiratory flow“, inspiratorischer nasaler Spitzenfluss
AHR	„aryl hydrocarbon receptor“, Aryl-Hydrocarbon-Rezeptor	RA	„retinoic acid“, Retinsäure
ARC	„allergic rhinoconjunctivitis“, allergische Rhinokonjunktivitis	SCIT	„subcutaneous allergen immunotherapy“, subkutane Allergenimmuntherapie
BLG	Beta(β)-Lactoglobulin	SD	„standard deviation“, Standardabweichung
CI	„confidence interval“, Konfidenzintervall	SLIT	„sublingual allergen immunotherapy“, sublinguale Allergenimmuntherapie
DBPC	„double-blind, placebo-controlled“, doppelblind, placebokontrolliert	SPT	„skin prick test“, Hautpricktest
D. pt	<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	TBSS	„total bronchial symptom score“, totaler bronchialer Symptomscore
D. f.	<i>Dermatophagoides farinae</i>	TESS	„total eye symptom score“, totaler konjunktivaler Symptomscore
EBD	ergänzende bilanzierte Diät	Th1	Typ-1-T-Helferzelle
FEV ₁	„forced expiratory volume in 1 second“, Einsekundenkapazität	TNSS	„total nasal symptom score“, totaler nasaler Symptomscore
FVC	„forced vital capacity“, Vitalkapazität	TOSS	„total other symptom score“, totaler Score sonstiger Symptome
HDM	„house dust mite“, Hausstaubmilben	TSS	„total symptom score“, totaler Symptomscore
IQR	„interquartile range“, Interquartilsabstand	V	Visite
LCN	Lipocalin	VAS	„visual analogue scale“, visuelle Analogskala
NPT	„nasal provocation test“, nasaler Provokationstest		

sition mit der Luft auf Bauernhöfen und dem Konsum von Rohmilch zeigen können; dieser Zusammenhang konnte in Mausmodellen bestätigt werden [13]. Allerdings ist zu beachten, dass der Konsum von Rohmilch wegen der potenziellen Gefahr durch bakterielle Kontaminationen im Allgemeinen nicht empfohlen werden kann [14].

Mehrere Bestandteile von Rohmilch werden als mögliche Mediatoren des schützenden Bauernhof-Effekts diskutiert [13], beispielsweise Bestandteile der Fettfraktion [11] sowie Proteine in der Molke-Fraktion in ihrer ursprünglichen, nicht denaturierten Form [2, 8]. BLG (β -Lactoglobulin), das Hauptprotein der Molke-Fraktion in der Kuhmilch, gehört zur Familie der Lipocaline (LCN). Alle bekannten Mitglieder dieser Proteinfamilie weisen eine ähnliche und hochkonservierte Struktur auf, obwohl sie in einer großen Vielfalt von Spezies vorkommen und ihre Aminosäuresequenzen voneinander abweichen [15]. Das auffälligste Merkmal der gemeinsamen 3-D-Struktur ist eine zentrale Bindungstasche, die verschiedene hydrophobe Liganden binden kann [15]. Sind in der Bindungstasche Liganden wie Mikronährstoffe gebunden spricht man von holo-BLG, ist die Bindungstasche leer, so wird die Form als apo-BLG bezeichnet.

In vorangegangenen Studien wurde eine bis dahin unbekannte Eigenschaft des holo-BLG entdeckt: Das Protein ist in der Lage, seine Liganden in Immunzellen einzuschleusen. Auf diese Weise kann holo-BLG einen antigen-unspezifischen immunregulatorischen Effekt auslösen, der zur Resilienz gegenüber Immunaktivierung – „Immunresilienz“ – führt und somit zum Schutz vor allergischer Sensibilisierung und allergischen Symptomen beiträgt [16, 17, 18]. Durch die gezielte Beladung von BLG mit Liganden wie Retinsäure (RA) oder Eisen-Flavonoid-Komplexen können intrazelluläre Nährstoffdefizite in den Immunzellen von Allergikern kompensiert werden [13, 17, 19, 20]. Dies führt in einer aufeinander abgestimmten Abfolge zur Immunresilienz: i) durch Erhöhung der intrazellulären Eisenkonzentration, die in allergischen Individuen reduziert ist [20], ii) durch Aktivierung des immunregulatorischen Aryl-Hydrocarbon-Rezeptors (AHR) [13, 17, 19], durch die Aktivierung der von RA-Rezeptoren induzierten Signalwege [21] und iii) durch Zufuhr von Zink, die eine Th1-Immunantwort begünstigt [Pali-Schöll et al. Manuskript in review].

Die holo-BLG-Lutschtablette (immunoBON®) ist eine Erfindung, die auf den Bauernhof-Effekt zurückgeht: mit Mikronährstoffen beladene LCN, patentiert zur Behandlung und Prävention von allergischen Erkrankungen [22]. Holo-BLG wird in Form einer Lutschtablette hergestellt und ist als diätetisches Lebensmittel für besondere medizinische

Zwecke (FSMP, „food for special medical purposes“; EBD, ergänzende bilanzierte Diät) in Deutschland und Österreich registriert (die Anmeldung in weiteren Ländern wird vorbereitet). Das Produkt enthält in einer patentierten Formulierung das Molke-Protein holo-BLG, Eisen komplexiert mit Flavonoiden, Retinol-Palmitat und Zink.

Eine Pilotstudie zur Wirksamkeit der holo-BLG Lutschtablette, die an Birkenpollenallergikern durchgeführt wurde, zeigte, dass die molekularen Funktionsprinzipien aus präklinischen Mausmodellen auf den Menschen übertragen werden können [23]. Die vorliegende Studie wurde durchgeführt, um die Antigen-unspezifischen und vorteilhaften Effekte von holo-BLG näher zu untersuchen. Ziel war es festzustellen, ob die Lutschtablette ebenfalls eine günstige Wirkung auf Hausstaubmilben(HDM)-induzierte allergische Rhinokonjunktivitis (ARC) hat. Zu diesem Zweck wurden HDM-allergische Patienten in einer Allergenexpositions-kammer („allergen exposure chamber“, AEC) einer Exposition mit HDM-Material ausgesetzt. Die AEC ist eine hochstandardisierte Plattform, in der allergische Symptome in zuverlässiger und reproduzierbarer Weise ausgelöst werden können [24, 25, 26, 27, 28]. Somit ist die AEC für die erste Evaluierung dieses neuen Lebensmittels für besondere medizinische Zwecke im Feld der HDM-induzierten ARC optimal geeignet, um die Wirkung einer dreimonatigen Supplementierung mit holo-BLG durch eine kontrollierte Exposition zu testen.

Methoden

Studienplanung und Materialien

Die holo-BLG Lutschtablette wurde von Biomedical International R+D GmbH Vienna, Austria [22] für die Studie zur Verfügung gestellt.

Geplant war, in der Zeit zwischen Januar und Juni 2020 mindestens 30 Patienten mit HDM-Allergie, die die Einschlusskriterien der Studie beim ersten Screening (Visite 0, V0) erfüllten, zweimal (V1, V3) in der AEC am Berliner ECARF-Institut (ECARF, European Centre for Allergy Research Foundation) für jeweils zwei Stunden mit HDM-Material zu provozieren (**Abb. 1**). Nach der ersten Exposition (V1) erhielten alle Teilnehmer die holo-BLG-Lutschtablette und wurden angewiesen, über einen Zeitraum von drei Monaten zweimal täglich jeweils eine Lutschtablette langsam zu lutschen.

Die Patientenpopulation

Als Einschlusskriterien für die Teilnahme an der Studie galten folgende Voraussetzungen: Nachgewiesene HDM-Allergie mit ARC-Symptomen seit $\geq$ zwei Jahren (nach den ARIA-Kriterien), Alter zwischen 18 und 65 Jahren, positive Reaktion im Hautpricktest („skin prick test“, SPT) (Durchmesser

Abb. 1: Schematische Darstellung des Studiendesigns

der Quaddel ≥ 3 mm) auf HDM-Extrakt (*Dermaphagoides pteronyssinus* und *D. farinae*), positive Reaktion auf nasale Provokation („nasal provocation test“, NPT) mit Milbenextrakt und/oder positive Reaktion während einer früheren Exposition mit HDM-Material in einer AEC (totaler nasaler Symptomscore, TNSS ≥ 3).

Als Hauptkriterien für den Ausschluss von potenziellen Teilnehmern galten: eine sublinguale oder subkutane Allergenimmuntherapie (SLIT/SCIT) innerhalb der vergangenen zwei Jahre, klinisch relevante Überempfindlichkeit gegen Bestandteile der holo-BLG-Lutschtablette, Allergie gegen Kuhmilch-Proteine, klinisch relevante Reaktion auf frühblühende Bäume und/oder Katzenhaar, schweres oder unkontrolliertes Asthma innerhalb der drei Monate vor Screening, ein FEV₁-Wert („forced expiratory volume in 1 second“) $< 80\%$ vor einer möglichen Provokation in der AEC, relevante Infektionskrankheiten oder schwere chronische Krankheiten, Kontraindikation für Adrenalin und/oder andere Notfallmedikation, Einnahme von antiallergischen Medikamenten vor dem Screening-Prozess und der Exposition in der AEC. Für folgende Präparate galt eine Karenzzeit: drei Wochen für systemische Glukokortikoide, zwei Wochen für topisch applizierte nasale Glukokortikoide, sieben Tage für Cromone, drei Tage für Antihistaminika, drei Monate für Antibiotika, ein Monat für Pro-, Prä- und Synbiotika. Die Patienten wurden angehalten, auf anti-allergische Medikamente während der Studie zu verzichten.

AEC

Die GA²LEN-AEC des ECARF-Instituts ist eine mobile und vielseitig einsetzbare Kammer, bestehend aus zwei Standard-High-Cube-Containern (7,32 m) [24, 27, 28]. In der standardisierten und validierten Kammer werden die Teilnehmer (nach einer Akklimatisierungsperiode von 20 min) bei einer Temperatur von 20 °C (relative Luftfeuchtig-

keit 55 %) mit dem HDM-Material (Gesamtextrakt aus Körper- und Faeces-Allergen von kultivierten *D. pt.* und *D. f.* 50 : 50 Mix; Allergon AB, Ängelholm, Schweden) in einer Konzentration von 250 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ für 120 min provoziert [21, 22, 23]. Die Menge und Zusammensetzung der HDM-Allergene sowie die Partikelgröße wurden so gewählt, dass die Dosis einer hohen, aber natürlichen täglichen Exposition eines HDM-Allergikers entspricht [29].

Gemessene Parameter

Auftretende Symptome wurden während der gesamten Exposition (120 min) alle 10 min von den Patienten auf einer Skala von 0–3 bewertet (keine, milde, moderate, schwere Symptome), jeweils bezogen auf Nase (TNSS: rinnende Nase, Niesen, Nasenjucken, verstopfte Nase), Augen (totaler konjunktivaler Symptomscore, TESS: Juckreiz, Tränenfluss, Fremdgefühl), Bronchien (totaler bronchialer Symptomscore, TBSS: Kurzatmigkeit, Giemen, Husten, Asthma) und andere Symptome (totaler Score sonstiger Symptome, TOSS: Juckreiz Haut, Juckreiz Gaumen). Der Gesamtsymptomscore (totaler Symptomscore, TSS) stellt die Summe aus TNSS, TESS, TBSS und TOSS dar und kann maximal einen Wert von 39 annehmen. Der primäre Endpunkt war die Änderung im TNSS nach 120-minütiger Exposition mit HDM-Material in der AEC bei V3 im Vergleich zu V1. Sekundäre Endpunkte stellten die exploratorische Analyse des zeitlichen Verlaufs der jeweiligen Symptome (TNSS, TESS, TBSS, TOSS und TSS) während beider Expositionen (V1, V3) dar und der Unterschied im zeitlichen Verlauf zwischen V1 und V3. Veränderungen im persönlichen Wohlbefinden (visuelle Analogskala, VAS: 0, sehr gut; 10, sehr schlecht) zwischen V1 und V3 wurden ebenfalls dokumentiert. PNIF („peak nasal inspiratory flow“) und PEF („peak expiratory flow“) wurden mit einem Peak Nasal Inspiratory Flow-Meter (Clement Clarke International

Ltd., Harlow, Essex, UK) beziehungsweise einem Peak-Flow-Meter (Personal Best, Philips GmbH, Herrsching, Deutschland) gemessen – sowohl vor als auch in 30-minütigen Abständen während der beiden Expositionen in der AEC. Das FEV₁ sowie die Ratio aus FEV₁/FVC (FVC, „forced vital capacity“) wurden vor und nach der Exposition mit dem EasyOne™ Spirometer (nidd Medizintechnik AG, Zürich, Schweiz) gemessen. Diese Werte wurden analysiert und aus der Sicht eines Kliniklers beurteilt. Unerwünschte Ereignisse (AE, „adverse event“) im Zusammenhang mit der Einnahme der holo-BLG-Lutschtablette wurden über die Dauer der gesamten Studie überwacht. Um eventuelle Spätreaktionen oder AEs nach der Exposition zu identifizieren, wurden die Teilnehmer 24 Stunden nach jeder Exposition telefonisch kontaktiert.

Überwachung der Studie

Das Studienprotokoll wurde von der Ethikkommission der Charité, Berlin genehmigt (EA1/314/19). Die Studie, finanziert durch die Bencard Allergie GmbH, wurde retrospektiv bei clinicaltrials.gov (NCT04477382) registriert. Alle Teilnehmer erhielten detaillierte Informationen zur Studie und haben eine entsprechende schriftliche Einwilligung zur Teilnahme sowie zur Verarbeitung und Speicherung ihrer Daten im Rahmen der Datenschutz-Grundverordnung unterschrieben. Personenbezogene Daten wurden in Übereinstimmung mit den geltenden Gesetzen und Bestimmungen pseudonymisiert. Die Studie wurde entsprechend der „Deklaration von Helsinki“ und im Einklang mit allen relevanten, von Bund, Ländern und Gemeinden erlassenen gesetzlichen Bestimmungen durchgeführt.

Statistische Analyse der Ergebnisse

Die vorliegende konfirmatorische Studie wurde mit 30 Patienten geplant. Der primäre Endpunkt wurde mittels des gepaarten Wilcoxon-Tests („Wilcoxon signed-rank test with continuity correction“) analysiert; mehrere sekundäre Endpunkte wurden explorativ analysiert.

Zur Ermittlung der prozentualen Änderungen der Symptomscores zwischen beiden Expositionen in der AEC wurde der Median der Scores nach 120 min aller Patienten für V1 und V3 getrennt berechnet. Die Änderungen wurden wie folgt in Prozent umgerechnet: $([\text{Median V3} - \text{Median V1}] / \text{Median V1}) \times 100$. Angegeben sind die Ergebnisse für Median, Interquartilsabstand (IQR) und prozentuale Änderung.

Der zeitliche Verlauf der Symptomscores und des persönlichen Wohlbefindens (VAS) wurde unter Verwendung von gemischten linearen Modellen analysiert. Dabei wurden die Symptomscores

modelliert mit Patienten als zufälligen Effekten, um die interindividuelle Variabilität im Baseline Score und in der Expositionszeit, der Behandlung und der Interaktion zwischen Behandlung und Zeit als feste Effekte zu berücksichtigen. Die Annahmen der Modelle wurden grafisch mittels Quantil-Quantil-Plots überprüft. Alle Analysen wurden mit R, Version 3.5.3, [30] durchgeführt. Das Paket „lme4“ wurde zur Berechnung der gemischten linearen Modelle [31] und das Paket „multcomp“ zur Schätzung der p-Werte für die festen Effekte [32, 33] verwendet. Die 95 %-Konfidenzintervalle (CI) der festen Effekte und die dazugehörigen p-Werte sind deskriptive Kenngrößen und nicht als Ergebnisse einer konfirmatorischen statistischen Analyse zu verstehen. Die errechneten Mittelwerte beziehen sich auf alle Patienten für alle 13 Messungen und werden mit den entsprechenden 95 %-CI zum Vergleich dargestellt. Die Änderungen der PNIF- und PEF-Werte werden mit Median und IQR angegeben und in Bezug auf ihre klinische Relevanz beurteilt.

Ergebnisse

Demografie und Beschreibung der Patientenpopulation

38 Patienten, die an HDM-ARC litten und die Einschlusskriterien erfüllten, haben mit der Studie begonnen, davon haben 33 (14 mit und 19 ohne Asthma) diese abgeschlossen. Die Gründe für die fünf Studienabbrüche standen nicht in Verbindung mit der Einnahme der holo-BLG-Lutschtablette (zwei Patienten sind nicht zu V3 erschienen, ein Patient war krank und deswegen abwesend bei V3, ein Patient war laktoseintolerant, hatte dieses Ausschlusskriterium aber vorher nicht angegeben, und ein Patient musste sich einer Gastroskopie unterziehen). Das Durchschnittsalter der Studienpopulation war 38,1 Jahre (SD: 11,5 Jahre), und 27 % der Teilnehmer waren männlich (**Tab. 1**). Vor Beginn der Studie bewerteten alle eingeschlossenen Patienten mindestens zwei ihrer ARC-Symptome (rinnende Nase, verstopfte Nase, Nasenjucken, Niesen, Augenjuckreiz) als moderat oder schwer. Die Daten von 32 Patienten wurden analysiert, ein Patient wurde wegen des Fehlens von Symptomen während der Exposition bei V1 (TSS = 0) ausgeschlossen.

Effekte

Symptome wurden in zehnminütigen Abständen während der beiden jeweils zweistündigen Expositionen (V1, V3) bewertet. Der primäre Endpunkt war der Unterschied im TNSS nach 120 min zwischen V3 und V1 (**Abb. 2a**). Am Ende der Exposition bei V1 lag der Median für den TNSS bei 2,5 (IQR: 1–4), bei V3 lag er bei 1,0 (IQR: 1–3). Dies entspricht einem signifikanten Unterschied von –60 % (p =

Tab. 1: Demografische Übersicht der Patientenpopulation

Alter (Jahre)	n = 33	Mittelwert: 38,1 (SD: 11,5)	Median: 37,0	Min: 19,0	Max: 65,0
Geschlecht n (%)	n = 33	männlich: 9 (27 %)	weiblich: 24 (73 %)		
Raucher n (%)	n = 33	ja: 0 (0 %)	nein: 33 (100 %)		
AIT > 5 Jahre n (%)	n = 33	ja: 3 (9 %)	nein: 30 (91 %)		

AIT, allergenspezifische Immuntherapie, die mindestens fünf Jahre zurückliegt; Max, Maximum; Min, Minimum; SD, Standardabweichung

0,0034) nach dreimonatiger Supplementierung mit holo-BLG.

Als ein sekundärer Endpunkt wurde die Summe aller Symptomscores aller beobachteten Organe (TSS) bei V1 und V3 berechnet. Der Median TSS nach 120 min (**Abb. 2b**) verbesserte sich von 5,0 (IQR: 3–9) bei V1 auf 3,0 (IQR: 2–4) bei V3 (Wilcoxon-Test: CI: 1,5–4,0; $p < 0,0003$), was eine relevante Verbesserung von 40 % darstellt.

Weitere explorative Endpunkte umfassten die Analyse der zeitlichen Symptomentwicklung der jeweiligen einzelnen Symptomscores und dem daraus resultierenden TSS während der beiden Aufenthalte in der AEC. Dabei wurde eine relevante Verbesserung der Symptome festgestellt, die sich in einer geringeren Zunahme der Symptome über die Expositionszeit darstellt (**Abb. 3**). Das gemischte lineare Modell, das für die interindividuelle Variabilität mit Hilfe eines geschätzten zufälligen y-Achsenabschnitts pro Patienten korrigiert, identifizierte relevante feste Effekte für die Expositionsdauer in der AEC sowie relevante Interaktionseffekte zwischen der in der AEC verbrachten Zeit und der Supple-

mentierung mit holo-BLG für alle Symptomscores (**Abb. 3b**).

Die Entwicklung des TNSS (**Abb. 3a**) wird hier exemplarisch im Detail beschrieben. Im Laufe der ersten 120-minütigen Provokation in der AEC (V1) stieg der TNSS-Wert im Durchschnitt um 0,018 pro min (95 %-CI: 0,015–0,022; $p < 2 \times 10^{-16}$). Nach dreimonatiger Supplementierung mit holo-BLG, war die durchschnittliche Steigung um 0,011 pro min (95 %-CI: 0,006–0,016; $p = 5,16 \times 10^{-5}$) geringer, somit lag die Steigung der nasalen Symptome nur noch bei 0,007 pro min bei V3. Dies wurde durch den Interaktionsterm im gemischten linearen Modell modelliert. Der Mittelwert des TNSS bezogen auf alle Messungen fiel von 2,41 (95 %-CI: 2,19–2,62) bei V1 auf 1,69 (95 %-CI: 1,52–1,86) bei V3, entsprechend einer relevanten Abnahme von 0,72 (–30 %) (**Abb. 3b**). Auch für die Mittelwerte aller anderen Symptomscores wurden Verbesserungen von –35 % bis –42 % zwischen V1 und V3 sowie eine Verminderung in der durchschnittlichen Steigung der Symptome (**Abb. 3b**) von 0,005 (95 %-CI: 0,002–0,007; $p = 9,51 \times 10^{-5}$)

(a) Der TNSS-Wert, primärer Endpunkt der Studie, zeigte eine signifikante Verbesserung nach dreimonatiger Supplementierung mit holo-BLG bei V3 (grün) im Vergleich zu V1 (grau). Der Median des TNSS-Werts bei V3 lag am Ende der Exposition bei 1,0 (IQR: 1–3), ein signifikanter Unterschied von –60 % ($p = 0,0034$) gegenüber der Baseline (V1) von 2,5 (IQR: 1–4) (* $p < 0,005$). (b) Der Median des TSS (die Summe aller Symptome aller untersuchter Organe) nach 120-minütiger Exposition in der AEC, einer der sekundären Endpunkte, betrug 5,0 (IQR: 3–9) bei V1 (grau) und 3,0 (IQR: 2–4) bei V3 (grün, Wilcoxon-Test: CI: 1,5–4,0; $p < 0,0003$); eine relevante Verbesserung von 40 %.

AEC, Allergenexpositions-kammer; TNSS, totaler nasaler Symptomscore; TSS, totaler Symptomscore; CI, Konfidenzintervall; IQR, Interquartilsabstand

Abb. 2: Änderungen im TNSS und TSS am Ende der Studie (V3) im Vergleich zur Baseline (V1)

(a) Die Analyse des zeitlichen Verlaufs der einzelnen Symptomscores während des Aufenthalts in der AEC, die in 10-minütigen Abständen bewertet wurden, sowie der Verlauf des TSS zeigen eine Verbesserung der Symptome nach Supplementierung mit der holo-BLG-Lutschtablette (V3, grün) im Vergleich zur Baseline (V1, grau). Der flachere Anstieg der Symptomscores im Verlauf der finalen Exposition (V3) verdeutlicht die Verminderung der Symptome im Vergleich zu V1. (b) Zusammenfassung der Ergebnisse zur Analyse des zeitlichen Verlaufs der genannten Symptomscores mit Hilfe eines gemischten linearen Modells. Mittelwerte (inklusive der 95 %-CI) der Symptomscores für V1 und V3 werden zusammen mit den jeweiligen prozentualen Unterschieden zwischen der ersten (V1) und finalen (V3) Exposition angegeben. Der Anstieg pro min bei V1 (inklusive der 95 %-CI), der entsprechende Steigungsabfall pro min (inklusive der 95 %-CI) zwischen V1 und V3 und die jeweiligen p-Werte als deskriptive Kenngröße sind der Tabelle zu entnehmen. Die Steigung pro min bei V3 entspricht der Differenz zwischen der Steigung pro min bei V1 und dem Steigungsabfall zwischen V1 und V3 pro min. (a + b) Als Beispiel wird hier der zeitliche Verlauf des totalen Symptomscores im Detail beschrieben: Der Mittelwert des TSS, bezogen auf alle Messungen, fiel von 5,19 (95 %-CI: 4,75–5,63) bei V1 auf 3,35 (95 %-CI: 3,05–3,65) bei V3; eine relevante Abnahme um 1,84 Punkte (–35%). Der TSS stieg durchschnittlich mit einer Rate von 0,043 pro min (95 %-CI: 0,037–0,049; $p < 2 \times 10^{-16}$) während V1. Nach Supplementierung mit holo-BLG verminderte sich diese Steigung um 0,028 pro min (95 %-CI: 0,019–0,036; $p = 6,79 \times 10^{-10}$), wodurch die Steigung bei V3 nur noch 0,015 pro min betrug. AEC, Allergenexpositions-kammer; TNSS, totaler nasaler Symptomscore; TSS, totaler Symptomscore; TESS, totaler konjunktivaler Symptomscore; TBSS, totaler bronchialer Symptomscore; TOSS, totaler Score sonstiger Symptome; V, Visite; CI, Konfidenzintervall

Abb. 3: Zeitlicher Verlauf der einzelnen Symptomscores und des totalen Symptomscores vor und nach dreimonatiger Supplementierung mit holo-BLG

bis 0,028 (95 %-CI: 0,019–0,036; $p = 6,79 \times 10^{-10}$) beobachtet.

Es konnten keine relevanten Unterschiede zwischen V1 und V3 für PNIF und PEF festgestellt werden (Daten nicht abgebildet). Gleiches gilt für die Spirometrie-Parameter (nicht abgebildet); es wurden weder Restriktionen noch Obstruktionen vor und nach der ersten Exposition (V1) oder zweiten Exposition (V3) gemessen.

Der Median VAS am Ende der Exposition fiel von 32 bei V1 (IQR: 17,75–52) auf 19 bei V3 (IQR: 12,25–35) (Wilcoxon-Test: CI: 4,50–20,50; $p = 0,0021$), entsprechend einem klinisch bedeutenden Anstieg des persönlichen Wohlbefindens der Patienten um 42 % (Abb. 4).

Beim Nachsorgetelefonat 24 Stunden nach der ersten Exposition mit HDM in der AEC (V2) berichteten 14 von 31 Patienten (45 %) von Spätreaktionen infolge der Exposition mit dem Milbenallergen: Juckreiz und Tränenfluss, Halsschmerzen, Durstgefühl, Probleme beim Schlucken, Atemnot, verstopfte Nase, Kopfschmerzen, Juckreiz der Haut

und milde Urtikaria, Husten und Niesen. 24 Stunden nach Beendigung der zweiten Exposition (V4) berichteten dagegen nur drei von 25 Patienten (12 %) von Spätreaktionen: verstopfte Nase, leichter Husten und milde Atemnot. Diese Daten weisen auf eine gesteigerte Toleranz gegenüber den HDM-Allergenen während der Exposition in der AEC nach regelmäßiger Supplementierung mit der holo-BLG-Lutschtablette hin.

Sicherheit

Ein Patient berichtete von leichten Kopf- und Bauchschmerzen 24 Stunden nach der ersten Exposition und somit der erstmaligen Einnahme von holo-BLG (mindestens einer Lutschtablette). Keine weiteren AEs wurden während der dreimonatigen Supplementierung oder bei V4 gemeldet.

Diskussion

Die holo-BLG-Lutschtablette basiert auf einem Europäischen Patent [22] und wird als Lebensmittel für besondere medizinische Zwecke (FMSP) vertrie-

ben. Dieses neuartige Produkt ahmt den Bauernhof-Effekt (Schutz vor Allergien, Asthma und Ekzem) nach, der mit Stallluft-Exposition und Rohmilchkonsum zusammenhängt. Es wurde gezeigt, dass holo-BLG (BLG ist die Hauptproteinkomponente in der Molke-Fraktion) eine schützende Wirkung vor Allergien vermittelt. Diese Eigenschaft wurde in zellulär basierten Experimenten sowie in Mausmodellen und einer doppelblinden, placebokontrollierten Pilotstudie (DBPC) mit Birkenpollenallergikern bestätigt [23]. Genauer gesagt, wenn BLG mit seinen Liganden beladen ist (= holo-BLG), wirkt es einer Sensibilisierung entgegen und fördert die Toleranzentwicklung. Holo-BLG transportiert seine Liganden, bei denen es sich um Mikronährstoffe handelt, direkt zu den Immunzellen und aktiviert dabei den immunregulatorischen AHR-Signalweg [17, 19, 21, 23]. Dieser immunmodulatorische Effekt führt zu einem Zustand der Resilienz gegenüber einer Aktivierung des Immunsystems, einem Schutz gegen allergische Sensibilisierung und einer Linderung von allergischen Symptomen in einer Antigen-unspezifischen Weise [17, 19, 21, 23]. Interessanterweise ist das sekretorische Protein BLG nicht nur in der Milch vorhanden, sondern kann auch im Urin von Kühen und in Staubproben aus Kuhställen nachgewiesen werden [34]. Es ist deswegen denkbar, dass sich BLG als der in der Luft befindliche Faktor erweist, der den schützenden Bauernhof-Effekt gegen die Entwicklung von Allergien und Asthma vermittelt, einerseits in dem er Immunresilienz herbeiführt, andererseits in dem er ein Milieu schafft, das eine Th1-Antwort begünstigt [34].

Zum Nachweis der Hypothese, dass holo-BLG, ähnlich dem Bauernhof-Effekt, vor Atemwegsallergien in einer Antigen-unspezifischen Weise schützt, wurde zunächst ein experimentelles Modell mit doppelt sensibilisierten Mäusen gewählt [19]. Mäuse, die holo-BLG erhielten, aber nicht die Mäuse, die Placebo erhielten, waren nach Provokation mit dem autologen Allergen BLG vor einem anaphylaktischen Abfall der Körpertemperatur geschützt. Eine ähnliche, Antigen-unspezifische Wirkung wurde nach Provokation mit Bet v 1 beobachtet. Die Produktion von IgE- und IgG1-Antikörpern und die Kapazität von CD11c⁺ dendritischen Zellen zur Antigenpräsentation waren vermindert sowie die Degranulierung von Mastzellen inhibiert, während regulatorische T-Zellen induziert wurden [19].

Im Menschen wird ein Homolog des BLG, humanes Lipocalin-2 (LCN2), exprimiert. Das LCN2 gehört zur Klasse der Akute-Phase-Proteine, die im Falle von bakteriellen Infektionen sowie in Krebspatienten stärker exprimiert werden. Überraschenderweise sind die bei Allergikern gemessenen LCN2-Werte im Vergleich zu nicht allergischen Individuen signifikant niedriger [29]. Nach einer

Dargestellt ist der Verlauf des persönlichen Wohlbefindens während der HDM-Exposition (alle 30 min durch den Patienten bewertet). Am Ende der 120-minütigen Exposition hatte sich der Median VAS von 32 bei V1 (IQR: 17,75–52) (grau) auf 19 bei V3 (IQR: 12,25–35) (grün), (Wilcoxon-Test: 95 %-CI: 4,50–20,50; $p = 0,0021$) reduziert; eine klinisch relevante Verbesserung des persönlichen Wohlbefindens um 42 %.

HDM, Hausstaubmilben; AEC, Allergenexpositions-kammer; IQR, Interquartilsabstand; VAS, visuelle Analogskala; V, Visite

Abb. 4: Bewertung des persönlichen Wohlbefindens während der HDM-Exposition in der AEC vor und nach dreimonatiger Supplementierung mit holo-BLG

neunmonatigen HDM-SLIT in einer Gruppe HDM-allergischer Patienten konnte der LCN2-Spiegel zum Teil wiederhergestellt werden. Zudem war der LCN2-Anstieg zu diesem Zeitpunkt mit einer klinischen Verbesserung assoziiert [35]. Es kann daher spekuliert werden, dass das in der holo-BLG-Lutschtablette vorhandene BLG aus der Molke durch seine hohe strukturelle Homologie zum menschlichen LCN2 dessen Rolle übernimmt. Diese These wird durch die Tatsache gestützt, dass BLG-Rezeptoren sowohl auf menschlichen als auch auf Mauszellen identifiziert worden sind [36, 37]. Bisher deuten unsere Daten darauf hin, dass holo-BLG durch diese Rezeptoren seine gebundenen Mikronährstoff-Liganden in die Immunzellen einschleust und dadurch die allergische Entzündungsreaktion in einer Allergen-unspezifischen Weise unterdrückt.

Nach den vielversprechenden Ergebnissen der ersten DBPC-Pilotstudie zur Wirkung von holo-BLG bei saisonaler Birkenpollenallergie [23] wird zurzeit eine weitere DBPC-Studie mit einer größeren Anzahl von Patienten durchgeführt, mit dem Ziel, die klinische Evaluierung von holo-BLG zu erweitern.

Die hier beschriebene Studie wurde initiiert, um zu untersuchen, ob eine gezielte Supplementierung von Immunzellen mit ausgewählten Mikronährstoffen durch holo-BLG ebenfalls einen vorteilhaften Effekt auf perenniale Allergien hat. HDM-Allergene gehören zu den häufigsten Verursachern von allergischen Erkrankungen weltweit. Sie stellen ein wesentliches Problem für die Gesundheit der Menschheit dar, das mit einer signifikanten Morbidität assoziiert ist und zusätzlich das Gesundheitswesen belastet [38]. HDMs sind in der Lage, gesun-

de Menschen zu sensibilisieren und können allergische Symptome in den sensibilisierten Personen sowie in genetisch prädisponierten Individuen auslösen, die zu einer ARC, Asthma und atopischer Dermatitis führen können [38].

Für HDM-allergische Patienten ist es sehr schwierig, eine Veränderung ihrer Exposition zum Milbenallergen wahrzunehmen und somit auch die daraus resultierenden Symptomveränderungen, weil sie dem Allergen ganzjährig in fluktuierender Weise ausgesetzt sind. Deswegen wurde der Effekt von holo-BLG auf HDM-allergische Personen in einer standardisierten und validierten AEC vor und nach täglicher Supplementierung mit der Lutschtablette für drei Monate untersucht. Der große Vorteil dieser Methode liegt in ihrer Reproduzierbarkeit. Die Exposition der Patienten wird mit dem gleichen Setting vor und nach der Supplementierung mit holo-BLG durchgeführt, was die Zuverlässigkeit der Ergebnisse insbesondere im Falle von HDM-Allergie erhöht [28].

Im Laufe der Planungsphase für diese Studie wurde vorab keine Schätzung des Stichprobenumfangs zur ersten Evaluierung von holo-BLG in HDM-allergischen Patienten in einer AEC vorgenommen. Dieser Umstand stellt eine Limitation unserer Studie dar. Die Zahl der Teilnehmer wurde auf Basis der Machbarkeit sowie auf der Basis unserer Erfahrung aus der Durchführung der ersten DBPC-Studie im Menschen ($n = 17$), die eine signifikante Abnahme der Symptome bei einer saisonalen Allergie zeigte [23], gewählt.

Die Supplementierung mit holo-BLG führte zu einer robusten und klinisch relevanten Verbesserung, die sich nicht nur im primären Endpunkt TNSS offenbarte, sondern auch in der Symptomabnahme bezüglich der anderen untersuchten Organe zum Ausdruck kam. Nach dreimonatiger Supplementierung war der TNSS nach der 120-minütigen Exposition signifikant um 60 % ($p = 0,0034$) reduziert. Die Symptomentwicklung in allen untersuchten Organen (Nase, Augen, Bronchien, sonstige Symptome) über die gesamte Zeit in der AEC war bei der finalen Exposition (V3) in einem klinisch relevanten Ausmaß von 35 bis 42 % verringert. Das persönliche Wohlbefinden der Patienten (VAS) war am Ende von V3 um 42 % verbessert. Nach der finalen Exposition (V3) meldeten nur 12 % der Teilnehmer Spätreaktionen im Zusammenhang mit der Exposition im Vergleich zu 45 % nach V1. Diese Veränderung deutet auf eine höhere Toleranz gegenüber dem HDM-Allergen nach der Supplementierung mit der holo-BLG Lutschtablette hin. Das Produkt zeigte ein ausgezeichnetes Sicherheits- und Verträglichkeitsprofil; nur einer der Teilnehmer berichtete nach der Einnahme der ersten Lutschtablette von milden Kopf- und Bauchschmerzen. Ansonsten wurden keine AEs im Verlauf der Studie gemeldet.

Die Placebo-Kontrolle spielt eine fundamentale Rolle bei der Bewertung des klinischen Effekts von Interventionen in allen Krankheitsbereichen und mehrere Faktoren haben einen Einfluss auf diesen Effekt [39]. Bei DBPC-kontrollierten klinischen Studien zur Wirksamkeit der SLIT für HDM-allergische Patienten in einer AEC variierte die Größe des Placebo-Effekts nach sechs Monaten zwischen +0,5 % und +11 %, beispielsweise für den TNSS-Wert (−7 % nach vier und −9,4 % nach zwei Monaten), und zwischen −4 % und −17 % zum selben Zeitpunkt für den totalen okularen Symptom Score (−14 % nach vier und −8 % nach zwei Monaten) [40]. In den Placebo-Gruppen, die nach sechsmonatiger Behandlung mit SLIT in der AEC mit dem HDM-Allergen provoziert wurden, war nur eine geringe Verbesserung der Symptome festgestellt worden. Im Falle von kürzeren Behandlungsperioden wurde in mehreren Studien eine Verschlimmerung der Symptome bei den Placebo-Gruppen beobachtet [40]. Dagegen brachte die dreimonatige Supplementierung mit holo-BLG eine Verbesserung im primären Endpunkt TNSS von 60 % am Ende der Exposition sowie eine (über die Gesamtdauer der Exposition) bis zu 42%ige Symptomabnahme in den anderen untersuchten Organen. Zusätzlich zu den symptombezogenen Verbesserungen war das allgemeine Wohlbefinden der Patienten ebenfalls deutlich gesteigert. Obwohl das Fehlen einer Placebo-Kontrolle eine klare Limitation unserer Studie darstellt und wir deswegen nicht für den Placebo-Effekt kontrollieren können, sind wir zuversichtlich, dass unsere Studie klinisch relevante Verbesserungen bei Patienten mit HDM-induzierter ARC nach dreimonatiger Supplementierung mit holo-BLG bestätigt.

Das Management von HDM-ARC ist extrem wichtig, insbesondere wegen des großen Risikos der Entwicklung eines Asthmas [38]. SLIT und SCIT sind die einzigen verfügbaren kausalen Behandlungsoptionen in diesem Zusammenhang. Sie werden aber – beziehungsweise können – teilweise aus vielerlei Gründen nicht angewendet werden [41]. Daher könnte die holo-BLG-Lutschtablette eine neue Option sein, nicht nur für Erwachsene mit einer manifestierten HDM-Allergie wie unsere Studie nahelegt, sondern generell auch für Kinder ab drei Jahren.

Schlussfolgerung

Nachdem eine erste DBPC-Studie mit der holo-BLG-Lutschtablette, die als Lebensmittel für besondere medizinische Zwecke (FSMP) registriert ist, einen Effekt bei Patienten mit saisonaler Allergie zeigte, belegt die vorliegende Studie klinisch relevante Verbesserung auch im Feld der perennialen HDM-Allergie sowie ein ausgezeichnetes Sicherheits- und Verträglichkeitsprofil in dem robusten

klinischen Setting einer AEC. Die gezielte Supplementierung der Immunzellen mit spezifischen Mikronährstoffen, die durch holo-BLG vermittelt wird, induziert in einer Antigen-unabhängigen Wirkungsweise Immunresilienz, was die Rückkehr des Immunsystems zu einem normalen und gesunden Status (= Homöostase) bedeutet. Diese Wirkungsweise revolutioniert unser Verständnis von Allergien und nutzt den Mechanismus der Immunresilienz, um Allergien bekämpfen zu können. Die holo-BLG-Lutschtablette könnte als innovative Strategie, basierend auf dem Bauernhof-Effekt, dazu beitragen, der epidemischen Entwicklung von Allergien durch den Kampf an einer neuen Front entgegenzuwirken. Unser Verständnis zum Wirkmechanismus des holo-BLG nimmt gegenwärtig immer weiter zu und es werden derzeit noch mehr klinische Daten generiert.

Jennifer Raab

Bencard Allergie GmbH
Leopoldstraße 175
80804 München, Deutschland
E-Mail: raabj@bencard.com

Finanzierung

Die Studie wurde von der Bencard Allergie GmbH (Leopoldstr. 175, 80804 München, Deutschland) und teilweise von Biomedical International R+D GmbH (Wagramer Str. 19, 1220 Wien, Österreich) finanziert.

Beiträge der Autoren

K.-C. Bergmann, M. F. Kramer, F. Roth-Walter, E. Jensen-Jarolim, und S. Guethoff haben die Studie geplant. Auswahl und Untersuchung der teilnehmenden Patienten wurden von K.-C. Bergmann, S. Becker und S. Kugler übernommen. Durchführung und Qualitätskontrolle der Studie lagen in den Händen von K.-C. Bergmann und T. Zuberbier. Die Datenerhebung wurde von K.-C. Bergmann, S. Becker und S. Kugler und die statistische Analyse von L. Krause durchgeführt. K.-C. Bergmann, A. Graessel, J. Raab, W. Banghard, V. B. Ott und S. Guethoff haben die Daten geprüft und interpretiert. Das Manuskript wurde von A. Graessel erstellt. Alle Autoren haben das Manuskript überprüft und kritisch kommentiert. Die finale Fassung wurde von allen Autoren gelesen und zur Einreichung freigegeben.

Verfügbarkeit von Daten und Materialien

Die Datensätze, die im Rahmen dieser Arbeit erhoben beziehungsweise analysiert wurden, sind nicht öffentlich verfügbar. Gleichwohl ist Bencard Allergie GmbH dazu bereit, patientenbezogene Daten und weitere klinische Dokumentation aus zugehörigen Studien mit qualifizierten, externen Forschern zu teilen. Anfragen in Bezug auf diese Datensätze werden von einem unabhängigen Gutachtergremium geprüft und aufgrund wissenschaftlicher Relevanz beurteilt.

Interessenkonflikt

A. Graessel, J. Raab, W. Banghard, V. B. Ott, M. F. Kramer, und S. Guethoff sind Mitarbeiter von Allergy Therapeutics/Bencard Allergie GmbH.

K.-C. Bergmann hat Honorare für Vorträge von ALK, AstraZeneca, Allergopharma, Almirall, Bencard, Chiesi, GSK, HAL, LETI, Lofarma, Mundipharma, Novartis und Sanofi, nicht finanzielle Unterstützung im Rahmen seiner Eigenschaft als Vorsitzender der Stiftung Deutscher Polleninformationsdienst, Honorare und nicht finanzielle Unterstützung als beratender Arzt für ECARF, Honorare und nicht finanzielle Unterstützung als Berater in Advisory Boards von AstraZeneca, ECARF, GSK, dem Robert-Koch-Institut Berlin und Sanofi erhalten – außerhalb der vorliegenden Arbeit.

E. Jensen-Jarolim und F. Roth-Walter werden auf dem immunoBON® Patent EP 2 894 478 B1 als Erfinder genannt.

Das Patent gehört der Firma Biomedical International R+D, Wien, Österreich, an der E. Jensen-Jarolim Mitgesellschafterin ist.

E. Jensen-Jarolim hat Honorare für Präsentationen erhalten von Allergy Therapeutics, Allergopharma, Bencard, Meda, Roxall, ThermoFisher und Vifor. Sie ist Beraterin beziehungsweise Mitglied in Advisory Boards von Allergy Therapeutics, Vifor Pharma und Sanofi sowie vormals von MediGene, Germany, Novartis und Dr. Schär (beendet).

T. Zuberbier hat Honorare für Vorträge erhalten von Bayer Health Care, FAES, Novartis, Henkel und AstraZeneca sowie Vortragshonorare und persönliche Honorare von AbbVie, ALK, Almirall, Astellas, Bayer Health Care Fee, Bencard Allergie GmbH, Berlin Chemie, HAL, Leti, Meda, Menarini, Merck, MSD, Novartis, Pfizer, Sanofi, Stallergenes, Takeda, Teva, UCB Henkel, Kryolan und L'Oréal – außerhalb der vorliegenden Arbeit.

S. Becker, L. Krause und S. Kugler erklären, dass keine Interessenkonflikte bestehen.

Ethische Standards

Das Studienprotokoll wurde von der Ethikkommission der Charité Berlin (EA1/314/19) genehmigt. Alle Teilnehmer wurden durch den leitenden Arzt über Sinn und Zweck der Studie umfassend informiert. Mit der Unterzeichnung einer entsprechenden Einwilligungserklärung erklärten sie ihre Bereitschaft, an der Studie teilzunehmen und gaben ihr Einverständnis zur Verarbeitung und Speicherung ihrer Daten im Rahmen der geltenden Datenschutz-Grundverordnung.

Die Studie wurde im Einklang mit der „Deklaration von Helsinki“ und unter Berücksichtigung aller relevanten, von Bund, Ländern und Gemeinden erlassenen gesetzlichen Bestimmungen, durchgeführt. Alle rekrutierten Patienten haben ihre schriftliche Einwilligung zur Teilnahme an der Studie gegeben. Im Interesse der Rechte der teilnehmenden Patienten auf Unverletzlichkeit der Privatsphäre wurden im Einklang mit den gesetzlichen Bestimmungen alle erhobenen Daten pseudonymisiert.

Zitierweise

Bergmann K-C, Graessel A, Raab J, Banghard W, Krause L, Becker S, Kugler S, Zuberbier T, Ott VB, Kramer MF, Roth-Walter F, Jensen-Jarolim E, Guethoff S. Targeted micronutrition via holo-BLG based on the farm effect in house dust mite allergic rhinoconjunctivitis patients – first evaluation in a standardized allergen exposure chamber. *Allergo J Int* 2021;30:141–9

<https://doi.org/10.1007/s40629-021-00163-9>

Literatur

1. Agache I. EAACI guidelines on allergen immunotherapy – Out with the old and in with the new. *Allergy* 2018;73:737–8
2. Abbring S, Hols G, Garssen J, van Esch BCAM. Raw cow's milk consumption and allergic diseases – The potential

- role of bioactive whey proteins. *Eur J Pharmacol* 2019;843:55–65
3. Braun-Fahrlander C, von Mutius E. Can farm milk consumption prevent allergic diseases? *Clin Exp Allergy* 2011;41:29–35
 4. Ege MJ, Frei R, Bieli C, Schram-Bijkerk D, Waser M, Benz MR et al.; PARSIFAL Study team. Not all farming environments protect against the development of asthma and wheeze in children. *J Allergy Clin Immunol* 2007;119:1140–7
 5. Perkin MR, Strachan DP. Which aspects of the farming lifestyle explain the inverse association with childhood allergy? *J Allergy Clin Immunol* 2006;117:1374–81
 6. Alfvén T, Braun-Fahrlander C, Brunekreef B, von Mutius E, Riedler J, Scheynius A et al.; PARSIFAL study group. Allergic diseases and atopic sensitization in children related to farming and anthroposophic lifestyle – the PARSIFAL study. *Allergy* 2006;61:414–21
 7. Riedler J, Braun-Fahrlander C, Eder W, Schreuer M, Waser M, Maisch S et al.; ALEX Study Team. Exposure to farming in early life and development of asthma and allergy: a cross-sectional survey. *Lancet* 2001;358:1129–33
 8. Loss G, Apprich S, Waser M, Kneifel W, Genuneit J, Büchele G et al.; GABRIELA study group. The protective effect of farm milk consumption on childhood asthma and atopy: The GABRIELA study. *J Allergy Clin Immunol* 2011;128:766–73.e4
 9. Pfefferle PI, Büchele G, Blümer N, Roponen M, Ege MJ, Krauss-Etschmann S et al.; PASTURE Study Group. Cord blood cytokines are modulated by maternal farming activities and consumption of farm dairy products during pregnancy: the PASTURE Study. *J Allergy Clin Immunol* 2010;125:108–15.e1–3
 10. Stein MM, Hrusch CL, Gozdz J, Igartua C, Pivniouk V, Murray SE et al. Innate Immunity and Asthma Risk in Amish and Hutterite Farm Children. *N Engl J Med* 2016;375:411–21
 11. Brick T, Hettinga K, Kirchner B, Pfaffl MW, Ege MJ. The Beneficial Effect of Farm Milk Consumption on Asthma, Allergies, and Infections: From Meta-Analysis of Evidence to Clinical Trial. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2020;8:878–89.e3
 12. Ege MJ, Mayer M, Normand AC, Genuneit J, Cookson WOCM, Braun-Fahrlander C et al.; GABRIELA Transregio 22 Study Group. Exposure to environmental microorganisms and childhood asthma. *N Engl J Med* 2011;364:701–9
 13. Abbring S, Verheijden KAT, Diks MAP, Leusink-Muis A, Hols G et al. Raw Cow's Milk Prevents the Development of Airway Inflammation in a Murine House Dust Mite-Induced Asthma Model. *Front Immunol* 2017;8:1045
 14. Lucey JA. Raw Milk Consumption: Risks and Benefits. *Nutr Today* 2015;50:189–93
 15. Jensen-Jarolim E, Pacios LF, Bianchini R, Hofstetter G, Roth-Walter F. Structural similarities of human and mammalian lipocalins, and their function in innate immunity and allergy. *Allergy* 2016;71:286–94
 16. Roth-Walter F, Pacios LF, Gomez-Casado C, Hofstetter G, Roth GA, Singer J et al. The major cow milk allergen Bos d 5 manipulates T-helper cells depending on its load with siderophore-bound iron. *PLoS One* 2014;9:e104803
 17. Roth-Walter F, Afify SM, Pacios LF, Blokhuis BR, Redegeld F, Regner A et al. Cow's milk protein β -lactoglobulin confers resilience against allergy by targeting complexed iron into immune cells. *J Allergy Clin Immunol* 2021;147:321–34.e4
 18. Hufnagl K, Ghosh D, Wagner S, Fiocchi A, Dahdah L, Bianchini R et al. Retinoic acid prevents immunogenicity of milk lipocalin Bos d 5 through binding to its immunodominant T-cell epitope. *Sci Rep* 2018;8:1598
 19. Afify SM, Pali-Schöll I, Hufnagl K, Hofstetter G, El-Bassouni MA, Roth-Walter F et al. Bovine beta-lactoglobulin cross-protects against pollen allergies in an innate manner: mimicking the farm effect in a BALB/c mouse model. *Front Immunol* (in press)
 20. Roth-Walter F, Pacios LF, Bianchini R, Jensen-Jarolim E. Linking iron-deficiency with allergy: role of molecular allergens and the microbiome. *Metallomics* 2017;9:1676–92
 21. Hufnagl K, Afify SM, Braun N, Wagner S, Wallner M, Hauser M et al. Retinoic acid-loading of the major birch pollen allergen Bet v 1 may improve specific allergen immunotherapy: In silico, in vitro and in vivo data in BALB/c mice. *Allergy* 2020;75:2073–7
 22. Roth-Walter F, Jensen-Jarolim E, Gomez-Casado C, Diaz-Perales A, Pacios L, Singer J. Method and means for diagnosing and treating allergy EP14150965A-2014-01–13
 23. Bartosik T, Afify SM, Petje LM, Bastl M, Berger U, Hufnagl K et al. Dietary supplementation with a new immune tablet ameliorates human symptom load during birch pollen season: lower B-cell numbers yet with higher intracellular iron. *EAAI Congress* 2020; p. Abstract 1213
 24. Pfaar O, Calderon MA, Andrews CP, Angjeli E, Bergmann KC, Bønløkke J. Allergen exposure chambers: harmonizing current concepts and projecting the needs for the future – an EAACI Position Paper. *Allergy* 2017;72:1035–42
 25. Pfaar O, Ziegelmayer P. Allergen exposure chambers: implementation in clinical trials in allergen immunotherapy. *Clin Transl Allergy* 2020;10:33
 26. Boelke G, Berger U, Bergmann KC, Bindslev-Jensen C, Bousquet J, Gildemeister J et al. Peak nasal inspiratory flow as outcome for provocation studies in allergen exposure chambers: a GA²LEN study. *Clin Transl Allergy* 2017;7:33
 27. Voegler T, Goergen F, Bergmann KC, Boelke G, Salame J, Gildemeister J. Technical specification of the Global Allergy and Asthma European Network (GA²LEN) chamber: a novel mobile allergen exposure chamber. *Allergo J Int* 2017;26:287–94
 28. Zuberbier T, Abelson MB, Akdis CA, Bachert C, Berger U, Bindslev-Jensen C et al.; Global Allergy and Asthma European Network (GA²LEN) European Union Network of Excellence in Allergy and Asthma. Validation of the Global Allergy and Asthma European Network (GA²LEN) chamber for trials in allergy: Innovation of a mobile allergen exposure chamber. *J Allergy Clin Immunol* 2017;139:1158–66
 29. Tovey ER, Liu-Brennan D, Garden FL, Oliver BG, Perzanowski MS, Marks GB. Time-Based Measurement of Personal Mite Allergen Bioaerosol Exposure over 24 Hour Periods. *PLoS One* 2016;11:e0153414
 30. R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria 2019
 31. Bates D, Mächler M, Bolker B, Walker S. Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme. *J Stat Software* 2015;67:1–48
 32. Hothorn T, Bretz F, Westfall P. Simultaneous Inference in general parametric models. *Biomet J* 2008;50:346–63
 33. Bergmann KC, Krause L, Hiller J, Becker S, Kugler S, Tapparo M et al. First evaluation of a symbiotic food supplement in an allergen exposure chamber in birch pollen allergic patients. *World Allergy Organ J* 2020;14:100494
 34. Pali-Schöll I, Bianchini R, Afify SM, Hofstetter G, Winkler S, Ahlers S et al. Completing the hygiene hypothesis: bovine beta-lactoglobulin contributes to the allergy protective farm effect. 2020 (manuscript in preparation)
 35. Roth-Walter F, Schmutz R, Mothes-Luksch N, Lemell P, Ziegelmayer P, Ziegelmayer R et al. Clinical efficacy of sublingual immunotherapy is associated with restoration of steady-state serum lipocalin 2 after SLIT: a pilot study. *World Allergy Organ J* 2018;11:21
 36. Fluckinger M, Merschak P, Hermann M, Haertlé T, Redl B. Lipocalin-interacting-membrane-receptor (LIMR) mediates cellular internalization of beta-lactoglobulin. *Biochim Biophys Acta* 2008;1778:342–7

37. Mansouri A, Guéant J, Capiamont J, Pelosi P, Nabet P, Haertlé T. Plasma membrane receptor for beta-lactoglobulin and retinol-binding protein in murine hybridomas. *Biofactors* 1998;7:287–98
38. Sánchez-Borges M, Fernandez-Caldas E, Thomas WR, Chapman MD, Lee BW, Caraballo L et al. International consensus (ICON) on: clinical consequences of mite hypersensitivity, a global problem. *World Allergy Organ J* 2017;10:14
39. Frew AJ, Pfaar O. Placebo effects in allergen immunotherapy: an experts' opinion. *Allergo J Int* 2018;27:162–6
40. Pfaar O, Agache I, Bergmann KC, Bindslev-Jensen C, Bousquet J, Creticos PS et al. Placebo effects in allergen immunotherapy – an EAACI Task Force Position Paper. *Allergy* 2020 doi: 10.1111/all.14331
41. Pfaar O, Bachert C, Bufe A, Buhl R, Ebner C, Eng P et al. Guideline on allergen-specific immunotherapy in IgE-mediated allergic diseases: S2k Guideline of the German Society for Allergology and Clinical Immunology (DGAKI), the Society for Pediatric Allergy and Environmental Medicine (GPA), the Medical Association of German Allergologists (AeDA), the Austrian Society for Allergy and Immunology (ÖGAI), the Swiss Society for Allergy and Immunology (SGAI), the German Society of Dermatology (DDG), the German Society of Oto-Rhino-Laryngology, Head and Neck Surgery (DGHNO-KHC), the German Society of Pediatrics and Adolescent Medicine (DGKJ), the Society for Pediatric Pneumology (GPP), the German Respiratory Society (DGP), the German Association of ENT Surgeons (BV-HNO), the Professional Federation of Paediatricians and Youth Doctors (BVKJ), the Federal Association of Pulmonologists (BDP) and the German Dermatologists Association (BVDD). *Allergo J Int* 2014;23:282–319