

Molekulare Allergiediagnostik

IgE-vermittelte Typ-I-Allergien und verantwortliche Allergene

Soforttyp (Typ-1)-Allergien und zugehörige Erkrankungen (z. B. allergische Rhinitis, allergisches Asthma, Nahrungsmittelallergien, Anaphylaxie) beruhen auf einer Sensibilisierung, d. h. Bildung allergenspezifischer Antikörper der Klasse E (Immunglobulin E = IgE) gegen definierte (Glyko) Proteine, eigentlich harmlose Umweltmoleküle. Letztere wurden mittlerweile größtenteils identifiziert und anhand einer internationalen Nomenklatur [1] mit Namen versehen (Allergen-Datenbanken: <http://www.allergen.org/>, <http://www.allergome.org/> und <http://www.allergenonline.org/>). Sie kommen in pflanzlichen und tierischen Allergenquellen vor und lassen sich aufgrund ihrer Molekülstruktur einer begrenzten Zahl von Protein- bzw. Allergenfamilien zuordnen (Übersicht bei www.meduniwien.ac.at/allfam/) [2], die durch ihre physiko-chemischen Eigenschaften (► **Tab. 1**) und Interaktion mit dem humanen Immunsystem (Definitionen in ► **Tab. 2**) die Bildung individueller, allergenspezifischer IgE-Repertoires veranlassen können.

Von der Extrakt- zur Molekülbasierten Allergiediagnostik

In der Vergangenheit wurden bei Verdacht von IgE-vermittelten Reaktionen und Erkrankungen fast ausschließlich Allergenextrakte zur Allergiediagnostik verwendet. Wichtige Verfahren sind Pricktests an der Haut, serologische, allergenspezifische IgE-Bestimmungen und Expositionstests mit Extrakten, d. h. heterogenen Proteinmischungen von Pollen, Milben, Säugetierbestandteilen, Schimmelpilzen oder Nahrungsmitteln (Übersicht in [3]). Inzwischen stehen immer mehr definierte Moleküle (ca. >200 Einzelallergene, „Allergen-Komponenten“) in rekombinanter oder aufgereinigter Form für die IgE-Diagnostik kommerziell zur Verfügung (z. B. <https://thermofisher.com/components>).

Indikationen zur Molekularen Allergiediagnostik

Zunehmend eröffnen sich neue Möglichkeiten zur Verwendung von Einzelallergenen in der Diagnostik von IgE-vermittelten Inhalations-, Nahrungsmittel- und Insektengift-Allergien (► **Tab. 3**) (Übersicht in [4–6]).

In folgenden Situationen bietet die molekulare Allergiediagnostik Vorteile gegen-

über der traditionellen Diagnostik mit Extrakten [7]:

- I. Unterrepräsentierte bzw. fehlende Einzelallergene im Extrakt
- II. Risiko-assoziierte Allergene (z. B. in Nahrungsmitteln)
- III. Einzelallergene als Indikatoren für IgE-vermittelte Kreuzreaktionen
- IV. Marker-Allergene als Hinweis auf eine primäre Sensibilisierung (spezifisches IgE)

Während bei I. die getesteten Einzelallergene die analytische Sensitivität gegenüber den Extrakten erhöhen, steigern bei II.–IV. definierte Allergene die analytische Spezifität (Selektivität) der allergenspezifischen IgE-Tests (► **Tab. 3**).

Einzel- (Singleplex) und Parallelbestimmungen (Multiplex) für spezifisches IgE

Mittlerweile sind verschiedene methodische Varianten (► **Abb. 1**) für die klinische Routine und wissenschaftliche Fragestellungen entwickelt worden. Sie gestatten entweder eine gezielte IgE-Bestimmung (Singleplex) oder parallele Messung spezifischer IgE-Antikörper gegen zahlreiche (100–200) Allergenmoleküle (Multiplex) auf der Basis von Mikroarray-Plattformen [6]. Letztere wurden erfolgreich in epidemiologischen Querschnitts- und

► **Tab. 1** Eigenschaften und Merkmale von Soforttyp (Typ-I)-Allergenen

Physikalisch-chemische oder umweltbezogene Allergenmerkmale	Konsequenzen und Definitionen	Beispiele
Löslichkeit	bestimmt das Eindringen in Schleimhäute	Bet v 1-homologe Proteine in rohen pflanzlichen Lebensmitteln können sehr rasch Symptome hervorrufen
Stabilität	z. B. Thermostabilität entscheidet über Verträglichkeit gegarter Nahrungsmittel, Säurestabilität bestimmt Sensibilisierungsrisiko u. Reaktionsrisiko	Geringe Thermo- und Säurestabilität von Bet v 1-homologen Nahrungsmittel-Allergenen erklärt vorwiegend lokale oropharyngeale Reaktionen nur nach rohen pflanzlichen Lebensmitteln
Relativer Anteil an der Allergenquelle	bestimmt das Sensibilisierungsrisiko und das Risiko für Reaktionen	Speicherproteine (z. B. 2S-Albumine) mit hohem Anteil in Nüssen, Hülsenfrüchten u. Ölsaaten gelten als gefährliche Allergene
Natürliche/geografische Exposition	bestimmt die Wahrscheinlichkeit einer Sensibilisierung und das Risiko für Reaktionen (ohne Exposition keine Allergie!)	Baumpollenallergie durch Bet v 1-Sensibilisierungen sind in Nord- u. Mitteleuropa häufig, in Südeuropa eher Oliven- (Ole e 1), Eichen-, Cypressen- und Platanenpollenallergien

► **Tab. 2** Eigenschaften und Merkmale von Soforttyp-Allergenen bezogen auf das Immunsystem und betroffene Allergiker

Immunologisch-klinische Allergenmerkmale	Konsequenzen und Definitionen	Beispiele
Häufigkeit der IgE-Bindung (populationsbezogen)	Grundlage der Einteilung: Major-Allergen (> 50% Sensibilisierungen bei bestimmten Allergenquellen) Minor-Allergen (< 50% Sensibilisierungen bei bestimmten Allergenquellen)	Fel d 1 (> 90% Sensibilisierungen bei Katzenallergikern) Fel d 4 (< 25% Sensibilisierungen bei Katzenallergikern)
Anteil an der IgE-Bindung (individuell oder populationsbezogen)	Kriterium für ein dominantes (hoher Anteil) oder marginales Allergen (geringer Anteil a. d. IgE-Bindung gegen sämtliche Allergene einer Allergenquelle)	Bet v 1 (mehr als 90% der IgE-Bindung bezogen auf das gesamte birkenpollenspezifische IgE)
Charakteristisches Allergen für eine bestimmte Allergenquelle	Marker-Allergen (Definition), zum treffsicheren Nachweis einer Sensibilisierung gegen eine bestimmte Allergenquelle	Bet v 1 (bei Baumpollen-Sensibilisierung gegen Birken- u. Buchengewächse) Phl p 1 (bei Gräserpollen-Sensibilisierung) Fel d 1 (bei Katzensensibilisierung)
Komplettes/inkomplettes Allergen	Fähigkeit zur Sensibilisierung (komplettes Allergen) oder keine Sensibilisierung möglich (inkomplettes Allergen)	Bet v 1 (komplettes Allergen) als Ursache der Birkenpollen-Sensibilisierung mit häufigen Kreuzreaktionen gegen Kern- u. Steinobst, z. B. Äpfel); Mal d 1 (zu Bet v 1 kreuzreaktives Apfello allergen) ist nicht in der Lage zur primären Sensibilisierung (da instabil u. der Darm nicht erreicht wird)

Längsschnittstudien eingesetzt, um die Häufigkeit [8] und sequenzielle Entwicklung von Sensibilisierungen gegen definierte Allergiemoleküle (sog. „molecular spreading“ bei Heranwachsenden) [9] besser zu verstehen.

Interpretation und klinische Konsequenzen

Bei der Interpretation diagnostischer Resultate gelten für die Einzelallergene die gleichen Regeln wie für die bisher übliche Extraktdiagnostik:

- Positives spezifisches IgE entspricht einer erhöhten Allergiebereitschaft (Sensibilisierung/Kreuzreaktion).
- Der Befund ist *nur* bei zugehörigen Symptomen klinisch relevant
- Negatives IgE schließt bei korrekter Allergenauswahl eine allergische Sensibilisierung/Kreuzreaktion weitgehend aus, allerdings nur, *wenn*
 - das Gesamt-IgE hoch genug ist
 - das Allergen intakt, ausreichend vorhanden u.
 - die analytische Testempfindlichkeit optimiert ist (für viele einfache IgE-Tests und manche Komponenten oder Extrakte bei semiquantitativen

oder Multiplex-Tests bisher nicht sichergestellt)

- Der betreuende Arzt (z. B. Allergologe) interpretiert die Resultate anhand der Vorgeschichte und ermittelt die klinische Relevanz einer allergischen Sensibilisierung/Kreuzreaktion, *nicht* der Test.

Therapeutischer Einsatz molekularer Allergene zur Immuntherapie

Der potentielle Einsatz von definierten Molekülen zur Allergen-Immuntherapie ist bereits wiederholt in klinischen Entwicklungsprogrammen geprüft worden. Bisher haben die getesteten Varianten (nicht-modifizierte oder modifizierte, rekombinant hergestellte Allergene, Allergenfragmente oder -multimere, Allergenpeptide oder adjuventierte Allergenmutanten) (Übersicht bei [10]) keinen Durchbruch in der klinischen Anwendung erzielt. Eine potentielle Marktzulassung für eines dieser innovativen Produkte steht aktuell aus und ist derzeit aus der Sicht des Autors international noch nicht absehbar.

Fazit

Die Erkenntnisse der molekularen Allergologie werden schrittweise unser Verständnis hinsichtlich der verantwortlichen Soforttyp (Typ I)-Allergene, ihrer klinischen Bedeutung und ihres potentiellen Nutzen erweitern. Ihr diagnostischer Einsatz erlaubt den empfindlicheren Nachweis und die selektive Differenzierung von (insbesondere multiplen) IgE-vermittelten Sensibilisierungen durch

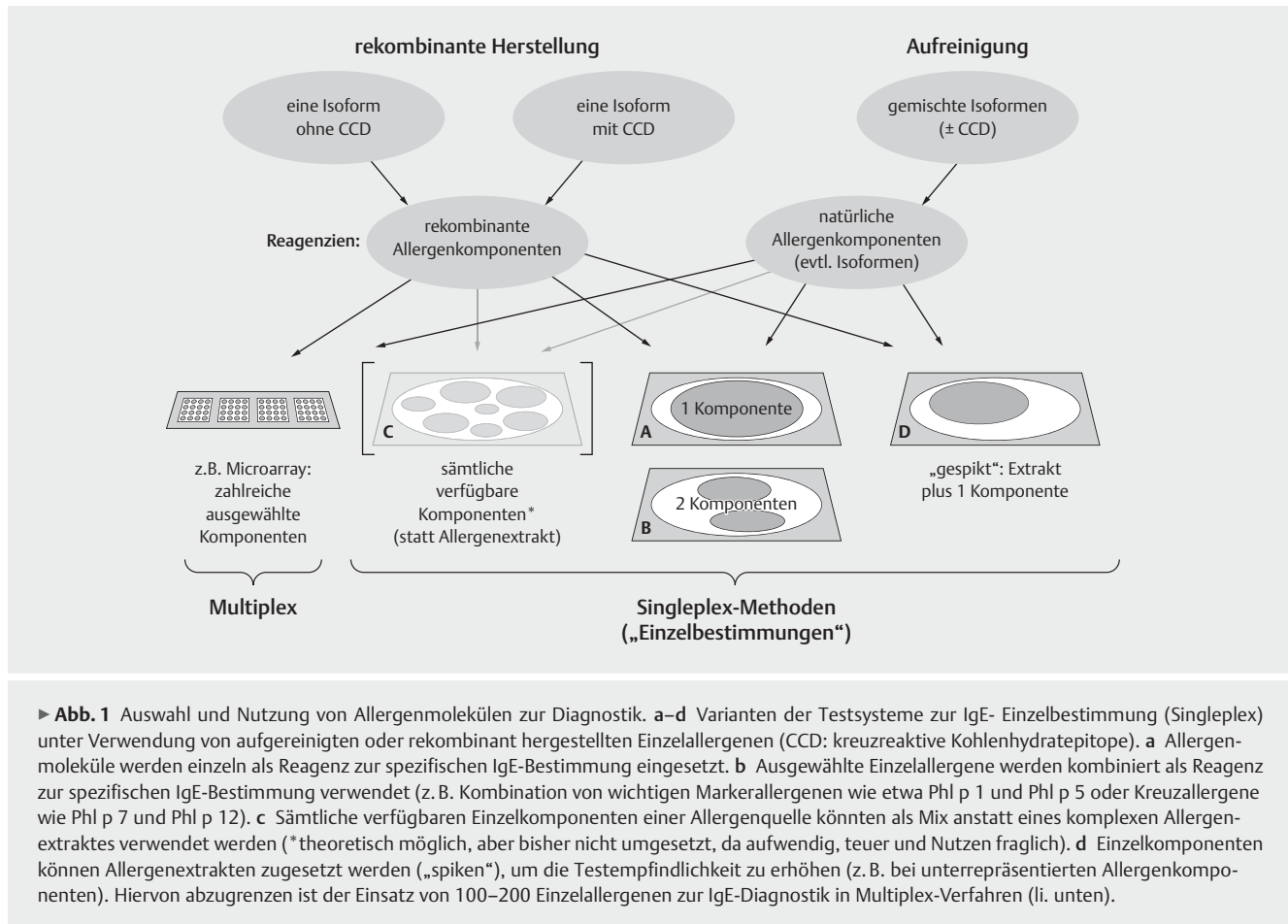
- Aufdecken unentdeckter Sensibilisierungen gegen unterrepräsentierte Einzelallergene
- Erkennen von Risiko-assoziierten Allergenen mit erhöhtem Gefährdungspotenzial
- Aufdecken von Kreuzallergien gegen ubiquitär vorkommende Moleküle sowie
- Identifikation Familien- oder Spezies-spezifischer, primärer Sensibilisierungen

Die Ergebnisse gestatten eine präzisere Diagnostik, z. B. bei der Auswahl geeigneter Allergenquellen (z. B. Pollenextrakte) für die Allergen-Immuntherapie polysensibilisierter Patienten, für die gezielte Abklärung von Nahrungsmittel- und Insekten-

► **Tab. 3** Testindikation für spezifische IgE-Bestimmung und diagnostische Vorteile bei Verwendung von Allergenmolekülen (Auswahl von Soforttyp-Allergenen mit Herkunft und Kurzbeschreibung).

	Test-Indikation	Allergene* (Art, Proteinfamilie)	Allergenquelle	Eigenschaften der Allergenmoleküle	Diagnostische Vorteile gegenüber der Allergenquelle
I.	Unterrepräsentierte bzw. fehlende Allergene im Extrakt	Alpha-GAL (Glykolipid-CCD)*	z. B. rotes Fleisch	tierische kreuzreaktive Kohlenhydratdeterminante (CCD)	↑ Sensitivität
		Api m 10 (Icarapine)	Bienengift	Major-Allergen mit geringem Anteil am Bienengiftprotein	
		Gly m 4 (PR10-Familie)	Sojabohne	thermo- und säurelabiles Bet v 1-homologes Protein mit geringem Anteil am Gesamtprotein	
		Tri a 19 (Gliadin)	Weizen	Omega-5-Gliadin: schlecht wasserlösliches und daher schlecht extrahierbares Protein	
II.	Risiko-assoziierte Allergene	Ana o 3 (2S-Albumin)	Cashewkerne	hohe Stabilität und großer Anteil am Gesamtprotein; assoziiert mit anaphylaktischen Reaktionen bei primärer Nahrungsmittelallergie	↑ Spezifität
		Ara h 2 (2S-Albumin)	Erdnuss		
		Cor a 14 (2S-Albumin)	Haselnuss		
		Jug r 1 (2S-Albumin)	Walnuss		
		Ses i 1 (2S-Albumin)	Sesam		
III.	Indikatoren für IgE-vermittelte Kreuzreaktionen	Bet v 2/Phl p 12 (Profiline)	Birken-/Gräserpollen	Ubiquitär vorkommende Minorallergene (Panallergene) in sämtlichen Pollen und vielen pflanzlichen Nahrungsmitteln	↑ Sensitivität u. ↑ Spezifität
		Bet v 4/Phl p 7 (Polcalcine)	Birken-/Gräserpollen	Ubiquitär vorkommende Minorallergene (Panallergene, Ca ²⁺ -bindende Proteine) in sämtlichen Pollen	
		Bet v 7 (Cyclophiline)	Birkenpollen	Ubiquitär vorkommende vorkommende Minorallergene (Panallergene) in allen Pollen, Nahrungsmitteln, Schimmelpilzen u. v. a. Organismen	
		Fel d 2 (Serumalbumine)	Katze	Ubiquitär vorkommendes Transportprotein; in Säugetieren hohe strukturelle Ähnlichkeit	
IV.	Marker-Allergene als Hinweis auf eine primäre Sensibilisierung	Amb a 1 (Pectatlyase)	Ambrosiapollen	Major-Allergen in Ambrosia	↑ Spezifität
		Art v 1 (Defensine)	Beifußpollen	Major-Allergen im Beifuß	
		Bet v 1 (PR-10-Familie)	Birkenpollen	Major-Allergen in Buchengewächsen	
		Ole e 1 (Olive Gruppe 1)	Olivenbaumpollen	Major-Allergen in Oliven- u. ähnlich in Eschenpollen	
		Phl p 1 (Beta-Expansin)	Lieschgraspollen	Major-Allergen in Gräserpollen (Pooideae)	
		Gad c 1 (Parvalbumine)	Dorsch	Major-Allergen in sämtlichen Fischen	
		Pen a 1 (Tropomyosine)	Garnele	Major-Allergen in Krustentieren	

* Allergenbezeichnungen gemäß offizieller IUIS-WHO Allergendatenbank (<http://allergen.org/>)



giftallergien und andere komplexe klinische Fragestellungen. Bei molekularer Allergiediagnostik sind Interpretation der erzielten Resultate und die sich anschließende Relevanzprüfung anspruchsvoll und Aufgabe des behandelnden Arztes.

Für die Prävention oder Therapie IgE-vermittelter Reaktionen und Erkrankungen stehen bisher keine zugelassenen, molekular definierten, rekombinant hergestellten Allergenpräparate zur Verfügung. Aktuelle Entwicklungen verfolgen diverse Ansätze mit dem Ziel, im Menschen anhaltende Immuntoleranz gegenüber molekular definierten Allergenen zu erzeugen.

Danksagung

Das Manuskript ist meinen klinischen Mentoren – Prof. em. Dr. med. habil. Gert Kunkel (Berlin) und Prof. em. Dr. med. habil. Uwe-Frithjof Haustein (Markkleeberg bei Leipzig) – gewidmet.

Interessenkonflikt

Jörg Kleine-Tebbe bezieht neben Einnahmen aus selbständiger Praxis- und klinischer Forschungstätigkeit Autorenhonorare (Allergopharma, Dustri-Verlag, Springer International, Springer Medizin, Thieme Verlag), Vortragshonorare (Allergopharma, Allergy Therapeutics, ALK-Abelló, AstraZeneca, Bencard, Dr. Pflieger, HAL Allergy, InfectoPharm, Leti, Lofarma, Novartis, Roxall, Sanofi, Stallergenes-Greer, ThermoFisher), institutionelle Forschungsmittel (Allergopharma, ALK-Abelló, HAL Allergy, Glaxo, LETI, Novartis, Paraxel International, Stallergenes-Greer) und Beratungshonorare (Allergen Online – Allergen-Datenbank, Allergy Therapeutics, Bencard, ALK-Abelló, Circassia, LETI, Lofarma, Merck (US), Novartis, Sanofi, Stallergenes-Greer, ThermoFisher).

Autor



Jörg Kleine-Tebbe

Prof. Dr. med., Allergie- u. Asthma-Zentrum Westend, Praxis Hanf, Ackermann & Kleine-Tebbe, Berlin, www.allergie-experten.de

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. Jörg Kleine-Tebbe

Allergie- u. Asthma-Zentrum Westend
Praxis Hanf, Ackermann & Kleine-Tebbe
Spandauer Damm 130, Haus 9
14050 Berlin
Deutschland
kleine-tebbe@allergie-experten.de
www.allergie-experten.de

Literatur

- [1] Chan SK, Pomés A, Hilger C et al. Keeping Allergen Names Clear and Defined. *Front Immunol* 2019; 10: 2600. doi:10.3389/fimmu.2019.02600

- [2] Radauer C. Navigating through the Jungle of Allergens: Features and Applications of Allergen Databases. *Int Arch Allergy Immunol* 2017; 173: 1–11. doi:10.1159/000471806
- [3] Trautmann A, Kleine-Tebbe J. *Allergologie in Klinik und Praxis. Allergene – Diagnostik – Therapie*. 3. Aufl. Stuttgart: Thieme; 2017. doi:10.1055/b-004-140676
- [4] Matricardi PM, Kleine-Tebbe J, Hoffmann HJ et al. EAACI Molecular Allergy User's Guide. *Pediatr Allergy Immunol* 2016; 27 (Suppl. 23): 1–250. doi:10.1111/pai.12563
- [5] Kleine-Tebbe J, Jakob T, Hrsg. *Molekulare Allergiediagnostik*. Berlin,-Heidelberg: Springer; 2015. doi:10.1007/978-3-662-45221-9
- [6] Ansoategui IA, Giovanni Melioli G, Canonica GW et al. A WAO – ARIA – GA²LEN consensus document on molecular-based allergy diagnosis (PAMD@): Update 2020. *World Allergy Organ J* 2020; 13: 100091. doi:10.1016/j.waojou.2019.100091
- [7] Kleine-Tebbe J, Jakob T. Molecular allergy diagnostics using IgE singleplex determinations: methodological and practical consideration for use in clinical routine – Part 18 of the Series Molecular Allergy. *Allergo J Int* 2015; 24: 185–197
- [8] Siroux V, Ballardini N, Soler M et al. The asthma-rhinitis multimorbidity is associated with IgE polysensitization in adolescents and adults. *Allergy* 2018; 73: 1447–1458
- [9] Dramburg S, Matricardi PM. Molecular Diagnosis of Allergy: The Pediatric Perspective. *Front Pediatr* 2019; 7: 369. doi:10.3389/fped.2019.00369
- [10] Zhernov Y, Curin M, Khaitov M et al. Recombinant allergens for immunotherapy: state of the art. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2019; 19: 402–414. doi:10.1097/ACI.0000000000000536