

Allergene der Milch

Dr. Robert Sieber, Eidg. Forschungsanstalt für Milchwirtschaft, Liebefeld/Bern

Die Milchproteine bestehen aus Kaseinen und Molkenproteinen. Diese weisen ein allergenes Potential auf. Die dafür verantwortlichen Aminosäuresequenzen sind für das α s1-Kasein und das β -Laktoglobulin der Kuhmilch bekannt. Kuh-, Schaf- und Ziegenmilch unterscheiden sich in ihrer Aminosäuresequenz nur in wenigen Positionen, dagegen deutlich gegenüber der Muttermilch.

Unter Allergie ist eine Form der Intoleranz mit Zeichen einer abnormen immunologischen Reaktion gegenüber Proteinen zu verstehen. Davon unterscheidet sich der allgemeinere Begriff Lebensmittelintoleranz oder auch Lebensmittelunverträglichkeit, der im Wesentlichen jede abnorme physiologische Antwort gegenüber einem Lebensmittel oder einem Lebensmittelbestandteil beschreibt, deren immunologische Natur nicht bewiesen ist. Hierher gehört beispielsweise die Laktoseintoleranz bzw. Laktosemalabsorption. Eine allergische Reaktion im Organismus wird dagegen durch ein Allergen ausgelöst, bei dem es sich um Proteine mit einer Molekularmasse von mehr als 4000 Daltons handelt.

Aufbau der Kuhmilchproteine

Die Kuhmilch als eine disperse Lösung besteht im Wesentlichen aus Proteinen, Fett, Laktose, Vitaminen, Mineralstoffen und Spurenelementen sowie Wasser. Unter diesen Bestandteilen kommen nur das Milchprotein und allenfalls höhermolekulare Hydrolyseprodukte als allergene Substanzen in Frage.

Das Milchprotein besteht zu etwa 80 % aus Kaseinen und zu 20 % aus Molkenproteinen (Tabelle 1). Kaseine sind Phosphoproteine, die sich aus roher Magermilch durch Säuerung auf pH 4,6 bei 20 °C ausfällen lassen. Sie liegen in Form von Mizellen (grosse sphärische Komplexe mit anorganischen Verbindungen wie Kalziumphosphat) vor. Aufgrund ihrer Primärstruktur können sie in die folgenden Familien unterteilt werden: α s1 -, α s2 -, β - und κ -Kaseine. Die Fraktionierung des Kaseins in die individuellen Proteine kann beispielsweise mit Harnstoff erfolgen. Die nach der isoelektrischen Ausfällung der Kaseine in der Molke verbleibenden Proteine werden als Molkenproteine bezeichnet. Zu diesen zählen hauptsächlich das β -Laktoglobulin, das α -Laktalbumin, die Immunoglobuline (IgG 1, IgG 2, IgA, IgM) und das Serumalbumin sowie die Proteose-Peptide, β 2 -Mikroglobulin, Laktoferrin, Transferrin und weitere Minorproteine wie auch Enzyme. Die Auftrennung der wichtigsten Proteine in der Molkefraktion erfolgt oft durch die Anwendung von Natrium- oder Ammoniumsulfat oder Trichloressigsäure.

Die Aminosäuresequenz (Primärstruktur) der Milchproteine wurde in den 70er Jahren aufgeklärt. Das α s1 -Kasein enthält 199, das α s2 -Kasein 207, das β -Kasein 209 und das κ -Kasein



169 Aminosäuren. Dabei sind α 1 - und α 2 -Kaseine mit dem κ -Kasein über Disulfidbrücken zu einem Komplex verbunden. Das κ -Kasein enthält auch noch Monosaccharide in Form der N-Acetylneuraminsäure, Galaktose und dem N-Acetylgalaktosamin. Es kann durch Chymosin und andere Proteasen zwischen den Aminosäuren 105 und 106 gespalten werden, wobei das para- κ -Kasein (Aminosäuren 1-105) und das Glykomakropeptid (Aminosäuren 106-169) entstehen. Dadurch verliert die Kaseinmizelle ihre Hydrathülle und unlösliches Kasein fällt aus. Erwähnenswert ist noch, dass Prolin verstärkt in den Kaseinen auftritt, was deren Struktur beeinflusst, und dass zudem das Serin in unterschiedlichem Grade als Phosphoserinrest vorliegt.

Unter den Molkenproteinen, bei denen es sich um globuläre Proteine handelt, weisen das α -Laktoglobulin 162, das α -Laktalbumin 123 und das Serumalbumin 582 Aminosäuren auf. Das β -Laktoglobulin liegt in der Milch als Dimeres mit einer relativen Molekularmasse von 36 000 vor, während bei tiefem pH-Wert das Monomere gebildet wird. Es ist gegenüber einer sauren Verdauung oder gegenüber Proteinasen relativ stabil. Dieses Protein ist in der Muttermilch nicht vorhanden.

Die Heterogenität der Milchproteine wird durch das Auftreten von verschiedenen genetischen Varianten noch komplexer, die bei den verschiedenen Milchrassen in unterschiedlicher Verteilung vorkommen können. Beim α s1-Kasein treten fünf, beim α s2-Kasein vier, beim β -Kasein sieben, beim κ -Kasein zwei, beim β -Laktoglobulin sieben und beim α -Laktalbumin drei genetische Varianten auf. Diese unterscheiden sich meistens durch den Austausch einer anderen Aminosäure oder durch das Fehlen gewisser Aminosäuren. So weist beispielsweise die α s1-Kasein-Variante D an der 53. Stelle ein Threoninphosphat auf anstelle des Alanins in der Variante B.

Spezifische Aminosäuresequenzen mit Allergiepotential

Sämtliche Milchproteine weisen eine allergene Wirkung auf, doch ist diese unterschiedlich. Welche Komponente des Milchproteins am stärksten allergen ist, wird kontrovers diskutiert. Nach mehreren Untersuchungen muss das β -Laktoglobulin als das Hauptallergen angesehen werden (wahrscheinlich, weil es in der Muttermilch nicht vorkommt), gefolgt vom Kasein, dem α -Laktalbumin und Serumalbumin.

Lebensmittelallergien werden durch eine Ansammlung potentiell antigener Stellen in einem Protein, also durch bestimmte Bereiche im Protein, verursacht. Die Aminosäuresequenz im Protein, gegenüber welcher Antikörper gebildet werden, wird als antigene Determinante oder als Epitop bezeichnet. Dabei lassen sich zwei Typen unterscheiden: Sequenzdeterminanten, bei denen die Aminosäuresequenz im Protein von Bedeutung ist, und Konformationsdeterminanten, bei welchen die Aminosäuren aufgrund der dreidimensionalen Struktur des Proteins nahe beieinander sind. Bei den Kaseinen, die sich nicht kristallisieren lassen, spielen vor allem die Sequenzdeterminanten eine Rolle. So enthält beispielsweise das α s1 -Kasein vorwiegend Sequenz und nur wenige Konformationsdeterminanten. Dies ist auf das Fehlen einer definierten Tertiärstruktur zurückzuführen, was durch die vielen Prolin- und hydrophoben Reste bedingt ist. Eine Identifizierung von Konformationsepitopen ist schwierig, da bei einer Denaturierung des Proteins die Tertiärstruktur verändert wird und das Epitop aufbricht.



Schweiz. Natürlich.



www.swissmilk.ch

Informationen über die Epitope eines Proteins können auf verschiedenen Wegen erhalten werden. Beim klassischen Weg werden die antigenen Eigenschaften von Peptiden getestet, die aus einem Protein enzymatisch oder chemisch gewonnen wurden. Eine andere Möglichkeit besteht in der Verwendung von synthetischen Peptiden, die der Sequenz des entsprechenden Proteins entsprechen. Ein anderer Zugang besteht darin, Peptide, die sich in der Sequenz überlappen, auf einem festen Träger zu synthetisieren. Diese Peptide können dann direkt mit einer für menschliche IgE und IgG empfindlichen Methode, dem sogenannten ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) -Testverfahren, getestet werden. Auf diese Weise haben Spuergin et al. (1996) die allergenen Epitope des α s1 -Kaseins bestimmt. Sie verwendeten dabei Seren von Kindern mit akuten klinischen Reaktionen gegenüber Kuhmilch sowie Seren von gesunden Kindern. Es wurden dabei Peptide gefunden, die gegenüber allen Seren von Kindern mit einer Kuhmilchproteinallergie reagierten. Bei diesen drei Gruppen mit hoher Reaktivität handelt es sich um die Aminosäuresequenzen 19-30, 93-98 und 141-150 des α s1-Kaseins. Sie sind durch einen hohen Gehalt an nichtpolaren und aromatischen Aminosäuren gekennzeichnet und befinden sich in den hydrophoben Regionen des Proteins. Einige Seren zeigten auch positive Reaktionen gegen andere Regionen wie 50-70, 125-134, 172-183 und 189- 198. Diese unbedeutenderen Epitope sind in den hydrophilen Regionen des α s1-Kaseins lokalisiert.

Tabelle 1 Die wichtigsten Kuhmilchproteine

Proteine	Molekularmasse Dalton	Konzentration g/L
Kaseine		24 – 28
α s -Kaseine	22 000 – 25 400	15 – 19
β -Kaseine	24 000	9 – 11
β -Kaseine	19 000	3 – 4
Molkenproteine		5 – 7
β -Laktoglobulin	18 000	2 – 4
κ -Laktalbumin	14 100	1 – 1,5
Immunoglobuline		0,6 – 1
IgG 1	161 000 – 169 000	
IgG 2	150 000 – 154 000	
IgA	300 000 – 420 000	
IgM	900 000 – 1 000 000	
Serumalbumin	66 300	0,1 – 0,4
Proteose-Peptide	4000 – 41 000	0,6 – 1,8
Laktoferrin	86 000	

Bei der Aufklärung der im β -Laktoglobulin vorhandenen Epitope wurde von Ball et al. (1994) auf ähnliche Weise vorgegangen. Dabei wurden von diesem Protein Hexapeptide mit überlappenden Sequenzen sowie Seren von 14 Patienten mit einer Kuhmilchproteinallergie sowie Seren mit einem tiefen Gehalt an IgE-Antikörpern für die Bestimmung der IgE-Bindungs-kapazität verwendet. Nur ein Peptid (97-108) zeigte bei allen Seren ein positives Resultat. Weitere Peptide, die eine Hemmung der IgE-Bindung bei einzelnen Seren aufwiesen, sind den Aminosäuresequenzen 15-26, 35- 46, 85-96, 117-128 und 151-162 zuzuordnen.



Schweiz. Natürlich.



www.swissmilk.ch

Unterschiede zwischen den verschiedenen Milchproteinen der Säugetiere

Beim Auftreten einer Kuhmilchproteinallergie besteht die Ernährungstherapie im Vermeiden des Kuhmilchproteins. Zu diesem Zwecke wird alternativer Milchersatz wie Sojabohnennährmittel oder Ziegenmilch empfohlen. Möglicherweise werden auch Schaf- und Stutenmilch als Alternative für Kinder mit einer Kuhmilchproteinallergie eingesetzt.

Der Proteingehalt der Kuh-, Ziegen-, Schaf-, Stuten- und Muttermilch sowie deren Zusammensetzung ist in Tabelle 3 zusammengestellt und zeigt einige deutliche Unterschiede auf. Im Weiteren sind das β -Laktoglobulin in der Muttermilch nicht und das α s1 -Kasein in der Ziegenmilch nur in geringen Konzentrationen vorhanden. In der Aminosäuresequenz unterscheiden sich diese Milcharten ebenfalls. Werden α s1- und α s2-Kaseine der Kuh-, Schaf- und Ziegenmilch miteinander verglichen, ergibt sich, dass mehr als 85% der Aminosäuren identisch sind:

α s1 -Kasein: Kuh - Schaf 88,5% Kuh - Ziege 86,9% Schaf - Ziege 97,4%

α s2 -Kasein: Kuh - Schaf 88,9% Kuh - Ziege 87,9% Schaf - Ziege 98,1%

Dagegen war die Homologie der α s1- und α s2-Kaseine der gleichen Art sehr klein und betrug nur 20–23% identische Aminosäuren. Auch die Aminosäuresequenz der β -Laktoglobuline von Kuh-, Schaf- und Ziegenmilch unterscheidet sich nur an wenigen Positionen. Dagegen ist die Aminosäuresequenz der verschiedenen Proteine in der Kuh-, Schaf- und Ziegenmilch gegenüber der Muttermilch deutlich verschieden.

Schaf-, Ziegen- oder Stutenmilch als Alternative für Milchproteinallergiker?

In Zuschriften von Wilken-Jensen (1984) und von Lorenzen (1985) an eine dänische Zeitschrift wurde Mitte der 80er Jahre festgehalten, dass Ziegenmilch extrem vorteilhaft bei Kuhmilchproteinallergie sei und eine hilfreiche Alternative bei Pseudoallergien darstelle. Zudem finden sich in der wissenschaftlichen Literatur zur Verwendung von Ziegenmilch als hypoallergisches Lebensmittel für Kinder oder als Substitut von Kuhmilch verschiedene Anekdoten über Personen, die aufgrund einer allergischen Wirkung gegenüber Kuhmilchprotein unter Ekzemen, Asthma, chronischem Katarrh, Migräne, Kolitis, Heufieber, Magengeschwüren und Bauchschmerzen litten. Ein Fall einer durch Kindernährmittel auf Kuhmilchbasis verursachten chronischen Enteropathie bei Kindern wurde nach einem Wechsel auf Ziegenmilch geheilt. Auch wurde über die erfolgreiche Behandlung einer Kuhmilchproteinallergie durch den Ersatz mit Kindernährmitteln auf Ziegenmilchbasis sowie einer gastrointestinalen Allergie bei Kindern mit Eosinophilie nach Verabreichung von Ziegenmilch berichtet. Im Weiteren sollen ungefähr 40 % der gegenüber Kuhmilchprotein allergischen Patienten Ziegenmilchproteine tolerieren, und von 100 Kindern mit einer Kuhmilchproteinallergie soll nur eines mit Ziegenmilch nicht gut gedeihen (Park, 1994).

Dass die Situation auf diesem Gebiete kontrovers ist, zeigen jedoch Berichte, die zu Vorsicht bei der Verwendung von Ziegen- wie auch Schafmilch für Patienten mit



Schweiz. Natürlich.



www.swissmilk.ch

Kuhmilchproteinallergie mahnen. So warnte beispielsweise Jelert (1984) in der bereits erwähnten dänischen Zeitschrift vor der Verwendung von Ziegenmilch bei Kuhmilchproteinallergie. Auch wurde bereits über einen jungen Mann berichtet, der nach dem Melken von Schafen Überempfindlichkeitsreaktionen gegenüber Milch, Kasein und β -Laktoglobulin zeigte (Vargiu et al., 1994). Bei zwei jungen Männern konnten allergische Reaktionen nach dem Verzehr von Käse aus Schaf- und Ziegenmilch festgestellt werden, nicht aber nach einem solchen von Käse aus Kuhmilch (Wüthrich und Johansson, 1995). Bei einem fünfjährigen Knaben wurden nach dem Verzehr von Schafmilchkäse anaphylaktische Reaktionen festgestellt, und der Hautpricktest war positiv gegenüber frischer Schaf- und Ziegenmilch, aber negativ gegenüber Kuhmilchproteinen (Calvani und Alessandri, 1998). Bereits in den 60er Jahren wurde nachgewiesen, dass die Proteine der Kuhmilch immunologisch mit denen der Ziegenmilch verwandt sind (Crawford und Grogan, 1961).

Am Beispiel des α s1-Kaseins der Kuhmilch wurde gezeigt, an welchen Orten der Aminosäuresequenz sich die für eine allergische Wirkung haupt- und ebenverantwortlichen Epitope befinden. Bei einem Vergleich der Aminosäuresequenz der α s1-Kaseine der Schaf- und Ziegenmilch mit derjenigen der Kuhmilch zeigt sich, dass zwei der von Spuergin et al. (1996) gefundenen Hauptepitope und eines der Nebenepitope auch in den α s1-Kaseinen der Schaf- und Ziegenmilch vorhanden sind. Deutlich unterscheidet sich dagegen die Aminosäuresequenz der Muttermilch von den drei anderen Milcharten.

In weiteren Untersuchungen wurde von Spuergin et al. (1997) die allergische Wirkung der α -Kaseine von Kuh-, Schaf- und Ziegenmilch miteinander verglichen. Dabei wurden diese Kaseine mit einer spezifischen IgE- und IgG-ELISA auf Seren von Kindern mit einer Kuhmilchproteinallergie, von Kindern mit einer Atopie ohne Lebensmittelallergie und von gesunden Kindern angewendet. Dabei wurde gegenüber diesen drei Kaseinen eine signifikant höhere IgE- und IgG-Bindung in den Seren von Patienten mit einer Kuhmilchproteinallergie festgestellt, dagegen nicht in den beiden anderen Gruppen von Kindern. Auch zeigte sich, dass die Lücke von 8 Aminosäuren in der Sequenz des α -Kaseins der Schafmilch gegenüber der Kuhmilch immunologisch bedeutungslos ist. Die geringen Unterschiede in der Primärstruktur dieser drei α -Kaseine erzeugen zwar markante Unterschiede in deren IgE- und IgG-Bindungskapazität, doch wird von diesen Autoren festgehalten, dass aufgrund der Kreuzreaktion der IgG- und IgE-Antikörper die Ziegen- wie auch die Schafmilch ein allergisches Potential aufweisen (eine immunologische Kreuzreaktion deutet auf eine Ähnlichkeit der Sequenz im Protein hin) und also für die Ernährung von Patienten mit einer Milchallergie oder von atopischen Patienten nicht geeignet ist.

Die β -Laktoglobuline der Schaf- und Ziegenmilch unterscheiden sich gegenüber denjenigen der Kuhmilch nur in wenigen Aminosäuren. Es müsste deshalb in der Schaf- und Ziegenmilch in etwa die gleichen Epitope vorhanden sein, wie sie in der Kuhmilch von Ball et al. (1994) ermittelt wurden. Obwohl diese drei Proteine in ihrer Primärstruktur ähnlich sind, ist es durchaus möglich, dass sich die Tertiärstruktur unterscheidet, womit auch unterschiedliche Konformationsepitope vorhanden sein können.

Insgesamt fehlen aber Daten über die biologischen Mechanismen, welche die klinischen Beobachtungen unterstützen, weshalb Ziegenmilch als Ersatz von Kuhmilch bei allergischen Patienten wirkt. Aufgrund der obigen Überlegungen ist vor einer Verwendung von Ziegen- wie



Schweiz. Natürlich.



www.swissmilk.ch

auch von Schafmilch bei Patienten mit einer Kuhmilchproteinallergie abzuraten. Über die Einsatzmöglichkeiten von Stutenmilch bei Kuhmilchallergikern finden sich nur wenige Angaben in der Literatur, da Stutenmilch zu wenig konsumiert wird. Ein Vergleich des β -Laktoglobulins mit demjenigen der Kuh-, Schaf- und Ziegenmilch zeigt zwar deutliche Unterschiede in der Aminosäuresequenz. Doch muss bei einer Empfehlung, Stutenmilch als Alternative zur Kuhmilch zu verwenden, in Betracht gezogen werden, dass sich das von Ball et al. (1994) nachgewiesene Hauptepitop nur an einer Stelle unterscheidet. Auch wurde bereits von Gall et al. (1996) über einen Fall einer 51 Jahre alten Frau berichtet, die allergische Reaktionen gegenüber Stutenmilch aufwies, nicht aber gegenüber Kuhmilch. Nach diesen Untersuchungen wird die durch eine IgE-vermittelte Stutenmilchallergie wahrscheinlich durch α -Laktalbumin und β -Laktoglobulin verursacht, wobei diese Proteine keine Kreuzreaktion mit den entsprechenden Molkenproteinen der Kuhmilch zeigen.

Autor

Dr. Robert Sieber
Eidg. Forschungsanstalt für Milchwirtschaft
Liebefeld/Bern

Mailaiter Februar 2002



Schweiz. Natürlich.



www.swissmilk.ch