



# **TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN**

**Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie am Biederstein**

**(Direktor: Prof. Dr. Tilo Biedermann)**

## **Der prognostische Wert von Serumproteinen und klinischen Parametern bei atopischem Ekzem im Kindesalter**

**Baghin Veronika**

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der Medizinischen Wissenschaft (Dr.med.sci.) genehmigten Dissertation.

Vorsitzende: Prof. Dr. Angela Krackhardt

Prüfer der Dissertation:

1. Prof. Dr. Kilian Eyerich, Ph.D.
2. Prof. Dr. Carsten Schmidt-Weber

Die Dissertation wurde am 26.05.2020 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 07.10.2020 angenommen.

## ZUSAMMENFASSUNG

Das atopische Ekzem (AE) gehört zu den häufigsten chronischen Erkrankungen im Kindesalter, beginnt in den meisten Fällen in den ersten Lebensjahren und kann innerhalb einiger Jahre abheilen oder einen chronischen Verlauf einnehmen. Bislang ist die Vorhersage des individuellen Erkrankungsverlaufs nur bedingt anhand von vorbeschriebenen Risikofaktoren (z.B. positive Familienanamnese für atopische Erkrankungen) für eine Erkrankungspersistenz bis zum Schulalter möglich. Da es von hoher klinischer Relevanz ist, Kinder mit einem erhöhten Risiko für einen längeren AE Verlauf frühzeitig zu erkennen, wurde in dieser Arbeit der prognostische Wert von Serumproteinen und klinischen Parametern untersucht.

Im ersten Teil der Arbeit wurde ex vivo die Stabilität von einigen bei AE vorbeschriebenen Serummarkern evaluiert. Dabei ergaben sich Hinweise auf eine gute Kurz- sowie Langzeitstabilität von CCL5, CCL17 und CCL22. Im zweiten Teil der Arbeit wurde eine retrospektive, monozentrische Studie durchgeführt. In dieser Studie wurde retrospektiv der Erkrankungsverlauf von 124 pädiatrischen AE Patienten erhoben und das Serum dieser aus einer frühen Erkrankungsphase mittels Luminex Technologie untersucht. Hier wurden mehrere Serumproteine mit Assoziation zum Erkrankungsverlauf identifiziert. So zeigten Patienten mit AE Persistenz bis zum 7. Lebensjahr in frühen Erkrankungsphasen signifikant höhere Serumkonzentrationen an INF- $\gamma$  sowie IL-7 im Vergleich zu Patienten mit AE Remission vor dem 7. Lebensjahr. Patienten mit einer AE Remission vor dem 7. Lebensjahr hingegen zeigten in frühen Erkrankungsphasen signifikant höhere Serumkonzentrationen an CCL22 sowie VEGF im Vergleich zu Patienten mit AE Persistenz bis zum 7. Lebensjahr. Auch konnten anhand einer Cluster-Analyse Endotypen der Erkrankung mit Assoziation zum Erkrankungsverlauf identifiziert werden. So war eine Kombination aus erhöhten Serumkonzentrationen an Gesamt- IgE, spezifischen- IgE, IL-17, IL-9, CCL17, CCL22 und MIP-1 $\beta$  in frühen Erkrankungsphasen mit einer AE

Persistenz bis zum 7. Lebensjahr assoziiert. Die Kombination erhöhter Serumkonzentrationen an VEGF und TIMP-1 in frühen Erkrankungsphasen waren hingegen mit einer AE Remission vor dem 7. Lebensjahr assoziiert. Des Weiteren wurden mehrere klinische Faktoren mit Assoziation zum Erkrankungsverlauf identifiziert. Patienten, deren AE Läsionen durch Stress und/oder Wetterveränderungen und/oder Pollenexposition verschlechtert wurden, hatten ein deutlich höheres Risiko für eine Erkrankungspersistenz bis zum 7. Lebensjahr. Eine schwere Erkrankungsausprägung im 3. Lebensjahr sowie die Entwicklung von atopischen Komorbiditäten im Verlauf waren ebenfalls mit einer Erkrankungspersistenz bis zum 7. Lebensjahr assoziiert. Zudem wurde ein Prognosemodell etabliert, welches anhand von wenigen klinischen Parametern und der Serumkonzentration von einigen Zytokinen den AE Verlauf (Persistenz vs. Remission) bis zum 7. Lebensjahr vorhersagen kann.

Zusammenfassend wurden in dieser Arbeit mehrere Parameter mit prognostischem Wert für den natürlichen Verlauf eines AE im Kindesalter identifiziert. Eine frühe Risikostratifizierung von AE Patienten ist von sehr hoher klinischer Relevanz.

# INHALTSVERZEICHNIS

<b>Einleitung</b>	<b>9</b>
<b>Überblick über das Immunsystem der Haut</b>	<b>9</b>
<b>Atopisches Ekzem (AE)</b>	<b>13</b>
Epidemiologie und Verlauf	13
Ätiopathogenese	14
Klinik	17
Therapie	19
Serummarker	20
<b>Zielsetzung der Arbeit</b>	<b>23</b>
<b>Material und Methodik</b>	<b>24</b>
<b>Überblick</b>	<b>24</b>
<b>Ethik</b>	<b>24</b>
<b>Teil 1- Evaluation der Stabilität von Serummarkern</b>	<b>25</b>
Methoden	25
Versuche	26
<b>Teil 2- Monozentrische, retrospektive Studie</b>	<b>28</b>
Studienpopulation	28
Studiendesign	29
Luminex	30
Radio- Allergo- Sorbent- Test (RAST)	30
Retrospektive Datenerfassung	31
<b>Statistische Methoden</b>	<b>33</b>
<b>Ergebnisse</b>	<b>35</b>

<b>Teil 1- Evaluation der Stabilität von Serummarkern</b>	<b>35</b>
Die Kurzzeitstabilität von IL-31, CCL5, CCL17 und CCL22	35
Die Langzeitstabilität von IL-4, CCL5, CCL17 und CCL22	38
<b>Teil 2- Die retrospektive, monozentrische Studie</b>	<b>39</b>
Charakterisierung der Studienpopulation	39
Charakterisierung der Subpopulation mit AE Persistenz bis zum 7. Lebensjahr	41
Clustering	43
Klinische Risikofaktoren für eine AE Persistenz bis zum 7. Lebensjahr	46
Prognosemodell	47
<b>Diskussion</b>	<b>49</b>
<b>Der Erkrankungsverlauf in der Studienpopulation</b>	<b>50</b>
<b>Die Stabilität von Serummarkern</b>	<b>51</b>
<b>Serumproteine mit prognostischem Wert bei AE</b>	<b>52</b>
<b>Klinische Faktoren mit prognostischem Wert bei AE</b>	<b>55</b>
<b>Limitationen der Arbeit</b>	<b>56</b>
<b>Klinische Relevanz der Ergebnisse und Ausblick</b>	<b>56</b>
<b>Danksagung</b>	<b>58</b>
<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>59</b>
<b>Anhang</b>	<b>68</b>
Ergebnisse	68
Klinischer Fragebogen	72

## ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1- Differenzierungsbedingungen, Phänotypen und Leitzytokine der CD4-positiven T- Zellen. _____	11
Abbildung 2- Die ätiopathogenetischen Säulen von AE. _____	16
Abbildung 3- Die Therapie von AE. _____	20
Abbildung 4- Die Studienpopulation. _____	28
Abbildung 5- Das Studiendesign. _____	29
Abbildung 6- Retrospektive Datenerfassung. _____	32
Abbildung 7- Die Kurzzeitstabilität von IL-31. _____	35
Abbildung 8- Die Kurzzeitstabilität von CCL5. _____	36
Abbildung 9- Die Kurzzeitstabilität von CCL17. _____	37
Abbildung 10- Die Kurzzeitstabilität von CCL22. _____	37
Abbildung 11- Die Langzeitstabilität von CCL17. _____	38
Abbildung 12- Die Langzeitstabilität von IL-4, CCL5, CCL17 und CCL22. _____	38
Abbildung 13- Das Alter der Studienteilnehmer bei AE Beginn. _____	39
Abbildung 14- AE Status im 7. Lebensjahr. _____	39
Abbildung 15- Die Entwicklung von allergischer Rhinitis in der Studienpopulation. ____	40
Abbildung 16- Die Entwicklung von allergischem Asthma in der Studienpopulation. ____	40
Abbildung 17- Die 3 Cluster innerhalb der Studienpopulation (re) und der Sihouette Plot (li). _____	43
Abbildung 18- Heatmap der drei Cluster. _____	45
Abbildung 19- Expressionsprofile von Serumproteinen mit Assoziation zum Erkrankungsverlauf. _____	45
Abbildung 20- Das Prognosemodell. _____	48
Abbildung 21- Ampel- System zur Abschätzung des individuellen Risiko für eine AE Persistenz bis zum 7. Lebensjahr. _____	57

## TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1- Signifikante Konzentrationsunterschiede von Serumproteinen in der Studienpopulation in Abhängigkeit des Erkrankungsverlaufs bis zum 7. Lebensjahr. ___	42
Tabelle 2- Klinische Risikofaktoren für eine AE Persistenz im 7. Lebensjahr. _____	46
Tabelle 3- Klinische Eigenschaften der Studienpopulation. _____	68
Tabelle 4- Klinische Eigenschaften der Studienpopulation in Abhängigkeit des Erkrankungsverlaufs bis zum 7. Lebensjahr. _____	69
Tabelle 5- Laborchemische Eigenschaften der Studienpopulation in Abhängigkeit des Erkrankungsverlaufs bis zum 7. Lebensjahr (Teil 1). _____	69
Tabelle 6- Laborchemische Eigenschaften der Studienpopulation in Abhängigkeit des Erkrankungsverlaufs bis zum 7. Lebensjahr (Teil 2). _____	70
Tabelle 7- Klinische und laborchemische Eigenschaften der drei Cluster. _____	71

## VERZEICHNIS DER ABKÜRZUNGEN

<u>Abkürzung</u>	<u>Bedeutung</u>
AE	Atopisches Ekzem
ADHS	Aufmerksamkeitsdefizit-Störung mit Hyperaktivität
AMP	Antimikrobielle Peptide
APC	Antigenpräsentierenden Zellen
CCL	CC- Chemokine- Ligand
CCR4-	C-C-Chemokinrezeptor Typ 4
CL	Cluster
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
FACS	Fluorescence-activated cell sorting
FGF- $\beta$	Fibroblast growth factor- $\beta$
G-CSF	Granulocyte Colony stimulating factor
GM-CSF	Granulocyte macrophage colony stimulating factor
IFN- $\gamma$	Interferon gamma
IL-	Interleukin
IL-1RA	Interleukin-1 receptor antagonist
ILC	Innate lymphoide Zellen
IP-10	Interferon gamma-induced protein 10
MCP-1	Monocyte chemoattractant protein- 1
MIP	Macrophage inflammatory protein
NGF	Nerve growth factor
PDGF- BB	Platelet-derived growth factor BB
RAST	Radio- Allergo- Sorbent- Test
SCORAD	Score of Atopic Dermatitis
SP	Subpopulation
TH Zelle	T-Helfer-Zelle
TIMP	Tissue inhibitors of metalloproteinases
TNF- $\alpha$	Tumornekrosefaktor- $\alpha$
TSLP	Thymic stromal lymphopoietin
VEGF	Vascular endothelial growth factor

## Einleitung

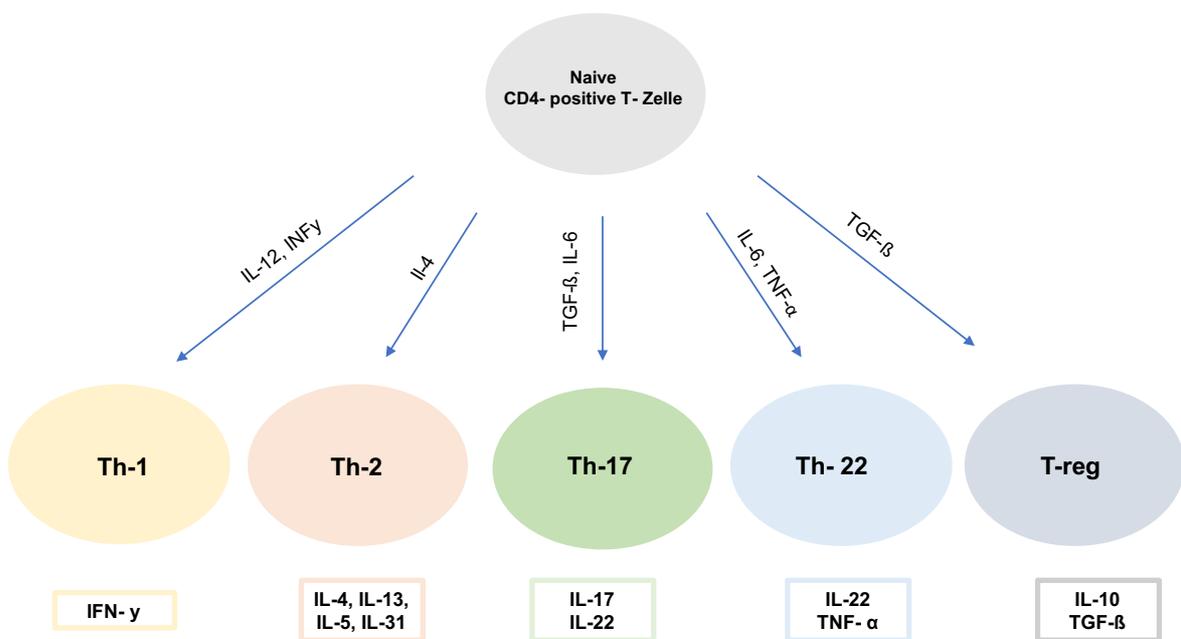
### Überblick über das Immunsystem der Haut

In der Haut sind innate und adaptive Immunzellen gemeinsam mit Keratinozyten sowie kommensalen Bakterien des Hautmikrobioms an der Abwehr von pathogenen Erregern beteiligt.

Keratinozyten sind der Hauptbestandteil der Epidermis und exprimieren an ihrer Oberfläche Mustererkennungsrezeptoren, sog. pattern- recognition- patterns (PRR), welche durch pathogen associated molecular patterns (PAMPs) und danger associated molecular patterns (DAMPs) aktiviert werden (Nestle, Di Meglio et al. 2009). PAMPs sind hochkonservierte Bestandteile von Erregern und DAMPs sind Toxine sowie Moleküle, die von nekrotischen Zellen freigesetzt werden. Je nach Aktivierungsart setzen Keratinozyten Zyto- sowie Chemokine frei, welche die Rekrutierung sowie Aktivierung von weiteren Immunzellen induzieren (Nestle, Di Meglio et al. 2009). In der Epidermis befinden sich weiterhin Langerhanszellen, die wie dermale dendritische Zellen (dDC) zu den antigenpräsentierenden Zellen (APC) gehören. Sie sind über die Aufnahme und Prozessierung von Antigenen an der Aktivierung von CD4- sowie CD8- positiven T- Zellen in den regionalen Lymphknoten beteiligt (Atmatzidis, Lambert et al. 2017). CD4-positive T- Zellen sind an der Aktivierung und Verstärkung von Immunprozessen beteiligt und bilden eine heterogene Zellpopulation. Man unterscheidet zwischen verschiedenen Phänotypen, die durch Stimulierung von naiven CD4-positiven T- Zellen mit unterschiedlichen Zytokinen entstehen. Jeder Phänotyp hat einen charakteristischen Mastertranskriptionsfaktor, der bei Aktivierung der Zelle die Produktion von bestimmten Zytokinen induziert. T-Helfer 1 Zellen (Th1-Zellen) entstehen unter dem Einfluss von IL-12 und IFN- $\gamma$  und haben als Mastertranskriptionsfaktor T-bet (Zhang, Zhang et al. 2014). Ihr Leitzytokin ist IFN- $\gamma$ , welches in Plasmazellen die Produktion von IgG induziert und

Makrophagen sowie CD8-positive T-Zellen aktiviert (Raphael, Nalawade et al. 2015). Makrophagen phagozytieren Erreger sowie nekrotische Zellen und setzen je nach Mikromilieu, in dem sie sich befinden, unterschiedliche Moleküle frei. So produzieren sie bei Stimulation durch Tumor-Nekrose-Faktor (TNF) und Interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) proinflammatorische Zytokine (Mosser and Edwards 2008) wohingegen sie unter dem Einfluss von IL-4 Bestandteile der extrazellulären Matrix sezernieren (Kreider, Anthony et al. 2007). Zytotoxische CD8-positive T-Zellen hingegen erkennen infizierte und transformierte Zellen über ihren spezifischen T-Zell-Rezeptor und zerstören diese durch die Freisetzung von zytotoxischen Substanzen oder durch Aktivierung des Fas-Rezeptors. Des Weiteren inhibiert IFN- $\gamma$  die Proliferation von CD4-positiven T-Helfer 2 Zellen (Th2-Zellen) (Oriss, McCarthy et al. 1997). Th2-Zellen entstehen unter dem Einfluss von IL-4 und haben als Mastertranskriptionsfaktor GATA3 (Zhang, Zhang et al. 2014). Ihre Leitzytokine sind IL-4, IL-5 und IL-13 (Raphael, Nalawade et al. 2015). IL-4 und IL-13 induzieren in Plasmazellen die Produktion von IgE-Antikörpern und inhibieren in den Keratinozyten die Expression von AMP (Howell, Gallo et al. 2006). IL-5 ist an der Rekrutierung von eosinophilen Granulozyten beteiligt (Wynn 2015). Auch inhibieren die Leitzytokine von Th2-Zellen die Proliferation von Th1-Zellen (Wynn 2015). Des Weiteren gibt es T-Helfer 17 Zellen (Th17-Zellen), welche unter dem Einfluss der proinflammatorischen Moleküle IL-6 und transforming growth factor  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) entstehen und ROR $\gamma$ t als Mastertranskriptionsfaktor haben (Korn, Bettelli et al. 2009). Sie sezernieren IL-22 und IL-17, welche die Expression von AMP in Keratinozyten induzieren (Liang, Tan et al. 2006). IL-17 ist auch an der Rekrutierung von neutrophilen Granulozyten beteiligt (Eyerich, Traidl-Hoffmann et al. 2017), welche ihre Wirkung über die Phagozytose von Erregern sowie die Freisetzung von Proteasen entfalten. IL-22 stimuliert die Proliferation von Keratinozyten und wird gemeinsam mit TNF- $\alpha$  auch von T-Helfer 22 Zellen (Th22-Zellen) gebildet; diese Subpopulation von CD4-positiven T-Zellen entsteht

unter dem Einfluss von IL-6 und TNF- $\alpha$  (Eyerich, Eyerich et al. 2009). Unter dem Einfluss von TGF- $\beta$  entstehen die regulatorischen T-Helfer Zellen (T-reg), welche als Mastertranskriptionsfaktor FoxP3 haben und die immunmodulierende Zytokine IL-10 und TGF- $\beta$  produzieren (Eyerich and Eyerich 2018).



**Abbildung 1- Differenzierungsbedingungen, Phänotypen und Leitzytokine der CD4- positiven T- Zellen.**

Th= CD4- positive T- Helfer Zelle. T-reg= Regulatorische CD4- positive T- Zelle.

Mod. nach: [https://www.trillium.de/zeitschriften/trillium-immunologie/archiv-trillium-immunologie/trillium-immunologie\\_ausgaben-2018/heft-12018/aus-der-grundlagenforschung/lymphozytensubpopulationen-in-der-allergie.html](https://www.trillium.de/zeitschriften/trillium-immunologie/archiv-trillium-immunologie/trillium-immunologie_ausgaben-2018/heft-12018/aus-der-grundlagenforschung/lymphozytensubpopulationen-in-der-allergie.html) (letzter Aufruf am 23.11.19).

Auch lassen sich in der Haut lymphoide Zellen (ILC) der angeborenen Immunabwehr nachweisen, die morphologisch Lymphozyten ähneln aber keinen antigenspezifischen Rezeptor haben (van de Poel 2013). Sie bilden eine heterogene Zellpopulation und lassen sich analog zu CD4 positiven T-Helfer-Zellen je nach sezernierten Zytokinen in unterschiedliche Subpopulationen einteilen. Man unterscheidet zwischen ILC1, ILC2 und

ILC3. Im aktivierten Zustand produzieren ILC1 TNF und INF $\gamma$ , ILC2 IL-4, IL-5 und IL-13 und ILC3 IL-17 und IL-22 (Ebbo, Crinier et al. 2017).

Das Hautmikrobiom besteht aus Millionen von Mikroorganismen (Bakterien, Pilze und Viren) und hat bei jedem Individuum eine unterschiedliche Zusammensetzung (Byrd, Belkaid et al. 2018). Die Hauptbestandteile des Hautmikrobioms sind kommensale Bakterien, wie beispielweise Staphylokokken und Propionibakterien, die über direkte und indirekte Mechanismen die Proliferation von pathogenen Erregern verhindern. Es wurde gezeigt, dass mehrere kommensale Bakterien (insbesondere *Staphylokokkus epidermidis*) die Bildung von IL-17 sezernierenden T- Zellen induzieren (Naik, Bouladoux et al. 2015). IL-17 ist ein wichtiges Zytokin im Rahmen der unspezifischen Abwehr von Erregern, da es in Keratinozyten die Expression von antimikrobiellen Peptiden (AMP), wie humanes  $\beta$ -Defensin 2 (hBD-2), induziert (Schroder 2011). Diese Peptide sind in der Lage zahlreiche Gram + und Gram - Bakterien, Viren und Pilze zu töten (Schroder 2011). Es gibt Hinweise darauf, dass kommensale Bakterien Resistenzmechanismen gegen AMP haben und somit von dieser innate Immunreaktion unbeeinflusst bleiben (Cullen, Schofield et al. 2015). Auch sind gewisse kommensale Bakterien in der Lage die AMP Produktion in den Keratinozyten direkt zu induzieren und bakterizide Stoffe zu produzieren (Lai, Cogen et al. 2010). So wurde beobachtet, dass *Staphylokokkus epidermidis* und *Staphylokokkus hominis*, ein hochpotentes Peptid bilden, welches selektiv *Staphylokokkus aureus* tötet (Nakatsuji, Chen et al. 2017). Auch *Staphylokokkus lugdunensis* kann durch die Bildung des Antibiotikum Lugdunin die Proliferation von *Staphylokokkus aureus* inhibieren (Zipperer, Konnerth et al. 2016).

## **Atopisches Ekzem (AE)**

### Epidemiologie und Verlauf

Das atopische Ekzem (AE) ist in den westlichen Industrienationen mit einer Prävalenz von 10-30% im Kindes- (Deckers, McLean et al. 2012) und von bis zu 10% im Erwachsenenalter (Silverberg and Hanifin 2013) eine häufige chronisch entzündliche Hauterkrankung. Im Kindesalter ist sie in Deutschland die häufigste chronische Erkrankung überhaupt (Schmitt, Schmitt et al. 2009). In den letzten Jahrzehnten wurde global eine Zunahme der Erkrankungshäufigkeit beobachtet (Deckers, McLean et al. 2012). Eine mögliche Erklärung hierfür bietet die Hygiene-Hypothese. Diese postuliert, dass die heutige Population aufgrund der verbesserten Hygieneverhältnissen weniger Kontakt zu Erregern hat und die Folge davon eine verminderte Aktivität der im Kontext von AE protektiven Typ-1 Immunität ist (Tulic, Wale et al. 2000). Für diese Hypothese spricht eine breit angelegte Beobachtungsstudie, die gezeigt hat, dass Kinder, die auf einem Bauernhof aufwachsen, seltener Erkrankungen aus dem atopischen Formenkreis entwickeln (Riedler, Braun-Fahrlander et al. 2001).

AE beginnt in den meisten Fällen in den ersten Lebensjahren (Bieber 2012) und kann innerhalb einiger Jahre abheilen oder einen chronisch rezidivierenden Verlauf einnehmen (Kim, Chao et al. 2016) (Illi, von Mutius et al. 2004). Warum nur bei einigen Patienten die Erkrankung innerhalb weniger Jahre remittiert, ist nicht bekannt. (Illi, von Mutius et al. 2004) zeigten eine Erkrankungspersistenz im 7. Lebensjahr bei ca. 60% der Patienten mit AE Beginn in den ersten Lebensjahren. Eine aktuellere Metaanalyse hingegen zeigte AE Remissionsraten von 80% bis zum 8. Lebensjahr (Kim, Chao et al. 2016). Hoher sozioökonomischer Status, weibliches Geschlecht, positive Familienanamnese für atopische Erkrankungen, schwerer Erkrankungsverlauf und das Vorliegen von erhöhten IgE- Konzentrationen in frühen Erkrankungsphasen wurden als Risikofaktoren für eine AE

Persistenz bis zum Schulalter beschrieben (Illi, von Mutius et al. 2004) (Guo, Tseng et al. 2015) (Kim, Chao et al. 2016) (Thorsteinsdottir, Stokholm et al. 2019).

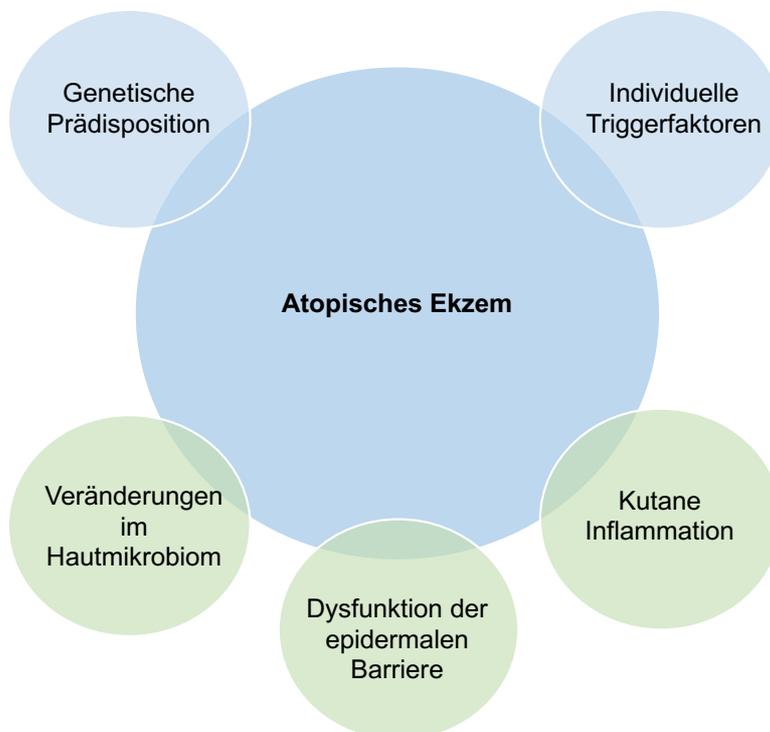
### Ätiopathogenese

Die genaue Ursache dieser vielschichtigen und komplexen Erkrankung ist nicht bekannt. Genetische Faktoren sowie Umwelteinflüsse spielen bei der Entstehung und Aufrechterhaltung eine wichtige Rolle. Genomweite Assoziationsstudien haben zahlreiche Gene erkannt, die mit AE assoziiert sind (Hirota, Takahashi et al. 2012) (Weidinger, Willis-Owen et al. 2013) (Paternoster, Standl et al. 2015). Einige dieser Gene, wie beispielsweise TSLP und STAT3, kodieren für Bestandteile des Immunsystems, andere hingegen, wie beispielsweise XIRP2 und FLG, kodieren für Bestandteile der epidermalen Barriere (Weidinger, Beck et al. 2018). Die stärkste genetische Assoziation zur Erkrankung haben die Funktionsverlustmutationen im FLG-Gen, die das Risiko einer AE Entwicklung bei einem heterozygoten Mutationsträger um ca. das 3-fache erhöhen (Rodriguez, Baurecht et al. 2009). Funktionsverlustmutationen im FLG-Gen führen zu einem Mangel an Filaggrin in den Keratinozyten. Das Fehlen dieses Strukturproteins geht mit einer Dysfunktion der epidermalen Barriere einher. Die Erkrankungsschübe werden bei jedem Patienten durch unterschiedliche Umweltfaktoren (z.B. Wetterveränderungen, Textilien, Allergene, etc.) ausgelöst.

AE Läsionen sind durch Veränderungen im Hautmikrobiom, einer Dysfunktion der epidermalen Barriere und einer kutanen Inflammation charakterisiert. Das Mikrobiom von AE Läsionen ist durch eine reduzierte Bakterienvielfalt sowie einer vermehrten Besiedlung mit *Staphylococcus aureus* charakterisiert (Higaki, Morohashi et al. 1999) (Kong, Oh et al. 2012). Es ist bis heute nicht bekannt, ob die veränderte Mikrobiomzusammensetzung die Ursache oder die Folge der kutanen Inflammation ist. Für die Theorie, dass die Proliferation von *Staphylococcus aureus* eine Folge der kutanen Inflammation ist, spricht

die Tatsache, dass IL-4 und IL-13, welche reichlich in AE Läsionen vorhanden sind, die Expression von AMP in Keratinozyten hemmen (Howell, Gallo et al. 2006) (Eyerich, Pennino et al. 2009). Weiterhin reduzieren IL-4 und IL-13 die Expression von Fillagrin in den Keratinozyten (Howell, Kim et al. 2007); ein Mangel an Abbauprodukten dieses Strukturproteins führt zu einer pH Erhöhung im Stratum corneum, welche die Proliferation von Staphylokokkus aureus begünstigt (Irvine, McLean et al. 2011). Möglicherweise führt aber auch das Fehlen von gewissen kommensalen Bakterien, die selektiv gegen Staphylococcus aureus gerichtete Antibiotika produzieren, zu einer verstärkten Proliferation des Bakteriums (Zipperer, Konnerth et al. 2016) (Nakatsuji, Chen et al. 2017). Staphylococcus aureus setzt Proteasen (Nakatsuji, Chen et al. 2016) und Toxine (Berube and Bubeck Wardenburg 2013) frei, welche die Integrität epidermalen Barriere schädigen. Die epidermale Barriere besteht aus einem klar strukturierten Verbund von Keratinozyten, die zu kernlosen Korneozyten heranreifen. Die Korneozyten bilden gemeinsam mit den sie umgebenden Lipidlamellen die äußerste Schicht der epidermalen Barriere (Stratum corneum). Die epidermale Barriere schützt durch ihren geordneten Aufbau vor transepidermalem Wasserverlust (Seidenari and Giusti 1995) und der Penetration von exogenen Molekülen über die Haut in den Körper (Fallon, Sasaki et al. 2009). Äußere Faktoren wie Kratzen und aggressive Seifen sowie wie oben beschrieben die Produkte von Staphylococcus aureus können die Integrität der epidermalen Barriere schädigen. Auch können genetische Mutationen (Paternoster, Standl et al. 2015) sowie Veränderungen im Glukokortikoidhaushalt bei Stress (David Boothe, Tarbox et al. 2017) über eine verminderte Expression von Strukturproteinen in den Keratinozyten zu einer Dysfunktion der epidermalen Barriere führen. In diesem Zusammenhang spielen auch IL-4 und IL-13 eine wichtige Rolle, da sie in Keratinozyten die Expression von Strukturproteinen hemmen (Pellerin, Henry et al. 2013) und die Expression von Proteasen, die Zellverbindungen degradieren, induzieren (Morizane, Yamasaki et al.

2012). Keratinozyten setzen bei Schädigung der epidermalen Integrität proinflammatorische Mediatoren, wie TSLP und IL-33, frei (Weidinger, Beck et al. 2018). TSLP stimuliert über die Aktivierung von dendritischen Zellen die Bildung von Th2- Zellen (Soumelis, Reche et al. 2002), welche das Entzündungsgeschehen in akuten AE Läsionen dominieren. IL- 33 hingegen aktiviert ILC2- Zellen, die durch die Produktion von IL-5 und IL-13 die Typ 2- Immunantwort verstärken (Imai 2019). Im Rahmen der starken Inflammation werden Autoantigene frei, welche die Bildung von Th1-, Th17- und Th22- Zellen induzieren (Hradetzky, Roesner et al. 2014). Diese Zelltypen orchestrieren gemeinsam mit Th2- Zellen das Entzündungsgeschehen in chronischen AE Läsionen. Passend dazu zeigte sich in der Histologie von chronischen AE Läsionen eine Hyperplasie der Epidermis (Weidinger, Beck et al. 2018); IL-22, das sowohl von Th-17 als auch von Th-22 Zellen gebildet wird, stimuliert nämlich die Proliferation von Keratinozyten (Eyerich, Eyerich et al. 2009).



**Abbildung 2- Die ätiopathogenetischen Säulen von AE.**

## Klinik

Im Allgemeinen haben die Patienten mit AE eine trockene Haut (Xerosis cutis) und häufig auch krankheitsspezifische Stigmata, wie das Dennie Morgan Zeichen (doppelte Unterlidfalte) und das Hertoghe- Zeichen (laterale Ausdünnung der Augenbraue). Individuelle Triggerfaktoren (wie beispielweise Stress oder Wetterveränderungen) führen zu akuten Läsionen der Erkrankung, die durch ein nässendes, häufig mit Kratzexkoriationen versehenes Ekzem charakterisiert sind und im Verlauf chronifizieren können. Die chronischen AE Läsionen sind typischerweise lichenifiziert und weisen Hyperpigmentationen auf. Je nach Alter sind unterschiedliche Körperpartien vorrangig von der Erkrankung betroffen. So zeigen Säuglinge hauptsächlich erythematöse Plaques im Gesichtsbereich, am Stamm und an den Extensorenseiten wohingegen Kinder und Jugendliche akute sowie chronische Läsionen insbesondere in den Gelenkbeugen entwickeln.

Das Leitsymptom der Erkrankung ist ein starker und quälender Juckreiz (Pruritus). Dieses Symptom wird über histaminabhängige sowie histaminunabhängige Mechanismen ausgelöst. Histamin wird im Rahmen der kutanen Inflammation von aktivierten Mastzellen und basophilen Granulozyten freigesetzt und bindet an den Histaminrezeptoren (Typ 1 und Typ 4) auf sensorischen C- Fasern (Weidinger, Beck et al. 2018). Auch induziert Histamin durch die Bindung an dem Histaminrezeptor Typ 4 auf Th-2 Zellen die Bildung von IL-31 (Gutzmer, Mommert et al. 2009). IL-31 sowie IL-4 und TSLP, die in hohen Konzentrationen in AE Läsionen vorhanden sind, aktivieren ihrerseits direkt die sensorischen C- Fasern in der Haut, welche die Juckreizempfindung zum zentralen Nervensystem weiterleiten (Wilson, The et al. 2013) (Mollanazar, Smith et al. 2016). Des Weiteren sezernieren die sensorischen Nervenendigungen bei Aktivierung durch die oben genannten Mediatoren Substanz P, welches durch die Bindung an den Neurokinin-17

Rezeptor auf Immunzellen die weitere Bildung von Entzündungsmediatoren, die an der Aufrechterhaltung der Juckreizempfindung beteiligt sind, induziert (Mollanazar, Smith et al. 2016).

Die Diagnose AE wird anhand der typischen Klinik nach den Kriterien von Hanifin und Rajka (Hanifin JM 1980) gestellt. Nur in unklaren Fällen und bei Verdacht von Differenzialdiagnosen wird diese durch eine histologische Probe gesichert (Werfel, Heratizadeh et al. 2015). Der Schweregrad des Ekzems wird mit dem SCORAD (SCORing Atopic Dermatitis) Wert abgeschätzt. Diese untersucherabhängige Bewertungsmethode beurteilt neben der Ausdehnung und Intensität der Läsionen die subjektive Symptomatik des Patienten (Juckreiz und Schlafverlust) (J.F. Stalder 1993). Bei einem Scorad Wert <25 liegt eine leichte Form, bei einem Scorad Wert zwischen 25 und 60 Punkten eine mittelschwere Form und bei einem Scorad Wert >60 eine schwere Form der Erkrankung vor. Im klinischen Alltag ist diese Schweregradeinteilung insbesondere im Rahmen der Therapieentscheidung sowie des Therapiemonitorings relevant.

AE Patienten haben ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung von kutanen Infektionen, wie Impetigo contagiosa durch *Staphylococcus aureus*, Dellwarzen durch das *Molluscum-contagiosum*- Virus und Ekzema herpeticatum durch Herpes simplex Viren. Die erhöhte Suszeptibilität für kutane Infektionen beruht einerseits auf die gestörte Integrität der Epidermis, die die Ausbreitung von Erregern begünstigt, und andererseits auf die verminderte Synthese von AMP durch die Keratinozyten im Th-2 Zell dominierten entzündlichen Milieu bei AE.

## Therapie

Die Therapie von AE umfasst sowohl im Kindes- als auch im Erwachsenenalter neben der Identifizierung und Meidung von individuellen Triggerfaktoren der Erkrankung topische sowie systemische Behandlungen.

Die wichtigste Säule in der Behandlung von AE ist die Basistherapie. Die Basistherapie sieht die tägliche Anwendung von topischen Urea- oder Glycerin- oder Ceramid- haltigen Mitteln am gesamten Integument vor, welche die epidermale Barrierefunktion günstig beeinflussen und somit zur Einsparung von weiteren topischen immunmodulierenden Produkten führen (Chylla, Schnopp et al. 2018). Für die selektive topische Behandlung von ekzematösen Hautarealen werden Glukokortikoide und Calcineurininhibitoren eingesetzt. Topische Steroide wirken immunsuppressiv (Coutinho and Chapman 2011) und haben ein geringes Nebenwirkungsprofil. Topische Calcineurininhibitoren wirken ebenfalls über die Hemmung der T- Zell Aktivierung (Nakahara, Morimoto et al. 2018) immunsuppressiv und werden v.a. am im Gesichts- und Genitalbereich eingesetzt, da sie im Unterschied zu topischen Glukokortikoiden keine Hautatrophie verursachen. Beide topischen Präparate werden sowohl bei der Behandlung von akuten Läsionen als auch in der Erhaltungsphase im Sinne einer proaktiven Therapie eingesetzt. Bei der proaktiven Therapie wird die topische Therapie nach Abklingen des Ekzems in niedrigerer Dosierung fortgeführt; es konnte gezeigt werden, dass dank dieser Erhaltungstherapie die beschwerdefreien Intervalle länger bleiben (Wollenberg and Bieber 2009). Bei schweren AE Manifestationen werden topische Behandlungen mit systemischen Therapien kombiniert. Im Kindesalter geschieht dies in seltenen Fällen; bei schweren therapierefraktären AE Formen kann jedoch in dieser Altersklasse eine off- label Therapie mit Ciclosporin versucht werden (Werfel, Heratizadeh et al. 2015). Im Erwachsenenalter ist Ciclosporin hingegen für die systemische Behandlung von AE zugelassen (Werfel, Heratizadeh et al. 2015). Bei Unwirksamkeit von Ciclosporin können im Erwachsenenalter

off- label auch weitere immunsupprimierende Therapien (z.B. mit Methotrexat oder Azathioprin) eingesetzt werden (Werfel, Heratizadeh et al. 2015). Des Weiteren ist im Erwachsenenalter bei schweren AE Formen auch die Phototherapie zugelassen (Werfel, Heratizadeh et al. 2015). Neben diesen Therapien ist bei AE ab 12 Jahren die Behandlung mit Dupilumab zugelassen. Dupilumab ist ein humaner monoklonaler Antikörper, der an der  $\alpha$ - Untereinheit des IL-4 Rezeptors (IL4R $\alpha$ ) bindet und dadurch IL-4 und IL-13 Signalwege inhibiert (Chovatiya and Silverberg 2019). Aktuell ist Dupilumab das einzige bei AE zugelassene Biologikum (Werfel, Heratizadeh et al. 2015). Die Forschung in diesem Bereich ist sehr aktiv, sodass man vermuten kann, dass in wenigen Jahren zahlreiche weitere Präparate für die gezielte Behandlung von AE vorliegen werden (Weidinger, Beck et al. 2018). Die Forschung an neuen Therapien für AE befasst sich außerdem mit dem Hautmikrobiom: Neue Studien zeigten, dass die topische Applikation von gewissen kommensalen Bakterien auf AE Läsionen mit einer Reduktion der Staphylococcus aureus Besiedlung (Nakatsuji, Chen et al. 2017) und einer wesentlichen Besserung der Klinik assoziiert war (Nakatsuji T 2018).

<p><b>Topische Präparate</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Basistherapie</li> <li>• Glukokortikoide</li> <li>• Calcineurininhibitoren</li> </ul>	<p><b>Systemische Präparate</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Ciclosporin</li> <li>• Andere Immunsuppressiva: Azathioprin, etc.</li> <li>• Dupilumab</li> </ul>	<p><b>Gegenstand der Forschung</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Weitere Biologika</li> <li>• Hautmikrobiomtransplantation</li> </ul>
---	--	--

**Abbildung 3- Die Therapie von AE.** Die Therapie umfasst topische sowie systemische Behandlungen. Die aktuellen Forschungsschwerpunkte in diesem Gebiet sind die Entwicklung von neuen Therapien mit Biologika sowie der potentielle Einsatz von Hautbakterien für therapeutische Zwecke.

### Serummarker

In den letzten Jahren haben mehrere Studien gezeigt, dass AE im Kindes- und im Erwachsenenalter mit einer systemischen Entzündung einhergeht (Thijs, Strickland et al. 2017) (Brunner, Suarez-Farinas et al. 2017) (Thijs, Strickland et al. 2018) (Brunner, He et al. 2018)

Der prognostische Wert von Serumproteinen und klinischen Parametern bei atopischem Ekzem im Kindesalter

al. 2019). Im Serum von adulten AE Patienten wurden im Vergleich zu gesunden Kontrollen erhöhte Konzentrationen an Th1-, Th2-, Th17- und Th22-assoziierten Zytokinen nachgewiesen (Brunner, Suarez-Farinas et al. 2017). Auch hatten diese Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollen höhere Serumkonzentrationen an Proteinen, die an der Angiogenese (VEGF) und am Gewebeumbau (TIMP) beteiligt sind (Brunner, Suarez-Farinas et al. 2017). Pädiatrische AE Patienten in frühen Erkrankungsstadien zeigten im Vergleich zu gesunden Kontrollen hingegen erhöhte Konzentrationen an Th2- und Th17-Zell assoziierten Zytokinen (Brunner, He et al. 2019). Auch hatten diese Patienten höhere Serumkonzentrationen an Wachstumsfaktoren sowie Proteinen mit Beteiligung am Gewebeumbau im Vergleich zu gesunden Kontrollen (Brunner, He et al. 2019). Ausgehend von diesen Erkenntnissen wurde bei adulten AE Patienten untersucht, ob auf serologischer Ebene unterschiedliche Endotypen der Erkrankung vorliegen. Anhand einer Clusteranalyse konnten in einer adulten AE Population mit mittelschwerer bis schwerer Erkrankungsprägung 4 Endotypen der Erkrankung identifiziert werden (Thijs, Strickland et al. 2017). Jeder Endotyp zeigte ein charakteristisches Serumproteinexpressionsprofil (Thijs, Strickland et al. 2017). So war beispielsweise Endotyp 1 durch hohe Konzentrationen an Th-2 Zytokinen, TIMP-1 sowie CCL18 und Endotyp 3 durch geringe Konzentrationen an Th-2 Zytokinen und epithelialen Zytokinen (TSLP, IL-33) charakterisiert (Thijs, Strickland et al. 2017). Eine Stratifizierung von pädiatrischen AE Patienten anhand von Serumproteinen wurde bislang nicht durchgeführt. Auch wurde noch nicht untersucht, ob Serumproteine einen prognostischen Wert haben. Es wurde lediglich gezeigt, dass pädiatrische AE Patienten mit erhöhten IgE-Konzentrationen in frühen Erkrankungsphasen ein höheres Risiko für einen längeren Erkrankungsverlauf haben (Illi, von Mutius et al. 2004) (Guo, Tseng et al. 2015).

In mehreren Studien wurde außerdem untersucht, ob Serumproteine zur Objektivierung der Erkrankungsschwere genutzt werden können. Bislang wird nämlich die Erkrankungsschwere bei AE mit subjektiven Bewertungsmethoden (z.B. SCORAD) beurteilt. Es wurden mehrere Serummarker (NGF, Substanz P, IL- 31, CCL17, CCL22) mit positiver Korrelation zwischen Konzentration und Erkrankungsschwere (Toyoda, Nakamura et al. 2002) (Raap, Wichmann et al. 2008) (Nakazato, Kishida et al. 2008) identifiziert; in einer Metaanalyse wurde gezeigt, dass die Konzentration von CCL17, welches in der Chemotaxis von Th2- Zellen eine wichtige Rolle spielt (Saeki and Tamaki 2006), am Besten mit Schweregrad der Erkrankung korreliert (Thijs, Krastev et al. 2015). Auch bei Kindern (v.a. wenn eine Sensibilisierung gegen Nahrungsmittel- oder Aeroallergenen vorliegt) korreliert dieser Serummarker gut mit dem Schweregrad der Erkrankung (Ahrens, Schulz et al. 2015). Eine Ausnahme stellen Kleinkinder in den ersten 6 Monaten nach Erkrankungsbeginn dar, bei welchen eine bessere positive Korrelation zwischen dem Schweregrad der Erkrankung und der Serumkonzentration des IL-33 Rezeptors gezeigt werden konnte (Brunner, He et al. 2019).

IgE- Antikörper sind bislang bei AE die einzigen im klinischen Alltag etablierten Serummarker. Diese werden im Rahmen der Routinediagnostik zur Differenzierung zwischen extrinsischer (IgE Konzentration > 100 IU/ml und/ oder dem Nachweis von spezifischen IgE) und intrinsischer Form der Erkrankung sowie zum Nachweis von Sensibilisierungen gemessen (Werfel, Heratizadeh et al. 2015).

## **Zielsetzung der Arbeit**

Das atopische Ekzem (AE) gehört zu den häufigsten chronischen Erkrankungen im Kindesalter, beginnt in den meisten Fällen in den ersten Lebensjahren und kann innerhalb einiger Jahre abheilen oder einen chronischen Verlauf einnehmen. Bislang ist die Vorhersage des individuellen Erkrankungsverlaufs nur bedingt anhand von vorbeschriebenen Risikofaktoren für eine Erkrankungspersistenz bis zum Schulalter möglich. Da es von hoher klinischer Relevanz ist, Kinder mit einem erhöhten Risiko für einen längeren AE Verlauf frühzeitig zu erkennen, wurde in dieser Arbeit der prognostische Wert von Serumproteinen und zahlreichen klinischen Parametern untersucht.

## **Material und Methodik**

### **Überblick**

Die vorliegende Arbeit gliedert sich in 2 Teile. Im ersten Teil wurde die Kurzzeit- sowie die Langzeitstabilität von einigen bei AE vorbeschriebenen Serummarkern evaluiert. Im zweiten Teil wurde eine monozentrische, retrospektive Studie zur Untersuchung des prognostischen Wertes von Serumproteinen und klinischen Parametern durchgeführt.

### **Ethik**

Die Durchführung der Arbeit wurde durch die Ethikkommission der medizinischen Fakultät des Klinikums Rechts der Isar genehmigt (Projekt- Nummer 408/17S). Die Erziehungsberechtigten, der in der retrospektiven Studie eingeschlossenen Patienten, haben mit der Unterschrift der Einverständniserklärung der Teilnahme an der Studie zugestimmt.

## Teil 1- Evaluation der Stabilität von Serummarkern

### Methoden

Da im zweiten Teil der Arbeit Serumproben untersucht wurden, die bereits seit mehreren Jahren in der klinikinternen Biobank gelagert wurden, wurde in diesem Teil der Arbeit *ex vivo* die Stabilität von bei AE vorbeschriebenen Serummarkern (IL-4, IL-31, CCL5, CCL17, CCL22) evaluiert (Ahrens, Schulz et al. 2015) (Nakazato, Kishida et al. 2008) (Matsumoto, Miike et al. 1991) (Kaburagi, Shimada et al. 2001) (Raap, Wichmann et al. 2008). Die Konzentrationsmessungen der Analyten erfolgten mit ELISA und Luminex.

*ELISA*- Das Enzyme-linked Immunosorbent Assay ist ein antikörperbasiertes Verfahren zur Ermittlung von Analytkonzentrationen in Körperflüssigkeiten wie Serum. Dabei wird das Untersuchungsmaterial mit einer mit gegen einem bestimmten Analyten gerichteten Fangantikörpern beschichteten Platte inkubiert, welche im Anschluss zur Elimination von nicht gebundenen Molekülen gewaschen wird. Daraufhin wird die Platte mit einem Detektionsantikörper inkubiert, welcher ebenfalls spezifisch an das zu bestimmende Analyt bindet. Die Detektionsantikörper sind mit einem Enzym gekoppelt, das in einem letzten Schritt eine Farbreaktion katalysiert, über welche photometrisch die Konzentration (pg/ml) des zu bestimmenden Analyten ermittelt wird.

*Luminex*- Luminex ist eine innovative Technologie, welche durch ein Hybridsystem aus Elementen der ELISA- und FACS Methodik in geringen Probenvolumina die Bestimmung der Konzentration von mehreren Analyten gleichzeitig ermöglicht. Bei diesem Verfahren werden zunächst beads mit unterschiedlicher Fluoreszenzfärbung, an welche Fangantikörper gekoppelt sind, mit dem Patientenserum inkubiert. Jeder Fluoreszenzfarbe entspricht ein Fangantikörper gegen ein bestimmtes Analyt. Daraufhin

werden spezifische Detektionsantikörper hinzugefügt, welche an die Zielanalyten binden. Ein 2- teiliges Lasersystem kann anhand des Streptavidin PE Signals und der unterschiedlichen Fluoreszenzfarben der beads die Konzentration (pg/ml) der unterschiedlichen Analyten bestimmen.

### Versuche

Zuerst wurde die Kurzzeitstabilität von IL-4, IL-31, CCL5, CCL17 und CCL22 untersucht. Hiermit wurde evaluiert, ob die Verweildauer der Serumproben vor dem Einfrieren eine Auswirkung auf die Konzentration der Analyten hat. Dafür wurde 3 adulten Patienten mit akuter AE Exazerbation und 3 adulten gesunden Kontrollen Blut (Serum- Gel-Monovetten) abgenommen. Das Blut wurde im Durchschnitt 30 min nach der Abnahme bei 1.500 U/min 10 min lang zentrifugiert und das daraus gewonnene Serum anschliessend auf jeweils 3 Röhrchen aufgeteilt; das erste Röhrchen wurde unmittelbar danach, das zweite nach 6h Verweildauer unter Raumtemperatur und das dritte nach 24h Verweildauer bei 4°C bei -80°C eingefroren. Alle Proben wurden nach wenigen Wochen mit folgenden ELISA Kits nach Herstellerangaben untersucht:

- Human IL-4 (BD OptEIA™)
- Human IL-31 (R&D Systems):
- Human CCL5/ RANTES (R&D Systems)
- Human CCL17/ TARC (R&D Systems)
- Human CCL22/ MDC (R&D Systems)

Dann wurde die Langzeitstabilität von IL-4, CCL5, CCL17 und CCL22 untersucht. Hiermit wurde evaluiert, ob die Verweildauer der Serumproben über mehrere Jahre bei -80°C eine Auswirkung auf die Konzentration der Analyten hat. In der retrospektiven Studie

wurden nämlich Serumproben analysiert, welche mehrere Jahre bei -80°C gelagert worden waren. Dabei wurde in zufällig ausgewählten Serumproben von adulten AE Patienten, welche zwischen 2005 und 2016 in der klinikinternen Biobank (Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie am Biederstein in München) aufgenommen und bei -80°C eingefroren worden waren, die Konzentration von CCL17 mittels ELISA nach Herstellerangaben (Human CCL17/ TARC, R&D Systems) ermittelt. Auch wurde in zufällig ausgewählten Serumproben von pädiatrischen AE Patienten, welche zwischen 2005 und 2016 in der klinikinternen Biobank (Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie am Biederstein in München) aufgenommen und bei -80°C eingefroren worden waren, die Konzentration von IL-4, CCL5, CCL17 und CCL22 mittels Luminex System von Bio- Rad (Hercules, CA, U.S.A.) ermittelt. Da IL-31 nicht im Luminex Panel enthalten war, konnte die Langzeitstabilität dieses Zytokins nicht untersucht werden.

## Teil 2- Monozentrische, retrospektive Studie

Diese Studie wurde von Anfang 2017 bis Mitte 2018 an der Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie am Biederstein in München durchgeführt und hatte die Untersuchung des prognostischen Wertes von Serummarkern und klinischen Parametern bei AE im Kindesalter zum Ziel.

### Studienpopulation

Zwischen 2005 und 2011 wurde 248 Kleinkindern (0-47 Monate), die aufgrund von atopischem Ekzem in der Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie am Biederstein in München behandelt wurden, einmalig Blut für die Routine- und Allergiediagnostik abgenommen. Ein Teil dieses Blutes wurde als Serum in der klinikinternen Biobank bei -80°C aufbewahrt. Alle Patienten, deren Serumprobe die Auswahlkriterien (d.h. Diagnose AE und Alter bei Blutentnahme 0-47 Monate) erfüllte, wurden kontaktiert. 124 dieser Patienten konnten in die Studie eingeschlossen werden; die restlichen (n=124) aus unterschiedlichen Gründen (n=11 Teilnahme abgelehnt, n=113 erfolglose telefonische und postalische Kontaktaufnahme) nicht.

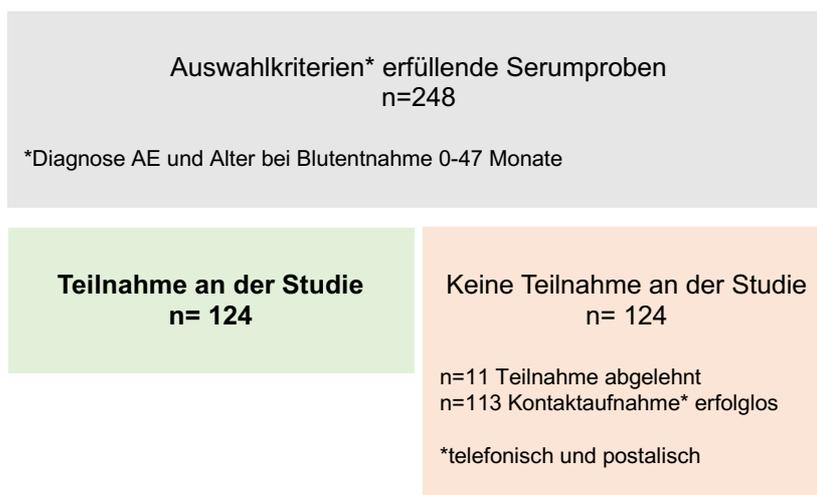
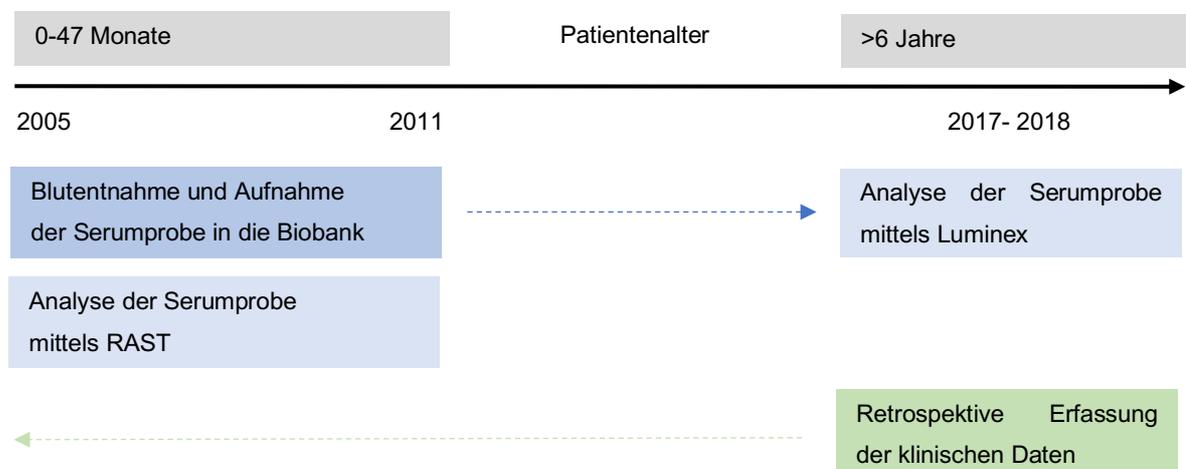


Abbildung 4- Die Studienpopulation.

## Studiendesign

Die Studie umfasst einen experimentellen Teil, bei welchem die Serumproben, welche zwischen 2005 und 2011 gesammelt und bis zum Zeitpunkt der Analysen bei -80°C in der klinikinternen Biobank aufbewahrt worden sind, im Frühjahr 2017 mittels Luminex analysiert wurden. Diese Serumproben wurden außerdem im Rahmen der Routinediagnostik vor dem Einfrieren mittels Radio-Allergo-Sorbent-Test (RAST) untersucht. Im klinischen Teil der Studie hingegen wurde von Anfang 2017 bis Mitte 2018 der Erkrankungsverlauf der Studienteilnehmer retrospektiv erhoben. Alle Studienteilnehmer waren zum Zeitpunkt der Erfassung der klinischen Daten 7 Jahre oder älter. Der primäre Endpunkt der Studie war die AE Persistenz im 7. Lebensjahr. Als AE Persistenz wurde das Vorliegen von AE Läsionen im 7. Lebensjahr definiert; eine AE Remission hingegen lag vor, wenn die Patienten im 7. Lebensjahr seit mindestens 12 Monaten keine AE Läsionen hatten.



**Abbildung 5- Das Studiendesign.** Die Akquise der Serumproben erfolgte in den ersten Lebensjahren der Studienteilnehmer, die zum Zeitpunkt der Blutabnahme bereits die Diagnose AE hatten. Die Serumproben wurden unmittelbar nach der Blutabnahme mittels RAST untersucht und dann über mehrere Jahre bei -80°C in der klinikinternen Biobank aufbewahrt. Die Analyse der Serumproben mittels LUMINEX erfolgte 2017. Zwischen 2017 und 2018 erfolgte außerdem die retrospektive Erfassung der klinischen Daten der Studienteilnehmer. RAST= Radio-Allergo-Sorbens-Test.

29

Der prognostische Wert von Serumproteinen und klinischen Parametern bei atopischem Ekzem im Kindesalter

## Luminex

Da von jedem Studienteilnehmer nur eine begrenzte Serummenge vorhanden war, wurde die Proben der Studienteilnehmer mit dem Luminex System von Bio- Rad (Hercules, CA, U.S.A.) nach Herstellerangaben untersucht. Dieses Verfahren erlaubt nämlich – im Unterschied zum ELISA- die Messung von mehreren Analyten gleichzeitig in geringen Probenvolumina. In den Serumproben der Studienteilnehmer erfolgte die Konzentrationsmessung von folgenden Proteinen: TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3, TIMP-4, IL9, IP-10, PDGF-BB, MIP-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ , IL-1RA, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IL-15, IL-17, Eotaxin, FGF- $\beta$ , G-CSF, GM-CSF, IFN- $\gamma$ , MCP-1, MIP-1 $\alpha$ , TNF-  $\alpha$ , VEGF, CCL5, CCL17, CCL22.

## Radio- Allergo- Sorbent- Test (RAST)

Das Serum der Studienteilnehmer wurde nach der Blutentnahme im Rahmen der Routine-Diagnostik der Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie am Biederstein in München mittels ImmunoCAP (Phadia Laboratory Systems, Uppsala, Sweden) oder Immulite 2000 Xpi (Siemens, Erlangen, Germany) untersucht. Mit diesen Verfahren wurde die totale IgE- Antikörper Konzentration (IU/ml) sowie die Konzentration von spezifischen IgE- Antikörpern (kU/l) gegen folgende häufige Allergene gemessen:

- Eiweiß
- Soja
- Kuhmilchprotein
- Erdnuss
- Karotte
- Weizen

- Banane
- Inhalations- Screen: Dermatophagoides pteronyssinus, Katzenepithel, Hundeschuppen, Lieschgras, Roggen, Cladosporium herbarum, Birke, Beifuß.

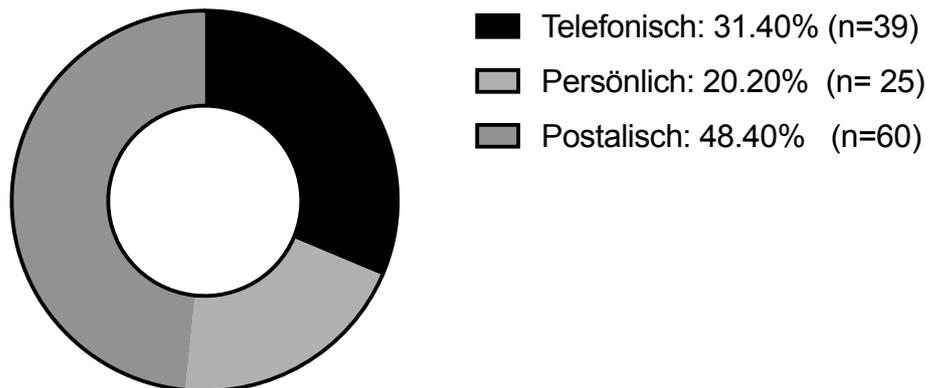
### Retrospektive Datenerfassung

Zur standardisierten, retrospektiven Erfassung von klinischen Informationen zum Erkrankungsverlauf der Studienteilnehmer wurde ein Fragebogen (siehe Anhang) mit Fragen zu folgenden Themenbereichen entwickelt:

- Familienanamnese zu Erkrankungen aus dem atopischen Formenkreis (AD, allergische Rhinitis und Asthma)
- Geschwister
- Haustiere
- Schwangerschaft und Geburt
- Stillen
- Milchschorf
- Beginn, Verlauf und aktueller Stand von AE
- Therapie
- Triggerfaktoren für Exazerbationen von AE
- Weitere Erkrankungen aus dem atopischen Formenkreis (allergische Rhinitis und Asthma)

Alle Familien der Studienteilnehmer wurden telefonisch kontaktiert und zu einer persönlichen Visite eingeladen. 25 Studienteilnehmer nahmen das Angebot der Visite wahr, bei welcher einerseits der aktuelle SCORAD erhoben und andererseits der Fragebogen gemeinsam mit den Studienteilnehmern und deren Erziehungsberechtigten

ausgefüllt wurde. Die weiteren 99 Studienteilnehmer konnten nicht persönlich vorstellig werden; 60 davon wurde der Fragebogen zum Ausfüllen mit frankiertem Rückumschlag nach Hause geschickt. Bei den restlichen 39 Studienteilnehmern erfolgte ein telefonisches Interview mit den Erziehungsberechtigten anhand des Fragebogens.



**Abbildung 6- Retrospektive Datenerfassung.** Die retrospektive Datenerfassung erfolgte persönlich bei 25 (20,2%) Studienteilnehmer, postalisch bei 60 (48,9%) Studienteilnehmer und durch ein telefonisches Interview bei 39 Studienteilnehmer (31,4%).

## Statistische Methoden

Die deskriptiven Auswertungen wurden in beiden Teilen der Arbeit mit dem Programmen Microsoft Excel und GraphPad Prism 8.00 (GraphPad Software, La Jolla, California) durchgeführt. Kategoriale Variablen wurden als absolute Häufigkeit und prozentualer Anteil angegeben. Numerische Variablen wurden hingegen als Mittelwert mit Standardabweichung oder Standardfehler des Mittelwerts angegeben. Zur Identifizierung von Faktoren mit Assoziation zu einer AE-Persistenz bis zum 7. Lebensjahr wurde die Studienpopulation in Abhängigkeit des Erkrankungsverlaufs auf 2 Gruppen aufgeteilt. Die 2 Gruppen (AE Persistenz bis zum 7. Lebensjahr vs. AE Remission vor dem 7. Lebensjahr) wurden auf Unterschiede bezüglich der Verteilung verschiedener Patientencharakteristika überprüft. Dabei wurden kategoriale Variablen mit dem  $\chi^2$ - Test und numerische Variablen mit dem Mann-Whitney U Test analysiert. Die Ergebnisse wurden als OR (odds ratio) mit einem 95%- Konfidenzintervall angegeben. Ein p-Wert  $\leq 0,05$  wurde als statistisch signifikant angenommen. Diese Analysen wurden von Natalie Garzorz- Stark mit dem Programm GraphPad Prism 7.00 (GraphPad Software, La Jolla, California) durchgeführt.

Die Cluster- Analyse wurde durch Natalie Garzorz- Stark und Paul Stark mit dem Programm Programm Python 3.6 (<http://www.python.org>) durchgeführt. Variablen mit mehr als 20 fehlenden Werten wurden von der Analyse ausgeschlossen. Wenn bei einer Variable weniger als 20 Werte gefehlt haben, wurden die fehlenden Werte mit dem k-nearest neighbors Algorithmus (KNN) definiert. Für die Analyse wurden 76 Variablen verwendet. Der Datensatz wurde zuerst mit der Methode Factor Analysis of Mixed Data (FAMD) auf zwei Ebenen reduziert und der so aufgearbeitete Datensatz wurde daraufhin mit Cluster- Algorithmus k- Means analysiert. Zur Evaluation der Qualität des Clusterings wurde eine Silhouettenanalyse durchgeführt. Die 3 Cluster wurden auf Unterschiede

bezüglich der Verteilung verschiedener Patientencharakteristika überprüft. Dabei erfolgte die Analyse von kategoriale Variablen mit dem  $\chi^2$ - Test und einer anschließenden Bonferroni- Korrektur. Die Analyse von numerischen Variablen hingegen wurde mit dem Kruskal-Wallis-Test und einem anschließenden Dunn's Test mit Bonferroni- Korrektur durchgeführt. Auch hier wurde ein p-Wert  $\leq 0,05$  als statistisch signifikant angenommen.

Das Prognosemodell wurde ebenfalls von Natalie Garzorz- Stark gemeinsam mit Paul Stark etabliert; dabei wurden im einem ersten Schritt anhand einer logistischen Regressionsanalyse 13 Variablen mit einem starken Zusammenhang zur Variable „AE Persistenz bis zum 7. Lebensjahr“ identifiziert. Ausgehend von diesen Variablen wurde mit dem Algorithmus Extreme Gradient Boosting das Modell (<https://arxiv.org/pdf/1603.02754.pdf>) erstellt. Dann wurde eine 5-fache Kreuzvalidierung durchgeführt.

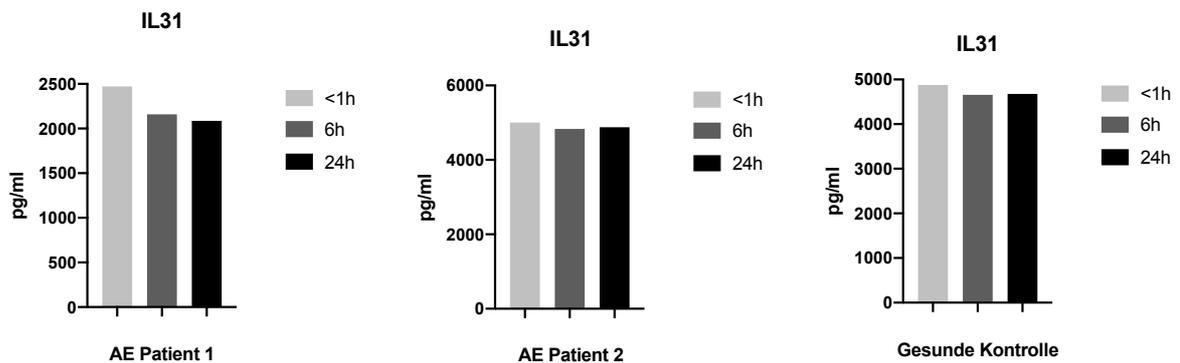
## Ergebnisse

### Teil 1- Evaluation der Stabilität von Serummarkern

#### Die Kurzzeitstabilität von IL-31, CCL5, CCL17 und CCL22

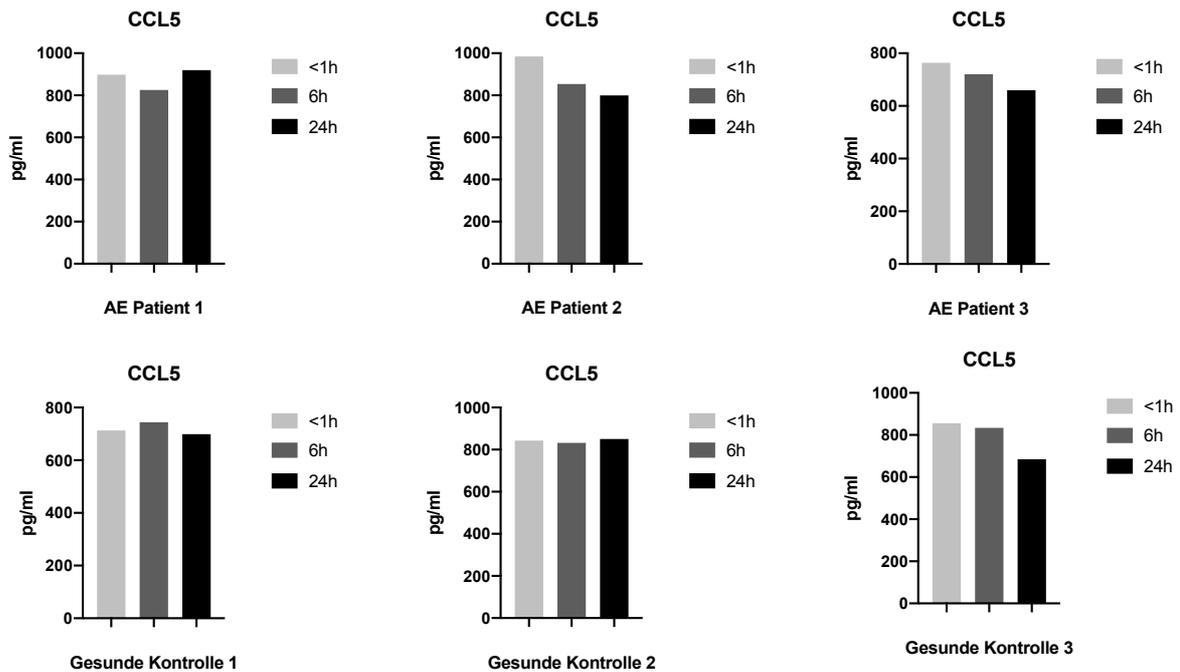
Die Kurzzeitstabilität von IL-4 konnte nicht evaluiert werden, da in den mittels ELISA untersuchten Serumproben Konzentrationen unter der Nachweisgrenze von 7,8 pg/ml gemessen wurden. IL-31 und CCL5 zeigten eine gute Kurzzeitstabilität.

Bei AE Patient 1 zeigte sich ein Konzentrationsabfall von IL-31 im Zeitraum von 6 Stunden. Bei AE Patient 2 und der gesunden Kontrolle konnte kein Konzentrationsabfall von IL-31 beobachtet werden.



**Abbildung 7- Die Kurzzeitstabilität von IL-31.** <1h, 6h, 24h = Lagerungszeit der Serumproben bei Raumtemperatur (bzw. bei 4°C für 24h) vor dem Einfrieren bei -80°C. AE Patient= adulter Patient mit AE Exazerbation.

AE Patient 1 und die gesunden Kontrollen 1 und 2 zeigten keine Konzentrationsabfälle von CCL5. Auch zeigte die gesunde Kontrolle 3 im Zeitraum von 6 Stunden keinen Konzentrationsabfall von CCL5. AE Patient 2 und 3 zeigten einen Konzentrationsabfall von CCL5 im Zeitraum von 6 und 24 Stunden.

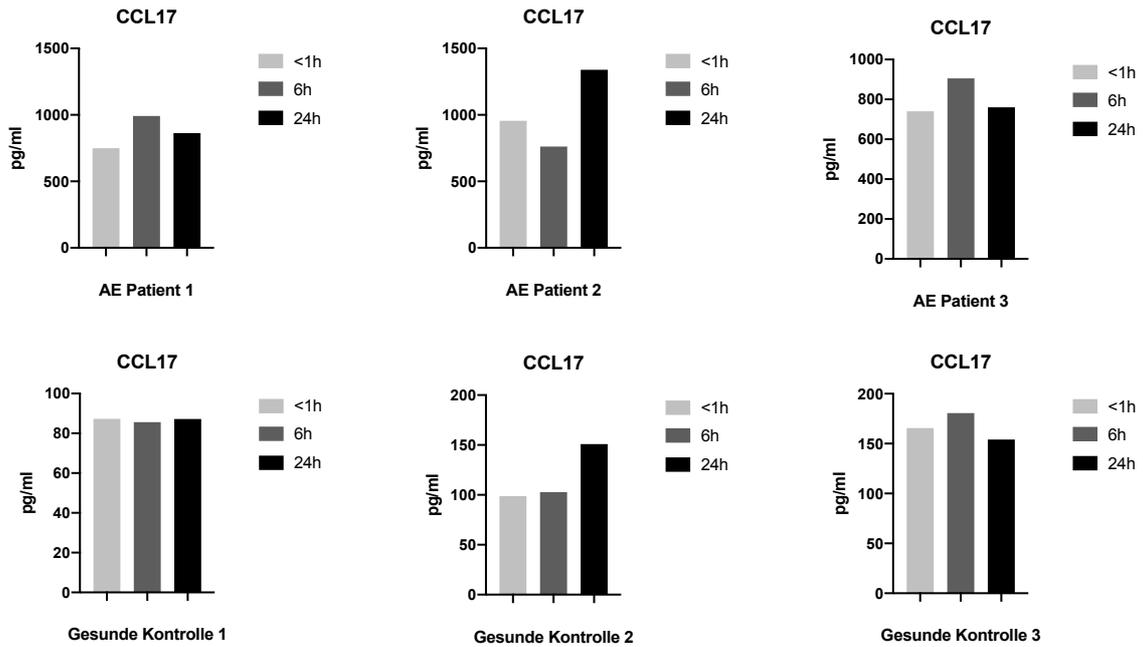


**Abbildung 8- Die Kurzzeitstabilität von CCL5.** <1h, 6h, 24h = Lagerungszeit der Serumproben bei Raumtemperatur (bzw. bei 4°C für 24h) vor dem Einfrieren bei -80°C. AE Patient= adulter Patient mit AE Exazerbation.

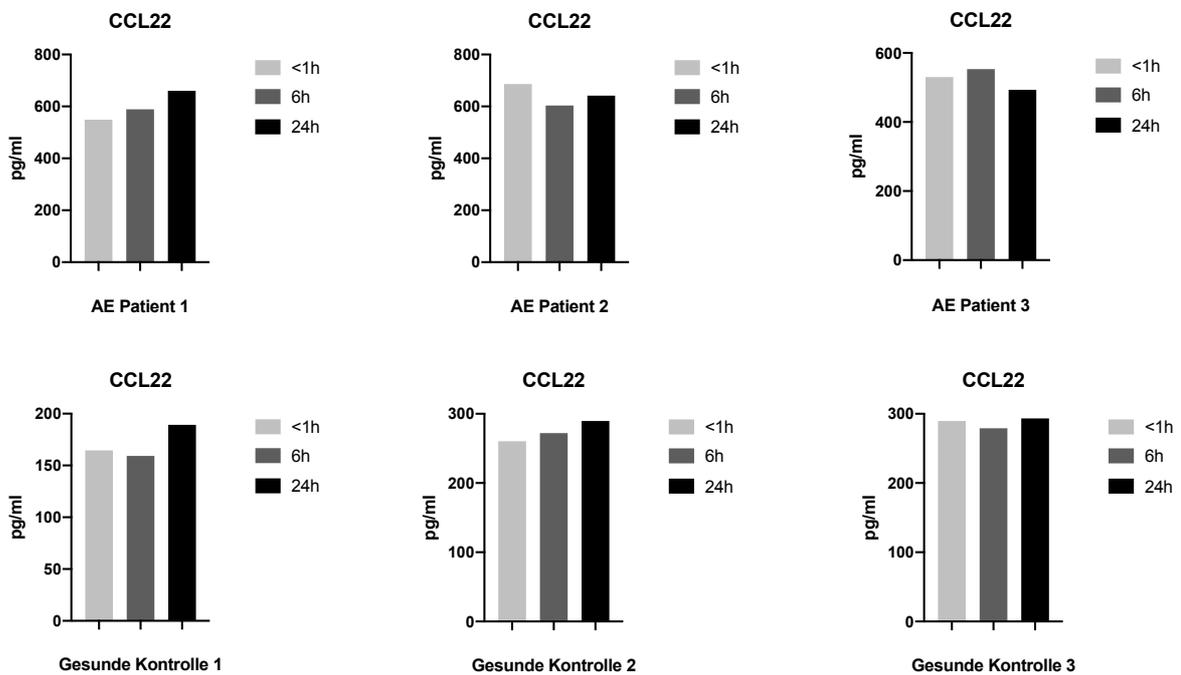
Im Allgemeinen zeigten auch CCL17 und CCL22 eine gute Kurzzeitstabilität; es konnte kein drastischer Konzentrationsabfall dieser Serummarker bei Zunahme der Lagerungszeit der Serumproben beobachtet werden. Dennoch zeigten sich bei beiden Serummarkern Konzentrationsschwankungen.

Die gesunde Kontrolle 1 zeigte stabile CCL17 Konzentrationen über beide Zeiträume. AE Patient 1, AE Patient 3 und die gesunde Kontrolle 3 zeigten eine Konzentrationszunahme an CCL17 bei einer Lagerungszeit der Serumprobe von 6 Stunden bei Raumtemperatur.

CCL22 zeigte eine gute Stabilität bei einer Lagerungszeit der Serumprobe von 6 Stunden bei Raumtemperatur. AE Patient 1 und die gesunden Kontrollen zeigten eine Konzentrationszunahme an CCL22 bei einer Lagerung der Serumproben für 24 Stunden bei -4°C.



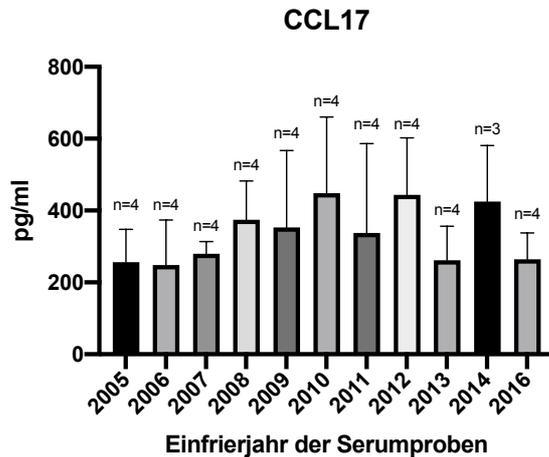
**Abbildung 9- Die Kurzzeitstabilität von CCL17.** <1h, 6h, 24h = Lagerungszeit der Serumproben bei Raumtemperatur (bzw. bei 4°C für 24h) vor dem Einfrieren bei -80°C. AE Patient= adulter Patient mit AE Exazerbation.



**Abbildung 10- Die Kurzzeitstabilität von CCL22.** <1h, 6h, 24h = Lagerungszeit der Serumproben bei Raumtemperatur (bzw. bei 4°C für 24h) vor dem Einfrieren bei -80°C. AE Patient= adulter Patient mit AE Exazerbation.

## Die Langzeitstabilität von IL-4, CCL5, CCL17 und CCL22

In den Messungen ergaben sich Hinweise auf eine Langzeitstabilität von IL-4, CCL5, CCL17 und CCL22.



**Abbildung 11- Die Langzeitstabilität von CCL17.** Die Konzentration von CCL17 wurde mittels ELISA in zufällig ausgewählten Serumproben von adulten AE Patienten, welche unterschiedlich lange bei -80°C gelagert wurden, gemessen.

Jahr, in dem die Serumprobe bei -80°C eingefroren wurde	Pat.- ID	[IL-4] pg/ml	[CCL5] pg/ml	[CCL17] pg/ml	[CCL22] pg/ml
2005	05 02993	5,6	22715,5	5795,1	30723,8
2006	06 02411	7,6	24480,0	3573,7	36931,5
2007	07 02304	5,6	10625,0	4934,8	17854,6
2008	08 02302	6,6	16800,0	5609,1	29511,2
2009	09 00402	8,8	19154,4	4482,7	28960,6
2010	10 02427	5,3	13078,6	5287,2	26113,7
2016	16 02603	7,0	13180,2	3680,3	21982,0

**Abbildung 12- Die Langzeitstabilität von IL-4, CCL5, CCL17 und CCL22.** Die Serumproben der verschiedenen pädiatrischen AE Patienten sind in unterschiedlichen Jahren eingefroren und zeitgleich 2017 mittels Luminex untersucht worden. Man erkennt interindividuelle Konzentrationsunterschiede; ein relevanter Konzentrationsabfall über die Jahre ist aber nicht ersichtlich.

## Teil 2- Die retrospektive, monozentrische Studie

### Charakterisierung der Studienpopulation

Die Mehrheit der Studienteilnehmer (86,3%) zeigte einen Erkrankungsbeginn im 1. Lebensjahr. Bei den restlichen Studienteilnehmern (13,7%) manifestierte sich die Erkrankung erstmalig im 2. oder im 3. Lebensjahr.

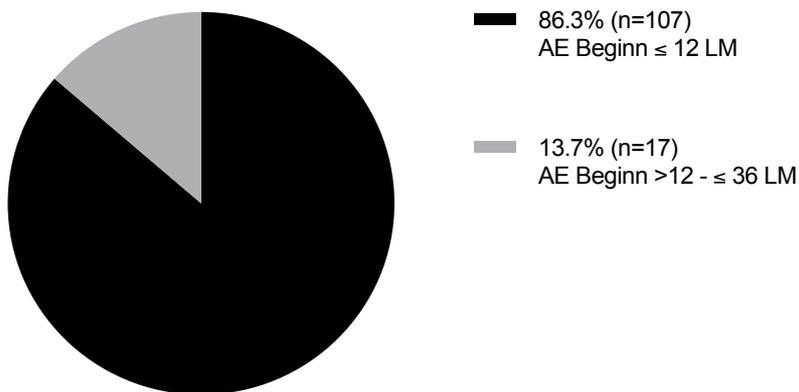


Abbildung 13- Das Alter der Studienteilnehmer bei AE Beginn.

Die Mehrheit der Studienteilnehmer (62,9%) zeigte eine AE Persistenz zum 7. Lebensjahr.

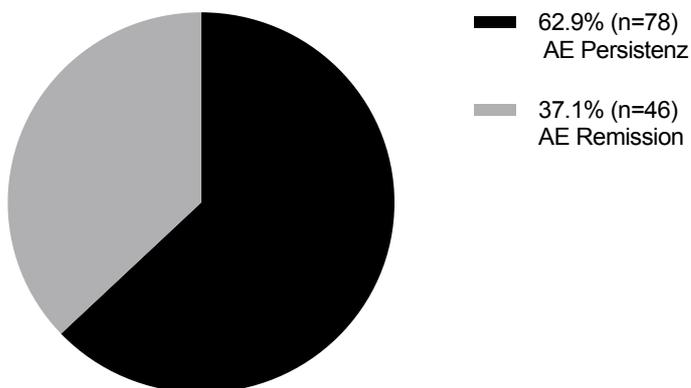
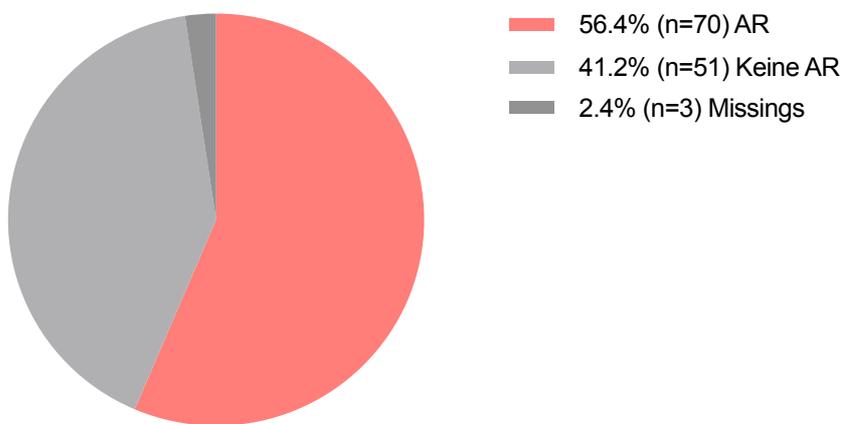


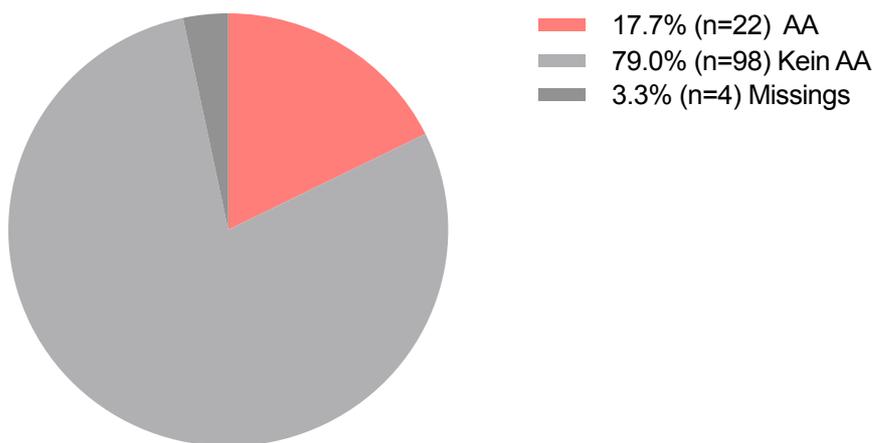
Abbildung 14- AE Status im 7. Lebensjahr.

Etwas mehr als die Hälfte der Studienteilnehmer entwickelten im Verlauf eine allergische Rhinitis.



**Abbildung 15- Die Entwicklung von allergischer Rhinitis in der Studienpopulation.**

22 Studienteilnehmer (17.7%) entwickelte im Verlauf ein allergischem Asthma.



**Abbildung 16- Die Entwicklung von allergischem Asthma in der Studienpopulation.**

Die gesamten klinischen Eigenschaften der Studienpopulation sind in Tabelle 3 (siehe Anhang) angeführt.

## Charakterisierung der Subpopulation mit AE Persistenz bis zum 7. Lebensjahr

Zunächst wurden die Eigenschaften der Subpopulation mit AE Persistenz bis zum 7. Lebensjahr analysiert. 62,9% (n=78) der Studienteilnehmer (n=124) zeigten eine AE Persistenz bis zum 7. Lebensjahr.

### *Klinische Eigenschaften*

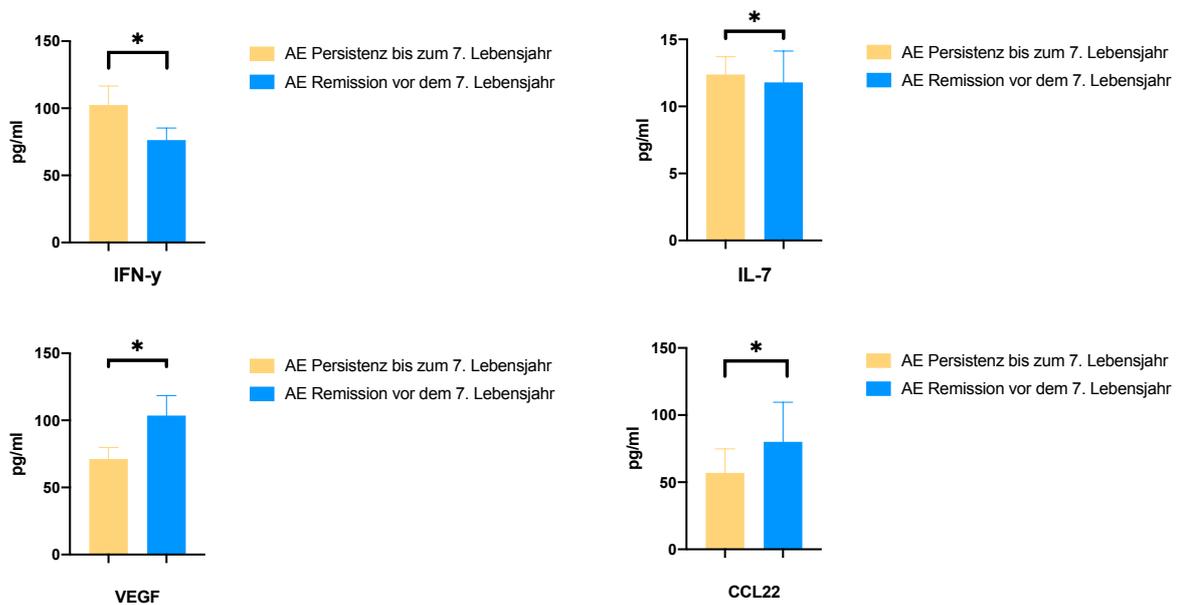
Die Studienteilnehmer mit AE Persistenz hatten im Vergleich zu den Studienteilnehmern mit AE Remission häufiger eine positive Familienanamnese für allergische Erkrankungen (71,8% vs. 65,2%). Auch wurden sie häufiger per Kaiserschnitt geboren (30,7% vs. 26,6%) und kürzer gestillt (6.5 ±5.8 vs. 7.8 ±7.7 Monate). Des Weiteren zeigten sie häufiger Milchschorf (82,9% vs. 76,1%) und hatten einen höheren SCORAD zu AE Beginn (38.2±16.4 vs. 34.4 ±18.5). Sie entwickelten außerdem im Verlauf häufiger allergische Rhinitis (64,5% vs. 46,7%) und allergisches Asthma (23,4% vs. 9,3%). Im Vergleich zu den Patienten mit Remission war ihr SCORAD im 3. Lebensjahr signifikant höher (35.0 ±18.3 vs. 14.7 ±14.6, p<0.0001). Die AE Läsionen der Studienteilnehmer mit Erkrankungspersistenz im 7. Lebensjahr wurden signifikant häufiger durch Stress (27,3% vs. 57,3%, p=0.0015), Wetterveränderungen (47,7% vs. 83,1%, p<0.0001) und Pollenexposition (13,6% vs. 39,5%, p=0.029) ausgelöst.

Die gesamten klinischen Eigenschaften der Subpopulationen (*AE Persistenz bis zum 7. Lebensjahr vs. AE Remission vor dem 7. Lebensjahr*) sind in Tabelle 4 (siehe Anhang) angeführt.

### *Serologische Charakteristika*

Die Studienteilnehmer mit AE Persistenz bis zum 7. Lebensjahr zeigten im Vergleich zu den Studienteilnehmer mit AE Remission vor dem 7. Lebensjahr in frühen Erkrankungsphasen häufiger IgE Konzentrationen >100 IU/ml (39,7% vs. 29,5%) und hatten häufiger eine Sensibilisierung gegenüber Eiweiß (64,1% vs. 53,3%), Erdnuss

(24,7% vs. 20,0%), Kuhmilchprotein (25,6% vs. 22,2%), Weizen (14,3% vs. 9,1%) und inhalativen Allergenen (35,9% vs. 20%). Ausserdem hatten die Studienteilnehmer mit AE Persistenz bis zum 7. Lebensjahr in frühen Erkrankungsphasen signifikant tiefere Konzentrationen an CCL22 ( $p=0.0499$ ) sowie VEGF ( $p=0.0489$ ) und signifikant höhere Konzentrationen an IFN- $\gamma$  ( $p=0.0403$ ) sowie IL-7 ( $p=0.0358$ ) im Vergleich zu den Patienten mit AE Remission vor dem 7. Lebensjahr.

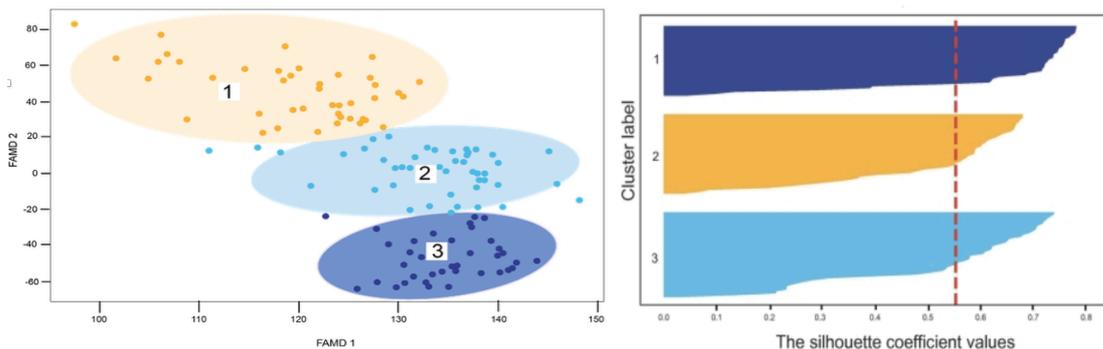


**Tabelle 1- Signifikante Konzentrationsunterschiede von Serumproteinen in der Studienpopulation in Abhängigkeit des Erkrankungsverlaufs bis zum 7. Lebensjahr.** Alle Werte sind als Mittelwert und Standardfehler des Mittelwerts (SEM) angegeben. \*  $p < 0.05$ .

Die gesamten laborchemischen Eigenschaften der Subpopulationen (*AE Persistenz bis zum 7. Lebensjahr vs. AE Remission vor dem 7. Lebensjahr*) sind in Tabelle 5 und 6 (siehe Anhang) angeführt.

## Clustering

Um mögliche unerkannte Subgruppen in der Studienpopulation zu identifizieren, wurde eine Cluster-Analyse durchgeführt. Die Cluster-Analyse zeigte das Vorliegen von 3 Clustern innerhalb der Studienpopulation. Der Silhouette Plot zeigt mit einem durchschnittlichen Silhouettenkoeffizienten von 0.57, dass ein gutes Clustering gefunden wurde. Diese Darstellung besteht aus der Summe der einzelnen Silhouetten. Jede Silhouette repräsentiert dabei den Datensatz eines Patienten und hat einen bestimmten Silhouettenkoeffizienten. Ein Silhouettenkoeffizient von 1 bedeutet, dass der Datensatz sehr gut in das gefundene Cluster passt, wohingegen ein Silhouettenkoeffizient von 0 darauf hinweist, dass der Datensatz zwischen den Clustern liegt und somit nicht einem Cluster zugeordnet werden kann.



**Abbildung 17- Die 3 Cluster innerhalb der Studienpopulation (re) und der Silhouette Plot (li).** Mod. nach (Laufer, Baghin et al. 2020).

### *Die Charakterisierung der drei Cluster*

33,9% (n=42) der Studienpatienten wurden Cluster (CL) 1, 36,3% (n=45) dem CL 2 und 29,8% (n=37) dem CL 3 zugeordnet. Die Patienten des CL 1 hatten am häufigsten eine positive Familienanamnese für allergische Erkrankungen (85,7% vs. 0,71% in CL 2 und 48,6% in CL 3). Auch zeigten die Patienten von CL 1 den frühesten Erkrankungsbeginn (3.5 Lebensmonate vs. 8 Lebensmonaten in CL 2 und 9.3 Lebensmonaten in CL 3) mit 43

Der prognostische Wert von Serumproteinen und klinischen Parametern bei atopischem Ekzem im Kindesalter

dem höchstem SCORAD (42.8 vs. 35.5 in CL 2 und 31.7 in CL3) und hatten die höchsten Persistenzraten der Erkrankung im 7. Lebensjahr (73,1% vs. 66,7% in CL 2 und 45,9% in CL 3). Außerdem wurden die AE Läsionen bei den Patienten von CL 1 häufiger durch Stress (64,3% vs. 35,6% in CL 2 und 32,4% in CL3), Wetterveränderungen (83,3% vs. 66,7% in CL 2 und 62,2% in CL 3) und Pollenexposition (71,4% vs. 13,3% in CL 2 und 0,0% in CL 3) induziert. Bezüglich der Entwicklung von allergischen Komorbiditäten zeigten insbesondere die Patienten der SP 1 eine hohe Erkrankungsrate: so entwickelten in CL 1 92,9% der Patienten eine allergische Rhinokonjunktivitis und 42,9% der Patienten ein allergisches Asthma im Verlauf. Auf serologischer Ebene zeigten die Patienten des CL 1 sowohl die höchsten Konzentrationen an Gesamt- IgE (245 IU/ml vs. 68.2 IU/ml in CL 2 und 130.3 IU/ml in CL 3) als auch an spezifischen IgE. Die Patienten in CL 1 zeigten die höchsten Konzentrationen an IL-9 (183.2 pg/ml vs. 158.9 pg/ml in CL 2 und 163.3 pg/ml in CL 3), MIP-1 $\beta$  (276.4 pg/ml vs. 204.0 pg/ml in CL 2 und 206.5 pg/ml in CL 3) und IL-17 (99.2 pg/ml vs. 78.3 pg/ml in CL 2 und 82.0 pg/ml in CL 3) im Serum. In CL 2 fanden sich die höchsten Konzentrationen an IL- 1 $\beta$ , IL-7, TNF-  $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , Eotaxin, IL-2, IL-5, IL-6, IL-10, IL-12, IL-15, RANTES, TIMP-3 und IL-1RA. Die Patienten in SP 3 zeigten hingegen die höchsten Konzentrationen an VEGF (87.2 pg/ml vs. 86.2 pg/ml in CL 2 und 76.5 pg/ml in CL 1) und TIMP-1 (660.9 pg/ml vs. 652.2 pg/ml in CL 2 und 640.4 pg/ml in CL 1). Die gesamten laborchemischen sowie klinischen Eigenschaften der drei Cluster sind in Tabelle 7 (siehe Anhang) angeführt.

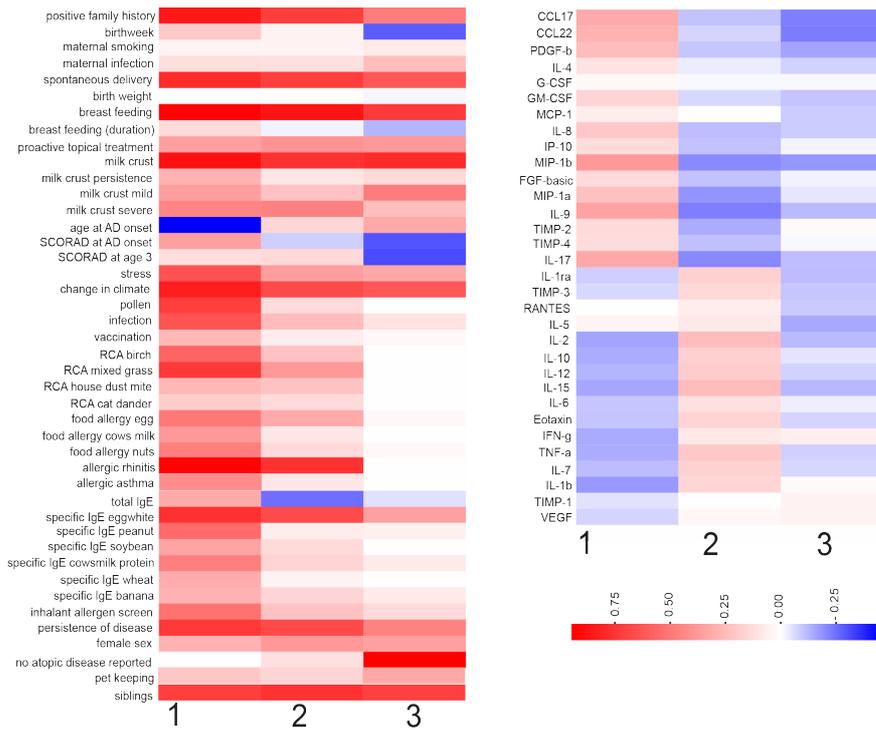


Abbildung 18- Heatmap der drei Cluster. Mod. nach (Laufer, Baghin et al. 2020).

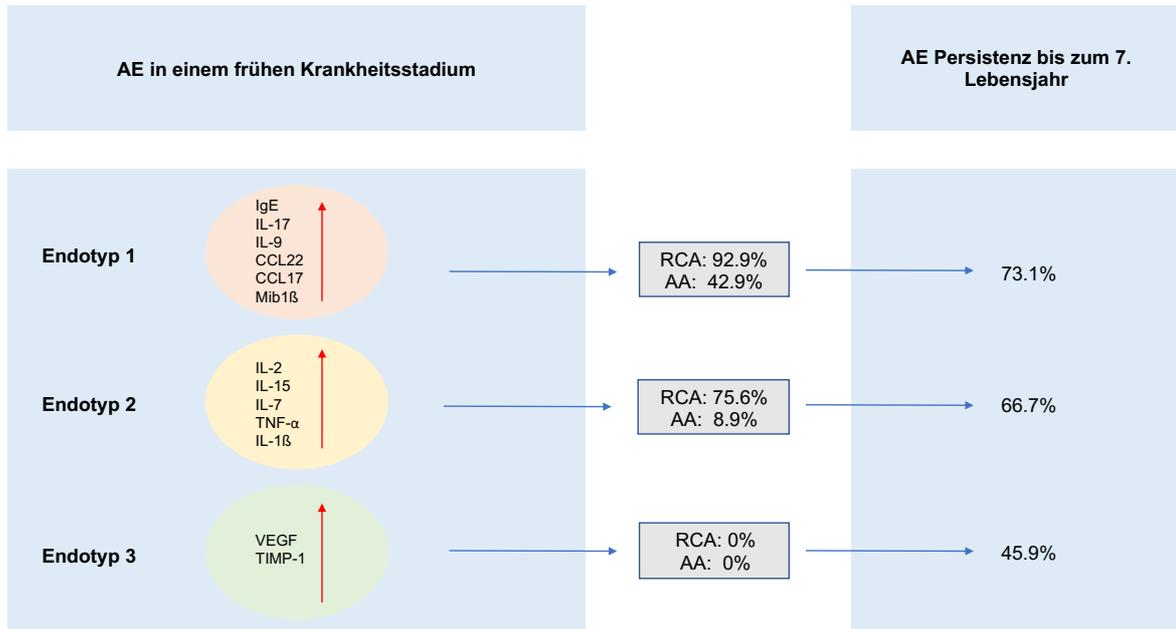


Abbildung 19- Expressionsprofile von Serumproteinen mit Assoziation zum Erkrankungsverlauf. RCA: allergische Rhinokonjunktivitis, AA: allergisches Asthma.

## Klinische Risikofaktoren für eine AE Persistenz bis zum 7. Lebensjahr

In der Studienpopulation wurden folgende klinischen Risikofaktoren für eine AE Persistenz bis zum 7. Lebensjahr identifiziert:

<b>Klinischer Risikofaktor</b>	<b>OR</b>	<b>p- Wert</b>
Entwicklung von allergischer Rhinitis und Asthma	3.56	0.044
Triggerfaktor Stress	3.58	0.0015
Triggerfaktor Wetterveränderungen	5.38	<0.0001
Triggerfaktor Pollenexposition	4.13	0.029

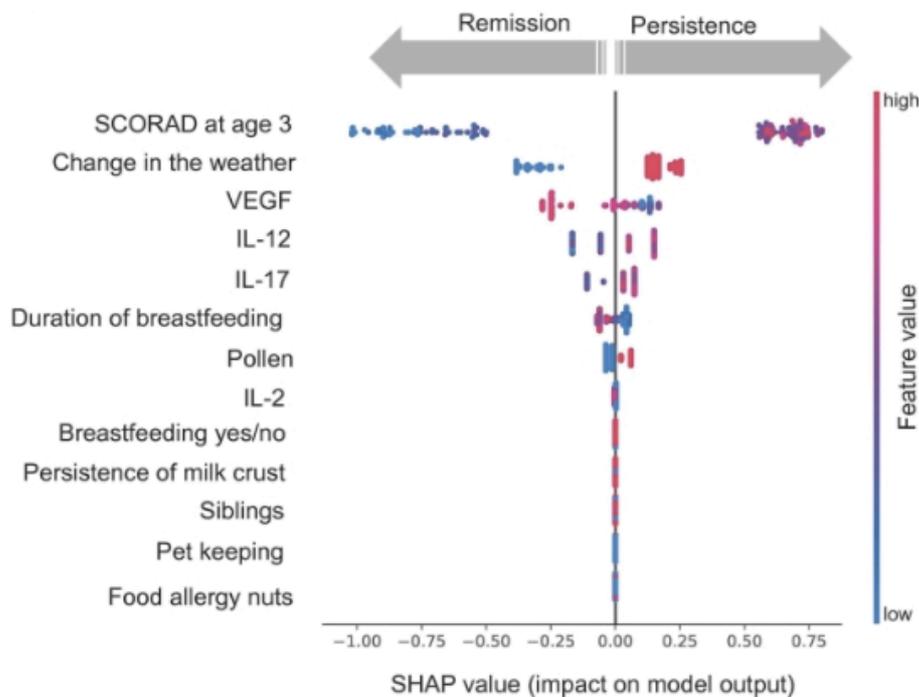
**Tabelle 2- Klinische Risikofaktoren für eine AE Persistenz im 7. Lebensjahr.** Triggerfaktor: Umwelteinfluss, der eine Exazerbation der Erkrankung auslöst. OR: Odds ratio. Mod. nach (Lauffer, Baghin et al. 2020).

Die Studienteilnehmer, die im Verlauf an allergischer Rhinitis und Asthma erkrankt sind, hatten ein 3,5-fach erhöhtes Risiko für eine AE Persistenz bis zum 7. Lebensjahr. Die Studienteilnehmer, deren AE Läsionen durch Stress induziert wurden, hatten ebenfalls ein 3,5-fach erhöhtes Risiko für eine AE Persistenz bis zum 7. Lebensjahr. Die Studienteilnehmer, deren AE Läsionen durch Pollenexposition induziert wurden, hatten 4-fach erhöhtes Risiko für eine AE Persistenz bis zum 7. Lebensjahr. Die Studienteilnehmer, deren AE Läsionen durch Wetterveränderungen induziert wurden, hatten fast 5,5-fach erhöhtes Risiko für eine AE Persistenz bis zum 7. Lebensjahr.

## Prognosemodell

Es konnte ein Prognosemodell etabliert werden, welches anhand folgender 13 Faktoren den Erkrankungsverlauf der Studienteilnehmer (*AE Persistenz bis zum 7. Lebensjahr vs. AE Remission vor dem 7. Lebensjahr*) mit einer hohen Sensitivität (83.3%) und einer hohen Spezifität (84.2%) vorhersagen kann:

- SCORAD im Alter von 3 Jahren
- Wetterveränderungen/ Pollenexposition als Triggerfaktor für AE Läsionen
- Stillen ja/nein und Stilldauer (in Monaten)
- Serumkonzentration von VEGF, IL-12, IL-17, IL-2
- Milchschorfdauer
- Geschwister ja/nein
- Haustiere ja/nein
- Nussallergie ja/nein



**Abbildung 20- Das Prognosemodell.** Rote Punkte rechts von der Mittellinie zeigen eine qualitative und quantitative positive Assoziation des entsprechenden Parameters zu einer AE Persistenz bis zum 7. Lebensjahr. Blaue Punkte rechts von der Mittellinie zeigen eine qualitative und quantitative negative Assoziation des entsprechenden Parameters zu einer AE Persistenz bis zum 7. Lebensjahr. Rote Punkte links von der Mittellinie zeigen eine qualitative und quantitative positive Assoziation des entsprechenden Parameters zu einer AE Remission vor dem 7. Lebensjahr. Blaue Punkte links von der Mittellinie zeigen eine qualitative und quantitative negative Assoziation des entsprechenden Parameters zu einer AE Remission vor dem 7. Lebensjahr. Mod. nach (Laufer, Baghin et al. 2020).

Im Modell hatten die Parameter SCORAD im 3. Lebensjahr, Wetterveränderungen sowie Pollenexposition als Triggerfaktor für AE Läsionen und die Serumkonzentrationen von IL-12 und IL-17 eine hohe Auswirkung auf die Vorhersage der AE Persistenz bis zum 7. Lebensjahr. Die Stildauer und die Serumkonzentration von VEGF hingegen hatten eine hohe Auswirkung auf die Vorhersage der AE Remission vor dem 7. Lebensjahr. Die Parameter Stillen (ja/nein), lange Dauer von Milchschorf, das Vorhandensein von Geschwistern, der Kontakt zu Haustieren und das Bestehen einer Nussallergie zeigten geringen Einfluss auf die Prognose von AE. Die Serumkonzentration von IL-2 zeigte im Modell ebenfalls geringen Einfluss auf die Prognose von AE.

## Diskussion

Das atopische Ekzem (AE) gehört zu den häufigsten chronischen Erkrankungen im Kindesalter, beginnt in den meisten Fällen in den ersten Lebensjahren und kann innerhalb einiger Jahre abheilen oder einen chronischen Verlauf einnehmen. Bislang ist die Vorhersage des individuellen Erkrankungsverlaufs nur bedingt anhand von vorbeschriebenen Risikofaktoren für eine Erkrankungspersistenz bis zum Schulalter möglich. Es ist somit von großem gesellschaftlichen Interesse aber auch von klinischer Relevanz die Prognosestellung bei AE im Kindesalter zu verbessern.

Aus klinischer Sicht ist es wichtig, Patienten mit einer schlechten Prognose (d.h. erhöhtes Risiko für einen längeren Erkrankungsverlauf) frühzeitig zu erkennen. Diese Patienten brauchen nämlich eine engmaschige Betreuung, um einerseits die Therapie regelmäßig anzupassen und andererseits frühzeitig AE assoziierte Erkrankungen zu erkennen. Zu den klassischen Komorbiditäten von AE gehören atopische Erkrankungen, wie allergische Rhinitis und allergisches Asthma. Es wird davon ausgegangen, dass die Dysfunktion der epidermalen Barriere mit erhöhter Permeabilität für Allergene eine wichtige Rolle bei der Entstehung dieser Komorbiditäten spielt (Brunner, Silverberg et al. 2017). Eine weitere Komorbidität von AE ist das Aufmerksamkeitsdefizit-/Hyperaktivitätssyndrom (ADHS); es wird postuliert, dass erhöhte systemische Konzentrationen an Entzündungsmediatoren im Rahmen von AE an der Entstehung dieses Krankheitsbild beteiligt sind (Buske-Kirschbaum, Schmitt et al. 2013). Auch leiden AE Patienten häufig an anderen psychiatrischen Erkrankungen, wie beispielsweise emotionale Störungen; die Genese dieser Pathologien wird als multifaktoriell (Schlafstörungen aufgrund des Juckreizes, Stigmatisierung aufgrund des Hautbildes, etc.) angesehen (Brunner, Silverberg et al. 2017). Möglicherweise hat AE durch die systemische Entzündungskomponente auch eine negative Auswirkung auf das kardiovaskuläre System; in einer Fall- Kontroll- Studie an einer pädiatrischen Population wurde eine Assoziation zwischen AE und erhöhtem

Blutdruck gezeigt (Silverberg, Becker et al. 2015). Auch wurden im Serum von adulten AE Patienten erhöhte Konzentrationen an Proteinen, die an der Entstehung von Artherosklerose beteiligt sind, nachgewiesen (Brunner, Suarez-Farinas et al. 2017). Aus wirtschaftlicher Sicht ist eine frühzeitige Erkennung von Patienten mit einer schlechten Prognose ebenfalls von Vorteil. Durch eine engmaschige ambulante Betreuung dieser Patienten können nämlich in vielen Fällen schwere Erkrankungsmanifestationen bzw. Komplikationen (wie beispielsweise ausgeprägte kutane Infektionen) verhindert werden, die eine stationäre Behandlung nötig machen. Auch kann möglicherweise durch eine frühe Identifizierung von Patienten mit einem erhöhten Risiko für einen längeren Erkrankungsverlauf die Compliance der Eltern bzgl. konsequenter Therapie erhöht werden.

In dieser Arbeit wurden mehrere Parameter mit prognostischem Wert bei AE im Kindesalter identifiziert. Einige davon können gut im klinischen Setting implementiert werden und so zu einer verbesserten Prognosestellung in frühen Erkrankungsphasen beitragen.

### **Der Erkrankungsverlauf in der Studienpopulation**

In dieser Studie wurden 124 Patienten eingeschlossen und 62,9% davon zeigten eine Erkrankungspersistenz bis zum 7. Lebensjahr. Eine sehr ähnliche Persistenzrate der Erkrankung im 7. Lebensjahr wurde bereits durch (Illi, von Mutius et al. 2004) beschrieben. Im Kontrast zu diesen Ergebnissen steht die hohe Remissionsrate (80%) von AE bis zum 8. Lebensjahr, die von (Kim, Chao et al. 2016) in einer relativ aktuellen Metaanalyse gezeigt wird. Diese stark schwankenden Remissionsraten von AE bis zum Schulalter können möglicherweise auf die unterschiedliche Auswahl der Studienpopulationen zurückgeführt werden. So wurden beispielweise in der vorliegenden Studie ausschliesslich AE Patienten, welche in einem frühen Krankheitsstadium in einem universitären Setting behandelt wurden, eingeschlossen. Die Metaanalyse von (Kim, 50

Chao et al. 2016) berücksichtigte hingegen Geburtskohortenstudien. Ein weiterer Grund für die höhere AE Persistenzrate in der Studienpopulation dieser Arbeit könnte die Tatsache darstellen, dass 79,8% der Teilnehmer (bzw. deren Erziehungsberechtigte) selbst Auskunft über ihren Erkrankungszustand gegeben haben. (Kim, Chao et al. 2016) beschreiben nämlich, dass die Persistenzraten von AE bei Selbsteinschätzung des Hautbildes durch die Betroffenen viel höher ausfallen als bei Einschätzung durch einen Arzt.

### **Die Stabilität von Serummarkern**

Vor der Durchführung der retrospektiven Studie wurde orientierend die Stabilität von einigen bei AE vorbeschriebenen Serummarkern evaluiert. Dabei wurde untersucht, ob unterschiedliche Lagerungszeiten der Serumproben bei Raumtemperatur (bzw. bei 4°C) vor dem Einfrieren bei -80°C einen Einfluss auf die Konzentration von Serumproteinen haben. In der klinischen Routine wird die Blutprobe 1 Stunde nach Eingang in das klinikinterne Labor zentrifugiert und verarbeitet. Insofern scheint die Stabilität innerhalb von 6 Stunden bei Raumtemperatur ausreichend, sodass die Konzentration der Serumzytokine durch die routinemässige Handhabung nicht beeinträchtigt wurde.

In einer früheren Arbeit wurde beschrieben, dass die Konzentration von IL-6 und TNF $\alpha$  bei einer Lagerung von Serum für 6 Stunden bei 4°C stabil bleibt (Flower, Ahuja et al. 2000). Passend dazu zeigte sich die Konzentration der Serummarker IL-31, CCL5, CCL17 und CCL22 bei unterschiedlichen Verweildauern (<1h, 6h) des Serums bei Raumtemperatur bzw. 24h bei 4°C ebenfalls als relativ stabil. Interessanterweise und im Gegensatz zu anderen Arbeiten (Raap, Wichmann et al. 2008) (Kaburagi, Shimada et al. 2001) hatten die untersuchten AE Patienten ähnliche Serumkonzentrationen an IL-31 und CCL5 wie die gesunden Kontrollen. In Übereinstimmung mit der Literatur (Narbutt, Lesiak et al. 2009) hingegen zeigten die untersuchten AE Patienten höhere Serumkonzentrationen an CCL17 sowie CCL22 im Vergleich zu den gesunden Kontrollen.

Die Konzentration von IL-4 konnte aufgrund der geringen Sensitivität der ELISA Methode bei geringer Analytkonzentration weder in den Serumproben der AE Patienten noch in denen der gesunden Kontrollen bestimmt werden; für die Untersuchung der Konzentration dieses Zytokins ist es somit ratsam sensitivere Verfahren, wie beispielsweise das Luminex, einzusetzen. Auch wurde in der vorliegenden Arbeit orientierend die Langzeitstabilität von verschiedenen Serummarkern evaluiert. Dabei wurde die Konzentration von mehreren Markern in Serumproben von AE Patienten, welche zu unterschiedlichen Zeitpunkten eingefroren worden waren, gemessen. Bei allen untersuchten Serummarkern (IL-4, CCL5, CCL17, CCL22) konnten zwar interindividuelle Konzentrationsunterschiede aber kein absoluter Konzentrationsabfall über die Jahre beobachtet werden. Passend zu den Ergebnissen dieser Arbeit beschreiben (Zander, Bruegel et al. 2014) und (Jansen, Beekhof et al. 2015) die Lagerung von Serum bei -80°C im Hinblick auf die Stabilität der Analyten als sehr gut. Nichtsdestotrotz müssen die vorliegenden Beobachtungen in einer prospektiven Studie mit direktem Vergleich der Serummarkerkonzentrationen in der gleichen Probe vor dem Einfrieren und mehrere Jahre nach Lagerung bei -80°C überprüft werden. Zusammenfassend ergab sich kein Hinweis auf lagerungsabhängige Konzentrationsschwankungen der untersuchten Serumproteine.

### **Serumproteine mit prognostischem Wert bei AE**

In dieser Arbeit wurden zum ersten Mal Assoziationen zwischen Serumproteinen und dem Erkrankungsverlauf von AE im Kindesalter gezeigt.

So zeigten Patienten mit AE Persistenz bis zum 7. Lebensjahr signifikant höhere Serumkonzentrationen an INF- $\gamma$  und IL-7 in frühen Erkrankungsphasen im Vergleich zu Patienten mit AE Remission vor dem 7. Lebensjahr. INF- $\gamma$  ist das Leitzytokin von Th1-Zellen und liegt bereits in frühen Läsionen von pädiatrischen AE Patienten in erhöhter Konzentration vor (Esaki, Brunner et al. 2016). Das Ergebnis dieser Arbeit steht im

Kontrast zur bisherigen Annahme, dass IFN- $\gamma$  eine protektive Rolle bei AE im Kindesalter hat. Es konnte nämlich gezeigt werden, dass Neugeborene mit einer gestörten IFN- $\gamma$  Sekretion im Verlauf AE entwickelt haben (Warner, Warner et al. 1994). Auch wurde eine Assoziation zwischen einer verminderten Anzahl an IFN- $\gamma$  produzierenden T-Zellen im Nabelschnurblut und einem erhöhten Risiko für die Entwicklung von AE beschrieben (Herberth, Heinrich et al. 2010). Des Weiteren zeigte ein Studie von (Brunner, He et al. 2019) eine negative Assoziation zwischen der Serumkonzentration von IFN- $\gamma$  und dem Schweregrad von AE im frühen Kindesalter. IL-7 ist für die Entwicklung sowie das Überleben von T-Zellen essenziell (Elkassar and Gress 2010); bislang wurde im Rahmen von AE lediglich das Vorliegen einer erhöhten Serumkonzentration dieses Markers bei adulten AE Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollen beschrieben (Brunner, Suarez-Farinas et al. 2017). In Anbetracht der Tatsache jedoch, dass T-Zellen eine zentrale Rolle in der AE Pathogenese spielen, ist es naheliegend, dass eine höhere Konzentration dieses Serummarkers mit einer schlechteren Prognose einhergeht. Patienten mit einer AE Remission vor dem 7. Lebensjahr hingegen zeigten signifikant höhere Serumkonzentrationen an CCL22 und VEGF in frühen Erkrankungsphasen im Vergleich zu Patienten mit AE Persistenz bis zum 7. Lebensjahr. CCL22 wird von zahlreichen Immunzellen gebildet und spielt in der Chemotaxis von CCR4-positiven Th2-Zellen eine wesentliche Rolle (Rapp, Wintergerst et al. 2019): erhöhte Konzentrationen dieses Proteins wurden sowohl in AE Läsionen (Esaki, Brunner et al. 2016) als auch im Serum (Brunner, He et al. 2019) von pädiatrischen AE Patienten nachgewiesen. Auch wurde eine positive Korrelation zwischen der Serumkonzentration von CCL22 und der Erkrankungsschwere bei AE Patienten im Kindesalter beschrieben (Nakazato, Kishida et al. 2008). Wenn sich diese Ergebnisse in weiteren Studien bestätigen sollten, könnte CCL22 in der Diagnostik von AE im Kindesalter eine wichtige Rolle einnehmen. Anhand der Konzentrationsbestimmung eines einzelnen Serummarkers könnten Aussagen zur

Erkrankungsschwere sowie zur Prognose der Erkrankung gemacht werden. VEGF hingegen ist ein bedeutsames Protein im Rahmen der Angiogenese. Auch in der Studie von (Thijs, Strickland et al. 2017) ergaben sich Hinweise, dass VEGF eine günstige Auswirkung auf die Prognose von AE hat; in dieser Arbeit hatte eine Subpopulation von adulten AE Patienten mit Erkrankungsbeginn im Kindesalter und Erkrankungspersistenz bis ins Erwachsenenalter geringe Serumkonzentrationen an VEGF.

Außerdem wurde in der vorliegenden Arbeit in einer Cluster- Analyse gezeigt, dass bestimmte Expressionsprofile von Serumproteinen in frühen Erkrankungsphasen mit unterschiedlichen AE Verläufen assoziiert sind. So waren erhöhte Serumkonzentrationen an Gesamt- IgE, spezifischen- IgE, IL-17, IL-9, CCL17, CCL22 und MIP-1 $\beta$  in frühen Erkrankungsphasen mit einer AE Persistenz bis zum 7. Lebensjahr sowie der Entwicklung von allergischen Komorbiditäten assoziiert. Dieses Ergebnis weist daraufhin, dass eine starke Th2-, Th9- und Th17- Zell Aktivität in einer frühen Erkrankungsphase mit einer schlechteren Prognose assoziiert ist. Passend dazu wurden erhöhte IgE Konzentrationen bereits als Risikofaktor für eine AE Persistenz bis zum 6. Lebensjahr beschrieben (Guo, Tseng et al. 2015). Auch wurde gezeigt, dass das Vorliegen von Sensibilisierungen in einem frühen AE Stadium mit einer schlechteren Prognose assoziiert ist (Illi, von Mutius et al. 2004). Interessanterweise war in der Cluster- Analyse im Gegensatz zum direkten Gruppenvergleich (Persistenz bis zum 7. Lebensjahr vs. Remission vor dem 7. Lebensjahr) CCL22 mit einer schlechten Prognose assoziiert. Aus diesem Grund muss der prognostische Wert von CCL22 in einer prospektiven Studie noch einmal evaluiert werden. Passend zu den Ergebnissen im direkten Gruppenvergleich (Persistenz bis zum 7. Lebensjahr vs. Remission vor dem 7. Lebensjahr) zeigte hingegen VEGF auch in der Cluster- Analyse eine Assoziation zu einer guten Prognose. Möglicherweise ist VEGF aufgrund der Tatsache, dass er die Th1- Zell Bildung begünstigt (Mor, Quintana et al. 2004) und sich diese Zellpopulation negativ auf die Bildung von Th2- Zellen auswirken

kann, mit einem gutartigeren AE Verlauf assoziiert. Nicht verwunderlich ist außerdem die Assoziation zwischen erhöhten TIMP-1 Konzentrationen und einem gutartigen Erkrankungsverlauf. TIMP-1 inhibiert nämlich Matrix- Metalloproteasen (MMP), welche in pädiatrischen AE Läsionen in erhöhter Konzentration vorliegen (Harper, Godwin et al. 2010). Diese Proteasen sind an der Degradierung von Hemidesmosomen (Stahle-Backdahl, Inoue et al. 1994) sowie an der Aktivierung von T- Zellen beteiligt (Opdenakker, Van den Steen et al. 2001).

### **Klinische Faktoren mit prognostischem Wert bei AE**

In der vorliegenden Arbeit wurden bislang unbeschriebene klinische Parameter mit Assoziation zum AE Verlauf im Kindesalter identifiziert. Zum ersten Mal wurde die prognostische Relevanz von Triggerfaktoren für AE Läsionen erkannt. Es konnte gezeigt werden, dass Patienten, deren AE Läsionen durch Pollenexposition und/oder Wetterveränderungen und/oder Stress induziert werden, ein erhöhtes Risiko für eine AE Persistenz bis zum 7. Lebensjahr haben. Im klinischen Setting ist es somit einerseits für die Prognosestellung und andererseits für das Krankheitsmanagement relevant, individuelle Triggerfaktoren für AE Läsionen zu erkennen. Beispielsweise könnte bei Patienten, die bei Stress eine Verschlechterung des Hautbildes erfahren, eine psychotherapeutische Intervention zur Identifizierung von Stressoren sowie zum Erlernen von Stressbewältigungsstrategien sinnvoll sein. Auch konnte gezeigt werden, dass die Patienten, die im Verlauf allergische Komorbiditäten entwickeln, ein erhöhtes Risiko für eine AE Persistenz bis zum 7. Lebensjahr haben. Es ist somit von hoher klinischer Relevanz AE Patienten mit allergischen Komorbiditäten engmaschig zu betreuen.

Die in vorhergehenden Arbeiten identifizierten Risikofaktoren für eine AE Persistenz bis zum Schulalter (Guo, Tseng et al. 2015) (Illi, von Mutius et al. 2004) (Kim, Chao et al. 2016) konnten zum Teil auch in der vorliegenden Studie bestätigt werden. Es zeigte sich eine signifikante Assoziation zwischen schwerem Erkrankungsverlauf und AE Persistenz

bis zum 7. Lebensjahr. Auch konnte eine milde Assoziation zwischen weiblichem Geschlecht sowie positiver Familienanamnese für atopische Erkrankungen und AE Persistenz bis zum 7. Lebensjahr nachgewiesen werden.

### **Limitationen der Arbeit**

Die vorliegende Arbeit hat einige Limitationen. Erstens kann nicht sicher ausgeschlossen werden, dass die Studienteilnehmer zum Zeitpunkt der Blutentnahme eine weitere Infektion mit möglicher Auswirkung auf die systemischen Zytokinkonzentrationen hatten; in den Krankenakten der Patienten war diesbezüglich jedoch nichts vermerkt. Zweitens ist die Stabilität der untersuchten Analyten trotz konstanter Aufbewahrung bei -80°C über mehrere Jahre - bei fehlender Literatur- nicht sicher gegeben. Im Rahmen der Möglichkeiten wurde versucht die Stabilität einiger Serumproteine zu zeigen. Drittens könnte die retrospektive Erhebung der klinischen Daten auch eine mögliche Ungenauigkeitsquelle darstellen. Bei der Interpretation der Daten muss dem Leser ausserdem bewusst sein, dass alle Studienpatienten aufgrund von AE in frühen Erkrankungsstadien in einem universitären Setting behandelt wurden; somit beziehen sich die Ergebnisse auf Patienten, welche in frühen Erkrankungsstadien relativ stark von der Erkrankung betroffen waren.

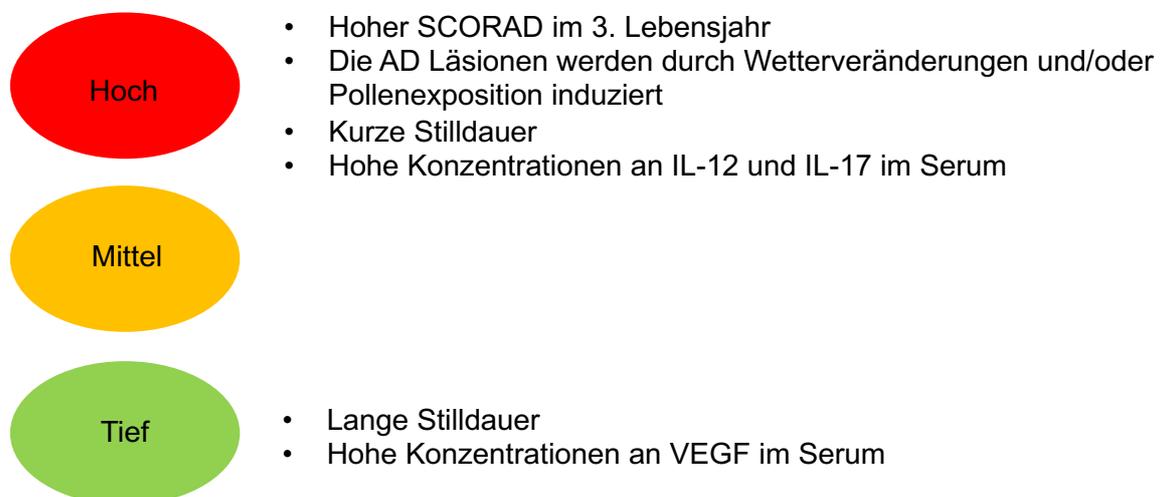
### **Klinische Relevanz der Ergebnisse und Ausblick**

In der vorliegenden Arbeit wurden mehrere Parameter mit prognostischem Wert bei AE im Kindesalter identifiziert. Die neu identifizierten klinischen Risikofaktoren für eine AE Persistenz bis zum 7. Lebensjahr können gut im klinischen Setting im Rahmen einer gezielten Anamnese implementiert werden und so zu einer verbesserten Prognosestellung in frühen Erkrankungsphasen beitragen.

Zum ersten Mal wurden auch Assoziationen zwischen Serumproteinen und dem Erkrankungsverlauf von AE beschrieben. Um die Ergebnisse in den klinischen Alltag

implementieren zu können, müssen die Ergebnisse noch in einer prospektiven Studie validiert und cut-off-Werte definiert werden. Nichtsdestotrotz sind diese Ergebnisse von hoher klinischer Relevanz, da sie eine verbesserte Prognosestellung bei AE im Kindesalter anhand einer gezielten Untersuchung von bestimmten Serummarkern in Aussicht stellen. Nicht zu vernachlässigen ist auch die klinische Relevanz der Identifizierung von Endotypen in frühen Erkrankungsstadien. Diese Ergebnisse können zur Etablierung von gezielten Therapien im Kindesalter beitragen.

Das entwickelte Prognosemodell kann in Form eines Ampel- Systems im klinischen Alltag angewandt werden. Anhand von wenigen Fragen sowie der Konzentrationsbestimmung von einigen Serumproteinen (IL-2, IL-12, IL-17 und VEGF) kann damit das individuelle Risiko für eine AE Persistenz bis zum 7. Lebensjahr ermittelt werden. Auch für diese Serummarker konnten keine cut- off Werte definiert werden.



**Abbildung 21- Ampel- System zur Abschätzung des individuellen Risiko für eine AE Persistenz bis zum 7. Lebensjahr.**

## **Danksagung**

Mein erster Dank geht an die Patienten und deren Familien, die sich bereit erklärt haben, einen Teil ihrer Lebensgeschichte für die zukünftige Versorgung von anderen Kindern mit zu uns teilen. Auch möchte ich mich bei Herr Prof. Kilian Eyerich, Frau Prof. Stefanie Eyerich und deren ganzen Team für die hervorragende Betreuung während meiner Promotionszeit bedanken. Ein spezieller Dank gilt meinen engsten Betreuern -Natalie, Manja und Felix- für die erstklassige Einarbeitung in den Laboralltag, die tagtägliche Unterstützung und die stets positive Einstellung zu diesem Projekt. Ich werde mich immer mit Freude an die Zeit im ZAUM zurück erinnern.

Zuletzt geht mein Dank an meine Eltern, meiner Schwester Maddalena, meinem Freund Alessandro und den besten Kommilitoninnen Hanna und Marianne für die Geduld, Unterstützung und positive Ablenkung während des Studiums und der Promotionszeit.

## Literaturverzeichnis

- Ahrens, B., G. Schulz, J. Bellach, B. Niggemann and K. Beyer (2015). "Chemokine levels in serum of children with atopic dermatitis with regard to severity and sensitization status." *Pediatr Allergy Immunol* 26(7): 634-640.
- Atmatzidis, D. H., W. C. Lambert and M. W. Lambert (2017). "Langerhans cell: exciting developments in health and disease." *J Eur Acad Dermatol Venereol* 31(11): 1817-1824.
- Berube, B. J. and J. Bubeck Wardenburg (2013). "Staphylococcus aureus alpha-toxin: nearly a century of intrigue." *Toxins (Basel)* 5(6): 1140-1166.
- Bieber, T. (2012). "Atopic dermatitis 2.0: from the clinical phenotype to the molecular taxonomy and stratified medicine." *Allergy* 67(12): 1475-1482.
- Brunner, P. M., H. He, A. B. Pavel, T. Czarnowicki, R. Lefferdink, T. Erickson, T. Canter, N. Puar, S. M. Rangel, K. Malik, Y. Estrada, J. G. Krueger, E. Guttman-Yassky and A. S. Paller (2019). "The blood proteomic signature of early-onset pediatric atopic dermatitis shows systemic inflammation and is distinct from adult long-standing disease." *J Am Acad Dermatol* 81(2): 510-519.
- Brunner, P. M., J. I. Silverberg, E. Guttman-Yassky, A. S. Paller, K. Kabashima, M. Amagai, T. A. Luger, M. Deleuran, T. Werfel, K. Eyerich, G. Stingl and C. Councilors of the International Eczema (2017). "Increasing Comorbidities Suggest that Atopic Dermatitis Is a Systemic Disorder." *J Invest Dermatol* 137(1): 18-25.
- Brunner, P. M., M. Suarez-Farinas, H. He, K. Malik, H. C. Wen, J. Gonzalez, T. C. Chan, Y. Estrada, X. Zheng, S. Khattri, A. Dattola, J. G. Krueger and E. Guttman-Yassky (2017). "The atopic dermatitis blood signature is characterized by increases in inflammatory and cardiovascular risk proteins." *Sci Rep* 7(1): 8707.
- Buske-Kirschbaum, A., J. Schmitt, F. Plessow, M. Romanos, S. Weidinger and V. Roessner (2013). "Psychoendocrine and psychoneuroimmunological mechanisms in the comorbidity of atopic eczema and attention deficit/hyperactivity disorder." *Psychoneuroendocrinology* 38(1): 12-23.
- Byrd, A. L., Y. Belkaid and J. A. Segre (2018). "The human skin microbiome." *Nat Rev Microbiol* 16(3): 143-155.
- Chovatiya, R. and J. I. Silverberg (2019). "Pathophysiology of Atopic Dermatitis and Psoriasis: Implications for Management in Children." *Children (Basel)* 6(10).
- Chylla, R., C. Schnopp and T. Volz (2018). "Basic skin care in atopic dermatitis - new and established treatment options." *J Dtsch Dermatol Ges* 16(8): 976-979.
- Coutinho, A. E. and K. E. Chapman (2011). "The anti-inflammatory and immunosuppressive effects of glucocorticoids, recent developments and mechanistic insights." *Mol Cell Endocrinol* 335(1): 2-13.

- Cullen, T. W., W. B. Schofield, N. A. Barry, E. E. Putnam, E. A. Rundell, M. S. Trent, P. H. Degnan, C. J. Booth, H. Yu and A. L. Goodman (2015). "Gut microbiota. Antimicrobial peptide resistance mediates resilience of prominent gut commensals during inflammation." *Science* 347(6218): 170-175.
- David Boothe, W., J. A. Tarbox and M. B. Tarbox (2017). "Atopic Dermatitis: Pathophysiology." *Adv Exp Med Biol* 1027: 21-37.
- Deckers, I. A., S. McLean, S. Linssen, M. Mommers, C. P. van Schayck and A. Sheikh (2012). "Investigating international time trends in the incidence and prevalence of atopic eczema 1990-2010: a systematic review of epidemiological studies." *PLoS One* 7(7): e39803.
- Ebbo, M., A. Crinier, F. Vely and E. Vivier (2017). "Innate lymphoid cells: major players in inflammatory diseases." *Nat Rev Immunol* 17(11): 665-678.
- ElKassar, N. and R. E. Gress (2010). "An overview of IL-7 biology and its use in immunotherapy." *J Immunotoxicol* 7(1): 1-7.
- Esaki, H., P. M. Brunner, Y. Renert-Yuval, T. Czarnowicki, T. Huynh, G. Tran, S. Lyon, G. Rodriguez, S. Immaneni, D. B. Johnson, B. Bauer, J. Fuentes-Duculan, X. Zheng, X. Peng, Y. D. Estrada, H. Xu, C. de Guzman Strong, M. Suarez-Farinas, J. G. Krueger, A. S. Paller and E. Guttman-Yassky (2016). "Early-onset pediatric atopic dermatitis is TH2 but also TH17 polarized in skin." *J Allergy Clin Immunol* 138(6): 1639-1651.
- Eyerich, K. and S. Eyerich (2018). "Immune response patterns in non-communicable inflammatory skin diseases." *J Eur Acad Dermatol Venereol* 32(5): 692-703.
- Eyerich, K., D. Pennino, C. Scarponi, S. Foerster, F. Nasorri, H. Behrendt, J. Ring, C. Traidl-Hoffmann, C. Albanesi and A. Cavani (2009). "IL-17 in atopic eczema: linking allergen-specific adaptive and microbial-triggered innate immune response." *J Allergy Clin Immunol* 123(1): 59-66 e54.
- Eyerich, S., K. Eyerich, D. Pennino, T. Carbone, F. Nasorri, S. Pallotta, F. Cianfarani, T. Odorisio, C. Traidl-Hoffmann, H. Behrendt, S. R. Durham, C. B. Schmidt-Weber and A. Cavani (2009). "Th22 cells represent a distinct human T cell subset involved in epidermal immunity and remodeling." *J Clin Invest* 119(12): 3573-3585.
- Eyerich, S., C. Traidl-Hoffmann, H. Behrendt, A. Cavani, C. B. Schmidt-Weber, J. Ring and K. Eyerich (2017). "Novel key cytokines in allergy: IL-17, IL-22." *Allergol Select* 1(1): 71-76.
- Fallon, P. G., T. Sasaki, A. Sandilands, L. E. Campbell, S. P. Saunders, N. E. Mangan, J. J. Callanan, H. Kawasaki, A. Shiohama, A. Kubo, J. P. Sundberg, R. B. Presland, P. Fleckman, N. Shimizu, J. Kudoh, A. D. Irvine, M. Amagai and W. H. McLean (2009). "A homozygous frameshift mutation in the mouse Flg gene facilitates enhanced percutaneous allergen priming." *Nat Genet* 41(5): 602-608.

- Flower, L., R. H. Ahuja, S. E. Humphries and V. Mohamed-Ali (2000). "Effects of sample handling on the stability of interleukin 6, tumour necrosis factor-alpha and leptin." *Cytokine* 12(11): 1712-1716.
- Guo, M. M., W. N. Tseng, C. Y. Ou, T. Y. Hsu, H. C. Kuo and K. D. Yang (2015). "Predictive factors of persistent infantile atopic dermatitis up to 6 years old in Taiwan: a prospective birth cohort study." *Allergy* 70(11): 1477-1484.
- Gutzmer, R., S. Mommert, M. Gschwandtner, K. Zwingmann, H. Stark and T. Werfel (2009). "The histamine H4 receptor is functionally expressed on T(H)2 cells." *J Allergy Clin Immunol* 123(3): 619-625.
- Hanifin JM, R. G. (1980). "Diagnostic features of atopic dermatitis." *Acta Derm Venereol* 92: Suppl.: 44-47.
- Harper, J. I., H. Godwin, A. Green, L. E. Wilkes, N. J. Holden, M. Moffatt, W. O. Cookson, G. Layton and S. Chandler (2010). "A study of matrix metalloproteinase expression and activity in atopic dermatitis using a novel skin wash sampling assay for functional biomarker analysis." *Br J Dermatol* 162(2): 397-403.
- Herberth, G., J. Heinrich, S. Roder, A. Figl, M. Weiss, U. Diez, M. Borte, O. Herbarth, I. Lehmann and L. s. group (2010). "Reduced IFN-gamma- and enhanced IL-4-producing CD4+ cord blood T cells are associated with a higher risk for atopic dermatitis during the first 2 yr of life." *Pediatr Allergy Immunol* 21(1 Pt 1): 5-13.
- Higaki, S., M. Morohashi, T. Yamagishi and Y. Hasegawa (1999). "Comparative study of staphylococci from the skin of atopic dermatitis patients and from healthy subjects." *Int J Dermatol* 38(4): 265-269.
- Hirota, T., A. Takahashi, M. Kubo, T. Tsunoda, K. Tomita, M. Sakashita, T. Yamada, S. Fujieda, S. Tanaka, S. Doi, A. Miyatake, T. Enomoto, C. Nishiyama, N. Nakano, K. Maeda, K. Okumura, H. Ogawa, S. Ikeda, E. Noguchi, T. Sakamoto, N. Hizawa, K. Ebe, H. Saeki, T. Sasaki, T. Ebihara, M. Amagai, S. Takeuchi, M. Furue, Y. Nakamura and M. Tamari (2012). "Genome-wide association study identifies eight new susceptibility loci for atopic dermatitis in the Japanese population." *Nat Genet* 44(11): 1222-1226.
- Howell, M. D., R. L. Gallo, M. Boguniewicz, J. F. Jones, C. Wong, J. E. Streib and D. Y. Leung (2006). "Cytokine milieu of atopic dermatitis skin subverts the innate immune response to vaccinia virus." *Immunity* 24(3): 341-348.
- Howell, M. D., B. E. Kim, P. Gao, A. V. Grant, M. Boguniewicz, A. De Benedetto, L. Schneider, L. A. Beck, K. C. Barnes and D. Y. Leung (2007). "Cytokine modulation of atopic dermatitis filaggrin skin expression." *J Allergy Clin Immunol* 120(1): 150-155.
- Hradetzky, S., L. M. Roesner, H. Balaji, A. Heratizadeh, I. Mittermann, R. Valenta and T. Werfel (2014). "Cytokine effects induced by the human autoallergen alpha-NAC." *J Invest Dermatol* 134(6): 1570-1578.

- Illi, S., E. von Mutius, S. Lau, R. Nickel, C. Gruber, B. Niggemann, U. Wahn and G. Multicenter Allergy Study (2004). "The natural course of atopic dermatitis from birth to age 7 years and the association with asthma." *J Allergy Clin Immunol* 113(5): 925-931.
- Imai, Y. (2019). "Interleukin-33 in atopic dermatitis." *J Dermatol Sci*.
- Irvine, A. D., W. H. McLean and D. Y. Leung (2011). "Filaggrin mutations associated with skin and allergic diseases." *N Engl J Med* 365(14): 1315-1327.
- J.F. Stalder, A. T. e. (1993). "Severity scoring of atopic dermatitis: the SCORAD index. Consensus Report of the European Task Force on Atopic Dermatitis." *Dermatology* 186(1): 23-31.
- Jansen, E., P. Beekhof, D. Viezeliene, V. Muzakova and J. Skalicky (2015). "Long-term stability of cancer biomarkers in human serum: biomarkers of oxidative stress and redox status, homocysteine, CRP and the enzymes ALT and GGT." *Biomark Med* 9(5): 425-432.
- Kaburagi, Y., Y. Shimada, T. Nagaoka, M. Hasegawa, K. Takehara and S. Sato (2001). "Enhanced production of CC-chemokines (RANTES, MCP-1, MIP-1alpha, MIP-1beta, and eotaxin) in patients with atopic dermatitis." *Arch Dermatol Res* 293(7): 350-355.
- Kim, J. P., L. X. Chao, E. L. Simpson and J. I. Silverberg (2016). "Persistence of atopic dermatitis (AD): A systematic review and meta-analysis." *J Am Acad Dermatol* 75(4): 681-687 e611.
- Kong, H. H., J. Oh, C. Deming, S. Conlan, E. A. Grice, M. A. Beatson, E. Nomicos, E. C. Polley, H. D. Komarow, N. C. S. Program, P. R. Murray, M. L. Turner and J. A. Segre (2012). "Temporal shifts in the skin microbiome associated with disease flares and treatment in children with atopic dermatitis." *Genome Res* 22(5): 850-859.
- Korn, T., E. Bettelli, M. Oukka and V. K. Kuchroo (2009). "IL-17 and Th17 Cells." *Annu Rev Immunol* 27: 485-517.
- Kreider, T., R. M. Anthony, J. F. Urban, Jr. and W. C. Gause (2007). "Alternatively activated macrophages in helminth infections." *Curr Opin Immunol* 19(4): 448-453.
- Lai, Y., A. L. Cogen, K. A. Radek, H. J. Park, D. T. Macleod, A. Leichtle, A. F. Ryan, A. Di Nardo and R. L. Gallo (2010). "Activation of TLR2 by a small molecule produced by *Staphylococcus epidermidis* increases antimicrobial defense against bacterial skin infections." *J Invest Dermatol* 130(9): 2211-2221.
- Lauffer F., Baghin V., Standl M., Stark S.P., Jargosch M., Wehrle J., Thomas J., Schmidt-Weber C.P., Biedermann T., Eyerich S., Eyerich K., Garzorz- Stark N. (2020). "Predicting persistence of atopic dermatitis in children using clinical attributes and serum proteins". *Allergy*. 2020;00:1–15.

- Liang, S. C., X. Y. Tan, D. P. Luxenberg, R. Karim, K. Dunussi-Joannopoulos, M. Collins and L. A. Fouser (2006). "Interleukin (IL)-22 and IL-17 are coexpressed by Th17 cells and cooperatively enhance expression of antimicrobial peptides." *J Exp Med* 203(10): 2271-2279.
- Matsumoto, T., T. Miike, K. Yamaguchi, M. Murakami, T. Kawabe and J. Yodoi (1991). "Serum levels of soluble IL-2 receptor, IL-4 and IgE-binding factors in childhood allergic diseases." *Clin Exp Immunol* 85(2): 288-292.
- Mollanazar, N. K., P. K. Smith and G. Yosipovitch (2016). "Mediators of Chronic Pruritus in Atopic Dermatitis: Getting the Itch Out?" *Clin Rev Allergy Immunol* 51(3): 263-292.
- Mor, F., F. J. Quintana and I. R. Cohen (2004). "Angiogenesis-inflammation cross-talk: vascular endothelial growth factor is secreted by activated T cells and induces Th1 polarization." *J Immunol* 172(7): 4618-4623.
- Morizane, S., K. Yamasaki, A. Kajita, K. Ikeda, M. Zhan, Y. Aoyama, R. L. Gallo and K. Iwatsuki (2012). "TH2 cytokines increase kallikrein 7 expression and function in patients with atopic dermatitis." *J Allergy Clin Immunol* 130(1): 259-261 e251.
- Mosser, D. M. and J. P. Edwards (2008). "Exploring the full spectrum of macrophage activation." *Nat Rev Immunol* 8(12): 958-969.
- Naik, S., N. Bouladoux, J. L. Linehan, S. J. Han, O. J. Harrison, C. Wilhelm, S. Conlan, S. Himmelfarb, A. L. Byrd, C. Deming, M. Quinones, J. M. Brechley, H. H. Kong, R. Tussiwand, K. M. Murphy, M. Merad, J. A. Segre and Y. Belkaid (2015). "Commensal-dendritic-cell interaction specifies a unique protective skin immune signature." *Nature* 520(7545): 104-108.
- Nakahara, T., H. Morimoto, N. Murakami and M. Furue (2018). "Mechanistic insights into topical tacrolimus for the treatment of atopic dermatitis." *Pediatr Allergy Immunol* 29(3): 233-238.
- Nakatsuji, T., T. H. Chen, S. Narala, K. A. Chun, A. M. Two, T. Yun, F. Shafiq, P. F. Kotol, A. Bouslimani, A. V. Melnik, H. Latif, J. N. Kim, A. Lockhart, K. Artis, G. David, P. Taylor, J. Streib, P. C. Dorrestein, A. Grier, S. R. Gill, K. Zengler, T. R. Hata, D. Y. Leung and R. L. Gallo (2017). "Antimicrobials from human skin commensal bacteria protect against *Staphylococcus aureus* and are deficient in atopic dermatitis." *Sci Transl Med* 9(378).
- Nakatsuji, T., T. H. Chen, A. M. Two, K. A. Chun, S. Narala, R. S. Geha, T. R. Hata and R. L. Gallo (2016). "Staphylococcus aureus Exploits Epidermal Barrier Defects in Atopic Dermatitis to Trigger Cytokine Expression." *J Invest Dermatol* 136(11): 2192-2200.
- Nakatsuji T, T. Y., Butcher A, Hayashi A, Chun K, Shafiq F, et al. (2018). "Clinical improvement in atopic dermatitis following autologous application of microbiome therapy targeting *Staphylococcus aureus*." *J Invest Dermatol* 138:S72.

- Nakazato, J., M. Kishida, R. Kuroiwa, J. Fujiwara, M. Shimoda and N. Shinomiya (2008). "Serum levels of Th2 chemokines, CCL17, CCL22, and CCL27, were the important markers of severity in infantile atopic dermatitis." *Pediatr Allergy Immunol* 19(7): 605-613.
- Narbutt, J., A. Lesiak, A. Sysa-Jedrzejowska, M. Zakrzewski, J. Bogaczewicz, I. Stelmach and P. Kuna (2009). "The imbalance in serum concentration of Th-1- and Th-2-derived chemokines as one of the factors involved in pathogenesis of atopic dermatitis." *Mediators Inflamm* 2009: 269541.
- Nestle, F. O., P. Di Meglio, J. Z. Qin and B. J. Nickoloff (2009). "Skin immune sentinels in health and disease." *Nat Rev Immunol* 9(10): 679-691.
- Opendakker, G., P. E. Van den Steen and J. Van Damme (2001). "Gelatinase B: a tuner and amplifier of immune functions." *Trends Immunol* 22(10): 571-579.
- Oriss, T. B., S. A. McCarthy, B. F. Morel, M. A. Campana and P. A. Morel (1997). "Crossregulation between T helper cell (Th)1 and Th2: inhibition of Th2 proliferation by IFN-gamma involves interference with IL-1." *J Immunol* 158(8): 3666-3672.
- Paternoster, L., M. Standl, J. Waage, (...), D. M. Evans and S. Weidinger (2015). "Multi-ancestry genome-wide association study of 21,000 cases and 95,000 controls identifies new risk loci for atopic dermatitis." *Nat Genet* 47(12): 1449-1456.
- Pellerin, L., J. Henry, C. Y. Hsu, S. Balica, C. Jean-Decoster, M. C. Mechin, B. Hansmann, E. Rodriguez, S. Weidinger, A. M. Schmitt, G. Serre, C. Paul and M. Simon (2013). "Defects of filaggrin-like proteins in both lesional and nonlesional atopic skin." *J Allergy Clin Immunol* 131(4): 1094-1102.
- Raap, U., K. Wichmann, M. Bruder, S. Stander, B. Wedi, A. Kapp and T. Werfel (2008). "Correlation of IL-31 serum levels with severity of atopic dermatitis." *J Allergy Clin Immunol* 122(2): 421-423.
- Raphael, I., S. Nalawade, T. N. Eagar and T. G. Forsthuber (2015). "T cell subsets and their signature cytokines in autoimmune and inflammatory diseases." *Cytokine* 74(1): 5-17.
- Rapp, M., M. W. M. Wintergerst, W. G. Kunz, V. K. Vetter, M. M. L. Knott, D. Lisowski, S. Haubner, S. Moder, R. Thaler, S. Eiber, B. Meyer, N. Rohrle, I. Piseddu, S. Grassmann, P. Layritz, B. Kuhnemuth, S. Stutte, C. Bourquin, U. H. von Andrian, S. Endres and D. Anz (2019). "CCL22 controls immunity by promoting regulatory T cell communication with dendritic cells in lymph nodes." *J Exp Med* 216(5): 1170-1181.
- Riedler, J., C. Braun-Fahrlander, W. Eder, M. Schreuer, M. Waser, S. Maisch, D. Carr, R. Schierl, D. Nowak, E. von Mutius and A. S. Team (2001). "Exposure to farming in early life and development of asthma and allergy: a cross-sectional survey." *Lancet* 358(9288): 1129-1133.

- Rodriguez, E., H. Baurecht, E. Herberich, S. Wagenpfeil, S. J. Brown, H. J. Cordell, A. D. Irvine and S. Weidinger (2009). "Meta-analysis of filaggrin polymorphisms in eczema and asthma: robust risk factors in atopic disease." *J Allergy Clin Immunol* 123(6): 1361-1370 e1367.
- Saeki, H. and K. Tamaki (2006). "Thymus and activation regulated chemokine (TARC)/CCL17 and skin diseases." *J Dermatol Sci* 43(2): 75-84.
- Schmitt, J., N. M. Schmitt, W. Kirch and M. Meurer (2009). "Outpatient care and medical treatment of children and adults with atopic eczema." *J Dtsch Dermatol Ges* 7(4): 345-351.
- Schroder, J. M. (2011). "Antimicrobial peptides in healthy skin and atopic dermatitis." *Allergol Int* 60(1): 17-24.
- Seidenari, S. and G. Giusti (1995). "Objective assessment of the skin of children affected by atopic dermatitis: a study of pH, capacitance and TEWL in eczematous and clinically uninvolved skin." *Acta Derm Venereol* 75(6): 429-433.
- Silverberg, J. I., L. Becker, M. Kwasny, A. Menter, K. M. Cordoro and A. S. Paller (2015). "Central obesity and high blood pressure in pediatric patients with atopic dermatitis." *JAMA Dermatol* 151(2): 144-152.
- Silverberg, J. I. and J. M. Hanifin (2013). "Adult eczema prevalence and associations with asthma and other health and demographic factors: a US population-based study." *J Allergy Clin Immunol* 132(5): 1132-1138.
- Soumelis, V., P. A. Reche, H. Kanzler, W. Yuan, G. Edward, B. Homey, M. Gilliet, S. Ho, S. Antonenko, A. Lauerma, K. Smith, D. Gorman, S. Zurawski, J. Abrams, S. Menon, T. McClanahan, R. de Waal-Malefyt Rd, F. Bazan, R. A. Kastelein and Y. J. Liu (2002). "Human epithelial cells trigger dendritic cell mediated allergic inflammation by producing TSLP." *Nat Immunol* 3(7): 673-680.
- Stahle-Backdahl, M., M. Inoue, G. J. Guidice and W. C. Parks (1994). "92-kD gelatinase is produced by eosinophils at the site of blister formation in bullous pemphigoid and cleaves the extracellular domain of recombinant 180-kD bullous pemphigoid autoantigen." *J Clin Invest* 93(5): 2022-2030.
- Thijs, J., T. Krastev, S. Weidinger, C. F. Buckens, M. de Bruin-Weller, C. Bruijnzeel-Koomen, C. Flohr and D. Hijnen (2015). "Biomarkers for atopic dermatitis: a systematic review and meta-analysis." *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 15(5): 453-460.
- Thijs, J. L., I. Strickland, C. Bruijnzeel-Koomen, S. Nierkens, B. Giovannone, E. Csomor, B. R. Sellman, T. Mustelin, M. A. Sleeman, M. S. de Bruin-Weller, A. Herath, J. Drylewicz, R. D. May and D. Hijnen (2017). "Moving toward endotypes in atopic dermatitis: Identification of patient clusters based on serum biomarker analysis." *J Allergy Clin Immunol* 140(3): 730-737.
- Thijs, J. L., I. Strickland, C. Bruijnzeel-Koomen, S. Nierkens, B. Giovannone, E. F. Knol, E. Csomor, B. R. Sellman, T. Mustelin, M. A. Sleeman, M. S. de Bruin-Weller, A. Herath, J. Drylewicz, R. D. May and D. Hijnen (2018). "Serum biomarker

profiles suggest that atopic dermatitis is a systemic disease." *J Allergy Clin Immunol* 141(4): 1523-1526.

- Thorsteinsdottir, S., J. Stokholm, J. P. Thyssen, S. Norgaard, J. Thorsen, B. L. Chawes, K. Bonnelykke, J. Waage and H. Bisgaard (2019). "Genetic, Clinical, and Environmental Factors Associated With Persistent Atopic Dermatitis in Childhood." *JAMA Dermatol* 155(1): 50-57.
- Toyoda, M., M. Nakamura, T. Makino, T. Hino, M. Kagoura and M. Morohashi (2002). "Nerve growth factor and substance P are useful plasma markers of disease activity in atopic dermatitis." *Br J Dermatol* 147(1): 71-79.
- Tulic, M. K., J. L. Wale, P. G. Holt and P. D. Sly (2000). "Modification of the inflammatory response to allergen challenge after exposure to bacterial lipopolysaccharide." *Am J Respir Cell Mol Biol* 22(5): 604-612.
- van de Poel, S., Kunz, S. & Jakob, T. (2013). "Innate lymphoide Zellen: neue Mitspieler im immunologischen Orchester." *Allergo J* 22.
- Warner, J. O., J. A. Warner, E. A. Miles and A. C. Jones (1994). "Reduced interferon-gamma secretion in neonates and subsequent atopy." *Lancet* 344(8935): 1516.
- Weidinger, S., L. A. Beck, T. Bieber, K. Kabashima and A. D. Irvine (2018). "Atopic dermatitis." *Nat Rev Dis Primers* 4(1): 1.
- Weidinger, S., S. A. Willis-Owen, Y. Kamatani, H. Baurecht, N. Morar, L. Liang, P. Edser, T. Street, E. Rodriguez, G. M. O'Regan, P. Beattie, R. Folster-Holst, A. Franke, N. Novak, C. M. Fahy, M. C. Winge, M. Kabesch, T. Illig, S. Heath, C. Soderhall, E. Melen, G. Pershagen, J. Kere, M. Bradley, A. Lieden, M. Nordenskjold, J. I. Harper, W. H. McLean, S. J. Brown, W. O. Cookson, G. M. Lathrop, A. D. Irvine and M. F. Moffatt (2013). "A genome-wide association study of atopic dermatitis identifies loci with overlapping effects on asthma and psoriasis." *Hum Mol Genet* 22(23): 4841-4856.
- Werfel, T., A. Heratizadeh, W. Aberer, F. Ahrens, M. Augustin, T. Biedermann, T. Diepgen, R. Fölster-Holst, U. Gieler, J. Kahle, A. Kapp, A. Nast, K. Nemat, H. Ott, B. Przybilla, M. Roecken, M. Schlaeger, P. Schmid- Grendelmeier, J. Schmitt, T. Schwennesen, D. Schwennesen and M. Worm (2015). "S2k – Guideline on diagnosis and treatment of atopic dermatitis. Update." AWMF AWMF-Registernummer: 013-027.
- Wilson, S. R., L. The, L. M. Batia, K. Beattie, G. E. Katibah, S. P. McClain, M. Pellegrino, D. M. Estandian and D. M. Bautista (2013). "The epithelial cell-derived atopic dermatitis cytokine TSLP activates neurons to induce itch." *Cell* 155(2): 285-295.
- Wollenberg, A. and T. Bieber (2009). "Proactive therapy of atopic dermatitis--an emerging concept." *Allergy* 64(2): 276-278.

- Wynn, T. A. (2015). "Type 2 cytokines: mechanisms and therapeutic strategies." *Nat Rev Immunol* 15(5): 271-282.
- Zander, J., M. Bruegel, A. Kleinhempel, S. Becker, S. Petros, L. Kortz, J. Dorow, J. Kratzsch, R. Baber, U. Ceglarek, J. Thiery and D. Teupser (2014). "Effect of biobanking conditions on short-term stability of biomarkers in human serum and plasma." *Clin Chem Lab Med* 52(5): 629-639.
- Zhang, Y., Y. Zhang, W. Gu and B. Sun (2014). "TH1/TH2 cell differentiation and molecular signals." *Adv Exp Med Biol* 841: 15-44.
- Zipperer, A., M. C. Konnerth, C. Laux, A. Berscheid, D. Janek, C. Weidenmaier, M. Burian, N. A. Schilling, C. Slavetinsky, M. Marschal, M. Willmann, H. Kalbacher, B. Schittek, H. Brotz-Oesterhelt, S. Grond, A. Peschel and B. Krismer (2016). "Human commensals producing a novel antibiotic impair pathogen colonization." *Nature* 535(7613): 511-516.

# Anhang

## Ergebnisse

Clinical characteristics		Patients (n=124)
<b>General information</b>		
Female sex, no. (%)		42 (33.8)
Family history for allergic disease, no. (%)		86 (69.4)
Exposure to pets at home, no. (%)		28 (22.9)
Siblings, no. (%)		88 (72.1)
<b>Pregnancy</b>		
Maternal smoking, no. (%)		7 (5.6)
Maternal infection, no. (%)		19 (15.4)
<b>Birth</b>		
Birth week (p.m.), mean $\pm$ SD [week]		39.5 $\pm$ 1.8
C-section delivery, no. (%)		26 (21.1)
Birth weight, mean $\pm$ SD [g]		3359 $\pm$ 574.3
<b>Breast-feeding</b>		
Breastfed patients, no. (%)		105 (85.4)
Breast-feeding duration, mean $\pm$ SD [months]		7 $\pm$ 6.6
<b>Milk crust</b>		
Patients with milk crust, no. (%)		98 (80.3)
Milk crust persistence, mean $\pm$ SD [months]		10.6 $\pm$ 15.1
Milk crust severe, no. (%)		49 (41.9)
<b>AD</b>		
Age at onset, mean $\pm$ SD [months]		6.9 $\pm$ 7.6
Early onset AD ( $\leq$ 3 months), no. (%)		60 (48.4)
SCORAD at onset, mean $\pm$ SD		36.8 $\pm$ 17.3
Age at remission, mean $\pm$ SD [years]		4.4 $\pm$ 2.5
<b>Trigger factor for AE exacerbation</b>		
Stress, no. (%)		55 (46.2)
Climate, no. (%)		85 (70.3)
Pollen exposure, no. (%)		36 (29.75)
Illness, no. (%)		42 (34.7)
Vaccination, no. (%)		15 (12.7)
<b>Atopic diseases</b>		
Allergic rhinitis, no. (%)		70 (57.85)
	Allergic rhinitis- birch pollen, no. (%)	34 (28.8)
	Allergic rhinitis- grass pollen, no. (%)	48 (40.7)
	Allergic rhinitis- house dust mite, no. (%)	20 (16.9)
	Allergic rhinitis- cat dander, no. (%)	14 (11.9)
Allergic asthma, no. (%)		22 (18.3)
	Allergic asthma- age at onset, mean $\pm$ SD	4.3 $\pm$ 2.9
Food allergy, no. (%)		46 (38)
	Food allergy egg, no. (%)	36 (29.75)
	Food allergy cow's milk, no. (%)	20 (16.5)
	Food allergy nuts, no. (%)	27 (22.3)
No atopic disease reported, no. (%)		40 (32.8)
Allergic asthma and rhinitis, no. (%)		19 (16)

**Tabelle 3- Klinische Eigenschaften der Studienpopulation.** Mod. nach (Laufer, Baghin et al. 2020).

	Patients with no AD remission up to age 7 (n=78)	Patients with AD remission up to age 7 (n=46)	OR	95% CI	p-value
<b>General information</b>					
Female sex, no. (%)	28 (35.9)	14 (30.4)	1,28	0.59-2.79	0.5347
Family history for allergic disease, no. (%)	56 (71.8)	30 (65.2)	1,36	0.62-2.97	0.4428
Exposure to pets at home, no. (%)	16 (20.7)	12 (26.6)	0,72	0.31-1.71	0.4556
Siblings, no. (%)	56 (71.8)	32 (72.7)	0,95	0.42-2.18	0.9122
<b>Pregnancy</b>					
Maternal smoking, no. (%)	4 (5.1)	3 (6.5)	0,77	0.17-3.63	0.7453
Maternal infection, no. (%)	10 (12.8)	9 (20)	0,59	0.22-1.58	0.2886
<b>Birth</b>					
Birth week (p.m.), mean $\pm$ SD [week]	39.4 $\pm$ 1.9	39.5 $\pm$ 1.5			0.9188
C-section delivery, no. (%)	24 (30.7)	12 (26.6)	1,22	0.54-2.77	0.63
Birth weight, mean $\pm$ SD [g]	3305 $\pm$ 637	3454 $\pm$ 433			0.2793
<b>Breast-feeding</b>					
Breastfed patients, no. (%)	69 (88.5)	36 (80)	1,92	0.67-5.25	0.2009
Breast-feeding duration, mean $\pm$ SD [months]	6.5 $\pm$ 5.8	7.8 $\pm$ 7.7			0.4709
<b>Milk crust</b>					
Patients with milk crust, no. (%)	63 (82.9)	35 (76.1)	1,52	0.62-3.76	0.3593
Milk crust persistence, mean $\pm$ SD [months]	11.4 $\pm$ 15.1	9.3 $\pm$ 15.2			0.1926
Milk crust severe, no. (%)	32 (43.8)	17 (38.6)	1,24	0.58-2.66	0.5808
<b>AD</b>					
Age at onset, mean $\pm$ SD [months]	7.6 $\pm$ 8.2	5.6 $\pm$ 6.2			0.4653
Early onset AD ( $\leq$ 3 months), no. (%)	36 (46.1)	24 (52.2)	0,79	0.38-1.63	0.517
SCORAD at onset, mean $\pm$ SD	38.2 $\pm$ 16.4	34.4 $\pm$ 18.5			0.1719
SCORAD at age 3, mean $\pm$ SD	35.0 $\pm$ 18.3	14.7 $\pm$ 14.6			<0.0001
Age at remission, mean $\pm$ SD [years]	NA	3.5 $\pm$ 1.7			
<b>Trigger factor for AE exacerbation</b>					
Stress, no. (%)	43 (57.3)	12 (27.3)	3,58	1.60-8.02	0.0015
Change in the weather, no. (%)	64 (83.1)	21 (47.7)	5,38	2.33-12.49	<0.0001
Pollen exposure, no. (%)	30 (39.5)	6 (13.6)	4,13	1.56-10.97	0.0029
Illness, no. (%)	30 (38.5)	12 (27.9)	1,62	0.72-3.62	0.2431
Vaccination, no. (%)	8 (10.7)	7 (16.3)	0,61	0.21-1.83	0.3784
<b>Atopic diseases</b>					
Allergic rhinitis, no. (%)	49 (64.5)	21 (46.7)	2,07	0.98-4.39	0.0552
Allergic rhinitis- birch pollen, no. (%)	23 (31.1)	11 (25)	1,35	0.58-3.14	0.4806
Allergic rhinitis- grass pollen, no. (%)	36 (48.6)	12 (27.3)	1,2	0.53-2.75	0.6614
Allergic rhinitis- house dust mite, no. (%)	13 (17.6)	7 (15.9)	1,13	0.41-3.08	0.8164
Allergic rhinitis- cat dander, no. (%)	10 (13.5)	4 (9.1)	1,56	0.46-5.32	0.4725
Allergic asthma, no. (%)	18 (23.4)	4 (9.3)	2,97	0.94-9.46	0.0561
Allergic asthma- age at onset, mean $\pm$ SD [years]	4.7 $\pm$ 3.1	2.75 $\pm$ 0.9			0.3677
Food allergy, no. (%)	31 (40.8)	15 (33.3)	1,38	0.64-2.98	0.4142
Food allergy egg, no. (%)	26 (34.2)	10 (22.2)	1,82	0.78-4.25	0.1633
Food allergy cow's milk, no. (%)	14 (18.4)	6 (13.3)	1,47	0.52-4.14	0.4665
Food allergy nuts, no. (%)	16 (21)	11 (24.4)	0,82	0.34-1.98	0.6649
No other atopic disease reported, no. (%)	21 (27.3)	19 (42.2)	0,51	0.24-1.11	0.0897
Allergic asthma and rhinitis, no. (%)	16 (21)	3 (7)	3,56	0.97-13.00	0.044

**Tabelle 4- Klinische Eigenschaften der Studienpopulation in Abhängigkeit des Erkrankungsverlaufs bis zum 7. Lebensjahr.** OR= Odds ratio. CI= 95%-Konfidenzintervall. Mod. nach (Laufer, Baghin et al. 2020).

	Patients with no AD remission up to age 7 (n=78)	Patients with AD remission up to age 7 (n=46)	OR	95% CI	p-value
Serum total IgE level, mean $\pm$ SD [IU/ml]	152.3 $\pm$ 321	147.8 $\pm$ 10.5			0.0883
Serum total IgE level >100 IU/ml, no. (%)	31 (39.7)	13 (29.5)		1,57 0.71-3.47	0.26
Serum food- specific IgE $\geq$ 0.35 kU/l to egg white, no. (%)	50 (64.1)	24 (53.3)		1,56 0.74-3.23	0.24
Serum food- specific IgE $\geq$ 0.35 kU/l to peanut, no. (%)	19 (24.7)	9 (20)		1,31 0.54-3.21	0.5535
Serum food- specific IgE $\geq$ 0.35 kU/l to soybean, no. (%)	12 (15.4)	8 (17.8)		0,84 0.32-2.24	0.729
Serum food- specific IgE $\geq$ 0.35 kU/l to cow's milk protein, no. (%)	20 (25.6)	10 (22.2)		1,21 0.51-2.87	0.6706
Serum food- specific IgE $\geq$ 0.35 kU/l to carrot, no. (%)	3 (5.7)	1 (3.1)		1,86 0.19-18.7	0.5928
Serum food- specific IgE $\geq$ 0.35 kU/l to wheat, no. (%)	11 (14.3)	4 (9.1)		1,67 0.5-5.59	0.4042
Serum food- specific IgE $\geq$ 0.35 kU/l to banana, no. (%)	15 (19.2)	7 (15.9)		1,26 0.47-3.37	0.6468
Serum specific IgE $\geq$ 0.35 kU/l to common pollen and environmental inhalants, no. (%)	28 (35.9)	9 (20)		2,24 0.94-5.32	0.0641

**Tabelle 5- Laborchemische Eigenschaften der Studienpopulation in Abhängigkeit des Erkrankungsverlaufs bis zum 7. Lebensjahr (Teil 1).** OR= Odds ratio. CI= 95%-Konfidenzintervall. Mod. nach (Laufer, Baghin et al. 2020).

Cytokine	Mean in study group with no remission (pg/ml)	SEM in study group with no remission (pg/ml)	Mean in study group with remission (pg/ml)	SEM in study group with remission (pg/ml)	p-value
CCL17	53,883.57	22,819.53	35,891.71	22,073.59	0.3742
CCL22	56,984.24	17,881.31	80,108.62	29,443.81	<b>0.0499</b>
TIMP-1	643,708.96	23,004.99	662,732.14	30,182.07	0.3596
TIMP-2	391,224.26	12,398.69	391,292.69	21,124.54	0.4120
TIMP-3	32,949.17	1,463.21	54,824.46	20,880.40	0.3403
TIMP-4	1,308.37	177.96	1,231.99	272.27	0.3359
IL-9	171.03	4.93	164.09	6.19	0.1861
IP-10	867.37	85.72	931.21	125.53	0.2076
PDGF-BB	4,094.00	160.95	4,105.21	323.56	0.2313
MIP-1β	234.91	15.42	219.72	15.07	0.2980
RANTES	19,024.30	624.89	17,229.02	668.82	0.0576
IL-1β	5.53	0.74	4.67	0.8	0.2605
IL-1RA	112.26	15.56	121.7	24.69	0.4845
IL-2	8.76	2.55	14.13	5.41	0.1736
IL-4	6.17	0.19	6.01	0.36	0.2196
IL-5	6.24	0.75	4.62	0.81	0.0519
IL-6	15.68	3.66	15.16	5.33	0.1505
IL-7	12.38	1.33	11.79	2.34	<b>0.0358</b>
IL-8	83.45	50.6	29.9	4.85	0.0502
IL-10	26.84	6.5	29.66	10.66	0.2083
IL-12	48.92	5.86	49.52	8.69	0.4160
IL-13	8.14	1.08	8.63	1.75	0.4742
IL-15	6.05	2.37	13.62	5.78	0.2642
IL-17	90.44	4.55	79.75	5.54	0.0638
Eotaxin	108.54	6.36	96.77	7.51	0.1427
FGF-β	84.01	2.97	76.34	3.41	0.0585
G-CSF	88.45	5.67	81.17	6.65	0.1557
GM-CSF	121.37	13.5	105.19	14.79	0.3930
IFN-γ	102.42	14.18	76.36	8.9	<b>0.0403</b>
MCP-1	125.17	25.48	104.8	20.29	0.4928
MIP-1α	4.78	0.24	4.38	0.25	0.1959
TNF-α	94.59	14.74	94.1	20.55	0.4948
VEGF	71.2	8.61	103.61	14.87	<b>0.0489</b>

**Tabelle 6- Laborchemische Eigenschaften der Studienpopulation in Abhängigkeit des Erkrankungsverlaufs bis zum 7. Lebensjahr (Teil 2).** SEM= Standardfehler des Mittelwerts. Mod. nach (Laufer, Baghin et al. 2020).

Variable	Cluster 1	Cluster 2	Cluster 3
<b>General information</b>			
Number of patients	42	45	37
Female sex (%)	28.6	37.8	35.1
<b>Family history for allergic disease (%)</b>	<b>85.7 &gt;3</b>	<b>71.1</b>	<b>48.6 &lt;1</b>
Exposure to pets at home (%)	21.4	15.6	32.4
Siblings (%)	71.4	75.6	70.3
<b>Pregnancy</b>			
Maternal smoking (%)	4.8	4.4	8.1
Maternal infection (%)	11.9	11.1	24.3
<b>Birth</b>			
Birth week (p.m.), mean ± SD [week]	39.83 ± 0.23	39.58 ± 0.22	39.03 ± 0.32
C-section delivery (%)	21.4	28.9	37.8
Birth weight, mean ± SD [g]	3356.19 ± 102.38	3366.56 ± 70.05	3350.81 ± 97.70
<b>Breast-feeding</b>			
Breast fed patients (%)	92.9	86.7	73.0
Breast feeding duration, mean ± SD [months]	7.88 ± 1.18	6.84 ± 0.99	6.14 ± 0.84
<b>Milk crust</b>			
Patients with milk crust (%)	88.1	75.6	78.4
Milk crust persistence, mean ± SD [months]	12.81 ± 2.92	7.67 ± 1.47	9.14 ± 2.22
Milk crust severe (%)	45.2	46.7	24.3
Milk crust mild (%)	35.7	22.2	48.6
<b>AD</b>			
<b>Age at onset, mean ± SD [months]</b>	<b>3.55 ± 0.39 &lt;2, &lt;3</b>	<b>8.04 ± 1.28 &gt;1</b>	<b>9.32 ± 1.31 &gt;1</b>
<b>SCORAD at onset, mean ± SD</b>	<b>42.82 ± 2.77 &gt;3</b>	<b>35.29 ± 2.16</b>	<b>31.68 ± 3.06 &lt;1</b>
SCORAD at age 3, mean ± SD	29.72 ± 3.20	30.10 ± 2.45	21.20 ± 3.57
Proactive topical treatment (%)	35.7	40.0	37.8
Persistence at the age of 7 (%)	73.8	66.7	45.9
<b>Trigger factor for AE exacerbation</b>			
<b>Stress (%)</b>	<b>64.3 &gt;3,2</b>	<b>35.6 &lt;1</b>	<b>32.4 &lt;1</b>
Change in the weather (%)	83.3	66.7	62.2
<b>Pollen exposure (%)</b>	<b>71.4 &gt;2,3</b>	<b>13.3 &lt;1, &gt;3</b>	<b>0.0 &lt;1, &lt;2</b>
<b>Illness (%)</b>	<b>64.3 &gt;2,3</b>	<b>24.4 &lt;1</b>	<b>10.8 &lt;1</b>
<b>Vaccination (%)</b>	<b>26.2 &gt;3</b>	<b>6.7</b>	<b>2.7 &lt;1</b>
<b>Atopic diseases</b>			
<b>RCA (%)</b>	<b>92.9 &gt;3</b>	<b>75.6 &gt;3</b>	<b>0.0 &lt;1,2</b>
RCA- birch pollen (%)	51.4 >3,2	22.2 <1, >3	0.0 <1,2
RCA- grass pollen (%)	73.8 >3,2	37.8 <1, >3	0.0 <1,2
RCA- house dust mite (%)	26.2 >3	22.2 >3	0.0 <1,2
RCA- cat dander (%)	19 >3	13.3	0.0 <1
<b>Allergic asthma (%)</b>	<b>42.9 &gt;3</b>	<b>8.9</b>	<b>0.0 &lt;1</b>
<b>No atopic disease reported (%)</b>	<b>0.0 &lt;3</b>	<b>11.1 &lt;3</b>	<b>94.6 &gt;1,2</b>
<b>Food allergy egg (%)</b>	<b>50.0 &gt;3</b>	<b>31.1 &gt;3</b>	<b>2.7 &lt;1,2</b>
<b>Food allergy cowsmilk (%)</b>	<b>38.1 &gt;2,3</b>	<b>8.9 &lt;1</b>	<b>0.0 &lt;1</b>
<b>Food allergy nuts (%)</b>	<b>47.6 &gt;2,3</b>	<b>13.3 &lt;1</b>	<b>2.7 &lt;1</b>
<b>Serum IgE</b>			
<b>Serum total IgE level, mean ± SD [IU/ml]</b>	<b>244.96 ± 56.40 &gt;2,3</b>	<b>68.18 ± 10.96 &lt;1</b>	<b>130.30 ± 66.40 &lt;1</b>
<b>Specific IgE ≥ 0.35 kU/l to egg white, no. (%)</b>	<b>76.2 &gt;3</b>	<b>66.7 &gt;3</b>	<b>35.1 &lt;1,2</b>
<b>Specific IgE ≥ 0.35 kU/l to peanut, no. (%)</b>	<b>54.8 &gt;2,3</b>	<b>6.7 &lt;1</b>	<b>5.4 &lt;1</b>
<b>Specific IgE ≥ 0.35 kU/l to soybean, no. (%)</b>	<b>33.3 &gt;3</b>	<b>13.3</b>	<b>0.0 &lt;1</b>
<b>Specific IgE ≥ 0.35 kU/l to cow's milk protein, no. (%)</b>	<b>47.6 &gt;2,3</b>	<b>15.6 &lt;1</b>	<b>8.1 &lt;1</b>
<b>Specific IgE ≥ 0.35 kU/l to wheat, no. (%)</b>	<b>31.0 &gt;2,3</b>	<b>4.4 &lt;1</b>	<b>0.0 &lt;1</b>
<b>Specific IgE ≥ 0.35 kU/l to banana, no. (%)</b>	<b>28.6</b>	<b>15.6</b>	<b>8.1</b>
<b>Specific IgE ≥ 0.35 kU/l to common pollen and environmental inhalants, no. (%)</b>	<b>52.4 &gt;2,3</b>	<b>22.2 &lt;1</b>	<b>13.5 &lt;1</b>
<b>Serum cytokines, mean ± SEM [pg/mL]</b>			
CCL17	104,525.42 ± 4,456.2	27,783.72 ± 21,182.80	5,773.01 ± 1,765.63
CCL22	114,687.97 ± 42,055.47	52,594.55 ± 20,943.068	25,570.74 ± 2,977.23
PDGF-bb	4,528.10 ± 328.99	3,924.90 ± 247.64	3,820.85 ± 229.42
IL-4	6.32 ± 0.29	6.05 ± 0.36	5.96 ± 0.24
G-CSF	86.82 ± 6.93	85.25 ± 8.13	85.15 ± 7.23
GM-CSF	133.6 ± 20.34	107.74 ± 17.16	103.95 ± 14.30
MCP-1	132.15 ± 45.76	118.50 ± 24.96	100.14 ± 14.77
IL-8	134.21 ± 100.95	23.83 ± 3.75	31.76 ± 3.91
IP-10	994.54 ± 143.84	807.66 ± 127.11	875.01 ± 87.25
<b>MIP-1b</b>	<b>276.41 ± 26.28 &gt;2,3</b>	<b>204.00 ± 13.73 &lt;1</b>	<b>206.51 ± 15.90 &lt;1</b>
FGF-basic	84.55 ± 3.96	78.45 ± 3.01	80.64 ± 5.00
MIP-1a	5.10 ± 0.38	4.26 ± 0.24	4.55 ± 0.32
<b>IL-9</b>	<b>183.2 ± 8.51 &gt;3</b>	<b>158.88 ± 5.47</b>	<b>163.28 ± 5.50 &lt;1</b>
TIMP-2	408,010.68 ± 22,303.84	373,690.52 ± 17,364.27	393,579.30 ± 18,196.62
TIMP-4	1,494.47 ± 266.93	1,095.13 ± 218.86	1,261.50 ± 311.65
<b>IL-17</b>	<b>99.21 ± 7.00 &gt;2,3</b>	<b>78.27 ± 3.60 &lt;1</b>	<b>82.00 ± 7.59 &lt;1</b>
IL-1ra	102.95 ± 16.48	141.87 ± 29.71	98.54 ± 17.06
TIMP-3	35,104.50 ± 2,435.04	53,795.57 ± 20,687.06	32,345.17 ± 1,521.72
RANTES	18396.41 ± 889.72	18,714.83 ± 804.10	17,881.44 ± 748.89
IL-5	5.9 ± 0.94	6.17 ± 1.08	4.70 ± 0.83
IL-2	6.19 ± 2.48	17.84 ± 5.74	7.32 ± 3.72
IL-10	18.72 ± 6.83	38.96 ± 12.45	24.83 ± 7.59
IL-12	41.95 ± 5.82	59.37 ± 11.42	44.87 ± 4.37
IL-15	4.32 ± 2.38	16.06 ± 5.71	5.25 ± 4.28
IL-6	12.12 ± 3.07	19.43 ± 6.77	14.50 ± 4.22
Eotaxin	98.63 ± 6.46	112.75 ± 9.77	100.05 ± 8.19
INF-g	77.14 ± 6.91	101.54 ± 16.91	99.78 ± 22.17
TNF-a	75.31 ± 11.38	121.05 ± 27.63	83.69 ± 14.97
IL-7	10.60 ± 1.19	14.39 ± 2.74	11.22 ± 1.54
IL-1b	4.00 ± 0.27	6.02 ± 1.21	5.22 ± 0.97
TIMP-1	640,416.55 ± 33,176.43	652,109.99 ± 30,170.97	660,879.26 ± 32,747.04
VEGF	76.55 ± 11.45	86.23 ± 13.60	87.16 ± 15.72
IL-13	8.29 ± 1.49	8.32 ± 2.01	8.36 ± 0.94

**Tabelle 7- Klinische und laborchemische Eigenschaften der drei Cluster.** Signifikante Unterschiede (p Wert ≤ 0.05) zwischen den Subpopulationen wurden mit fett gedrucktem Schriftbild hervorgehoben. Mod. nach (Lauffer, Baghin et al. 2020).

## Klinischer Fragebogen

Name, Vorname: \_\_\_\_\_ Geburtsdatum: \_\_\_\_\_

1.) Sind Familienangehörige des Kindes von Erkrankungen wie Neurodermitis, allergischer Schnupfen oder allergisches Asthma betroffen? *Zutreffendes bitte ankreuzen!*

- Nein
- Ja, und zwar: \_\_\_\_\_ Wer ist betroffen? \_\_\_\_\_

2.) *Zutreffendes bitte ankreuzen!*

Aktives Rauchen der Mutter während der Schwangerschaft	<input type="radio"/> ja <input type="radio"/> nein
Infekt der Mutter während der Schwangerschaft, der mit Antibiotika therapiert wurde	<input type="radio"/> ja <input type="radio"/> nein
Frühgeburt ( $\leq 36+6$ SSW p.m.)	<input type="radio"/> ja <input type="radio"/> nein
Termingeburt ( $37+0-41+6$ SSW)	<input type="radio"/> ja <input type="radio"/> nein
Übertragung ( $\geq 42+0$ SSW)	<input type="radio"/> ja <input type="radio"/> nein
Geburtsmodus	Spontan: _____ Kaiserschnitt: _____
Geburtsgewicht	

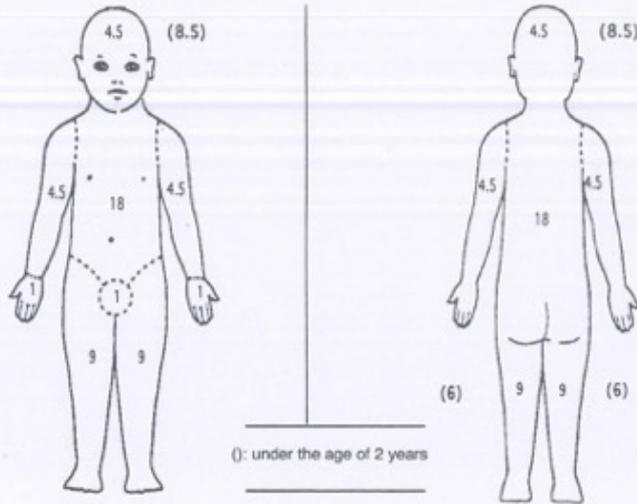
Wurde das Kind gestillt?	<input type="radio"/> Ja, und zwar wie lange: _____ <input type="radio"/> Nein
Wurde das Kind vor dem Auftreten der ersten Hauterscheinungen präventiv eingecremt?	<input type="radio"/> Ja, und zwar ab wann: _____ Wie oft? _____/Tag bzw. _____/Woche Wie lange? _____ Mit welchen Pflegeprodukten? _____ <input type="radio"/> Nein
Milchschorf	<input type="radio"/> Ja, und zwar wie lange: _____ War dieser eher mild oder stark ausgeprägt? _____ <input type="radio"/> Nein

3.) Wie alt war Ihr Kind als die ersten Neurodermitis Hauterscheinungen aufkamen?

\_\_\_\_\_ (Alter in Monaten)

Welche Körperereale waren betroffen, als die Erkrankung zum ersten Mal auftrat?

Bitte betroffene Körperereale einzeichnen!



Wie sahen die am stärksten betroffenen Stellen aus, als die Erkrankung zum ersten Mal auftrat?

Zutreffendes bitte ankreuzen!

	keine	leicht	mittelschwer	schwer
Rötung				
Kratzspuren				
Bläschen				
Vergrößerung der Haut				
Nässen/Krustenbildung				
Trockenheit der Haut (an NICHT betroffenen Stellen)				

Wie stark war der Juckreiz, als die Erkrankung zum ersten Mal auftrat? Bitte einzeichnen!

(kein Juckreiz) 0 ..... 10 (stärkster Juckreiz)

Hatte das Kind aufgrund des Juckreizes Schlafstörungen, als die Erkrankung zum ersten Mal auftrat?

(keine Schlafstörung) 0 ..... 10 (Schlaflosigkeit)

4.) Haben folgende Faktoren die Hautbeschwerden verschlimmert bzw. verschlimmern diese die Hautbeschwerden noch?

Zutreffendes bitte ankreuzen!

	Im Verlauf	aktuell
Stress	<input type="radio"/> ja <input type="radio"/> nein	<input type="radio"/> ja <input type="radio"/> nein
Ernährung	<input type="radio"/> ja, und zwar welche Lebensmittel? _____ <input type="radio"/> nein	<input type="radio"/> ja, und zwar welche Lebensmittel? _____ <input type="radio"/> nein
Klima (Jahreszeit, Wetter)	<input type="radio"/> ja, und zwar: _____ <input type="radio"/> nein	<input type="radio"/> ja, und zwar: _____ <input type="radio"/> nein
Pollenflugzeit	<input type="radio"/> ja <input type="radio"/> nein	<input type="radio"/> ja <input type="radio"/> nein
Infekte	<input type="radio"/> ja <input type="radio"/> nein	<input type="radio"/> ja <input type="radio"/> nein
Medikamente	<input type="radio"/> ja, und zwar: _____ <input type="radio"/> nein	<input type="radio"/> ja, und zwar: _____ <input type="radio"/> nein
Kleidung	<input type="radio"/> ja, und zwar: _____ <input type="radio"/> nein	<input type="radio"/> ja, und zwar: _____ <input type="radio"/> nein
Impfungen	<input type="radio"/> ja, und zwar: _____ <input type="radio"/> nein	<input type="radio"/> ja, und zwar: _____ <input type="radio"/> nein
Sonstiges		

5.) Sind im Verlauf andere Erkrankungen dazugekommen?

Allergischer Schnupfen	<input type="radio"/> ja, und zwar ab wann: _____ Gegen welche Allergene? _____ <input type="radio"/> nein
Allergisches Asthma	<input type="radio"/> ja, und zwar ab wann: _____ <input type="radio"/> nein
Nahrungsmittelallergie	<input type="radio"/> ja, und zwar: Nahrungsmittel: _____ (von dem __. bis __. Lebensjahr) Nahrungsmittel: _____ (von dem __. bis __. Lebensjahr) Nahrungsmittel: _____ (von dem __. bis __. Lebensjahr) <input type="radio"/> nein

6.) Wie haben Sie im Verlauf die Hautbeschwerden Ihres Kindes behandelt bzw. wie behandeln sie aktuell die Hautbeschwerden Ihres Kindes?

Zutreffendes bitte ankreuzen!

Basispflege:

- gar nicht
- täglich
- mehrmals pro Woche

Kortison- Creme:

- gar nicht
- proaktiv
- bei Bedarf

7.) Hatten Sie seit der Geburt Ihres Kindes ein Haustier?

- ja, und zwar: \_\_\_\_\_
- nein

8.) Ist Ihr Kind Einzelkind?

- ja
- nein

Alter der Geschwisterkinder:

9.) Wie alt ist Ihr Kind aktuell? \_\_\_\_\_

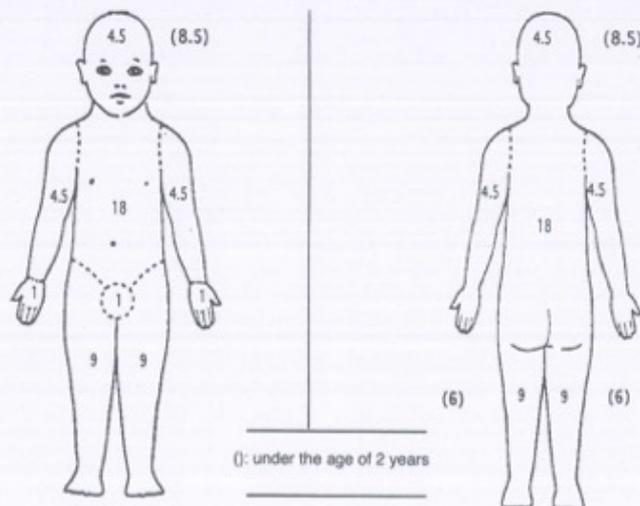
Aktuelle Größe: \_\_\_\_\_ cm

Aktuelles Gewicht: \_\_\_\_\_ kg

10.) Welche Körperareale sind aktuell von der Erkrankung betroffen?

*Bitte betroffene Körperareale einzeichnen!*

Falls erfreulicherweise keine Hautbeschwerden mehr bestehen sollten, bitte hier ankreuzen: \_\_\_\_\_



Wie sehen aktuell die am stärksten betroffenen Stellen aus? Zutreffendes bitte ankreuzen!

	keine	leicht	mittelschwer	schwer
Rötung				
Kratzspuren				
Bläschen				
Vergrößerung der Haut				
Nässen/Krustenbildung				
Trockenheit der Haut (an NICHT betroffenen Stellen)				

Wie stark ist aktuell der Juckreiz? Bitte einzeichnen!

(kein Juckreiz) 0 ..... 10 (stärkster Juckreiz)

Wie stark sind aktuell die Schlafstörungen wegen dem Juckreiz?

(keine Schlafstörung) 0 ..... 10 (Schlaflosigkeit)

**Zusammenfassung Erkrankungsverlauf:**

Leidet Ihr Kind aktuell noch an Neurodermitis?

- Ja
- Nein, und zwar seit dem \_\_\_\_ Lebensjahr nicht mehr

Wie verlief die Erkrankung Ihres Kindes?

- Chronisch (durchgehender Verlauf mit wiederkehrenden Schüben)
- Intermittierend (zwischenzeitlich  $\geq 1$  Jahr beschwerdefrei)

**Anmerkungen:**

---

---

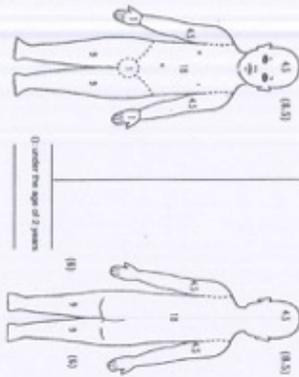
---

---

- Wir bedanken uns für Ihre freundliche Mitarbeit! -

Beginn der Erkrankung

Hauterscheinungen als Ihr Kind  
ca. 3 Jahre alt war

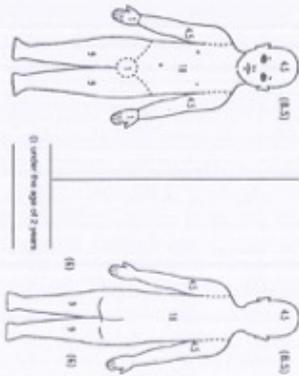


	keine	leicht	mittelschwer	schwer
Rötung				
Kratzspuren				
Bläschen				
Vergröberung der Haut				
Nässen/Krustenbildung				
Trockenheit der Haut (an NICHT betroffenen Stellen)				

Kein Juckreiz 0 ..... 10 stärkster Juckreiz

Keine Schlafstörung 0 ..... 10 Schlaflosigkeit

Hauterscheinungen als Ihr  
Kind ca. 7 Jahre alt war



	keine	leicht	mittelschwer	schwer
Rötung				
Kratzspuren				
Bläschen				
Vergröberung der Haut				
Nässen/Krustenbildung				
Trockenheit der Haut (an NICHT betroffenen Stellen)				

Kein Juckreiz 0 ..... 10 stärkster Juckreiz

Keine Schlafstörung 0 ..... 10 Schlaflosigkeit

Bitte für beide Zeitpunkte:

- die betroffenen Körperareale einzeichnen
- anhand der Tabelle die Ausprägung der unterschiedlichen Hautveränderungen notieren
- Juckreizstärke und damit verbundene Schlaflosigkeit angeben



Klinik und Poliklinik  
für Dermatologie und Allergologie am Biederstein des  
Klinikums rechts der Isar  
der Technischen Universität München  
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. T. Biedermann  
Biedersteiner Straße 29, 80802 München

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

### KLINISCHER FRAGEBOGEN

#### Patientenangaben:

Name, Vorname: \_\_\_\_\_

Geburtsdatum: \_\_\_\_\_

**1. Sind Familienangehörige des Kindes von Erkrankungen wie Neurodermitis, allergischer Schnupfen oder allergisches Asthma betroffen?**

*Zutreffendes bitte ankreuzen!*

	Neurodermitis	Allergischer Schnupfen	Allergisches Asthma
Mutter	<input type="radio"/> ja <input type="radio"/> nein	<input type="radio"/> ja <input type="radio"/> nein	<input type="radio"/> ja <input type="radio"/> nein
Vater	<input type="radio"/> ja <input type="radio"/> nein	<input type="radio"/> ja <input type="radio"/> nein	<input type="radio"/> ja <input type="radio"/> nein
Geschwister	<input type="radio"/> ja <input type="radio"/> nein	<input type="radio"/> ja <input type="radio"/> nein	<input type="radio"/> ja <input type="radio"/> nein



**2. Geburt-  
SSW:**

\_\_\_\_\_ (p.m.) → Ist im Kinder-Untersuchungsheft (**U1**) angegeben.

Klinik und Poliklinik  
für Dermatologie und Allergologie am Biederstein des  
Klinikums rechts der Isar  
der Technischen Universität München  
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. T. Biedermann  
Biedersteiner Straße 29, 80802 München

Vielen Dank für Ihre freundliche Mitarbeit!

**- BITTE ZUSAMMEN MIT UNTERSCHRIEBENER EINVERSTÄNDNISERKLÄRUNG AN  
UNS ZURÜCKSCHICKEN-**

**Inhalte der Disseration wurden** auf der 45. Jahrestagung der ADF (Arbeitsgemeinschaft für dermatologische Forschung), welche vom 07.03.2018 - 10.03.2018 in Zürich stattfand, **vorge stellt**. Auf diesem Kongress wurde die Arbeit mit Forschungspreis Atopische Dermatitis der ADF geehrt.

**Teile dieser Arbeit** wurden **publiziert** in:

Lauffer F\*, Baghin V\*, Standl M, Stark S, Jargosch M, Wehrle J, Thomas J, Schmidt-Weber C, Biedermann T, Eyerich S, Eyerich K, Garzorz- Stark N. Predicting persistence of atopic dermatitis in children using clinical attributes and serum proteins. *Allergy*. 2020;00:1–15.

\*Felix Lauffer and Veronika Baghin contributed equally.