

Aus der Kinderklinik und Kinderpoliklinik im Dr. von Haunerschen Kinderspital der  
Ludwig-Maximilians-Universität München  
Direktor: Prof. Dr. med. Dr. h. c. D. Reinhardt

Postnatale Erkrankungen in Korrelation zum Zytokinsekretionsmuster aus  
Nabelschnurblut von Bauern- und Nicht-Bauernkindern



Dissertation  
zum Erwerb des Doktorgrades der Humanmedizin  
an der Medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Yumiko Matsuba

aus

München

2010

Mit der Genehmigung der Medizinischen Fakultät der  
Universität München

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Erika von Mutius

Mitberichtersteller: Prof. Dr. Bernhard Przybilla

Mitbetreuung durch den promovierten Mitarbeiter: Priv. Doz. Dr. med. S. Krauss- Etschmann

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h. c. M. Reiser, FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 25.02.2010

# Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	3
Abkürzungsverzeichnis .....	6
Tabellenverzeichnis.....	7
1 Einleitung.....	9
1.1 Das angeborene Immunsystem.....	9
1.2 Das erworbene Immunsystem .....	10
1.2.1 Humorale Immunantwort .....	11
1.2.2 Zelluläre Immunantwort.....	11
1.2.3 Aktivierung der T-Zelle .....	12
1.2.4 TH1/TH2 System .....	12
1.2.5 Regulatorische T-Zellen.....	14
1.3 Besonderheiten des kindlichen Immunsystems.....	15
1.3.1 Defizite des angeborenen Immunsystems .....	16
1.3.2 Defizite der Antigen- präsentierenden Zelle .....	17
1.3.3 Defizite der TH1- Zelle und dessen Zytokinsynthese.....	17
1.4 Zytokine und ihre biologischen Funktionen.....	18
1.5 TH1- Zytokine.....	19
1.5.1 IFN- $\gamma$ .....	19
1.5.2 IL-12.....	20
1.5.3 TNF- $\alpha$ .....	21
1.6 TH2- Zytokin.....	22
1.6.1 IL-5.....	22
1.7 T- regulatorisches Zytokin .....	22
1.7.1 IL-10.....	22
1.8 Hygiene-Hypothese und Infektionen .....	23
2 Zielsetzung der Arbeit.....	25
3 Material und Methoden.....	26
3.1 Studiendesign und Aufgabenverteilung .....	26
3.2 Studienpopulation.....	27
3.3 Materialgewinnung.....	27
3.3.1 Blutentnahme .....	27
3.3.2 Fragebögen.....	28

3.3.3	Fragebogen für den zweiten Lebensmonat.....	28
3.4	Methoden.....	29
3.4.1	Zytokinmessung .....	29
3.4.2	Differenziertes Blutbild.....	31
3.5	Statistische Auswertungen .....	31
3.6	Verbrauchsmaterial und Geräte.....	32
3.6.1	Geräte .....	32
3.6.2	Verbrauchsmaterial .....	32
3.6.3	Reagenzien .....	32
4	Ergebnisse.....	34
4.1	Zusammensetzungen der Studienpopulation und Sammlung der Materialproben... 34	
4.2	Auswertungen der Fragebögen.....	35
4.2.1	Allgemeine Charakteristika der Studienpopulation .....	35
4.3	Analyse der Zytokinwerte der Kinder .....	38
4.3.1	Deskription der Zytokinwerte der Studienpopulation.....	38
4.3.2	Vergleich der Zytokinkategorien der Kinder in Abhängigkeit von postnatalen Erkrankungen.....	41
4.3.2.1	Darstellung der drei Zytokinkategorien (Kat. 0, 1, 2).....	41
4.3.2.2	Darstellung der zwei Zytokinkategorien ( Kat. 0,1).....	56
4.3.3	Störfaktoren für die Zytokinkategorien in Abhängigkeit von postnatalen Erkrankungen des Kindes .....	68
4.3.4	Binäre logistische Regression : Abhängigkeit der dichotomen Zytokinkategorien von den postnatalen Erkrankungen des Kindes.....	71
5	Diskussion.....	75
5.1	Probanden.....	75
5.2	Methoden.....	75
5.2.1	Zytokinstimulation .....	75
5.2.2	Stimulantien und Zytokine .....	76
5.3	Ergebnisse .....	77
5.3.1	Zytokinsekretion aus Nabelschnurblut von Bauern- und Nicht- Bauernkindern.....	77
5.3.2	Korrelation zu Atemwegserkrankungen.....	79
5.3.3	Korrelation zu Hautveränderungen .....	80
5.3.4	Korrelation zu anderen postnatalen Erkrankungen .....	82

Zusammenfassung.....	85
Quellenverzeichnis.....	88
Anhangsverzeichnis .....	96

# Abkürzungsverzeichnis

AK	Antikörper
Ag	Antigen
APCs	Antigen präsentierende Zellen
CD	Cluster of Differentiation
EDTA	Di-Natrium-Ethylen-Diamin-Tetra-Acetat
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
h	Stunde
IFN- $\gamma$	Interferon- $\gamma$
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
KI	Konfidenzintervall
LPS	Lipopolysaccharid
MHC	Major Histocompatibility Complex
NK-Zelle	Natürliche Killer Zelle
PBMC	Periphere Mononukleäre Zellen
PBS	Phosphatgepufferte Saline
P/I	PMA/ Ionomycin
PMA	Phorbol Myristat Acetat
SEB	Staphylokokkal Enterotoxin B
TH1	T- Helfer ( Zelle)
TLR	Toll Like Rezeptor
TNF- $\alpha$	Tumor Nekrose Faktor- Alpha

# Tabellenverzeichnis

Tabelle 3-1: Stimulation des Lithium- Heparin- Bluts mit LPS, PI und SEB für die Bestimmung der Zytokinsekretion nach 24 und 48 Stunden. ....	30
Tabelle 4-1: Populationsbeschreibung der Studienteilnehmer für die Gruppen der Bauern- und Nicht- Bauernkinder mit den signifikanten Zytokindaten.....	36
Tabelle 4-2: Darstellung der Zytokinwerte der Studienpopulation nach Stimulation sortiert. ..	39
Tabelle 4-3: Darstellung der signifikanten Zytokinkategorien (0, 1, 2) der Nicht-Bauernkinder in Abhängigkeit von postnatalen Erkrankungen. ....	42
Tabelle 4-4: Darstellung der signifikanten Zytokinkategorien (Kat 0,1,2) der Bauernkinder in Abhängigkeit von postnatalen Erkrankungen. ....	44
Tabelle 4-5: Darstellung der signifikanten bzw. grenzwertig signifikanten Zytokinkategorien (Kat 0, 1) der Nicht- Bauernkinder in Abhängigkeit von postnatalen Erkrankungen.....	57
Tabelle 4-6: Darstellung der signifikanten bzw. grenzwertig signifikanten Zytokinkategorien der Bauernkinder Kat 0, 1 in Abhängigkeit von postnatalen Erkrankungen. ....	60
Tabelle 4-7: signifikante bzw. grenzwertig signifikante Störfaktoren für die signifikanten Zytokine der Kategorie (Kat. 0, 1) der Bauernkinder. ....	70
Tabelle 4-8: grenzwertig signifikanter Störfaktor für die Erkrankung der Bauernkinder.....	71
Tabelle 4-9: Binär logistische Regression der Nicht- Bauernkinder.....	72
Tabelle 4-10: Binär logistische Regression der Bauernkinder.....	73

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1-1: Aktivierung der Immunreaktion und Determination des Phänotyps. ....	13
Abbildung 4-1: Zusammensetzung der Studienpopulation und gewonnenes Material.....	34



# 1 Einleitung

Der menschliche Organismus ist ständig mit einer Vielzahl von Mikroorganismen konfrontiert. Um Pathogene abzuwehren und den Körper vor infektiösen Erkrankungen zu schützen, wurden während der Evolution zwei Hauptsysteme entwickelt: das angeborene und das erworbene Immunsystem (Adkins, Leclerc et al. 2004).

## 1.1 Das angeborene Immunsystem

Das angeborene Immunsystem stellt die erste Abwehr gegen Infektionen dar (Medzhitov 2001). Dies spielt im besonderen Maße beim Neugeborenen, dessen Immunsystem noch nicht vollständig ausgereift ist, eine entscheidende Rolle. So ist beispielsweise die Fähigkeit, spezifische Antikörper gegen Bakterien, Viren, Pilze und Protozoen zu bilden, beim Neugeborenen im Vergleich zum Erwachsenen niedriger. Außerdem liegt ein immunologisches Gedächtnis, welches eine schnelle Reaktion auf bekannte Erreger ermöglicht, noch nicht vor (Staros 2005).

Das angeborene Immunsystem reagiert im Vergleich zum erworbenen Immunsystem sofort beziehungsweise innerhalb einiger Stunden mit etwa gleicher Intensität, unabhängig von einem vorherigen Erregerkontakt (Janeway, Walport et al. 2005).

Durch keimbahnkodierte Rezeptoren, wie z.B. Toll-like Rezeptoren (TLR) besitzt es die Fähigkeit, auf hocheffiziente Weise fremde Antigene von körpereigenen zu unterscheiden (Janeway and Medzhitov 2002; Willems, Vollstedt et al. 2009). TLR erkennen Mikroben-assoziierte molekulare Muster (pathogen associated molecular patterns, PAMPs) von Pathogenen, wie Polysaccharid-, Peptidoglykan- oder Lipid- Strukturen (Janeway and Medzhitov 2002). Die Interaktion von PAMPs mit TLR löst intrazellulär die Bildung von bakteriziden Proteinen, Zytokinen, Chemokinen, adhäsiven Molekülen und inflammatorischen Mediatoren aus (Meylan, Tschopp et al. 2006).

Das angeborene Immunsystem setzt sich zusammen aus physikalischen Barrieren, antimikrobiellen, zellulären Komponenten und löslichen Faktoren.

Die erste Barriere gegenüber Pathogene stellen Oberflächen- und Schleimhautepithelien des Körpers und die dort lokalisierten antimikrobiellen Proteine und Peptide dar und wirken als physikalisch- chemische Barriere (Holzl, Hofer et al. 2008).

Die zweite Barriere stellen zelluläre Komponenten, wie neutrophile Granulozyten, Monozyten, Makrophagen, dendritische Zellen (DZ), und Natürliche Killerzellen (NKZ) (Burg and

Pillinger 2001) dar. Entscheidend für die Elimination eines Pathogens ist das Anlocken von Phagozyten (z.B. Makrophagen, neutrophile Granulozyten, Monozyten) an den Ort des entzündlichen Geschehens. Dies geschieht durch Chemotaxis und Opsonierung (Marodi, Leijh et al. 1985; Stuart and Ezekowitz 2005). Die Chemotaxis wird durch das Andocken von chemotaktisch wirksamen Substanzen an Rezeptoren der Immunzellen ausgelöst (McNamara, Flanagan et al. 2005). Bekannte chemotaktische Botenstoffe sind bakterielles Endotoxin (Zellwand- Fragmente, Proteine oder Kapseln), Komplementfaktoren (C5a), Chemokine (z.B. IL-8), und Fibrinspaltprodukte. Durch die Opsonierung, das heißt das „Markieren“ der fremden Mikroorganismen durch Immunglobuline Ig(G) oder durch Komplementproteine (C3b und C4b) (van Lookeren Campagne, Wiesmann et al. 2007) werden Pathogene erkannt.

Die dritte wichtige Komponente des angeborenen Immunsystems besteht aus löslichen Faktoren, wie dem Komplementsystem (Marodi 2006). Das Komplementsystem erfüllt mit mehr als 40 Proteinen des klassischen, alternativen und Mannan- bindenden Lektin Wegs eine zusätzliche erfolgreiche angeborene Immunabwehr (Walport 2001). Es ist an der Phagozytose beteiligt, induziert die Lyse von Bakterien und aktiviert naive B-Zellen. Es kann durch die Produktion von inflammatorischen Mediatoren (C3a, C5a) Entzündungsreaktionen auslösen, welche die Abwehr gegenüber Infektionen unterstützen. Wie oben beschrieben, wirken einige Komplementfaktoren als Chemokine, die weitere Phagozyten zum Infektionsherd locken. Darüber hinaus besitzt es durch die Bildung von Membran angreifenden Komplexen wie C5b-9 an der Zielzelle die Fähigkeit den fremden Mikroorganismus direkt zu zerstören (Cowell, Plane et al. 2003).

## **1.2 Das erworbene Immunsystem**

Die typischen Charaktereigenschaften des erworbenen Immunsystems sind seine hohe Antigenspezifität und das immunologische Gedächtnis (Male D. 2005). Das erworbene Immunsystem unterscheidet sich vom angeborenen Immunsystem vor allem durch seine antigenspezifische Rezeptorexpression. Die Gedächtnisfunktion bewirkt, dass bei erneutem Kontakt eine schnellere und effizientere Antwort auf das bereits bekannte Antigen erfolgt (Fabbri, Smart et al. 2003).

Die wichtigsten Träger der adaptiven Immunantwort sind Lymphozyten. Es existieren zwei unterschiedliche Lymphozytenfamilien, die B- und die T-Lymphozyten. B-Lymphozyten vermitteln humorale Immunantworten, T-Lymphozyten zelluläre Immunantworten.

### 1.2.1 Humorale Immunantwort

Die Antigen erkennenden Moleküle der humoralen Immunantwort sind die von den B-Lymphozyten produzierten Oberflächenimmunglobuline (IgM- oder IgD-Moleküle), die als B-Zellrezeptor dienen. Sie sind für die Bekämpfung extrazellulärer, im Serum zirkulierender Erreger verantwortlich.

Wird ein Pathogen von Makrophagen als fremd erkannt, wird es phagozytiert, lysiert und als Epitop (Bruchstück) auf ihrer Oberfläche an *major histocompatibility complex* (MHC)-Klasse-II Molekülen präsentiert. Durch das Ausschütten von IL-1 der Makrophagen werden CD4+ TH-Zellen aktiviert (Dorner and Radbruch 2007) und nehmen mit ihrem T-Zellrezeptor (TZR) Kontakt mit dem präsentierten Antigen auf. Aktivierte TH-Zellen präsentieren nun ihrerseits Epitope der Antigene über MHC-Klasse-II-Proteine auf ihrer Oberfläche und nehmen Kontakt mit B-Lymphozyten auf, welche mit Hilfe ihrer Immunglobulinrezeptoren dasselbe Antigen erkannt haben. Diese Interaktion löst das Ausschüttung von Zytokinen aus, welche zu einer starken B-Zell-Proliferation und zu Differenzierung der B-Lymphozyten zu Plasma- und Gedächtniszellen führt (Janeway, Walport et al. 2005).

Plasmazellen sind auf die Synthese und Sekretion von Immunglobulinen spezialisiert. Dabei synthetisiert jede Plasmazelle ein Immunglobulin mit einer einzigen Spezifität (Borghesi and Milcarek 2006). Dieses spezifische Immunglobulin wird durch „Gen-rearrangement“ zufällig aus einem Genpool neu kombiniert. So entsteht eine für jede Zelle spezifische kodierende Sequenz. Diese Antikörper können ein Pathogen binden, es so opsonieren und es für die Phagozyten erkennbar machen. Außerdem besitzen sie die Fähigkeit das Komplementsystem zu aktivieren, wodurch das Bakterium direkt getötet werden kann (Janeway, Walport et al. 2005).

Die B-Gedächtniszellen sind langlebig und sorgen bei einem sekundären Kontakt mit dem selben Antigen für eine schnellere und wirksamere Immunantwort (Fabbri, Smart et al. 2003).

### 1.2.2 Zelluläre Immunantwort

Bei den T-Lymphozyten unterscheidet man T-Helfer-Zellen (TH1/TH2) von CD8+ (cluster of differentiation) zytotoxischen T-Zellen, welche vor allem für das Abtöten viral infizierter Zellen verantwortlich sind. TH-Zellen unterscheiden sich in ihrer Zytokinsekretion. TH1-Zellen produzieren vor allem IFN- $\gamma$ , IL-12 und TNF- $\alpha$  (Janeway, Walport et al. 2005) und sind verantwortlich für eine effektive Immunreaktion gegen intrazelluläre Bakterien, Viren und Protozoen (Yates, Bergmann et al. 2000), wohingegen TH-2 Zellen vor allem IL-4, IL-5, IL-9

und IL-13 (Mori A 2001) produzieren und für eine optimale Antikörperproduktion durch B-Zellen gegen T-abhängige Antigene erforderlich sind (Yates, Bergmann et al. 2000).

### **1.2.3 Aktivierung der T-Zelle**

Die Aktivierung naiver T-Zellen zu T-Effektorzellen kann durch zelluläre Komponenten, costimulatorischen Molekülen und lösliche Faktoren ausgelöst werden.

Eine Schlüsselrolle in der Aktivierung des erworbenen Immunsystems spielen Dendritische Zellen (DZ) (Reis e Sousa 2001). DZ besitzen die Fähigkeit PAMPs direkt durch Pathogen erkennende Rezeptoren (PRR), wie z.B. TLR zu erkennen. Nach Interaktion von PAMPs mit diesen Rezeptoren erleben DZ eine phänotypische und funktionelle Transformierung zu Antigenpräsentierenden Zellen (APZ). APZs unterstützen die Entwicklung und Differenzierung naiver, antigenspezifischer T-Zellen zu geeigneten T-Effektorzellen, indem sie mit Hilfe des MHC-Klasse-II Moleküls prozessierte Antigene eines Pathogens präsentieren, welche von pathogenspezifischen naiven T-Zellen durch ihren T-Zell-Rezeptor erkannt und gebunden werden (Iwasaki and Medzhitov 2004). Diese Interaktion stellt das erste Signal für die Aktivierung von T-Zellen dar.

Das zweite Signal für die Proliferation von T-Effektorzellen kann durch costimulatorische Moleküle, wie z.B. CD 40, CD80 und CD86 übermittelt werden (Kaiko, Horvat et al. 2008).

Außerdem werden Gewebefaktoren durch entzündetes Gewebe freigesetzt, welche die APZ-Aktivität positiv beeinflussen (Kaiko, Horvat et al. 2008).

Drittens produzieren aktivierte DZ lösliche Faktoren, welche die Differenzierung von T-Zellen zu T-Effektorzellen unterstützen können. Beispielsweise fördert IL-12, welches von vielen aktivierten DZ ausgeschüttet wird die Entwicklung der Typ I Immunität (Joffre, Nolte et al. 2009).

### **1.2.4 TH1/TH2 System**

Naive T-Zellen können sich sowohl zu TH1-, TH2-, TH17- als auch zu regulatorischen T-Zellen entwickeln. Wie oben bereits angedeutet nimmt man an, dass die Beschaffenheit der Zytokine und der kostimulatorischen Faktoren den Phänotyp der T-Zelle bestimmen. Der Effekt dieser Signale kann durch die Zytokinsekretion der T-Zelle selber bestärkt werden. Die T-Zell-Entwicklung wird durch eine Vielfalt von Kontrollmechanismen beaufsichtigt. Negative Rückkopplungsschleifen (Kidd 2003) sichern die Oberhand eines Phänotyps und Toleranzmechanismen verhindern eine übermäßige Immunreaktion auf harmlose Antigene oder Selbstantigene (Kaiko, Horvat et al. 2008).

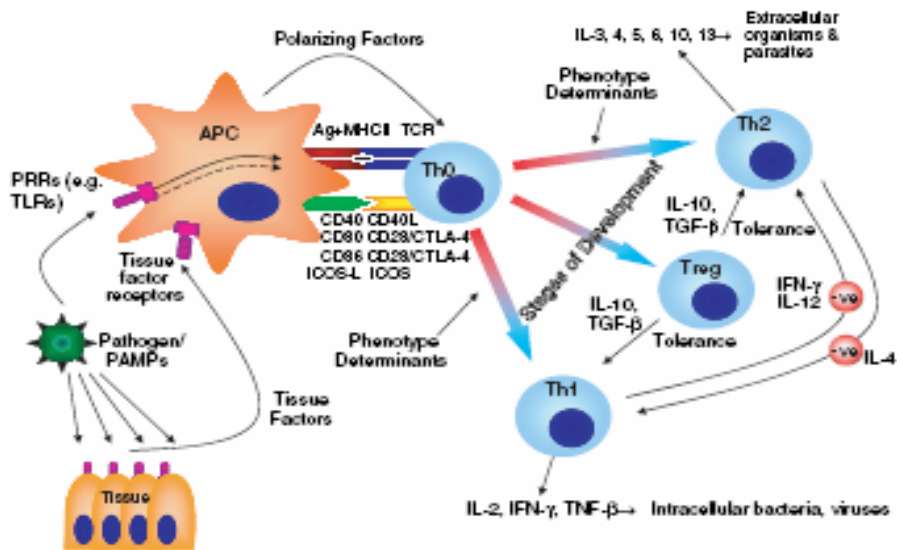
Das Gleichgewicht zwischen TH1- und TH2- Zellen scheint also von den Zytokinen abzuhängen, von denen sie beeinflusst werden (Janeway C. 2002; Janeway, Walport et al. 2005). Die Differenzierung in eine TH1- oder TH2- Zelle entscheidet, ob nachfolgend entweder eine Makrophagen-Aktivierung gegen intrazelluläre Pathogene und Viren oder eine Antikörperproduktion gegen extrazelluläre Pathogene dominieren wird.

IL-2, -12 und IFN- $\gamma$  beispielsweise werden als Zytokine angesehen, die die Entwicklung von naiven TH- Zellen zu TH1- Zellen induzieren (Trinchieri 2003). IL-12 wird vorwiegend von Makrophagen und DZ, nach Aktivierung durch intrazelluläre Pathogene ausgeschüttet (Farrar, Asnagli et al. 2002). IL-12 aktiviert wiederum die Produktion von IFN- $\gamma$  durch Makrophagen, Natürliche Killer Zellen (NKZ) und DZ. IFN- $\gamma$  wiederum aktiviert die IL-12 Produktion durch einen positiven Regulationsmechanismus anregt.

IFN- $\gamma$ , welches von DZ und NKZ sezerniert wird, besitzt die Fähigkeit, die Entwicklung von TH2- Zellen zu hemmen (Murphy 2000), und wirkt somit indirekt positiv auf die TH1 Differenzierung. IFN- $\gamma$  welches von TH1-Zellen selber sezerniert wird, kann auf parakrine Weise die Entwicklung und Polarisierung naiver T-Zellen zu TH1-Zellen stimulieren (Kidd 2003). Weitere Faktoren, die die Polarisierung zu TH-1 Zellen beeinflussen sind die Aktivierung von Transkriptionsfaktoren, wie STAT1, -3,-4 und T-bet (Mullen, High et al. 2001).

In Gegenwart von IL-4, -6, -10 und -11 neigen aktivierte naive T- Zellen eher dazu, sich zu TH2-Zellen zu entwickeln (Pretolani and Goldman 1997). Da DZ nicht fähig sind, IL-4 zu exprimieren, geht man davon aus, dass IL-4 durch NKZ, T-Zellen, Mastzellen und Eosinophile sezerniert wird (Wang, Kusam et al. 2006). Das von TH2-Zellen sezernierte IL-4 stimuliert auf parakrine Weise die Differenzierung benachbarter naiver T-Zellen zu TH2-Zellen (Kidd 2003). IL-6 wird von Makrophagen, Mastzellen und pulmonalen DZ (Dodge, Carr et al. 2003), IL-11 von T-Zellen sezerniert (Curti, Tafuri et al. 2002). Letztgenannte Zytokine haben einen positiven Einfluss auf die TH-2 Entwicklung, indem sie die IL-4 Produktion hoch regulieren und gleichzeitig die IFN- $\gamma$  Genexpression unterdrücken (Detournay, Mazouz et al. 2005). IL-11 kann außerdem die IL-12 Synthese durch Makrophagen unterdrücken, und somit indirekt die TH2- Polarisierung unterstützen (Curti, Tafuri et al. 2002). Weitere wichtige Faktoren für die TH-2-Zell Differenzierung sind costimulatorische Faktoren wie ICOS (CD28 Familie), und die Aktivierung von Transkriptionsfaktoren wie STAT6, GATA-3 und c-MAF (Kaiko, Horvat et al. 2008)

**Abbildung 1-1:** Aktivierung der Immunreaktion und Determination des Phänotyps.



Polarisationsfaktoren für TH (T-Helfer)-1-Zellen: IL (Interleukin)-12, IFN (Interferon)  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ , IL-18, IL-27, CD80, ICAM1 (intrazelluläre Adhäsionsmoleküle1). Polarisationsfaktoren für TH2-Zellen: IL-4, IL-6, IL-11, CD2 und CD86. Gewebefaktoren: Zytokine, Chemokine, Eikosenoide, Hitzeschockproteine, nekrotische Zelllipide.

Entwicklungsabschnitte: 1, Aktivierung von Zytokingene, 2, Festlegung des TH- Zell Phänotyps, 3, Unterdrückung der opponierenden TH-Zelle, und 4, Stabilisation des Phänotyps. Molekulare Mechanismen, welche die einzelnen Entwicklungsschritte kontrollieren: intrazelluläre Signalkaskaden, Chromatinumbau, und epigenetische Faktoren. CTLA-4 (Antigen 4 zytotoxischer T-Lymphozyten), ICOS (induzierbare Kostimulator), ICOS-L (induzierbare kostimulatorische Liganden), PRR (pattern recognition receptor), TGF- $\beta$  (transforming growth factor), TLR (Toll-like Rezeptor), TNF- $\beta$  (Tumornekrosefaktor) und T-regulatorische Zellen. (Kaiko, Horvat et al. 2008).

### 1.2.5 Regulatorische T-Zellen

Als weitere Untergruppe der T-Zellen wurden die regulatorischen T-Zellen beschrieben. Sie spielen eine wichtige Rolle in der Toleranz gegenüber Selbst- und Fremdanitgenen und beeinflussen das Gleichgewicht der TH1- und TH2- Zellen.

Man unterscheidet zwischen natürlich vorkommenden CD4+CD25+ T-regulatorischen Zellen (Sakaguchi, Ono et al. 2006), IL-10 sezernierenden T-regulatorische Typ1 Zellen (Tr1) (Roncarolo, Gregori et al. 2006), TGF- $\beta$  sezernierenden TH3-Zellen, Qa-1-sezernierenden CD8+ T-Zellen, CD8+ CD28<sup>-</sup> T-Zellen, CD8+CD122+ T-Zellen, und  $\gamma/\delta$  T- Zellen (Baecher-Allan and Hafler 2006; Roncarolo, Gregori et al. 2006; Sakaguchi, Ono et al. 2006). Die natürlich vorkommenden CD4+CD25+ T-regulatorischen Zellen sind bisher am besten charakterisiert. Zusammen mit den Tr1- Zellen sind sie an der Unterdrückung autoimmunologischer und allergischer Prozesse beteiligt (Izcue, Coombes et al. 2006; Rouse, Sarangi et al. 2006; Umetsu and De Kruyff 2006).

CD4+CD25+ T- regulatorische Zellen entwickeln sich im Thymus und spielen bei der Prävention organspezifischer Autoimmunität und der Allograftabstoßung, sowie beim Erhalt der immunologischen Selbsterkennung eine wichtige Rolle. Für die Entwicklung und Funktion der CD4+CD25+ T- regulatorischen Zelle ist der Transkriptionsfaktor FoxP3 ein Schlüsselmolekül (Kim and Rudensky 2006). Liegt ein genetischer Defekt im FoxP3 vor, kann dies zu einer Dysfunktion der CD4+CD25+ T- regulatorischen Zellen führen, welche als Ursache für Allergien, IPEX (immunodysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrom), für Autoimmunerkrankungen und entzündliche Darmerkrankungen angesehen wird (Kim and Rudensky 2006; Sakaguchi, Ono et al. 2006).

Im Gegensatz zu den natürlich vorkommenden CD4+CD25+ T-regulatorischen Zellen wird die Entwicklung der IL-10 bildenden Tr1- Zellen sowohl *in vivo* als auch *in vitro* durch eine IL-10 abhängige Antigenstimulierung induziert. Tr1- Zellen charakterisiert eine hohe Sekretion von IL-10 und TGF- $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ ), eine geringe Sekretion von IFN- $\gamma$  und IL-2 sowie keine Sekretion von IL-4 (Wan and Flavell 2006). Dieses Zytokinmuster hat Passiveffekte auf andere T-Zellen. Tr1- Zellen besitzen die Fähigkeit, die antigenspezifische T-Zell-Immunantwort über einen zytokinabhängigen Mechanismus zu hemmen. Tr1- Zellen können direkt die Produktion von IL-2 und TNF-  $\alpha$  durch CD4+ T-Zellen herunter regulieren. Indirekt wird durch IL-10 die Expression kostimulierender Moleküle und die Produktion pro-inflammatorischer Zytokine durch APCs gehemmt. Eine funktionelle Beeinträchtigung von Tr1- Zellen könnte durch eine fehlende Toleranzentwicklung gegenüber körperfremder Antigene eine entscheidende Rolle in der Genese von Infektionen und Sepsis spielen (Roncarolo, Gregori et al. 2006).

### **1.3 Besonderheiten des kindlichen Immunsystems**

Das menschliche Immunsystem scheint bereits *in utero* geprägt zu werden (Michaelsson, Mold et al. 2006) und wird vor allem in den ersten zwei Lebensjahren durch den frühen Kontakt zu vielen neuen Antigenen, (z.B. Hautbakterien, Nahrung, Darmbakterien) geformt (Calder, Krauss-Etschmann et al. 2006).

Während der Schwangerschaft erfährt die Frau eine Änderung ihres Immunsystems: da *in utero* die TH1-Zell-Antwort toxisch gegenüber der Plazenta wirkt, wird diese durch Progesteron und IL-10, was beides vom Trophoblasten ausgeschüttet wird, unterdrückt (Szekeres-Bartho, Faust et al. 1996). Dies bedeutet, dass während der Schwangerschaft sowohl bei der Mutter als

auch beim Foetus (Prescott, Macaubas et al. 1999) die TH2-Zell (Morein, Blomqvist et al. 2007) und T-regulatorische Immunantwort dominiert (Raghupathy 2001).

Die aus einer sterilen intrauterinen Umwelt kommenden Neugeborenen sind verschiedensten infektiösen Mikroorganismen, wie Viren, Bakterien und Parasiten ausgesetzt und müssen bereits bei Geburt einer Vielzahl von immunologischen Anforderungen gewachsen sein (Levy 2007). Die weniger ausgeprägte TH1-Immunantwort bei Geburt könnte die erhöhte Infektionsneigung des Neugeborenen erklären (Horita, Kuroda et al. 2007; Morein, Blomqvist et al. 2007). Während der ersten Lebensmonate kann die Schwere einer Infektion durch mütterliche Antikörper, die dem Foetus übertragen wurden gedämpft werden (Zinkernagel 2001). Im Gegensatz zu Antikörpern können mütterliche Lymphozyten normalerweise nicht die Plazentaschranke überschreiten (Marchant and Goldman 2005). Die T-Zell abhängige Immunreaktion beim Neugeborenen, die für die Abwehr intrazellulärer Pathogene gefordert ist, ist somit vom eigenen Immunsystem abhängig.

### **1.3.1 Defizite des angeborenen Immunsystems**

Jährlich sterben während den ersten sechs Lebensmonaten mehr als 2 Millionen Kinder durch virale und bakterielle Infektionen vor allem an Lunge und Magendarmtrakt (Siegrist 2007).

Ursachen für die hohe Mortalitätsrate könnten ein noch unreifes Immunsystem mit einer geringeren T-Zell-Immunantwort auf Mitogene (Morein, Blomqvist et al. 2007), eine noch nicht voll ausgeprägte Zytokinsynthese (Chirico, Maccario et al. 1990), eine geringe Anzahl von B- und T- Zellen, und die Abwesenheit von Gedächtniszellen (Gasparoni, Ciardelli et al. 2003) sein.

Unterschiedliche Konditionen der Mutter während der Schwangerschaft und Frühgeburtlichkeit können die Myelopoese, die Funktion der neutrophilen Zellen und das Komplementsystem beeinflussen (Petrova and Mehta 2007). Es wurde nachgewiesen, dass Neutrophile Granulozyten vor allem des Frühgeborenen eine Dysfunktion in der Chemotaxis, der Integrin-assoziierten Adhäsion, und der sauerstoffabhängigen und unabhängigen Tötung von mikrobiellen Faktoren zeigen (Petrova and Mehta 2007).

Nach Stimulation mit Con A/PMA sezernierten mononukleare Zellen von Neugeborenen zehnfach weniger IL-4, IL-5 und IFN- $\gamma$  im Vergleich zu erwachsenen mononuklearen Zellen, aber nur dreifach weniger IL-13 und IL-10 (Halonen, Lohman et al. 2009). Halonen et al. gehen davon aus, dass bei Neugeborenen nicht hauptsächlich eine TH2 Polarisierung vorherrscht, sondern ein Gleichgewicht in der Zytokinsekretion, welche sich von dem der Erwachsenen unterscheidet und welche von familiären und Umweltfaktoren beeinflusst wird.



### **1.3.2 Defizite der Antigen- präsentierenden Zelle**

Eine weitere Ursache für eine erhöhte Morbidität im Kindesalter könnten Defizite der APZs sein (Trivedi, HayGlass et al. 1997). Neonatale T-Zellen vermehrten sich relativ wenig, wenn sie von frisch isolierten, allogenen dendritischen Zellen (APCs) stimuliert wurden. Wurden sie aber von erwachsenen DZ stimuliert, vermehrten sie sich genauso stark wie erwachsene T-Zellen (Matthews, Wadhwa et al. 2000). Gleichermaßen wurde die Produktion von TH1 spezifischen IFN- $\gamma$  erhöht, wenn diese T-Zellen von erwachsenen und nicht von Nabelschnur-APCs kultiviert wurden. Dies könnte darauf hindeuten, dass neonatale APCs eine mangelhafte Fähigkeit besitzen, T-Zellen ein wichtiges Signal zur TH1- Polarisierung zu überbringen. Auch IL-12, das Schlüssel-Zytokin der TH1-Zellen zeigte nach Stimulierung mit LPS oder Hitze-inaktivierten *S. aureus* eine reduzierte Konzentration im Kindesalter (Joyner, Augustine et al. 2000). So könnte eine reduzierte IL-12 Synthese einer verringerten Anzahl und/ oder einer defizitären Funktion der DZ zugeschrieben werden (Upham, Lee et al. 2002)

### **1.3.3 Defizite der TH1- Zelle und dessen Zytokinsynthese**

Eine frühe TH1- Immunantwort mit einer hohen Produktion anti-inflammatorischer Zytokine, wie IFN- $\gamma$  und IL-12 wird als essentiell für die Kontrolle von Infektionen gegenüber verschiedener Pathogene angesehen (Marodi 2006). IFN- $\gamma$  spielt während der frühen postnatalen Periode eine entscheidende Rolle in der Differenzierung des Immunsystems in Richtung einer TH1-dominierenden Immunantwort (Gabrielsson, Soderlund et al. 2001). Eine reduzierte anti-inflammatorische TH1- Immunantwort könnte eine allgemein höhere Anfälligkeit gegenüber Infektionen im ersten Lebensjahr und die Notwendigkeit schützender mütterlicher Antikörper erklären (Morein, Abusugra et al. 2002; Morein, Blomqvist et al. 2007). Mehrere Mechanismen limitieren eine effiziente TH1-Zell Immunantwort in der frühkindlichen Periode.

Wie oben erwähnt, dominiert bei Geburt die präexistente TH2 Immunantwort (Morein, Blomqvist et al. 2007). Mehrere Studien zeigten, dass die TH1- Immunantwort bei Geburt schwächer ist als beim Erwachsenen. White et al. zeigte, dass *in vitro* die IFN-  $\gamma$  Produktion neugeborener CD4 T-Zellen geringer ist als bei erwachsenen naiven T-Zellen (White, Watt et al. 2002). Sowohl *in vitro* als auch *in vivo* Experimente zeigten bei naiven neonatalen T-Zellen eine geringere Produktion pro-inflammatorischer Zytokine wie TNF- $\alpha$  und IL-6 nach Stimulierung dieser (Adkins 1999; Han and Hodge 1999). Eine Fehlregulation in der Produktion dieser Zytokine könnte zu unterschiedlichen Ausprägungen postnataler Erkrankungen führen (Szebeni, Szekeres et al. 2006). Eine Studie von Chipeta et al. zeigte

jedoch, dass neonatale T- Zellen kompetent auf die Stimulation ihrer T-Zellrezeptoren antworten und sowohl TH1- als auch TH2-Zytokine produzieren können (Chipeta, Komada et al. 2000).

In Gegenwart von kostimulierenden CD28 stimulierte IL-12 die Produktion von IL-4 und IFN- $\gamma$  von neonatalen CD4 T-Zellen, während erwachsene Zellen unter denselben Konditionen kein IL-4 produzierten (Mingari, Maggi et al. 1996). Weiterhin konnte gezeigt werden, dass sich Thymocyten als Antwort auf Antigene, zu TH2-Zytokin produzierenden CD4-Zellen entwickeln, wohingegen IL-12 zur Produktion von IFN- $\gamma$  benötigt wird (Mingari, Maggi et al. 1996).

## **1.4 Zytokine und ihre biologischen Funktionen**

Zytokine definiert man als von Zellen freigesetzte, extrazelluläre kleine Proteine (~25kDa), die das Verhalten anderer Zellen beeinflussen, welche hochaffine Rezeptoren für diese Proteine besitzen (Janeway, Walport et al. 2005). Zytokine können ihrerseits die Expression von Rezeptoren induzieren, was sowohl die Antwort der Ursprungs- als auch der Zielzellen beeinflussen kann. Fast alle Organsysteme verfügen über Rezeptoren, an die Zytokine binden können. Die Wirkung der Zytokine hängt hierbei von der Zielzelle ab (Trinchieri 2004). Im Allgemeinen wirken Zytokine auf nah benachbarte Zellen und haben somit eine vorherrschend parakrine Wirkung. Jedoch können sie ebenso auf entfernte Zellen, in endokriner und auch in autokriner Weise auf ihre Ausgangszelle wirken. Sie können sich gegenseitig antagonistisch, agonistisch und auch synergistisch beeinflussen (Abbas 2003). Aufgrund ihrer Struktur können Zytokine in verschiedene Familien unterteilt werden; man unterscheidet zwischen der Hämatoopoetin-, Interferon-, Chemokin- und der TNF- Familie (Trinchieri 2004).

Zytokine spielen eine wichtige Rolle in der Entwicklung und der funktionellen Reifung des fetalen Immunsystems. Mehrere Studien haben eine Verbindung zwischen Zytokinprofil bei Geburt und der Entwicklung allergischer Erkrankungen gezeigt (Macaubas, de Klerk et al. 2003; Kurzius-Spencer, Halonen et al. 2005). Während einer Infektion reguliert die Freisetzung pro- inflammatorischer Zytokine, wie TNF- $\alpha$  das Anlocken weiterer Pathogen- erkennender Phagozyten an den Infektionsherd. Sie lösen Fieber aus und induzieren die Produktion von Akute-Phase-Proteinen wie das C-reaktive-Protein. Außerdem können Zytokine antigenpräsentierende Zellen mobilisieren, die die adaptive Immunantwort aktivieren (Janeway, Walport et al. 2005).

Für den Krankheitsverlauf spielt die Balance zwischen anti- und proinflammatorischen Zytokinen eine entscheidende Rolle. Zum Beispiel wurden stark aktivierte Phagozyten und hohe Level pro-inflammatorischer Zytokine bei Patienten mit erhöhtem Risiko für die Entwicklung von Schock und Multiorganversagen beobachtet (Takala, Nupponen et al. 2002). Andererseits führten bei kritisch erkrankten Patienten übermäßige anti- inflammatorische Reaktionen, welche sowohl das angeborene, als auch das erworbene Immunsystem beeinflussen können, häufiger zu sekundären Infektionen (Takala, Nupponen et al. 2002). Die Wirkung eines einzelnen Zytokins im Hinblick auf eine Erkrankung ist schwierig vorherzusagen, da sie von anderen Zytokinen beeinflusst werden kann, die gleichzeitig von der gleichen Zelle freigesetzt oder von der Zielzelle durch deren Aktivierung produziert werden. Das Zytokinsekretionsmuster im Nabelschnurblut könnte trotzdem einen nützlichen Marker in der Diagnose und Prognose postnataler Infektionen darstellen (Volante, Moretti et al. 2004).

## **1.5 TH1- Zytokine**

### **1.5.1 IFN- $\gamma$**

IFN- $\gamma$  wird sowohl von NK-Zellen als Teil der angeborenen Immunantwort, als auch von CD4<sup>+</sup> TH- Lymphozyten und CD8<sup>+</sup> zytotoxischen T- Lymphozyten produziert, sobald sich die antigenspezifische erworbene Immunantwort entwickelt hat (Trinchieri 2003). Weiterhin wird IFN- $\gamma$  auch von Makrophagen/ Monozyten, dendritischen Zellen und B-Zellen gebildet (Della Bella, Nicola et al. 2004). Jede dieser Zellen sezerniert IFN- $\gamma$  nur im aktivierten Zustand im Laufe einer Immunantwort, besonders als Antwort auf IL-2 und IL-12. Die Produktion von IFN- $\gamma$  kann durch IL-4, IL-10, TGF $\beta$ , Glukokortikoiden, Cyclosporin A und EK 506 gehemmt werden (Gattoni, Parlato et al. 2006).

Wie oben bereits erwähnt fördert IFN- $\gamma$  zusammen mit IL-12 und IL-2 die Ausreifung von TH1-Zellen (Gabrielsson, Soderlund et al. 2001) und hemmt die Ausreifung von TH2-Zellen (Janeway, Walport et al. 2005). Gleichzeitig vermindert es nicht nur die Produktion von IL-4 aus TH2- Zellen, sondern blockt effizient den Effekt von IL-4 auf B- Zellen, nämlich die begünstigte IgG1 Synthese auf Kosten der IgE Synthese (Gattoni, Parlato et al. 2006).

IFN- $\gamma$  aktiviert Makrophagen und lockt diese zum Infektionsherd, wo sie als Effektorzellen oder als antigenpräsentierende Zellen wirken können (Janeway, Walport et al. 2005).

Weiterhin zeigt IFN- $\gamma$  eine antivirale und antiparasitische Aktivität. So hemmt IFN- $\gamma$  direkt die virale Replikation und führt dadurch dazu, dass z.B. MHC-Klasse-I-Moleküle, die an der Peptidbindung der neu synthetisierten MHC-Klasse-I-Proteine von infizierten Zellen beteiligt sind, verstärkt exprimiert werden. Auf diese Weise erhöht sich die Wahrscheinlichkeit, dass infizierte Zellen als Ziel für zytotoxische Angriffe erkannt werden (Janeway, Walport et al. 2005).

### 1.5.2 IL-12

IL-12 wird vorwiegend von Makrophagen und DZ, nach Aktivierung durch intrazelluläre Pathogene ausgeschüttet (Farrar, Asnagli et al. 2002).

Im erworbenen Immunsystem hat IL-12 sowohl auf die humorale, als auch auf die zelluläre Immunantwort Einfluss. Zusammen mit IFN- $\gamma$  fördert IL-12 die Entwicklung naiver T- Zellen zu TH1-Zellen (Trinchieri 2003). Bei bakteriellen Infektionen aktivieren bewaffnete TH1-Zellen Makrophagen durch Zellkontakt und durch gezielte Sekretion von IFN- $\gamma$ . Diese Aktivierung führt wiederum durch einen positiven Regulationsmechanismus zu einer erhöhten IL-12 Produktion und zur Expression von IL-12 Rezeptoren (Trinchieri 2003). Dies verstärkt die TH1-Immunantwort, welches zu einer verstärkten Elimination intrazellulärer Pathogene und Viren führen kann (Gattoni, Parlato et al. 2006).

In der humoralen Immunantwort induziert IL-12 eine Änderung der B-Zellen gegenüber deren IgG-Produktion; es vermindert temporär die Produktion von IgG1, IgM, IgE und erhöht die Produktion von IgG3 und IgG2a. Letztendlich löst IL-12 bei diesen umgeschalteten B-Zellen unabhängig von deren Isotyp eine vermehrte Antikörper Produktion aus (Metzger, Buchanan et al. 1996).

IL-12 kann auch Natürliche Killer Zellen (NKZ) zur Sekretion von IFN- $\gamma$  stimulieren, die Chemotaxis von NK-Zellen vermitteln und die Zytotoxizität der NK-Zellen beeinflussen (Aste-Amezaga et al.1994). Gemeinsam mit den NK-Zellen hemmt IL-12 die virale Vermehrung bis die adaptive Immunantwort zytotoxische T-Zellen hervorbringt, die das Virus eliminieren können (Janeway, Walport et al. 2005). Ein wiederholter Kontakt mit IL-12 scheint jedoch mit einer hohen Plasmakonzentration von IL-10 und einer verminderten Antwort von IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-6 und IL-8 assoziiert zu sein (Portielje J.E. 2003).

### 1.5.3 TNF- $\alpha$

TNF- $\alpha$  wird vorwiegend von Monozyten und Makrophagen gebildet, aber auch von B-Zellen, T-Zellen, Granulozyten, dendritischen Zellen, NK-Zellen und Mastzellen (Roach, Bean et al. 2002; Janeway, Walport et al. 2005).

TNF- $\alpha$  ist eines der wichtigsten pro-inflammatorischen Zytokine und spielt eine entscheidende Rolle bei der Induktion entzündlicher Reaktionen. Dies kann bis hin zu einer systemischen und endotoxischen Aktivität führen, welche in Fieber, Hypertension und Schock resultieren kann (Malik and Balwill 1992).

TNF- $\alpha$  fördert die Produktion weiterer inflammatorischer Zytokine, wie beispielsweise von IL-1 und IL-6 (Roach, Bean et al. 2002).

Bei neutrophilen Granulozyten und Makrophagen bewirkt TNF- $\alpha$  eine Steigerung der Phagozytose durch Zellaktivierung und Zellrekrutierung (Lin, Plessner et al. 2007). Hierbei wirkt TNF- $\alpha$  wahrscheinlich zusammen mit IL-1 als Auslösesignal der IFN- $\gamma$  induzierten Makrophagenaktivität (Roach, Bean et al. 2002). Außerdem steigert TNF- $\alpha$  die Expression von MHC-Klasse-II-Molekülen auf APCs und erhöht auch deren IL-1 Produktion. TNF- $\alpha$  beeinflusst zusammen mit IL-1 T- und B-Lymphozyten und unterstützt die Aktivierung von antigenstimulierten T-Zellen und die Regulation der Antikörperproduktion (Janeway, Walport et al. 2005).

Im Mausmodell reguliert TNF- $\alpha$  die frühe Aktivierung von Chemokinen und die erste Rekrutierung von Leukozyten. Bei der Bekämpfung von Infektionen durch Mykobakterien konnte gezeigt werden, dass TNF- $\alpha$  die Leukozyten-Aggregation zu funktionsfähigen Granulomen induziert (Roach, Bean et al. 2002).

Weiterhin besitzt es die Fähigkeit in Tumoren hämorrhagische Nekrosen zu verursachen, Gewebe zu zerstören und Apoptose in kanzerogen oder transformierten Zelllinien, in Lymphozyten und epithelialen Zellen zu induzieren (Schottelius, Moldawer et al. 2004). Diese stark ausgeprägte Aktivität von TNF- $\alpha$  kann vor allem bei Neugeborenen die Gefahr einer Gewebeerstörung und Sepsis verursachen, wenn TNF- $\alpha$  nicht sorgfältig kontrolliert wird (Piguet, Grau et al. 1992).

## **1.6 TH2- Zytokin**

### **1.6.1 IL-5**

IL- 5 wird vor allem von aktivierten CD4+ TH-2 Zellen und von Mastzellen, aber auch von natürlichen Killerzellen, Makrophagen, B-Zellen und Eosinophilen synthetisiert (Bohjanen, Okajima et al. 1990; Gleich 2000; Takazu 2004).

Das von den TH2-Lymphozyten sezernierte IL-5 ist ein spezifischer, hämatopoetischer Wachstumsfaktor (Weltman and Karim 1998), der für das Wachstum, die Differenzierung, für ein verlängertes Überleben und eine erhöhte Adhäsion von eosinophilen Granulozyten (Weltman and Karim 1998; Gleich 2000; Wauwe 2000) verantwortlich ist.

Im Mausmodell zeigte IL-5 zusammen mit IL-2 und IL-4 eine Proliferation und terminale Differenzierung von Immunglobulin Isotypen, wie IgG1, IgE und IgM aus B- Lymphozyten. Weiterhin wird die mukosale IgA Antwort induziert (Mc Heyzer-Williams 1989). In klinischen Studien des Menschen konnte eine enge Korrelation zwischen der IL-5 Expression der Lunge, der Anzahl von Eosinophilen und von allergischen Reaktionen gezeigt werden (Wauwe 2000). So kann IL-5 als Schlüsselzytokin allergischer Prozesse bezeichnet werden, welches in vivo am stärksten bei der Entwicklung eosinophiler Granulozyten beteiligt ist (Iwama, Nagai et al. 1993). In einer klinischen Studie reduzierte anti-IL-5 die Anzahl von Eosinophilen der oberen Luftwege, welche TGF-beta exprimieren. Darüber hinaus konnte durch anti-IL-5 auch eine Gewebsveränderung der Lunge reduziert werden, welche durch bronchiale Biopsien nachgewiesen werden konnte (Broide 2008).

## **1.7 T- regulatorisches Zytokin**

### **1.7.1 IL-10**

IL-10 wird vor allem von humanen CD4+ und CD8+T-Zellen (Del Prete, De Carli et al. 1993) nach antigenspezifischer und polyklonaler Aktivierung, von Makrophagen und Monozyten nach Aktivierung mit LPS, sowie von Mastzellen sezerniert (Yssel, De Waal Malefyt et al. 1992).

IL-10 wird als Zytokin-Synthese-Inhibitionsfaktor beschrieben (Haddad, Saade et al. 2003).

Seine Hauptaufgabe scheint die Hemmung inflammatorischer Reaktionen zu sein. Beispielsweise inhibiert es die Produktion pro-inflammatorischer Zytokine durch Monozyten

und TH1- Zellen (de Waal Malefyt, Abrams et al. 1991). IL-10 hemmt ferner direkt die TH1-Immunantwort und inhibiert indirekt die Proliferation von antigenspezifischen T-Zellen durch Hemmung der Antigen präsentierenden Kapazität von Monozyten (Janeway, Walport et al. 2005). Dies wird über die Herunterregulierung der Klasse-II-MHC-Proteine auf Monozyten erreicht. Weiterhin hemmt IL-10 die Produktion von Chemokinen, Prostaglandin E<sub>2</sub>, und beeinflusst negativ die Expression von TLR4, dem Signaltransduktionsrezeptor für LPS (Moore, de Waal Malefyt et al. 2001).

Auf der anderen Seite besitzt IL-10 auch stimulierende Effekte, zum Beispiel auf B-Zellen, auf die Entwicklung zytotoxischer T-Zellen und auf Thymocyten (Conti, Kempuraj et al. 2003). IL-10 induziert die Differenzierung von Phagozyten (makrophage-like-cells) und erhöht deren Aktivität (Moore, de Waal Malefyt et al. 2001). Zusammenfassend kann man IL-10 als ein Zytokin mit stark anti-inflammatorischen Eigenschaften bezeichnen, welches das Fortschreiten einer Immunantwort und einer Entzündungsreaktion hemmt und entscheidend in der Immunregulation und Immuntoleranz ist (Conti, Kempuraj et al. 2003).

## **1.8 Hygiene-Hypothese und Infektionen**

Die erstmals 1989 von Strachan beschriebene „Hygiene-Hypothese“ besagt, dass allergische Erkrankungen heute deshalb häufiger auftreten, weil Menschen mit ihrem „westlichen, sauberen Lebensstil“ wesentlich seltener mit bakteriellen, viralen und fungalen Komponenten in Berührung kommen als früher (Strachan 1989). Der vor Allergien schützende Effekt der mikrobiellen Faktoren wie durch Endotoxine oder Peptidoglycane aus Bakterien ist durch die „Sterilisation der Umwelt“ sowohl qualitativ als auch quantitativ nicht ausreichend, was zu einem Ungleichgewicht des Immunsystems mit einer Prädisposition zur Entwicklung von allergischen Erkrankungen führen kann (Schaub, Lauener et al. 2006; Garn and Renz 2007).

So zeigen epidemiologische Daten einen signifikanten Anstieg allergischer Erkrankungen über die letzten Jahrzehnte (Asher, Montefort et al. 2006) und eine gleichzeitige Abnahme der Inzidenz und Prävalenz von bakteriellen und viralen Infekten (Bach 2002). Letzteres konnte durch verbesserten Impfschutz, erhöhtes Verschreiben von Antibiotika und durch einen in den westlichen Ländern allgemein hohen hygienischen Standard erreicht werden.

Eine Schlüsselrolle in der Theorie der Hygiene-Hypothese könnte die reduzierte Stimulation der Toll-like Rezeptoren in der frühen Kindheit spielen. Der durch den westlichen Lebensstil bedingte reduzierte Kontakt zu mikrobiellen Faktoren könnte eine reduzierte Stimulation der

Toll-like Rezeptoren während der angeborenen Immunantwort bewirken und dadurch zu einer geringeren TH1- und einer verstärkten TH2-Immunantwort auf Pathogene führen. Folglich könnte eine erhöhte TH2-Immunantwort mit einer erhöhten Prävalenz für Asthma und atopischen Erkrankungen, einer fehlenden TH1-Immundevidenz und einer verminderten Immunsuppression durch T-regulatorische Zellen oder auch beidem zugesprochen werden (Romagnani 2004). Die individuelle Immunantwort ist dabei sowohl von der Dosis und dem Zeitpunkt der Exposition auf ein Endotoxin, von Umweltfaktoren als auch von genetischen Dispositionen des Individuums abhängig (Vandenbulcke, Bachert et al. 2006).

In mehreren Studien konnte gezeigt werden, dass das Aufwachsen in bäuerlicher Umgebung oder sogar ein pränataler Kontakt zu spezifischen Umwelt- und mikrobiellen Faktoren (Ege, Bieli et al. 2006), wie sie zum Beispiel bei Bauern im Stall vorhanden sind, oder das Trinken von unpasteurisierter Milch (Riedler, Braun-Fahrlander et al. 2001), vor der Entwicklung von Atopien, Heuschnupfen und Asthma schützen können.

So konnte in mehreren Studien eine inverse Korrelation von Asthma und das Aufwachsen in bäuerlicher Umgebung festgestellt werden (Kaan, Dimich-Ward et al. 2000; Ege, Herzum et al. 2008). Eine beachtliche Anzahl von Studien zeigten aber gar keine (von Mutius and Schmid 2006; Scirica, Gold et al. 2007; Bonnelykke, Phipps et al. 2008) oder gar eine positive Korrelation zwischen Aufwachsen in bäuerlicher Umgebung und Asthma (Busse and Rosenwasser 2003).

Außerdem beobachteten Studien eine inverse Korrelation zwischen erlittener Hepatitis (wobei diese Korrelation mehr auf unhygienische Umweltexposition zurückgeführt wird), Herpes simplex, EBV, CMV und spezifischen IgE Konzentrationen (Illi, von Mutius et al. 2001; Nilsson, Linde et al. 2005). Bei bakteriellen Infektionen werden Salmonellosis, *Helicobacter pylori* und *Mycobacteria tuberculosis* als Beispiele für potentielle Schützer allergischer Erkrankungen beschrieben (Pelosi, Porcedda et al. 2005).



## 2 Zielsetzung der Arbeit

Postnatale Erkrankungen stellen eine wichtige Ursache für die Morbidität und Mortalität während der neonatalen Periode dar. In der vorliegenden Arbeit wird im Rahmen der PASTURE-Studie, sowohl die Sepsis als auch häufigere banale Infektionen wie Atemwegserkrankungen (z. B. Husten, Schnupfen mit/ ohne Fieber), Hauterkrankungen (z.B. Neugeborenenexanthem, Hautausschlag) und andere leichte Erkrankungen (z.B. Neugeborenen-Ikterus, Bindehaut- und Tränenkanalenzündung, Brustdrüsenanschwellung, Durchfall, sonstige fieberhafte Infekte) von Bauern- und Nicht-Bauernkindern in den ersten zwei Lebensmonaten beobachtet.

Hauptfragestellung dieser Arbeit:

- Bestehen Unterschiede in den Zytokinsekretionsmustern der TH1-Zytokine IL-12, IFN- $\gamma$  und TNF- $\alpha$ , des TH-2 Zytokins IL-5 und des T-regulatorischen Zytokins IL-10 aus Nabelschnurblut von Bauern- und Nicht-Bauernkindern nach Stimulation mit PI, LPS und PMA?
- Lassen sich Zusammenhänge zwischen den Zytokinsekretionsmustern und postnatalen Erkrankungen wie Atemwegserkrankungen, Hauterkrankungen, und sonstige banale postnatale Erkrankungen in den ersten zwei Lebensmonaten erkennen?

Nebenfragestellung dieser Arbeit:

- Ist die Detektion der Zytokine in Vollblut mittels ELISA aussagekräftig?
- Lässt sich bei Bauern- und Nicht-Bauernkindern anhand der Zytokine ein TH1- bzw. TH2-dominanter Phänotyp peripherer T-Helferzellen finden?
- Sind sie präzise Marker für die Diagnose postnataler infektiöser Erkrankungen?

## **3 Material und Methoden**

### **3.1 Studiendesign und Aufgabenverteilung**

„PASTURE – Protektion against Allergy: a study in Rural Environments“ lief in Deutschland unter dem Namen “LUKAS – ländliche Umgebung und Kinder: Allergiestudie“. Die Probanden, die im Rahmen der PASURE-Studie rekrutiert wurden, stammen aus ländlichen Gegenden von fünf Europäischen Ländern (Deutschland, Österreich, Frankreich, Finnland, Schweiz). Es wurde dabei zwischen Bauern und Nicht-Bauern Familien unterschieden. Es handelte sich um eine prospektive Studie, die in folgenden Studienzentren durchgeführt wurde: Studienkoordinatorin war Prof. Dr. Erika von Mutius, Dr. von Haunerschen Kinderspital, München.

Partner des Projektes waren: PD Dr. med. Charlotte Braun-Fahrländer (Institut für Sozial- und Präventivmedizin, Basel), Juha Pekkanen, M. D., Ph.D. (Unit of Environmental Epidemiology, National Public Health Institut, Kuopio), Univ. Doz. Dr. med. Joseph Riedler (Kinderspital der LKA, Salzburg), sowie Dr. Jeroen Douwes (Utrecht), Dr. Roger Lauener (Zürich), Dr. Udo Herz (Marburg) und Dr. Michael Kabesch (München)

Für die Feldarbeit waren verantwortlich: Juha Pekkanen, M.D., Ph.D., in Kuopio (Finnland), Univ. Doz. Dr. med. Joseph Riedler in Salzburg ( Österreich), PD Dr. med. Charlotte Braun-Fahrländer, in Basel ( Schweiz), Prof. Dominique Vuitton in Besançon (Frankreich) und Prof. Dr. Erika von Mutius in München (Deutschland).

In Deutschland wurden die Aufgaben wie folgt verteilt:

Für die Rekrutierung wurden Krankenhäuser in Peißenberg, Penzberg, Bad Tölz und Wolfratshausen ausgewählt. Von dort wurden die Blutproben von den Feldarbeitern in das Haunersche Kinderspital, München transportiert. Die Arbeitsgruppe von PD Dr. med. Susanne Krauss-Etschmann war verantwortlich für die Gewinnung von Serum für die IgE-Bestimmung, für den Stimulationsansatz zur späteren Zytokin-Bestimmung, sowie für das Blutbild zur Bestimmung der Leukozytenzahl. Staub-, Stuhl- und Kuh- und Muttermilchproben der rekrutierten Familien wurden bis zur weiteren Bearbeitung in anderen Zentren zwischengelagert.

In der Arbeitsgruppe von Dr. Michael Kabesch wurden DNA- Analysen durchgeführt.

In Marburg wurden die Zytokine in Nabelschnurblut und die IgE im Serum unter Leitung von Prof. Dr. med. Harald Renz und PD Dr. med. Udo Herz bestimmt. Die Dateneingabe fand in Ulm unter der Leitung von Prof. Dr. med. Stephan Weiland, M. Sc. statt.

## **3.2 Studienpopulation**

In jedem der teilnehmenden Zentren bestand die Studienpopulation aus einer Kohorte von 1021 Schwangeren, die im dritten Trimenon rekrutiert und in Bauern und Nicht-Bauern eingeteilt wurden.

Definition „Bauern“: jede Frau, die auf einem Bauernhof lebt, auf dem jegliche Art von Vieh gehalten wird, dabei wird nicht zwischen Voll- und Teilzeitbauern unterschieden. Definition „Nicht-Bauern“: Frauen, die in der gleichen Gegend leben und im gleichen Krankenhaus rekrutiert wurden wie die Bäuerinnen. Frauen aus Städten mit mehr als 30 000 Einwohnern oder aus Industriestandorten wurden ausgeschlossen.

Allgemeine Ausschlusskriterien waren Frauen unter 18 Jahren, Zwillingsschwangerschaften, Geschwister von Frauen, die bereits an der Studie teilnahmen, Hausgeburten (außer in München), geplanter Umzug vor Studien-Ende, Familien ohne Telefon oder mit mangelnden Kenntnissen der deutschen Sprache, und Familien, in denen ein Elternteil täglich in die Stadt pendelt.

Ausschlusskriterien nach der Geburt waren Frühgeburten vor der 37. Schwangerschaftswoche und schwerwiegende genetische Erkrankungen des Kindes.

Die Rekrutierung fand in Schwangerschaftskursen und durch Hebammen bei der Vorstellung der Schwangeren in den Kliniken statt. Jede Schwangere wurde über die Studie informiert und gebeten, einen kurzen demographischen Fragebogen auszufüllen. Beim Erfüllen der Einschlusskriterien wurde von jeder teilnehmenden Familie eine Einverständniserklärung unterschrieben.

## **3.3 Materialgewinnung**

### **3.3.1 Blutentnahme**

Falls die Mutter ihre Einwilligung zur Studienteilnahme gegeben hatte, wurde bei der Geburt von der Hebamme ca. 24 ml Nabelschnurblut abgenommen. Das Vollblut wurde der Reihe nach in folgende Röhrchen gefüllt:

ca. 2,5 ml Nabelschnurblut in ein Lithium-Heparinröhrchen für die Zytokinmessung, 2,5 ml in ein EDTA-Röhrchen für die Bestimmung des Differential-Blutbilds und die DNA-Analysen, ca. 4 ml in ein Serumröhrchen für die IgE-Bestimmung, 2,5 ml in ein PAXgene Röhrchen für die Untersuchung der Genexpression, ca. 10 ml in ein EDTA-Röhrchen für die Isolierung von peripheren mononukleären Zellen (PBMCs) sowie 2,5 ml Nabelschnurblut für ein weiteres PAXgene Röhrchen. Die Verteilung in die Röhrchen erfolgte nach festgelegter Rangfolge, wobei der Stimulationsansatz die höchste Priorität besaß. Die Regelung war nötig, da nicht immer ausreichend Blut gewonnen werden konnte, um alle Bestimmungen durchzuführen.

Das Lithium-Heparinblut für die Zytokinmessung wurde innerhalb von 24 Stunden nach Blutabnahme weiterverarbeitet. Das abzentrifugierte Serum wurde bis zur weiteren Analyse bei  $-20^{\circ}\text{C}$  gelagert. Die PAXgene Röhrchen wurden bis zur weiteren Analyse bei  $-80^{\circ}\text{C}$  (?) gelagert. Überschüssiges Lithium-Heparinblut bzw. EDTA-Blut wurde im Verhältnis von 1:4 mit Trizol gemischt, gevortext und ebenfalls bei  $-20^{\circ}\text{C}$  eingefroren.

### **3.3.2 Fragebögen**

Es existierten vier verschiedene Fragebögen. Vor der Geburt wurde ein Interview durchgeführt, bei dem die Lebensumstände der Mutter und die Umweltexposition während der Schwangerschaft abgefragt wurden. Ein weiteres Interview fand zwei Monate nach der Geburt des Kindes statt. Dieses beinhaltete die Gesundheit des Kindes, seine Lebensumstände, seine Ernährung und andere Umweltfaktoren. Außerdem gab es einen Fragebogen für den Vater, der an die Familie verschickt wurde und später von der Feldarbeiterin eingesammelt wurde. Im Alter von einem Jahr fand ein weiteres Interview statt, bei dem u. a. die Symptome von atopischen Erkrankungen des Kindes erhoben wurden. In dieser Arbeit steht der Fragebogen für den zweiten Lebensmonat im Mittelpunkt.

### **3.3.3 Fragebogen für den zweiten Lebensmonat**

Die postnatale Infektionsrate des Kindes wurde anhand des Fragebogens für den zweiten Lebensmonat eruiert. Es wurden Fragen zum Gesundheitszustand des Kindes innerhalb der ersten Lebenswoche, wie zu Hautausschlag, Brustdrüsenanschwellung, Binde- und Tränenkanalentzündung, Neugeborenen-Ikterus, Durchfall, Unterzucker, Lungenentzündung, und sonstige fieberhafte Infekte gestellt. Außerdem wurden infektiöse Erkrankungen wie Schnupfen, Husten, Fieber, Hautveränderungen, wie Neugeborenenexanthem, Babyakne, Neurodermitis, Hautausschlag im Windelbereich und andere gesundheitliche Probleme nach der zweiten Lebenswoche, wie Sepsis, Lungenentzündung, Mittelohrentzündung, Harnwegsinfekt,

Durchfall, Binde- und Tränenkanalenzündung, Mundsoor und sonstige Erkrankungen dokumentiert. Als Störfaktoren für postnatale Infektionen wurden die Einnahme von Medikamenten, wie Antibiotika oder fiebersenkende Mittel, Auffälligkeiten während der Schwangerschaft (wie z. B. Erkrankungen der Mutter, Krankenhausaufenthalt, Medikamenteneinnahme), Umstände der Geburt (wie z. B. Geburtsmodus, Gewicht, Apgar, Nabelschnur-PH), der Kontakt des Kindes zu anderen Kindern und das Rauchverhalten innerhalb der Familie mitberücksichtigt.

### **3.4 Methoden**

#### **3.4.1 Zytokinmessung**

Für die Stimulation wurde Lithium-Heparin-Blut verwendet, das innerhalb von 24 h nach Abnahme verarbeitet werden musste. 2,5 ml Blut wurden mit 7,5 ml Medium 1:4 verdünnt.

Der Stimulationsansatz erfolgte in einer 24-well-Platte. Hierfür wurden in die wells der Spalten 2 bis 5 zunächst je 500 µl Medium gegeben. In die wells der Spalten 1 und 6 wurden je 1000 µl PBS pipettiert, um annähernd gleiche Bedingungen für alle wells zu schaffen. In die mit Medium gefüllten wells kamen nun die Stimulantien nach dem unten aufgeführten Schema dazu.

Anschließend wurden je 500 µl des vorher verdünnten Blutes hinzu pipettiert. Wenn weniger als 2,5 ml unverdünntes Blut vorlag, wurde dabei wie folgt vorgegangen:

Zunächst wurden die Reihen 2 und 3 befüllt, angefangen mit Medium, dann LPS, SEB und zuletzt P/I (Tabelle 1). Hier lagen die besten Bedingungen vor, da jedes well von mit Medium oder PBS befüllten wells umgeben war. Dann erst wurden die Duplikate in den Reihen 1 und 4 nach gleichem Schema angelegt. Anschließend wurden die Platten bei 37°C und 5% CO<sup>2</sup>-befeuchteter Raumluft inkubiert. Nach 24 h wurden die Überstände der Reihen 1 und 2, nach 48 h die der Reihen 3 und 4 abgenommen. Dazu wurden die Überstände der einzelnen wells in Eppendorf-Tubes abpipettiert und bei 5000 rpm drei Minuten zentrifugiert. Die Überstände hiervon wurden wiederum vorsichtig abpipettiert und in Eppendorf-Tubes gegeben, die mit den ID-Aufklebern der jeweiligen Kinder versehen wurden. Diese wurden bei -18° C bis zum Versand nach Marburg gelagert. In Marburg wurde das Zytokinsekretionsmuster mit dem ELISA (enzyme- linked immunosorbent Assay) bestimmt.

**Tabelle 3- 1:** Stimulation des Lithium- Heparin- Bluts mit LPS, PI und SEB für die Bestimmung der Zytokinsekretion nach 24 und 48 Stunden.

	Spalte 1	Spalte 2	Spalte 3	Spalte 4	Spalte 5	Spalte 6
Reihe 1	1000 $\mu$ l PBS	500 $\mu$ l Medium + 500 $\mu$ l verdünntes Blut	500 $\mu$ l Medium + 500 $\mu$ l verdünntes Blut + <b>10 <math>\mu</math>l LPS</b>	500 $\mu$ l Medium + 500 $\mu$ l verdünntes Blut + <b>10 <math>\mu</math>l P + 5 <math>\mu</math>l I</b>	500 $\mu$ l Medium + 500 $\mu$ l verdünntes Blut + <b>4 <math>\mu</math>l SEB</b>	1000 $\mu$ l PBS
Reihe 2	1000 $\mu$ l PBS	500 $\mu$ l Medium + 500 $\mu$ l verdünntes Blut	500 $\mu$ l Medium + 500 $\mu$ l verdünntes Blut + <b>10 <math>\mu</math>l LPS</b>	500 $\mu$ l Medium + 500 $\mu$ l verdünntes Blut + <b>10 <math>\mu</math>l P + 5 <math>\mu</math>l I</b>	500 $\mu$ l Medium + 500 $\mu$ l verdünntes Blut + <b>4 <math>\mu</math>l SEB</b>	1000 $\mu$ l PBS
Reihe 3	1000 $\mu$ l PBS	500 $\mu$ l Medium + 500 $\mu$ l verdünntes Blut	500 $\mu$ l Medium + 500 $\mu$ l verdünntes Blut + <b>10 <math>\mu</math>l LPS</b>	500 $\mu$ l Medium + 500 $\mu$ l verdünntes Blut + <b>10 <math>\mu</math>l P + 5 <math>\mu</math>l I</b>	500 $\mu$ l Medium + 500 $\mu$ l verdünntes Blut + <b>4 <math>\mu</math>l SEB</b>	1000 $\mu$ l PBS
Reihe 4	1000 $\mu$ l PBS	500 $\mu$ l Medium + 500 $\mu$ l verdünntes Blut	500 $\mu$ l Medium + 500 $\mu$ l verdünntes Blut + <b>10 <math>\mu</math>l LPS</b>	500 $\mu$ l Medium + 500 $\mu$ l verdünntes Blut + <b>10 <math>\mu</math>l P + 5 <math>\mu</math>l I</b>	500 $\mu$ l Medium + 500 $\mu$ l verdünntes Blut + <b>4 <math>\mu</math>l SEB</b>	1000 $\mu$ l PBS

### **3.4.2 Differenziertes Blutbild**

Die Bestimmung des differenzierten Blutbildes war eine der Voraussetzungen für die spätere Zytokin-Bestimmung. Hier wurde der prozentuale Anteil der Leukozyten/Lymphozyten ermittelt, die das Zytokin produzieren.

Das Blut wurde in EDTA-Röhrchen abgenommen und musste innerhalb von 24h bearbeitet werden. Die Erstellung des differenzierten Blutbildes erfolgte mit Sysmex XT- 1800i im Labor der von Haunerschen Kinderklinik München.

### **3.5 Statistische Auswertungen**

Die statistische Auswertung wurde mittels SPSS errechnet. Als erstes wurde die Studienpopulation mit den Zytokindaten in Anzahl [N] und Prozentwerten [%] beschrieben. Der P- Wert wurde mit Hilfe des Chi<sup>2</sup>-Tests berechnet, als Signifikanzniveau wurde  $p \leq 0,05$  gewählt. Zur Deskription der Zytokinwerte wurden anschließend die Mediane und Interquartilen- Abstände der einzelnen Zytokine der Bauern- und Nicht-Bauernkinder getrennt ausgerechnet. Bei der Berechnung wurden die non-responder ausgeschlossen.

Die Berechnung des Zusammenhangs zwischen Zytokinkategorie und erkrankten und gesunden Bauern- und Nichtbauernkindern erfolgte mit Hilfe des Chi<sup>2</sup>-Tests bzw. des exakten Tests nach Fisher, wenn die erwartete Häufigkeit kleiner 5 war. Als Signifikanzniveau wurde  $p \leq 0,05$  gewählt.

Für die Berechnung der Störfaktoren wurde zunächst der Zusammenhang zwischen möglichen Störfaktoren und den signifikanten Zytokinkategorien untersucht. Anschließend wurde der Einfluss dieser möglichen Störfaktoren auf die postnatale Erkrankung der Bauern- und Nicht-Bauernkinder überprüft. Auch dies wurde mit Hilfe des Chi<sup>2</sup>-Tests bzw. des exakten Tests nach Fisher berechnet.

Die positiven bzw. negativen Korrelationen zwischen den dichotomen Zytokinkategorien und den postnatalen Erkrankungen der Bauern- und Nicht-Bauernkinder wurden mit Hilfe der binär logistischen Regression berechnet. Hierbei wurden der Odds Ratio, das 95% Konfidenzintervall und der P-Wert berechnet, wobei die signifikanten Störfaktoren miteinbezogen wurden.

## 3.6 Verbrauchsmaterial und Geräte

### 3.6.1 Geräte

Lamiarflow	LaminAir HBB 2472, Heraeus instruments
CO <sub>2</sub> -Inkubator	Heraeus, Hera cell 240
Tischzentrifuge 5415	Eppendorf, Hamburg
Ultrazentrifuge	Heraeus, Osterode
Kühlschrank	Bosch ***
Gefrierschrank	Liebherr Premium, -32 °C
Pipetten <i>research (0-2 µl, 2-20 µl, 10-100 µl, 100-1000 µl)</i>	Eppendorf, Hamburg
Vortex Genie 2	Scientific Industries, Bohemia, NY, USA

### 3.6.2 Verbrauchsmaterial

Gewebekulturplatten, 24 well (steril)	Becton & Dickinson Gmbh,Heidelberg
Reaktionsgefäße, 1,5 ml	Eppendorf, Hamburg
Probenröhrchen Falcon, 15 ml, Polystyren	Becton & Dickinson Gmbh,Heidelberg
Probenröhrchen Falcon, 50 ml, Polystyren	Becton & Dickinson Gmbh,Heidelberg
Pipettenspitzen	Eppendorf, Hamburg
Kryoröhrchen	Nunc
Einfriermedium	Gibco, Karlsruhe

### 3.6.3 Reagenzien

<u>Kulturmedium</u>	
RPMI	Gibco, Karlsruhe
mit 20% inaktiviertem fetalem Kälberserum (FCS)	PAA, Cölbe
mit Antibiotika/Antimykotika (100x)	Gibco, Karlsruhe



### Lösungen

PBS

137 mM NaCl, 2,7 mM KCl  
4,3 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 1,4 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>

pH auf 7,3 eingestellt

Isolation von PBMCs

Ficoll-Paque Plus

Amersham Pharmacia Biotech

### Stimulantien

*PMA (Phorbol-12-Myristat-13-Acetat)*

Sigma, Deisenhofen

Stammlösung: 10 mg/ml in DMSO,  
Endkonzentration: 5 ng/ml in Medium

*Ionomycin*

Sigma, Deisenhofen

Stammlösung : 1 mg/ml in DMSO,  
Endkonzentration : 1 µg/ml in Medium

*LPS (Lipopolysaccharide)*

Prof. Otto Holst, Forschungszentrum Borstel

Stammlösung : 1 mg/ml in DMSO,  
Endkonzentration : 0,1 µg/ml in Medium

*SEB (Staphylokokkal Enterotoxin B)*

Sigma, Deisenhofen

Stammlösung: 250 µg/ml in Medium,  
Endkonzentration: 0,1 µg/ml in Medium

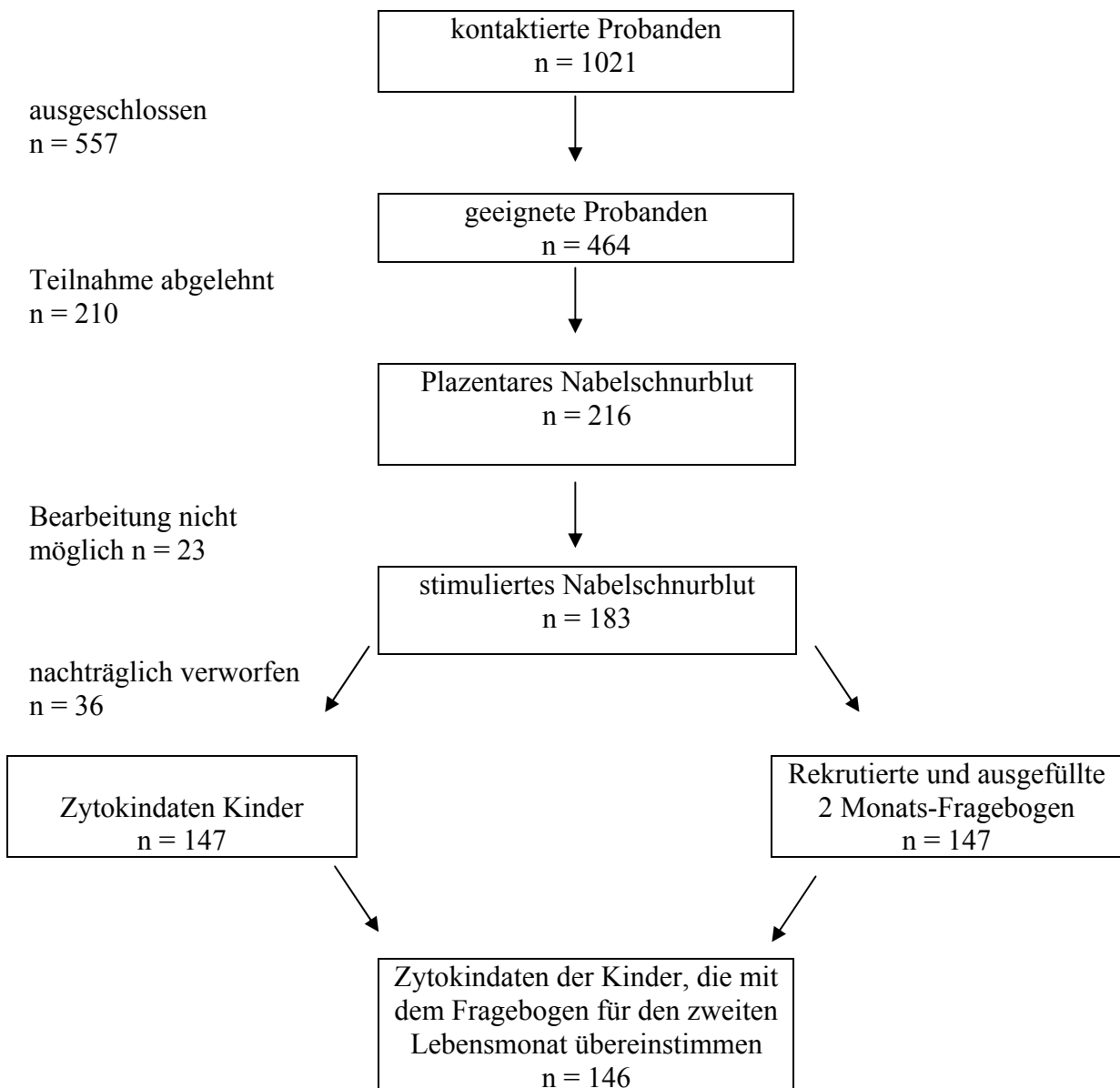
Die oben aufgelisteten Geräte und Verbrauchsmaterialien fanden in vorliegender Arbeit Verwendung.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Zusammensetzungen der Studienpopulation und Sammlung der Materialproben

Im Rahmen der PASTURE-Studie wurden in Südbayern 1021 Frauen im dritten Trimenon kontaktiert (Abb.2)

**Abbildung 4-1:** Zusammensetzung der Studienpopulation und gewonnenes Material.



Zunächst mussten 557 Frauen ausgeschlossen werden, da sie entweder nicht die Einschlusskriterien erfüllten bzw. Ausschlusskriterien auf sie zutrafen oder keine vollständigen Informationen über sie vorlagen. Es verblieben 464 geeignete Frauen, von denen 210 nicht an der Studie interessiert waren. Somit ergab sich eine Studienpopulation von 254 Familien. Plazentares Nabelschnurblut konnte von 216 Kindern bei der Geburt entnommen werden. 23 der Nabelschnurblutproben konnten nicht bearbeitet werden, da einige bereits geronnen waren oder zu wenig Blut für einen Stimulationsansatz vorhanden war. So wurden 183 Litium-Heparin- Blutproben der Kinder stimuliert und für die Zytokinanalyse nach Marburg verschickt. Weitere 36 Proben wurden nachträglich, aufgrund verzögerter Stimulation (>72 Std.) oder nicht plausibler Leukozytenzahlen verworfen. Nach der Auswertung standen von 147 Kindern verwertbare Zytokindaten zur Verfügung. Der Fragebogen für Kinder im zweiten Lebensmonat wurde von 147 Müttern ausgefüllt. Ein Fragebogen stimmte hierbei nicht mit der ID Nummer des Kindes überein. Somit konnten 146 Zytokindaten der Kinder mit den entsprechenden Fragen bezüglich postnataler Erkrankungen bearbeitet werden.

## **4.2 Auswertungen der Fragebögen**

### **4.2.1 Allgemeine Charakteristika der Studienpopulation**

Die Studienpopulation von 146 Kindern (exkl. 1 missing) setzte sich aus 65 Bauernkindern (44,5%) und 81 Nicht-Bauernkindern (55,5%) zusammen. Diese Studienpopulation wurde für die weitere Analyse der Zytokinwerte im Nabelschnurblut und für die logistische Regressionsanalyse verwendet.

Zusammengefasst konnte innerhalb der Studienpopulation (Anhang 1) wie in Tabelle 4-1 dargestellt in folgenden Kriterien signifikante Unterschiede dargestellt werden:

- Geburtsgewicht
- Gewicht der Mädchen in Perzentile bei der Geburt
- Diagnose Schnupfen
- Einnahme von Antibiotika
- Stationärer Aufenthalt der Mutter während der Schwangerschaft
  - wegen vorzeitigen Wehen
  - wegen sonst. Erkrankung
- Anzahl der Geburten
- Anzahl der Schwangerschaften
- Rauchgewohnheit der Mutter in den ersten zwei Lebenswochen des Kindes

**Tabelle 4-1:** Populationsbeschreibung der Studienteilnehmer für die Gruppen der Bauern- und Nicht- Bauernkinder mit den signifikanten Zytokindaten.

	Nicht-Bauern		Bauern		P-Wert
	[N]	[%]	[N]	[%]	
<b>Total</b>	<b>81</b>		<b>65</b>		
<b>Geburtsgewicht</b>					<b>0,03</b>
2000 - 2400g	0	0	1	1,5	
2401 - 3000g	11	13,6	2	3,1	
3001 - 3500g	66	81,5	53	81,5	
3501 - 4000g	4	4,9	9	13,9	
<b>Gewicht in Perzentilen/ Mädchen</b>	<b>n= 43</b>		<b>n= 31</b>		<b>0,035</b>
2000 - 2500g (<3.Perz.)	0	0,0	1	3,2	
2501 - 3300 (3.-50. Perz)	20	46,5	7	22,6	
3301 - 4000 (>50-97.Perz)	22	51,2	18	58,1	
4001 - 5000 (>97.Perz)	1	2,3	5	16,1	
<b>Schnupfen</b>	<b>n= 80</b>		<b>n= 65</b>		<b>0,039</b>
ja	27	33,8	33	50,8	
nein	53	66,2	32	49,2	
<b>Einnahme von Antibiotika</b>	<b>n= 81</b>		<b>n= 65</b>		<b>0,003</b>
nein	80	98,8	54	83,1	
ja, nur äußerlich als Tropfen, Hautsalbe	1	1,2	7	10,8	
ja, nur als Saft, Spritze oder Infusion	0	0	4	6,1	
<b>stationärer Aufenthalt über Nacht wegen Komplikationen während der Schwangerschaft</b>					
<b>wegen vorzeitigen Wehen</b>					
ja	1	9,1	4	80	<b>0,05</b>
nein	10	90,9	1	20	
<b>wegen sonstigen Erkrankungen</b>					
ja	10	90,9	1	20	<b>0,05</b>
nein	1	9,1	4	80	

	Nicht-Bauern		Bauern		P-Wert
	[N]	[%]	[N]	[%]	
<b>Total</b>	<b>81</b>		<b>65</b>		
<b>Anzahl der Geburten</b>	<b>n= 81</b>		<b>n= 65</b>		<b>0</b>
eine	46	56,8	17	26,2	
zwei	22	27,2	19	29,2	
drei	2	2,5	17	26,2	
> vier	1	1,2	12	18,5	
<b>Anzahl der Schwangerschaften</b>					<b>0</b>
ein - zwei	66	81,5	30	46,2	
drei - vier	14	17,3	32	49,2	
fünf - sechs	0	0	1	1,5	
> sieben	1	1,2	2	3,1	
<b>in den ersten zwei Lebenswochen des Kindes geraucht</b>	<b>n= 80</b>		<b>n= 64</b>		<b>0,061</b>
ja	7	8,8	1	1,6	
nein	73	91,2	63	98,4	

Beschreibung der Studienpopulation mit Zytokinindaten in Anzahl (N) und Prozentwerten (%). Der P-Wert wurde mit Hilfe des Chi<sup>2</sup>- Tests berechnet, als Signifikanzniveau wurde  $p \leq 0,05$  gewählt. Insgesamt standen Angaben von 146 Kindern zur Verfügung.

So konnte in der Studienpopulation von 146 Familien ein signifikanter Unterschied im Geburtsgewicht von Bauern- und Nicht-Bauernkindern berechnet. Dabei lag das Gewicht der Nicht-Bauernkinder signifikant häufiger unter 3300g und der Bauernkinder häufiger über 3501g. Ähnliche Ergebnisse zeigten Bauern- und Nicht-Bauernmädchen.

Bei den Auffälligkeiten innerhalb der ersten Lebenswoche litten Bauernkinder signifikant häufiger an Schnupfen als Nicht-Bauernkinder. Bei Krankheiten wie Hautausschlag, Brustdrüenschwellung, Binde- und Tränenkanalentzündung, Gelbsucht, Unterzucker, sonstigen fieberhafte Infekten, Husten, Fieber, Exantheme oder andere Hautausschläge lagen keine signifikanten Unterschiede vor.

Bauernkinder nahmen signifikant häufiger Antibiotika zu sich, sowohl nur äußerlich z.B. als Tropfen oder Hautsalbe als auch in Form von Spritzen oder Infusionen. Signifikant mehr Bäuerinnen als Nicht-Bäuerinnen wurden wegen vorzeitigen Wehen stationär über Nacht zur Überwachung einbehalten. Signifikante Gründe für eine stationäre Überwachung von Nicht-Bäuerinnen waren sonstige Erkrankungen.

Signifikant unterschieden sich auch die Anzahl der Geburten und die Anzahl der Schwangerschaften. Hierbei hatten Nicht-Bäuerinnen häufiger nur eine Geburt und Bäuerinnen

signifikant häufiger mehr als vier Geburten. Nicht-Bäuerinnen waren häufiger nur ein bis zweimal schwanger und Bäuerinnen mehr als drei- vier Mal.

Unter den Nicht-Bäuerinnen rauchten während den ersten zwei Lebenswochen des Kindes mehr Mütter, wobei sich der Zigarettenkonsum von anderen Personen innerhalb der Wohnung nicht unterschied.

### **4.3 Analyse der Zytokinwerte der Kinder**

#### **4.3.1 Deskription der Zytokinwerte der Studienpopulation**

Zur Deskription der Zytokinwerte wurden die Mediane und Interquartilen- Abstände der einzelnen Zytokine aller Kinder berechnet. In der Tabelle 4-2 werden die Zytokinwerte getrennt nach den einzelnen Stimulantien (P/I, LPS und SEB) und nach Bauern- und Nicht-Bauernkindern dargestellt.

Außer IL-5 der **Nicht-Bauernkinder** nach 48-stündiger LPS-Stimulation konnten alle Zytokine in den Überständen nachgewiesen werden. Insgesamt zeigte sich jedoch eine sehr unregelmäßig verteilte Anzahl der auswertbaren Zytokine mit einer hohen Anzahl an Konzentrationen mit 0 pg/ml. Diese Non-Responder wurden von Anfang an für die Berechnung des Medians ausgeschlossen.

**Tabelle 4-2:** Darstellung der Zytokinwerte der Studienpopulation nach Stimulation sortiert.

nicht-Bauern = 81						Bauern = 65					
	N	non re- spon- -der	Perzentile			N	non re- spon- -der	Perzentile			
			25.	50. (Median)	75.			25.	50. (Median)	75.	
<b>PI 24h</b>			25.	50. (Median)	75.	<b>PI 24h</b>			25.	50. (Median)	75.
IL-5	48	33	1,19	2,48	4,26	IL-5	24	41	1,46	2,40	4,52
IL-10	52	29	1,23	2,07	4,26	IL-10	25	40	1,06	2,09	3,46
IL-12	13	68	0,73	1,10	1,63	IL-12	9	56	1,31	1,71	2,36
IFN- $\gamma$	54	27	11,96	63,39	245,89	IFN- $\gamma$	40	25	32,66	104,05	265,34
TNF- $\alpha$	58	29	21,56	73,39	143,09	TNF- $\alpha$	43	22	16,43	37,43	91,87
<b>PI 48h</b>			25.	50. (Median)	75.	<b>PI 48h</b>			25.	50. (Median)	75.
IL-5	43	39	1,90	3,48	6,42	IL-5	36	29	1,44	3,13	4,85
IL-10	39	42	1,07	1,54	3,40	IL-10	22	43	1,03	1,82	3,44
IL-12	8	56	0,50	0,98	1,22	IL-12	4	61	0,40	0,93	1,33
IFN- $\gamma$	56	25	27,80	62,51	240,41	IFN- $\gamma$	42	23	48,34	142,52	413,09
TNF- $\alpha$	48	33	14,88	49,39	100,30	TNF- $\alpha$	43	22	12,20	36,65	112,94
<b>LPS 24h</b>			25.	50. (Median)	75.	<b>LPS 24h</b>			25.	50. (Median)	75.
IL-5	3	78	0,55	0,73	14,46	IL-5	2	79	0,47	1,46	1,73
IL-10	69	12	8,84	20,38	45,09	IL-10	50	15	10,42	19,78	33,68
IL-12	14	67	0,62	1,03	2,04	IL-12	3	62	1,20	3,84	4,51
IFN- $\gamma$	26	55	16,79	32,79	100,32	IFN- $\gamma$	16	49	4,28	17,01	40,47
TNF- $\alpha$	51	30	7,87	14,52	35,79	TNF- $\alpha$	41	24	4,08	10,20	36,58
<b>LPS 48h</b>			25.	50. (Median)	75.	<b>LPS 48h</b>			25.	50. (Median)	75.
IL-5	1	80				IL-5	2	63	0,70	1,09	0,93
IL-10	69	12	4,55	11,96	27,52	IL-10	49	14	5,61	11,45	29,32
IL-12	11	70	0,83	0,93	1,52	IL-12	3	62	0,44	0,79	1,28
IFN- $\gamma$	27	54	11,70	49,28	83,04	IFN- $\gamma$	20	45	6,53	17,91	120,45
TNF- $\alpha$	32	49	3,23	6,50	41,35	TNF- $\alpha$	27	38	2,94	10,08	36,34

nicht-Bauern = 81						Bauern = 65						
	N	non re-sponder		Perzentile			N	non re-sponder		Perzentile		
				25.	50. (Median)			75.			25.	50. (Median)
<b>SEB 24h</b>				25.	50. (Median)	75.	<b>SEB 24h</b>			25.	50. (Median)	75.
IL-5	5	76	0,56	1,20	4,98		IL-5	4	61	1,21	1,52	6,71
IL-10	48	33	1,41	4,84	9,84		IL-10	30	35	1,32	2,77	8,67
IL-12	10	71	0,65	1,02	2,55		IL-12	3	62	2,52	2,57	3,93
IFN- $\gamma$	36	45	5,59	17,15	52,70		IFN- $\gamma$	20	45	19,90	36,43	137,61
TNF- $\alpha$	19	62	3,79	7,50	21,41		TNF- $\alpha$	17	48	5,90	9,15	20,81
<b>SEB 48h</b>				25.	50. (Median)	75.	<b>SEB 48h</b>			25.	50. (Median)	75.
IL-5	15	66	0,81	1,28	1,89		IL-5	10	55	1,30	3,03	4,24
IL-10	52	29	1,23	4,31	10,49		IL-10	38	27	1,26	2,41	6,62
IL-12	10	71	0,70	1,18	1,81		IL-12	3	62	0,58	1,33	2,78
IFN- $\gamma$	46	35	17,65	58,00	150,32		IFN- $\gamma$	32	33	13,48	51,10	121,63
TNF- $\alpha$	21	60	3,92	8,66	59,84		TNF- $\alpha$	15	40	4,30	19,25	30,41

Darstellung der Zytokinwerte [pg/ml] nach Stimulation mit PI, LPS und SEB nach jeweils 24 und 48 stündiger Stimulationsdauer getrennt in Bauern- und Nicht- Bauern- Zytokine. Angegeben ist die Anzahl der auswertbaren Zytokine [N], der Median, die 25. und 75. Perzentile ohne den Wert 0.

Die Anzahl der auswertbaren Zytokine war für IL-5 insgesamt sehr klein. Die Konzentrationen der Mediane nach Stimulation mit P/I, LPS und SEB zeigten sowohl innerhalb einer Gruppe als auch im Vergleich Bauern- und Nicht-Bauernkinder nach 24- und 48- stündiger Stimulation keine deutlichen Unterschiede.

IL-10 nach LPS-Stimulation zeigte im Median sowohl bei Bauern- als auch bei Nicht-Bauernkinder deutlich höhere Werte als nach P/I oder SEB Stimulation. So waren zum Beispiel nach 24-stündiger LPS-Stimulation die Konzentration von IL-10 bei Bauernkindern (Median: 19,78pg/ml) und Nicht-Bauernkindern (Median: 20,38 pg/ml) annähernd gleich. Nach 48 Stunden sank die Konzentration von IL-10 der Bauernkinder und der Nicht-Bauernkinder um einen ähnlichen Wert ab.

Die Anzahl der auswertbaren Zytokine war auch für IL-12 insgesamt sehr klein. Zwischen Bauern- und Nicht-Bauernkinder zeigten sich keine deutlichen Unterschiede. Die höchste



Konzentration hatte IL-12 nach 24-stündiger LPS Stimulation bei Bauernkindern mit 3,84pg/ml.

Der Median der IFN- $\gamma$  Konzentration lag vor allem bei den Bauernkindern nach PI-Stimulation nach 24 Stunden mit 104,05 pg/ml sehr hoch. Nach 48 Stunden stieg dieser Wert auf 142,52 pg/ml. Nach 24-stündiger LPS-Stimulation zeigte der Median von IFN- $\gamma$  der Nicht-Bauernkinder (32,79 pg/ml) deutlich höhere Werte wie der Bauernkinder (17,01 pg/ml). Innerhalb der nächsten 24 Stunden vermehrte sich nur der Median der Nicht- Bauern, wobei der Median der Bauernkinder annähernd gleich blieb. Nach 24-stündiger Stimulation mit SEB lagen bei den IFN- $\gamma$  Werten der Bauernkinder deutlich höhere Werte vor. Auffällig war die Verdreifachung der IFN- $\gamma$  Konzentration der Nicht-Bauernkinder nach 48-stündiger SEB Stimulation.

Der Median von TNF- $\alpha$  der Nicht-Bauern zeigte mit 73,39 pg/ml nach 24-stündiger PI-Stimulation den höchsten Wert. Dieser sank aber nach weiteren 24 Stunden auf 49,39 pg/ml ab. Nach LPS Stimulation waren die TNF- $\alpha$  Werte sowohl bei Bauern- als auch bei Nicht-Bauernkindern nach 24 und 48-stündiger Stimulation annähernd gleich. Im Vergleich zu den Nicht-Bauernkindern war der Median der TNF- $\alpha$  Konzentration nach SEB Stimulation bei Bauern hingegen nach 48 Stunden doppelt so hoch.

Aufgrund dieser Verteilung der Zytokinkonzentration erfolgte für die weitere Berechnung zunächst eine Einteilung in folgende drei Kategorien:

Kat 0: Null-Werte

Kat 1: positive Werte kleiner oder gleich dem jeweiligen Median

Kat 2: Positive Werte über dem jeweiligen Median

### **4.3.2 Vergleich der Zytokinkategorien der Kinder in Abhängigkeit von postnatalen Erkrankungen**

#### **4.3.2.1 Darstellung der drei Zytokinkategorien (Kat. 0, 1, 2)**

Im nächsten Schritt wurden die drei Zytokinkategorien (Kat 0: Null-Werte; Kat 1: Positive Werte  $\leq$  Median; Kat 2: Positive Werte  $>$  Median) nach Nicht-Bauernkinder und Bauernkinder unterteilt und deren Zusammenhang zu postnatalen Erkrankungen untersucht. In Tabelle 4-3 und Tabelle 4-4 sind lediglich die signifikanten bzw. grenzwertig signifikanten Ergebnisse dargestellt.

**Tabelle 4-3:** Darstellung der signifikanten Zytokinkategorien (0, 1, 2) der Nicht-Bauernkinder in Abhängigkeit von postnatalen Erkrankungen.

Diagnose		ja	nein	Gesamt	P-Wert	Mantel-Haenszel-Test	
<b>Schnupfen</b>							
<b>IL5 (PI48h)</b>	0	N	<b>14</b>	<b>21</b>	<b>35</b>	<b>0,039</b>	1
		%	40	60	100		
	1	N	<b>2</b>	<b>17</b>	<b>19</b>		
		%	11	89	100		
	2	N	<b>10</b>	<b>12</b>	<b>22</b>		
		%	45	55	100		
Gesamt		N	<b>26</b>	<b>50</b>	<b>76</b>		
		%	34	66	100		
<b>IL12 (PI24h)</b>							
	0	N	<b>26</b>	<b>38</b>	<b>64</b>	<b>0,064*</b>	0,054
		%	41	59	100		
	1	N	<b>0</b>	<b>6</b>	<b>6</b>		
		%	0	100	100		
	2	N	<b>1</b>	<b>6</b>	<b>7</b>		
		%	14	86	100		
Gesamt		N	<b>27</b>	<b>50</b>	<b>77</b>		
		%	35	65	100		
<b>Erstmanifestation eines Exanthems in Tagen</b>							
<b>IL10 (PI24h)</b>			<b>1.-2. Tag</b>	<b>3.-5. Tag</b>	<b>Gesamt</b>	<b>0,039*</b>	0,029
	0	N	<b>1</b>	<b>16</b>	<b>17</b>		
		%	6	94	100		
	1	N	<b>1</b>	<b>19</b>	<b>20</b>		
		%	5	95	100		
	2	N	<b>6</b>	<b>12</b>	<b>18</b>		
	%	33	67	100			
Gesamt		N	<b>8</b>	<b>47</b>	<b>55</b>		
		%	15	85	100		
<b>IL10 (SEB24h)</b>							
	0	N	<b>0</b>	<b>18</b>	<b>18</b>	<b>0,032*</b>	0,264
		%	0	100	100		
	1	N	<b>5</b>	<b>11</b>	<b>16</b>		
		%	31	69	100		
	2	N	<b>3</b>	<b>17</b>	<b>20</b>		
		%	15	85	100		
Gesamt		N	<b>8</b>	<b>46</b>	<b>54</b>		
		%	15	85	100		

Diagnose				Gesamt	P-Wert	Mantel-Haenszel-Test	
	ja	nein					
<b>Bindehaut- und Tränenkanalentzündung</b>							
IL5 (PI48h)	0	N	<b>8</b>	<b>27</b>	<b>35</b>	<b>0,021*</b>	0,209
		%	23	77	100		
	1	N	<b>1</b>	<b>19</b>	<b>20</b>		
	%	5	95	100			
	2	N	<b>9</b>	<b>13</b>	<b>22</b>		
	%	41	59	100			
Gesamt		N	<b>18</b>	<b>59</b>	<b>77</b>		
		%	23	77	100		
IL10 (SEB24h)	0	N	<b>3</b>	<b>23</b>	<b>26</b>	<b>0,041</b>	0,02
		%	12	88	100		
	1	N	<b>5</b>	<b>19</b>	<b>24</b>		
	%	21	79	100			
	2	N	<b>10</b>	<b>14</b>	<b>24</b>		
	%	42	58	100			
Gesamt		N	<b>18</b>	<b>56</b>	<b>74</b>		
		%	24	76	100		

\* exakter Test nach Fisher, da erwartete Häufigkeit unter 5.

ab der zweiten Lebenswoche

Darstellung der Zytokinkategorien der Nicht- Bauernkinder: Kat 0: Null-Werte; Kat 1: Positive Werte  $\leq$  Median; Kat 2: Positive Werte  $>$  Median.

Angegeben sind die Anzahl der gemessenen Zytokine [N] und der Prozentsatz [%]. Die Berechnung des Zusammenhangs zwischen erkrankten und gesunden Kindern erfolgte mit Hilfe des Chi<sup>2</sup>-Tests, als Signifikanzniveau wurde  $p \leq 0,05$  gewählt.

(signifikante bzw. grenzwertig signifikante Ergebnisse dargestellt).

**Tabelle 4-4:** Darstellung der signifikanten Zytokinkategorien (Kat 0, 1, 2) der Bauernkinder in Abhängigkeit von postnatalen Erkrankungen.

Diagnose	Zyt. Kat	[N] [%]				P-Wert Chi <sup>2</sup> -Test	Mantel-Haenzsle-Test
			ja	nein	Gesamt		
<b>Schnupfen</b>							
IL10 (LPS24h)	0	N	4	0	4	0,035*	0,688
		%	100	0	100		
	1	N	9	17	26		
		%	35	65	100		
	2	N	13	12	25		
		%	52	48	100		
Gesamt		N	26	29	55		
		%	47	53	100		
<b>Husten</b>							
IL5 (SEB48h)	0	N	8	44	52	0,070*	0,849
		%	15	85	100		
	1	N	3	2	5		
		%	60	40	100		
	2	N	0	5	5		
		%	0	100	100		
Gesamt		N	11	51	62		
		%	18	82	100		
IFN (LPS24h)	0	N	5	41	46	0,042*	0,026
		%	11	89	100		
	1	N	3	5	8		
		%	38	63	100		
	2	N	3	5	8		
		%	38	63	100		
Gesamt		N	11	51	62		
		%	18	82	100		
<b>Husten ohne Schnupfen ohne Fieber</b>							
IFN (LPS24h)	0	N	4	1	41	0,004*	0,029
		%	9	2	89		
	1	N	0	3	5		
		%	0	38	63		
	2	N	3	0	5		
		%	38	0	63		
Gesamt		N	7	4	51		
		%	11	6	82		

Diagnose	Zyt. Kat	[N] [%]					P-Wert Chi²- Test	Mantel- Haenzle- Test	
<b>Husten ohne Schnupfen</b>									
<b>ohne Fieber</b>			<b>kein mal</b>	<b>ein mal</b>	<b>nicht def.</b>	<b>Gesamt</b>			
IFN (LPS48h)	0	N	4	1	37	42	0,016*	0,111	
		%	10	2	88	100			
	1	N	0	3	7	10			
		%	0	30	70	100			
	2	N	3	0	7	10			
		%	30	0	70	100			
Gesamt		N	7	4	51	62			
		%	11	6	82	100			
<b>Husten mit Schnupfen</b>									
<b>und/ oder Fieber</b>			<b>kein mal</b>	<b>ein mal</b>	<b>2-4 mal</b>	<b>nicht def.</b>	<b>Gesamt</b>		
IFN (LPS24h)	0	N	1	3	1	41	0,005*	0,025	
		%	2	7	2	89			100
	1	N	3	0	0	5			8
		%	38	0	0	62,5			100
	2	N	0	3	0	5			8
		%	0	38	0	62,5			100
Gesamt		N	4	6	1	51	62		
		%	6	10	2	82	100		
IFN (LPS48h)	0	N	1	3	1	37	0,021*	0,102	
		%	2	7	2	88			100
	1	N	3	0	0	7			10
		%	30	0	0	70			100
	2	N	0	3	0	7			10
		%	0	30	0	70			100
Gesamt		N	4	6	1	51	62		
		%	6	10	2	82	100		
TNF (SEB24h)	0	N	2	4	0	38	0,073*	0,435	
		%	5	9	0	86			100
	1	N	2	0	1	6			9
		%	22	0	11	67			100
	2	N	0	2	0	7			9
		%	0	22	0	78			100
Gesamt		N	4	6	1	51	62		
		%	6	10	2	82	100		

Diagnose	Zyt. Kat	[N] [%]					P-Wert Chi <sup>2</sup> - Test	Mantel- Haenzle- Test
<b>Neugeborenenexanthem</b>			<b>ja</b>	<b>nein</b>	<b>weiss nicht</b>	<b>Gesamt</b>		
<b>IL5 (PI24h)</b>	0	N	<b>19</b>	<b>16</b>	<b>3</b>	<b>38</b>	0,069*	0,07
		%	50	42	8	100		
	1	N	<b>12</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>13</b>		
		%	92	8	0	100		
	2	N	<b>9</b>	<b>3</b>	<b>0</b>	<b>12</b>		
		%	75	25	0	100		
Gesamt		N	<b>40</b>	<b>20</b>	<b>3</b>	<b>63</b>		
		%	63	32	5	100		
<b>IL10 (SEB24h)</b>	0	N	<b>14</b>	<b>9</b>	<b>2</b>	<b>25</b>	0,005	0,1
		%	56	36	8	100		
	1	N	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>1</b>	<b>15</b>		
		%	47	47	7	100		
	2	N	<b>15</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>15</b>		
		%	100	0	0	100		
Gesamt		N	<b>36</b>	<b>16</b>	<b>3</b>	<b>55</b>		
		%	65	29	5	100		
<b>IL10 (PI48h)</b>	0	N	<b>16</b>	<b>16</b>	<b>1</b>	<b>33</b>	0,001*	0,513
		%	48	48	3	100		
	1	N	<b>10</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>11</b>		
		%	91	9	0	100		
	2	N	<b>9</b>	<b>0</b>	<b>2</b>	<b>11</b>		
		%	82	0	18	100		
Gesamt		N	<b>35</b>	<b>17</b>	<b>3</b>	<b>55</b>		
		%	64	31	5	100		
<b>IFN (PI48h)</b>	0	N	<b>6</b>	<b>12</b>	<b>1</b>	<b>19</b>	0,007*	0,302
		%	32	63	5	100		
	1	N	<b>16</b>	<b>4</b>	<b>1</b>	<b>21</b>		
		%	76	19	5	100		
	2	N	<b>17</b>	<b>4</b>	<b>1</b>	<b>22</b>		
		%	77	18	5	100		
Gesamt		N	<b>39</b>	<b>20</b>	<b>3</b>	<b>62</b>		
		%	63	32	5	100		

Diagnose	Zyt. Kat	[N] [%]					P-Wert Chi <sup>2</sup> - Test	Mantel- Haenzsle- Test
<b>Neugeborenenexanthem</b>			<b>ja</b>	<b>nein</b>	<b>weiss nicht</b>	<b>Gesamt</b>		
<b>TNF (PI48h)</b>	0	<b>N</b>	<b>7</b>	<b>11</b>	<b>0</b>	<b>18</b>	0,012*	0,506
		<b>%</b>	39	61	0	100		
	1	<b>N</b>	<b>18</b>	<b>3</b>	<b>1</b>	<b>22</b>		
		<b>%</b>	82	14	5	100		
	2	<b>N</b>	<b>14</b>	<b>6</b>	<b>2</b>	<b>22</b>		
		<b>%</b>	64	27	9	100		
<b>Gesamt</b>		<b>N</b>	<b>39</b>	<b>20</b>	<b>3</b>	<b>62</b>		
		<b>%</b>	63	32	5	100		
<b>Erstmanifestation eines Exanths in Wochen</b>			<b>1.-2. Woche</b>	<b>3.-5. Woche</b>	<b>Gesamt</b>			
<b>IL10 (SEB24h)</b>	0	<b>N</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>14</b>	0,042*	0,8	
		<b>%</b>	50	50	100			
	1	<b>N</b>	<b>0</b>	<b>7</b>	<b>7</b>			
		<b>%</b>	0	100	100			
	2	<b>N</b>	<b>3</b>	<b>12</b>	<b>15</b>			
		<b>%</b>	20	80	100			
<b>Gesamt</b>		<b>N</b>	<b>10</b>	<b>26</b>	<b>36</b>			
		<b>%</b>	28	72	100			
<b>Exanthem ist verschwunden</b>			<b>Ausschlag völlig verschwun- den</b>	<b>Ausschlag kommt und geht</b>	<b>Ausschlag ist noch da</b>	<b>Gesamt</b>		
<b>IL5 (PI48h)</b>	0	<b>N</b>	<b>9</b>	<b>4</b>	<b>0</b>	<b>13</b>	0,014*	0,015
		<b>%</b>	69	31	0	100		
	1	<b>N</b>	<b>6</b>	<b>4</b>	<b>0</b>	<b>10</b>		
		<b>%</b>	60	40	0	100		
	2	<b>N</b>	<b>7</b>	<b>2</b>	<b>7</b>	<b>16</b>		
		<b>%</b>	44	13	44	100		
<b>Gesamt</b>		<b>N</b>	<b>22</b>	<b>10</b>	<b>7</b>	<b>39</b>		
		<b>%</b>	56	26	18	100		
<b>TNF (LPS48h)</b>	0	<b>N</b>	<b>13</b>	<b>6</b>	<b>0</b>	<b>19</b>	0,009*	0,065
		<b>%</b>	68	32	0	100		
	1	<b>N</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>5</b>	<b>11</b>		
		<b>%</b>	27	27	45	100		
	2	<b>N</b>	<b>5</b>	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>9</b>		
		<b>%</b>	56	11	33	100		
<b>Gesamt</b>		<b>N</b>	<b>21</b>	<b>10</b>	<b>8</b>	<b>39</b>		
		<b>%</b>	54	26	21	100		

<b>Diagnose</b>	<b>Zyt. Kat</b>	<b>[N] [%]</b>				<b>P- Wert Chi<sup>2</sup>- Test</b>	<b>Mantel- Haenzle- Test</b>
<b>bereits</b>							
<b>Neurodermitis/atopische</b>							
<b>Dermatitis gehabt</b>							
			<b>ja</b>	<b>nein</b>	<b>Gesamt</b>		
<b>TNF (LPS24h)</b>	0	<b>N</b>	<b>20</b>	<b>0</b>	<b>20</b>	0,060*	0,945
		<b>%</b>	100	0	100		
	1	<b>N</b>	<b>17</b>	<b>3</b>	<b>20</b>		
		<b>%</b>	85	15	100		
	2	<b>N</b>	<b>22</b>	<b>0</b>	<b>22</b>		
		<b>%</b>	100	0	100		
<b>Gesamt</b>		<b>N</b>	<b>59</b>	<b>3</b>	<b>62</b>		
		<b>%</b>	95	5	100		
<b>Hautausschlag innerhalb</b>							
<b>der</b>							
<b>ersten Lebenswochen</b>							
<b>IL5 (LPS24h)</b>	0	<b>N</b>	<b>9</b>	<b>52</b>	<b>61</b>	0,028*	0,03
		<b>%</b>	15	85	100		
	1	<b>N</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>1</b>		
		<b>%</b>	100	0	100		
	2	<b>N</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>1</b>		
		<b>%</b>	100	0	100		
<b>Gesamt</b>		<b>N</b>	<b>11</b>	<b>52</b>	<b>63</b>		
		<b>%</b>	17	83	100		
<b>IL10 (PI48h)</b>	0	<b>N</b>	<b>2</b>	<b>31</b>	<b>33</b>	0,014*	0,03
		<b>%</b>	6	94	100		
	1	<b>N</b>	<b>1</b>	<b>10</b>	<b>11</b>		
		<b>%</b>	9	91	100		
	2	<b>N</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>11</b>		
		<b>%</b>	45	55	100		
<b>Gesamt</b>		<b>N</b>	<b>8</b>	<b>47</b>	<b>55</b>		
		<b>%</b>	15	85	100		
<b>Hautausschlag am</b>							
<b>Windelbereich</b>							
			<b>ja</b>	<b>nein</b>	<b>Gesamt</b>	<b>P-Wert</b>	<b>Trend</b>
<b>IL5 (LPS24h)</b>	0	<b>N</b>	<b>13</b>	<b>48</b>	<b>61</b>	0,054*	0,016
		<b>%</b>	21	79	100		
	1	<b>N</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>1</b>		
		<b>%</b>	100	0	100		
	2	<b>N</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>1</b>		
		<b>%</b>	100	0	100		
<b>Gesamt</b>		<b>N</b>	<b>15</b>	<b>48</b>	<b>63</b>		
		<b>%</b>	24	76	100		



Diagnose	Zyt. Kat	[N] [%]	ja	nein	Gesamt	P- Wert Chi <sup>2</sup> - Test	Mantel- Haenzsle- Test
<b>Hautausschlag am Windelbereich</b>							
IL5 (SEB48h)	0	N	10	42	52	0,07*	0,13
		%	19	81	100		
	1	N	0	5	5		
		%	0	100	100		
	2	N	3	2	5		
		%	60	40	100		
Gesamt		N	13	49	62		
		%	21	79	100		
IL10 (SEB24h)	0	N	3	22	25	0,06*	0,02
		%	12	88	100		
	1	N	3	12	15		
		%	20	80	100		
	2	N	7	8	15		
		%	47	53	100		
Gesamt		N	13	42	55		
		%	24	76	100		
IL10 (SEB48h)	0	N	1	16	17	0,06*	0,02
		%	6	94	100		
	1	N	3	16	19		
		%	16	84	100		
	2	N	7	12	19		
		%	37	63	100		
Gesamt		N	11	44	55		
		%	20	80	100		
IL12 (LPS24h)	0	N	13	47	60	0,05*	0,03
		%	22	78	100		
	1	N	0	1	1		
		%	0	100	100		
	2	N	2	0	2		
		%	100	0	100		
Gesamt		N	15	48	63		
		%	24	76	100		

<b>Diagnose</b>	<b>Zyt. Kat</b>	<b>[N] [%]</b>	<b>ja</b>	<b>nein</b>	<b>Gesamt</b>	<b>P- Wert Chi<sup>2</sup>- Test</b>	<b>Mantel- Haenzle- Test</b>
<b>Brustdrüenschwellung</b>							
<b>IFN (LPS24h)</b>	0	N	4	42	46	0,051*	0,022
		%	9	91	100		
	1	N	2	6	8		
		%	25	75	100		
	2	N	3	5	8		
		%	38	63	100		
<b>Gesamt</b>		N	9	53	62		
		%	15	85	100		
<b>Bindehaut- und Tränenkanalentzündung</b>							
<b>IL5 (PI48h)</b>	0	N	2	23	25	0,025*	0,191
		%	8	92	100		
	1	N	8	11	19		
		%	42	58	100		
	2	N	4	14	18		
		%	22	78	100		
<b>Gesamt</b>		N	14	48	62		
		%	23	77	100		
<b>IL12 (SEB48h)</b>	0	N	13	45	58	0,057*	0,328
		%	22	78	100		
	1	N	2	0	2		
		%	100	0	100		
	2	N	0	1	1		
		%	0	100	100		
<b>Gesamt</b>		N	15	46	61		
		%	25	75	100		

Diagnose	Zyt. Kat	[N] [%]				P-Wert Chi <sup>2</sup> - Test	Mantel Haenzsle- Test
			ja	nein	Gesamt		
<b>Ikterus</b>							
IL10 (LPS24h)	0	N	0	4	4	0,061*	0,018
		%	0	100	100		
	1	N	6	20	26		
		%	23	77	100		
	2	N	12	13	25		
		%	48	52	100		
Gesamt		N	18	37	55		
		%	33	67	100		
<b>TNF (SEB48h)</b>							
TNF (SEB48h)	0	N	9	37	46	0,036*	0,03
		%	20	80	100		
	1	N	4	4	8		
		%	50	50	100		
	2	N	4	4	8		
		%	50	50	100		
Gesamt		N	17	45	62		
		%	27	73	100		
<b>sonst. fieberhafte Infekte</b>							
IL5 (LPS24h)	0	N	1	60	61	0,063*	0
		%	2	98	100		
	1	N	0	1	1		
		%	0	100	100		
	2	N	1	0	1		
		%	100	0	100		
Gesamt		N	2	61	63		
		%	3	97	100		
<b>Durchfall über mehrere Tage</b>							
IL10 (LPS24h)	0	N	1	3	4	0,07*	0,38
		%	25	75	100		
	1	N	0	26	26		
		%	0	100	100		
	2	N	1	24	25		
		%	4	96	100		
Gesamt		N	2	53	55		
		%	4	96	100		

Diagnose	Zyt. Kat	[N] [%]	ja	nein	Gesamt	P- Wert Chi <sup>2</sup> - Test	Mantel- Haenzsle- Test
<b>Bindehaut- und Tränenkanalenzündung</b>							
<b>IL5 (PI48h)</b>	0	N	<b>2</b>	<b>23</b>	<b>25</b>	0,02*	0,02
		%	8	92	100		
	1	N	<b>7</b>	<b>12</b>	<b>19</b>		
		%	37	63	100		
	2	N	<b>7</b>	<b>11</b>	<b>18</b>		
		%	39	61	100		
Gesamt		N	<b>16</b>	<b>46</b>	<b>62</b>		
		%	26	74	100		
<b>IL5 (LPS48h)</b>	0	N	<b>15</b>	<b>45</b>	<b>60</b>	0,07*	0,03
		%	25	75	100		
	1	N	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>1</b>		
		%	100	0	100		
	2	N	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>1</b>		
		%	100	0	100		
Gesamt		N	<b>17</b>	<b>45</b>	<b>62</b>		
		%	27	73	100		
<b>TNF (SEB24h)</b>	0	N	<b>7</b>	<b>37</b>	<b>44</b>	0,01*	0,05
		%	16	84	100		
	1	N	<b>6</b>	<b>3</b>	<b>9</b>		
		%	67	33	100		
	2	N	<b>3</b>	<b>6</b>	<b>9</b>		
		%	33	67	100		
Gesamt		N	<b>16</b>	<b>46</b>	<b>62</b>		
		%	26	74	100		

Diagnose	Zyt. Kat	[N] [%]				P-Wert Chi <sup>2</sup> - Test	Mantel Haenzsle- Test
			ja	nein	Gesamt		
<b>Sonstige Erkrankungen</b>							
IL10 (SEB24h)	0	N	0	25	25	0,05*	0,29
		%	0	100	100		
	1	N	3	12	15		
		%	20	80	100		
	2	N	1	14	15		
	%	7	93	100			
		N	4	51	55		
Gesamt		%	7	93	100		

\* exakter Test nach Fisher, da erwartete Häufigkeit unter 5.

ab der zweiten Lebenswoche

Darstellung der Zytokinkategorien der Bauernkinder: Kat 0: Null-Werte; Kat 1: Positive Werte  $\leq$  Median; Kat 2: Positive Werte  $>$  Median.

Angegeben sind die Anzahl der gemessenen Zytokine [N] und der Prozentsatz [%]. Die Berechnung des Zusammenhangs zwischen erkrankten und gesunden Bauernkindern erfolgte mit Hilfe des Chi<sup>2</sup>-Tests, als Signifikanzniveau wurde  $p \leq 0,05$  gewählt. (signifikante bzw. grenzwertig signifikante Ergebnisse dargestellt).

Bei der Betrachtung der **Nicht-Bauernkinder** fanden sich für folgende Krankheiten signifikante Zusammenhänge:

- Schnupfen
- Erstmanifestation eines Exanthems (zwischen dem dritten bis fünften Lebenstag)
- Binde- und Tränenkanalentzündung ab der zweiten Lebenswoche

Bei IL-5 und IL-12 Werten oberhalb des Median erkrankten vor allem viele Nicht-Bauernkinder an Schnupfen. Nicht-Bauernkinder erkrankten zwischen dem dritten bis fünften Lebenstag häufiger an einem Exanthem als in den ersten beiden Lebenstagen. Einen signifikanten Zusammenhang zeigte sich für IL-10 Konzentrationen mit der Erstmanifestation eines Exanthems zwischen dem dritten bis fünften Lebenstag nach PI Stimulierung (24h) häufiger mit Werten unterhalb des Median, nach SEB Stimulierung (24h) vermehrt mit Werten oberhalb des Median.

An Bindehaut- und Tränenkanalentzündung erkrankten Nicht-Bauernkinder signifikant häufiger bei IL-5 und IL-10 Werten größer dem Median.

Wie in Tabelle 4-4 aufgezeigt hatten **Bauernkinder** im Vergleich zu Nicht-Bauernkindern weitaus mehr signifikante Zusammenhänge zwischen Zytokinsekretionsmuster und postnatalen Erkrankungen. Zur besseren Übersicht wurden die Erkrankungen in Atemwegs-, Haut- und sonstige Erkrankungen eingeteilt. Zu folgende Krankheiten konnte ein signifikanter Zusammenhang berechnet werden:

#### Atemwegserkrankungen

- Schnupfen
- Husten
- Husten ohne Schnupfen ohne Fieber
- Husten mit Schnupfen und/oder Fieber

#### Hauterkrankungen

- Neugeborenenexanthem
- Erstmanifestation eines Exanths (Wochen)
- Exanthem verschwunden
- Bereits Neurodermitis/ atopische Dermatitis gehabt
- Hautausschlag innerhalb der ersten Lebenswochen
- Hautausschlag am Windelbereich

#### sonstige Erkrankungen

- Brustdrüenschwellung
- Binde- und Tränenkanalenzündung in den ersten Lebenswochen
- Ikterus
- Sonstige fieberhafte Infekte
- Durchfall über mehrere Tage ab der zweiten Lebenswoche
- Binde- und Tränenkanalenzündung ab der zweiten Lebenswoche
- Sonstige Erkrankungen

Je höher die Sekretion von IL-10 war, desto mehr Kinder erkrankten an Schnupfen. IL-10 Werte unterhalb des Median führten zu weniger Kinder mit Schnupfen. Bauernkinder erkrankten signifikant häufiger an Husten, wenn IL-5 unter dem Median lag. Bei IFN- $\gamma$  war der Unterschied nicht sehr deutlich. Kinder mit einmal Husten ohne Schnupfen und ohne Fieber zeigten häufiger IFN- $\gamma$  Werte unter dem Median. Erkrankten Kinder einmal an Husten mit

Schnupfen und/ oder Fieber lagen die Werte von IFN- $\gamma$  und TNF- $\alpha$  signifikant häufiger über dem Median.

Bei einer positiven Diagnose für ein Neugeborenenexanthem zeigten IL-5 und TNF- $\alpha$  signifikant häufiger Werte unter, hingegen IL-10 und IFN- $\gamma$  häufiger über dem Median. An einem Exanthem erkrankten bei IL-10 Werten kleiner dem Median, signifikant mehr Kinder in der dritten bis fünften Woche. Das Exanthem verschwand vollständig bei IL-5 Werten kleiner dem Median und TNF- $\alpha$  Werten über dem Median. Mit TNF- $\alpha$  Werten sowohl unter als auch über dem Median, hatten signifikant weniger Bauernkinder bereits eine Neurodermitis oder eine atopische Dermatitis gehabt. Bei IL-5 Werten sowohl unter als auch über dem Median erkrankten signifikant mehr Bauernkinder an Hautausschlag innerhalb der ersten Lebenswochen. Bei IL-10 Werten kleiner dem Median fanden sich signifikant mehr Bauernkinder, die nicht in der ersten Lebenswoche an Hautausschlag litten. Kinder, die eine positive Diagnose für Hautausschlag aufwiesen, zeigten häufiger IL-10 Werte über dem Median. Bauernkinder litten signifikant weniger an Hautausschlag am Windelbereich mit IL-5 (SEB48h), IL-10 und IFN- $\gamma$  Werten kleiner dem Median waren. Bei IL-12 und TNF- $\alpha$  Werten über dem Median hatten sie häufiger einen Hautausschlag am Windelbereich.

Bauernkinder mit Brustdrüsenschwellung zeigten signifikant häufiger IFN- $\gamma$  Werte größer dem Median. Bauernkindern litten häufiger an Binde- und Tränenkanalentzündung innerhalb der ersten Lebenswochen, wenn IL-5 und IL-12 Werte unterhalb des Median zeigte.

IL-10 Werte kleiner dem Median führten zu signifikant mehr Bauernkinder ohne Ikterus innerhalb der ersten Lebenswochen. Bei TNF- $\alpha$  Werten von null erkrankten signifikant weniger Bauernkinder an einem Ikterus. Mit IL-5 Werten über dem Median erkrankten signifikant mehr Bauernkinder an einem fieberhaften Infekt, bei IL-5 Werten kleiner dem Median signifikant weniger.

Bei IL-10 Werten sowohl unter als auch über dem Median gab es ab der zweiten Lebenswoche signifikant weniger Kinder mit Durchfall über mehrere Tage hinweg. Bei Bauernkindern führte IL5 nach PI- Stimulation zu signifikant weniger Bindehaut- und Tränenkanalentzündung mit Null- als auch positiven Werten. Nach SEB- Stimulation führten positive IL-5 Werte sowohl unter als auch über dem Median zur positiven Diagnose einer Bindehaut- und Tränenkanalentzündung.

Ab der zweiten Lebenswoche führten TNF- $\alpha$  Werte kleiner dem Median bei Bauernkindern vermehrt zu Binde- und Tränenkanalentzündung. IL-10 Werte kleiner und größer dem Median zeigten signifikant weniger Bauernkinder mit sonstigen Erkrankungen.

#### 4.3.2.2 Darstellung der zwei Zytokinkategorien ( Kat. 0,1)

Für die Erstellung einer logistischen Regressionsanalyse war es nötig, die Zytokinkonzentration in eine dichotome Variable umzuwandeln. Hierfür wurden die Kategorien 1 und 2 zusammengefasst und folgende Einteilung gewählt:

Kat 0: Null-Werte

Kat 1: Positive Werte

Für die Berechnung der logistischen Regressionsanalyse wurden lediglich Ergebnisse verwendet, bei denen ein P-Wert  $\leq 0,069$  vorlag. In Tabelle 4-5 und 4-6 werden lediglich die signifikanten bzw. grenzwertig signifikanten Ergebnisse zwischen den zwei Zytokinkategorien (Kat. 0: Null- Werte; Kat. 1: Positive Werte) und den postnatalen Erkrankungen der Kinder dargestellt.

Bei der Betrachtung der **Nicht-Bauernkinder** sieht man wie in Tabelle 4-5 aufgezeigt signifikante Zusammenhänge zu folgenden Erkrankungen:

Atemwegserkrankungen

- Schnupfen
- Häufigkeit Schnupfen
- Pfeifende und keuchende Atemgeräusche

Hauterkrankungen

- Neugeborenenexanthem
- Erstmanifestation eines Exanthems in Tagen
- Erstmanifestation eines Exanthems in Wochen

Sonstige Erkrankungen

- Brustdrüsenanschwellung
- Bindehaut- und Tränenkanalentzündung
- Sonstige Erkrankungen



**Tabelle 4-5**: Darstellung der signifikanten bzw. grenzwertig signifikanten Zytokinkategorien (Kat 0, 1) der Nicht- Bauernkinder in Abhängigkeit von postnatalen Erkrankungen.

Diagnose	Zyt. Kat.	[N] [%]				P-Wert Chi <sup>2</sup> - Test	
<b>Schnupfen</b>			<b>ja</b>	<b>nein</b>	<b>Gesamt</b>		
	0	N	<b>26</b>	38	<b>64</b>	0,027*	
<b>IL12 (PI24h)</b>		%	41	59	100		
	1	N	<b>1</b>	12	<b>13</b>		
		%	8	92	100		
Gesamt		N	<b>27</b>	50	<b>77</b>		
		%	35	65	100		
<b>Häufigkeit Schnupfen</b>			<b>1 mal</b>	<b>2 mal</b>	<b>3-6 mal</b>	<b>Gesamt</b>	0,026*
	0	N	<b>14</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>14</b>	
<b>TNF (LPS48h)</b>		%	100	0	0	100	
	1	N	<b>7</b>	<b>3</b>	<b>1</b>	<b>11</b>	
		%	64	27	9	100	
Gesamt		N	<b>21</b>	<b>3</b>	<b>1</b>	<b>25</b>	
		%	84	12	4	100	
<b>pfeifende keuchende Atemgeräusche</b>							
	0	N	<b>1</b>	48	<b>49</b>	0,046*	
<b>IFN (LPS24h)</b>		%	2	98	100		
	1	N	<b>4</b>	22	<b>26</b>		
		%	15	85	100		
Gesamt		N	<b>5</b>	70	<b>75</b>		
		%	7	93	100		
<b>Neugeborenen-exanthem</b>			<b>ja</b>	<b>nein</b>	<b>weiss nicht</b>	<b>Gesamt</b>	
	0	N	<b>45</b>	8	<b>1</b>	<b>54</b>	0,024*
<b>TNF (SEB48h)</b>		%	83	15	2	100	
	1	N	<b>11</b>	9	<b>0</b>	<b>20</b>	
		%	55	45	0	100	
Gesamt		N	<b>56</b>	17	<b>1</b>	<b>74</b>	
		%	76	23	1	100	

Diagnose	Zyt. Kat.	[N] [%]				P- Wert Chi <sup>2</sup> - Test
<b>Erstmanifestation eines Exanths in Tagen</b>						
			<b>1.-2. Tag</b>	<b>3.-5. Tag</b>	<b>Gesamt</b>	
<b>IL10 (SEB24h)</b>	0	N	<b>0</b>	<b>18</b>	<b>18</b>	0,041*
		%	0	100	100	
	1	N	<b>8</b>	<b>28</b>	<b>36</b>	
		%	22	78	100	
Gesamt		N	<b>8</b>	<b>46</b>	<b>54</b>	
		%	15	85	100	
<b>Erstmanifestation eines Exanths in Tagen</b>						
			<b>1.-2. Tag</b>	<b>3.-5. Tag</b>	<b>Gesamt</b>	
<b>TNF (LPS48h)</b>	0	N	<b>7</b>	<b>26</b>	<b>33</b>	0,017*
		%	21	79	100	
	1	N	<b>0</b>	<b>24</b>	<b>24</b>	
		%	0	100	100	
Gesamt		N	<b>7</b>	<b>50</b>	<b>57</b>	
		%	12	88	100	
<b>Erstmanifestation eines Exanths in Wochen</b>						
			<b>1.-2. Woche</b>	<b>3.-5. Woche</b>	<b>Gesamt</b>	
<b>IFN (PI24h)</b>	0	N	<b>5</b>	<b>8</b>	<b>13</b>	0,028*
		%	38	62	100	
	1	N	<b>4</b>	<b>37</b>	<b>41</b>	
		%	10	90	100	
Gesamt		N	<b>9</b>	<b>45</b>	<b>54</b>	
		%	17	83	100	
<b>Brustdrüenschwellung</b>						
<b>IFN (LPS48h)</b>	0	N	<b>7</b>	<b>40</b>	<b>47</b>	0,043*
		%	15	85	100	
	1	N	<b>0</b>	<b>27</b>	<b>27</b>	
		%	0	100	100	
Gesamt		N	<b>7</b>	<b>67</b>	<b>74</b>	
		%	9	91	100	

<b>Diagnose</b>	<b>Zyt. Kat.</b>	<b>[N] [%]</b>				<b>P-Wert Chi<sup>2</sup>- Test</b>
<b>Bindehaut- und Tränenkanal-</b>						
<b>TNF (LPS48h)</b>	0	N	<b>10</b>	34	<b>44</b>	0,022*
		%	23	77	100	
	1	N	<b>1</b>	30	<b>31</b>	
		%	3	97	100	
Gesamt		N	<b>11</b>	64	<b>75</b>	
		%	15	85	100	
<b>TNF (SEB48h)</b>						
	0	N	<b>12</b>	42	<b>54</b>	0,029*
		%	22	78	100	
	1	N	<b>0</b>	20	<b>20</b>	
		%	0	100	100	
Gesamt		N	<b>12</b>	62	<b>74</b>	
		%	16	84	100	
<b>Sonstige Erkrankungen</b>						
			<b>ja</b>	<b>nein</b>	<b>Gesamt</b>	0,042*
<b>TNF (SEB48h)</b>	0	N	<b>2</b>	52	<b>54</b>	
		%	4	96	100	
	1	N	<b>4</b>	16	<b>20</b>	
		%	20	80	100	
Gesamt		N	<b>6</b>	68	<b>74</b>	
		%	8	92	100	

\* exakter Test nach Fisher, da erwartete Häufigkeit unter 5.

Darstellung der Zytokinkategorien der Nicht- Bauernkinder: Kat. 0: Null- Werte; Kat. 1: Positive Werte.

Angegeben sind die Anzahl der gemessenen Zytokine [N] und der Prozentsatz [%]. Die Berechnung des Zusammenhangs zwischen erkrankten und gesunden Nicht- Bauernkindern erfolgt mit Hilfe des Chi<sup>2</sup>-Tests, als Signifikanzniveau wurde  $p \leq 0,05$  gewählt. (signifikante bzw. grenzwertig signifikante Ergebnisse dargestellt)

**Tabelle 4-6:** Darstellung der signifikanten bzw. grenzwertig signifikanten Zytokinkategorien der Bauernkinder Kat 0, 1 in Abhängigkeit von postnatalen Erkrankungen.

Diagnose	Zyt. Kat.	[N] [%]	ja	nein	Gesamt	P-Wert Chi <sup>2</sup> - Test
<b>Schnupfen</b>						
<b>IL10 (LPS24h)</b>	0	<b>N 4</b> %	100	0	<b>4</b> 100	0,044*
	1	<b>N 22</b> %	43	29	<b>51</b> 100	
Gesamt		<b>N 26</b> %	47	29	<b>55</b> 100	
<b>Husten</b>						
<b>IFN (LPS24h)</b>	0	<b>N 5</b> %	11	41	<b>46</b> 100	0,026*
	1	<b>N 6</b> %	38	10	<b>16</b> 100	
Gesamt		<b>N 11</b> %	18	51	<b>62</b> 100	
<b>Neugeborenenexanthem</b>						
<b>IL5 (PI24h)</b>	0	<b>N 19</b> %	50	16	<b>3</b> 8	0,019*
	1	<b>N 21</b> %	84	4	<b>0</b> 0	
Gesamt		<b>N 40</b> %	63	20	<b>3</b> 5	
<b>IL10 (PI24h)</b>	0	<b>N 16</b> %	53	13	<b>1</b> 3	0,024*
	1	<b>N 20</b> %	80	3	<b>2</b> 8	
Gesamt		<b>N 36</b> %	65	16	<b>3</b> 5	
<b>IL10 (LPS24)</b>	0	<b>N 0</b> %	0	4	<b>0</b> 0	0,017*
	1	<b>N 36</b> %	71	12	<b>3</b> 6	
Gesamt		<b>N 36</b> %	65	16	<b>3</b> 5	

Diagnose	Zyt. Kat.	[N] [%]	ja	nein	Gesamt	P-Wert Chi <sup>2</sup> - Test	
<b>Neugeborenenexanthem</b>			<b>ja</b>	<b>nein</b>	<b>weiss nicht</b>	<b>Gesamt</b>	
	0	<b>N 16</b>		16	<b>1</b>	<b>33</b>	0,001*
<b>IL10 (PI48h)</b>		%	48	48	3	100	
	1	<b>N 19</b>		1	<b>2</b>	<b>22</b>	100
		%	86	5	9	100	
<b>Gesamt</b>		<b>N 35</b>		17	<b>3</b>	<b>55</b>	100
		%	64	31	5	100	
	0	<b>N 38</b>		17	<b>3</b>	<b>58</b>	0,052*
<b>IL12 (LPS48h)</b>		%	66	29	5	100	
	1	<b>N 0</b>		3	<b>0</b>	<b>3</b>	100
		%	0	100	0	100	
<b>Gesamt</b>		<b>N 38</b>		20	<b>3</b>	<b>61</b>	100
		%	62	33	5	100	
	0	<b>N 6</b>		12	<b>1</b>	<b>19</b>	0,001*
<b>IFN (PI48h)</b>		%	32	63	5	100	
	1	<b>N 33</b>		8	<b>2</b>	<b>43</b>	100
		%	77	19	5	100	
<b>Gesamt</b>		<b>N 39</b>		20	<b>3</b>	<b>62</b>	100
		%	63	32	5	100	
	0	<b>N 14</b>		12	<b>3</b>	<b>29</b>	0,033*
<b>IFN (SEB48h)</b>		%	48	41	10	100	
	1	<b>N 25</b>		8	<b>0</b>	<b>33</b>	100
		%	76	24	0	100	
<b>Gesamt</b>		<b>N 39</b>		20	<b>3</b>	<b>62</b>	100
		%	63	32	5	100	
	0	<b>N 8</b>		12	<b>0</b>	<b>20</b>	0,002*
<b>TNF (LPS24h)</b>		%	40	60	0	100	
	1	<b>N 32</b>		7	<b>3</b>	<b>42</b>	100
		%	76	17	7	100	
<b>Gesamt</b>		<b>N 40</b>		19	<b>3</b>	<b>62</b>	100
		%	65	31	5	100	
	0	<b>N 7</b>		11	<b>0</b>	<b>18</b>	0,009*
<b>TNF (PI48h)</b>		%	39	61	0	100	
	1	<b>N 32</b>		9	<b>3</b>	<b>44</b>	100
		%	73	20	7	100	
<b>Gesamt</b>		<b>N 39</b>		20	<b>3</b>	<b>62</b>	100
		%	63	32	5	100	

Diagnose	Zyt. Kat.	[N] [%]	ja	nein	Gesamt	P-Wert Chi <sup>2</sup> - Test
<b>Erstmanifestation eines Exanths in Tagen</b>						
	0	<b>N 3</b>	<b>1. -2. Tag</b>	<b>3. -5. Tag</b>	<b>Gesamt</b>	0,07*
<b>IFN (PI24h)</b>		%	33	67	100	
	1	<b>N 2</b>		<b>28</b>	<b>30</b>	
		%	7	93	100	
<b>Gesamt</b>		<b>N 5</b>		<b>34</b>	<b>39</b>	
		%	13	87	100	
<b>Erstmanifestation eines Exanths in Wochen</b>						
	0	<b>N 7</b>	<b>1.- 2. Woche</b>	<b>3.- 5. Woche</b>	<b>Gesamt</b>	0,026*
<b>IL10 (SEB24h)</b>		%	50	50	100	
	1	<b>N 3</b>		<b>19</b>	<b>22</b>	
		%	14	86	100	
<b>Gesamt</b>		<b>N 10</b>		<b>26</b>	<b>36</b>	
		%	28	72	100	
<b>Hautausschlag am Windelbereich</b>						
	0	<b>N 8</b>	<b>ja</b>	nein	<b>Gesamt</b>	0,046*
<b>IFN (LPS24h)</b>		%	17	83	100	
	1	<b>N 7</b>		<b>9</b>	<b>16</b>	
		%	44	56	100	
<b>Gesamt</b>		<b>N 15</b>		<b>47</b>	<b>62</b>	
		%	24	76	100	
<b>Hautausschlag innerhalb der erster Lebenswochen</b>						
	0	<b>N 9</b>		52	<b>61</b>	0,028*
<b>IL5 (LPS24h)</b>		%	15	85	100	
	1	<b>N 2</b>		<b>0</b>	<b>2</b>	
		%	100	0	100	
<b>Gesamt</b>		<b>N 11</b>		<b>52</b>	<b>63</b>	
		%	17	83	100	
<b>IL10 (PI48h)</b>						
	0	<b>N 2</b>		31	<b>33</b>	0,037*
		%	6	94	100	
	1	<b>N 6</b>		<b>16</b>	<b>22</b>	
		%	27	73	100	
<b>Gesamt</b>		<b>N 8</b>		<b>47</b>	<b>55</b>	
		%	15	85	100	

Diagnose	Zyt. Kat.	[N] [%]	ja	nein	Gesamt	P-Wert Chi <sup>2</sup> - Test
<b>Hautausschlag innerhalb der erster Lebenswochen</b>						
IL5 (LPS24h)	0	N 13		48	61	0,054*
		%	21	79	100	
	1	N 2		0	2	
		%	100	0	100	
Gesamt		N 15		48	63	
		%	24	76	100	
<b>schon einmal einen anderen Ausschlag gehabt</b>						
IL5 (SEB24h)	0	N 26		32	58	0,049*
		%	45	55	100	
	1	N 4		0	4	
		%	100	0	100	
Gesamt		N 30		32	62	
		%	48	52	100	
TNF (LPS24h)	0	N 6		14	20	0,056*
		%	30	70	100	
	1	N 24		17	41	
		%	59	41	100	
Gesamt		N 30		31	61	
		%	49	51	100	
<b>Brustdrüsenanschwellung</b>						
IFN (LPS24h)	0	N 4		42	46	0,42*
		%	9	91	100	
	1	N 5		11	16	
		%	31	69	100	
Gesamt		N 9		53	62	
		%	15	85	100	
<b>Binde- und Tränenkanal-entzündung</b>						
IL5 (PI48)	0	N 2		23	25	0,022*
		%	8	92	100	
	1	N 12		25	37	
		%	32	68	100	
Gesamt		N 14		48	62	
		%	23	77	100	

Diagnose	Zyt. Kat.	[N] [%]	ja	nein	Gesamt	P-Wert Chi <sup>2</sup> - Test
<b>Ikterus</b>						
TNF (SEB48h)	0	<b>N 9</b>		37	<b>46</b>	0,024*
		%	20	80	100	
	1	<b>N 8</b>		8	<b>16</b>	
		%	50	50	100	
Gesamt		<b>N 17</b>		45	<b>62</b>	
		%	27	73	100	
<b>sonstige fieberhaft Infekte</b>						
IL5 (LPS24h)	0	<b>N 1</b>		60	<b>61</b>	0,063*
		%	2	98	100	
	1	<b>N 1</b>		1	<b>2</b>	
		%	50	50	100	
Gesamt		<b>N 2</b>		61	<b>63</b>	
		%	3	97	100	
<b>Bindehaut- und Tränenkanalenzündung</b>						
IL5 (PI48)	0	<b>N 2</b>		23	<b>25</b>	0,01
		%	8	92	100	
	1	<b>N 14</b>		23	<b>37</b>	
		%	38	62	100	
Gesamt		<b>N 16</b>		46	<b>62</b>	
		%	26	74	100	
IL5 (LPS48h)	0	<b>N 15</b>		45	<b>60</b>	0,072*
		%	25	75	100	
	1	<b>N 2</b>		0	<b>2</b>	
		%	100	0	100	
Gesamt		<b>N 17</b>		45	<b>62</b>	
		%	27	73	100	
TNF (LPS24h)	0	<b>N 2</b>		18	<b>20</b>	0,065*
		%	10	90	100	
	1	<b>N 14</b>		28	<b>42</b>	
		%	33	67	100	
Gesamt		<b>N 16</b>		46	<b>62</b>	
		%	26	74	100	



Diagnose	Zyt. Kat.	[N] [%]	ja	nein	Gesamt	P-Wert Chi <sup>2</sup> - Test
TNF (SEB24h)	0	N 7		37	<b>44</b>	0,010*
		%	16	84	100	
	1	N 9		9	<b>18</b>	
		%	50	50	100	
Gesamt		N 16		46	<b>62</b>	
		%	26	74	100	
TNF (LPS48h)	0	N 6		28	<b>34</b>	0,086*
		%	18	82	100	
	1	N 11		17	<b>28</b>	
		%	39	61	100	
Gesamt		N 17		45	<b>62</b>	
		%	27	73	100	
<b>Mundsoor</b>						
IFN (PI24h)	0	N 4		16	<b>20</b>	0,084*
		%	20	80	100	
	1	N 2		39	<b>41</b>	
		%	5	95	100	
Gesamt		N 6		55	<b>61</b>	
		%	10	90	100	

\* Test nach Fisher, da die erwartete Häufigkeit kleiner 5 ist.

ab der zweiten Lebenswoche

Darstellung der Zytokinkategorien der Bauernkinder: Kat. 0: Null- Werte; Kat. 1: Positive Werte. Angegeben sind die Anzahl der gemessenen Zytokine [N] und der Prozentsatz [%]. Die Berechnung des Zusammenhangs zwischen erkrankten und gesunden Nicht- Bauernkindern erfolgt mit Hilfe des Chi<sup>2</sup>-Tests, als Signifikanzniveau wurde  $p \leq 0,05$  gewählt.

Bei der Betrachtung der Nicht-Bauernkinder zeigten positive IL-12 Werte signifikant weniger Kinder mit Schnupfen. Mit positiven TNF- $\alpha$  Werten hatten Nicht- Bauernkinder signifikant häufiger mehr als zweimal Schnupfen. Mehr Nicht-Bauernkinder litten an Atembeschwerden mit pfeifenden und keuchenden Geräuschen bei positiven IL-5 und IFN- $\gamma$  Werten.

Positive TNF- $\alpha$  Werte führten weniger häufig zum Neugeborenenexanthem bei Nicht-Bauernkindern. Bei positiven IL-10 Werten kam es signifikant häufiger in den ersten beiden Tagen zur Erstmanifestation eines Exanthems. Positive TNF- $\alpha$  Werte zeigen vor allem signifikant häufiger eine Erstmanifestation zwischen dem dritten und fünften Tag. Positive IFN- $\gamma$  Werte führten häufiger zum Exanthem in der dritten bis fünften Woche.

Signifikant weniger Nicht- Bauernkinder erkrankten an Brustdrüsenanschwellung bei IFN-  $\gamma$  Werten über dem Meidan. An Binde- und Tränenkanalentzündung erkrankten signifikant weniger Nicht- Bauernkinder, wenn der TNF- $\alpha$  Wert (sowohl LPS 48h als auch SEB48h) positiv war. Eine positive Diagnose von sonstigen Erkrankungen zeigten signifikant häufiger positive TNF- $\alpha$  Werte in Nabelschnurblut.

Wie in Tabelle 4-6 aufgezeigt konnten bei **Bauernkindern** bei folgenden postnatalen Erkrankungen signifikante Zusammenhänge berechnet werden:

#### Atemwegserkrankungen

- Schnupfen
- Husten

#### Hauterkrankungen

- Neugeborenenexanthem
- Erstmanifestation eines Exanthems in Tagen
- Erstmanifestation eines Exanthems in Wochen
- Hautausschlag im Windelbereich
- Hautausschlag innerhalb der ersten Lebenswochen
- bereits einmal einen Ausschlag gehabt

#### Sonstige Erkrankungen

- Brustdrüsenanschwellung

- Binde- und Tränenkanalenzündung innerhalb der ersten Lebenswochen
- Ikterus
- sonstige fieberhafte Infekte
- Binde- und Tränenkanalenzündung ab der zweiten Lebenswoche
- Mundsoor ab der zweiten Lebenswoche

Bei positiven IL-10 Werten litten signifikant weniger Bauernkinder an Schnupfen. Mehr Bauernkinder erkrankten an Husten, wenn der IFN- $\gamma$  Wert positiv war.

Positive Werte von IL-5, IL-10 (P/I 24h, LPS 24h, P/I 48h), IFN- $\gamma$  (P/I 48h, SEB 48h), TNF- $\alpha$  (LPS 24h, P/I 48h) zeigten signifikant mehr Kinder mit Neugeborenenexanthem. Nur bei positiven IL-12 litten signifikant weniger Kinder an einem Neugeborenenexanthem. Positive Werte von IFN- $\gamma$  führten signifikant häufiger zu einer Erstmanifestation eines Exanthems innerhalb des dritten bis fünften Tages als in den ersten zwei Lebenstagen. Innerhalb der ersten drei bis fünf Wochen kam es vor allem bei positiven IL-10 Werten zum Exanthem. Signifikant mehr Kinder hatten einen Hautausschlag am Windelbereich bei positiven IFN- $\gamma$  und IL-5 Werten. Positive IL-5 und IL-10 Werte führten bei Bauernkindern signifikant häufiger zu einem Auftreten von Hautausschlag innerhalb der ersten Lebenswochen. Positive IL-5 und IL-10 Werte führten bei Bauernkindern signifikant häufiger zu einem Auftreten von Hautausschlag innerhalb der ersten Lebenswochen. Vor allem bei positive IL-5, aber auch TNF- $\alpha$  Werten hatten vermehrt Kinder bereits einmal einen Hautausschlag gehabt.

Es kam bedeutsam häufiger zur Schwellung der Brustdrüse bei positiven Werten von IFN- $\gamma$ . Bauernkinder mit Binde- und Tränenkanalenzündung innerhalb der ersten Lebenswochen zeigten häufiger positive IL5 Werte. An Ikterus litten prozentual mehr Bauernkinder, mit positiven TNF- $\alpha$  Werten. Positive IL-5 Werte führten häufiger zu sonstigen fieberhaften Infekten. Positive IL-5 (P/I 48h, LPS 48h) und TNF- $\alpha$  Werte (LPS 24h, SEB 24h, LPS 48h) führten signifikant häufiger zur Diagnose Binde- und Tränenkanalenzündung ab der zweiten Lebenswoche. Mit positiven IFN- $\gamma$  Werten erkrankten signifikant weniger Kinder an Mundsoor ab der zweiten Lebenswoche.

Bei der Betrachtung der postnatalen Erkrankungen der Bauern- und Nicht-Bauernkinder stimmten folgende überein: Brustdrüenschwellung, Bindehaut- und Tränenkanalenzündung, Neugeborenenexanthem, Erstmanifestation eines Exanthems während des dritten und fünften

Lebenstages, und Erstmanifestation eines Exanthems während der dritten bis fünften Woche. Die signifikanten Zusammenhänge zwischen den Erkrankungen und der einzelnen Zytokine unterscheiden sich hier erheblich. Vergleicht man die Ergebnisse der zwei Kategorien von Bauern- und Nichtbauernkindern, so wurde ein gegenläufiger Verlauf bei der Diagnose Brustdrüsenschwellung deutlich. Bei positiven IFN- $\gamma$  Werten erkrankten Bauernkinder häufiger an Brustdrüsenschwellung als Nicht-Bauernkinder. An Bindehaut- und Tränenkanalentzündung litten Nicht-Bauernkinder signifikant seltener bei positiven TNF- $\alpha$  Werten, Bauernkinder litten daran häufiger, wenn IL-5 positiv war. Hatten Nicht-Bauernkinder signifikant weniger Schnupfen, war der IL-12 Wert positiv, bei Bauernkindern war der IL-10 Wert positiv. Erkrankten Bauernkinder häufiger an einem Neugeborenenexanthem zeigte dies positive Werte von IL-5, IL-10, IFN- $\gamma$  und TNF- $\alpha$ . Seltener erkrankten Bauernkinder an einem Neugeborenenexanthem, wenn IL-12 positiv war. Dagegen litten Nicht-Bauernkinder weniger an Neugeborenenexanthem, wenn IL-5 und TNF- $\alpha$  positiv waren. Zu einer Erstmanifestation eines Exanthems während des dritten und fünften Tages kam es bei Nicht-Bauernkindern bei positiven Werten von TNF- $\alpha$ , wohingegen bei Bauernkindern die IFN- $\gamma$  Werte positiv waren. Bei Nicht-Bauernkinder führten positive IFN- $\gamma$  Werte häufiger zu einer Erstmanifestation eines Exanthems während der dritten bis fünften Woche, wohingegen es bei Bauernkindern positive IL-10 Werte waren.

#### **4.3.3 Störfaktoren für die Zytokinkategorien in Abhängigkeit von postnatalen Erkrankungen des Kindes**

Als mögliche Störfaktoren wurden Folgende angesehen:

- Geschlecht
- vorzeitige Wehen
- ambulant/ stationär entbunden
- Kontakt zu anderen Kindern
- Anzahl der Kontaktkinder
- Rauchverhalten der Mutter
- Zigarettenkonsum der Mutter pro Tag und in den ersten zwei Lebensmonaten des Kindes
- Zigarettenkonsum anderer Personen in der selben Wohnung
- Anzahl der Geburten
- Anzahl der Schwangerschaften

- Geburtstermin
- Geburtsmodus
- Geburtsgewicht
- Apgar 5 min.
- Apgar 10 min
- PH-Wert Nabelschnur

Zunächst wurde der Zusammenhang zwischen möglichen Störfaktoren und den in den Tabellen 4-5 (Nicht-Bauernkinder) und 4-6 (Bauernkinder) beschriebenen signifikanten Zytokinkategorien (Kat. 0,1) untersucht. Ein signifikanter Zusammenhang zwischen möglichen Störfaktoren und signifikanten Zytokine konnte nur bei Bauernkindern gefunden werden. Diese sind in Tabelle 4-7 aufgeführt.

Unter den unten genannten möglichen Störfaktoren konnte bei den Bauernkindern nur für die Anzahl der Schwangerschaften mit TNF- $\alpha$  und IFN- $\gamma$  ein signifikanter Zusammenhang gefunden werden. Dabei zeigten Mütter mit einer Anzahl von Schwangerschaften im mittleren Bereich (drei bis vier Schwangerschaften) häufiger positive TNF- $\alpha$  und IFN- $\gamma$  Werte.

Anschließend wurde der Einfluss dieses möglichen Störfaktors auf die postnatalen Erkrankungen des Bauernkindes überprüft. Es zeigte sich, dass die Anzahl der Schwangerschaften lediglich auf die Zytokinrate, aber nicht auf die postnatale Erkrankung des Bauernkindes Einfluss hat. In Tabelle 4-8 wird lediglich der Zusammenhang dargestellt, der dem Signifikanzniveau  $p \leq 0,05$  am nächsten war.

**Tabelle 4-7** : signifikante bzw. grenzwertig signifikante Störfaktoren für die signifikanten Zytokine der Kategorie (Kat. 0, 1) der Bauernkinder.

	Zyt. Kat.	N %	Störfaktoren				P- Wert Chi <sup>2</sup> - Test	Mantel- Haenszel- Test	
			1-2	3-4	5-6	7-8 Gesamt			
<b>Anzahl der Schwangerschaften</b>									
<b>TNF (LPS48h)</b>	0	N	20	14	0	0	34	<b>0,038*</b>	0,01
		%	32,26	22,58	0,00	0,00	54,84		
	1	N	9	16	1	2	28		
		%	14,52	25,81	1,61	3,23	45,16		
Gesamt		N	29	30	1	2	62		
		%	46,77	48,39	1,61	3,23	100,00		
<b>(IL10LPS24h)</b>	0	N	2	1	1	0	4	<b>0,081*</b>	1,00
		%	3,64	1,82	1,82	0,00	7,27		
	1	N	22	27	0	2	51		
		%	40,00	49,09	0,00	3,64	92,73		
Gesamt		N	24	28	1	2	55		
		%	43,64	50,91	1,82	3,64	100,00		
<b>IFN (SEB48h)</b>	0	N	18	9	0	2	29	<b>0,01*</b>	0,30
		%	29,03	14,52	0,00	3,23	46,77		
	1	N	11	21	1	0	33		
		%	17,74	33,87	1,61	0,00	53,23		
Gesamt		N	29	30	1	2	62		
		%	46,77	48,39	1,61	3,23	100,00		

\* exakter Test nach Fisher, wenn erwartete Häufigkeit unter 5.

Darstellung der signifikanten bzw. grenzwertig signifikanten Störfaktoren für die signifikanten Zytokinkategorien der Bauernkinder: Kat. 0: Null- Werte; Kat. 1: Positive Werte. Angegeben sind die Anzahl der gemessenen Zytokine [N] und der Prozentsatz [%]. Die Berechnung des Zusammenhangs zwischen den Störfaktoren und den Zytokinkategorien erfolgt mit Hilfe des Chi<sup>2</sup>-Tests, als Signifikanzniveau wurde  $p \leq 0,05$  gewählt.

**Tabelle 4-8:** grenzwertig signifikanter Störfaktor für die Erkrankung der Bauernkinder.

Diagnose	N	%	Anzahl der Schwangerschaften				Gesamt	P- Wert Chi <sup>2</sup> Test
			1-2	3-4	5-6	7-8		
Neugeborenen- exanthem	ja	N	18	23	0	1	42	<b>0,081</b>
		%	60	71,86	0	0,5		
	nein	N	10	9	1	0	20	
		%	33,33	28,14	100	0		
	weiss nicht	N	2	0	0	1	3	
		%	6,66	0	0	0,5		
Gesamt	N	30	32	1	2	65		

Beschreibung des signifikanten Störfaktors für postnatale Erkrankungen der Bauernkinder. Der P- Wert wurde mit Hilfe des Chi<sup>2</sup>- Tests berechnet. Als Signifikanzniveau wurde  $p \leq 0,05$  gewählt.

Die Erkrankung Neugeborenenexanthem zeigte keinen signifikanten Zusammenhang mit der Anzahl der Schwangerschaften der Mutter. Somit konnten alle oben genannten möglichen Störfaktoren ausgeschlossen werden.

#### **4.3.4 Binäre logistische Regression : Abhängigkeit der dichotomen Zytokinkategorien von den postnatalen Erkrankungen des Kindes**

Die Tabellen 4-9 (Nicht-Bauernkinder) und 4-10 (Bauernkinder) zeigen die Beziehungen zwischen den dichotomen Zytokinkategorien ( $p \leq 0,069$ ) und den postnatalen Erkrankungen für die Gruppen der Bauern- und Nicht-Bauernkinder. Im Folgenden werden lediglich die Ergebnisse aufgeführt, bei denen eine binär logistische Regression möglich war und bei denen ein signifikanter Zusammenhang bestand.

**Tabelle 4-9:** Binär logistische Regression der Nicht- Bauernkinder.

	<b>P-Wert</b>	<b>OR</b>	<b>95% KI</b>	
	<b>Chi<sup>2</sup> Test</b>		<b>Unterer Wert</b>	<b>Oberer Wert</b>
<b>Binde- und Tränenkanalentzündung</b> TNF (LPS 48h)	<b>0,043</b>	8,824	1,066	73,030
<b>Ikterus</b> TNF (PI 24h)	0,063	0,275	0,071	1,071
<b>Schnupfen</b> IL12 (PI 24h)	<b>0,049</b>	8,211	1,005	67,055
<b>pfeifende keuchende Atemgeräusche</b> IFN (LPS 24h)	0,059	0,115	0,012	1,086
<b>Erstmanifestation eines Exanthems in Wochen</b> TNF (LPS48h)	0,060	0,243	0,055	1,064
<b>sonstige Erkrankungen nach der zweiten Lebenswoche</b> TNF (SEB 48h)	<b>0,040</b>	0,154	0,026	0,919

Abhängigkeit der dichotomen Zytokinkategorien von den postnatalen Erkrankungen der Nicht-Bauernkinder (nur signifikante bzw. grenzwertig signifikante Ergebnisse dargestellt). Berechnung des P-Werts, der Odds Ration (OR) und des 95% Konfidenzintervalls (95% KI) mit der binär logistischen Regression.

Die logistische Regressionsanalyse stellte bei den **Nicht-Bauernkindern** vor allem für TH1-Zytokine signifikante Korrelationen zu postnatalen Erkrankungen dar. So zeigte TNF- $\alpha$  eine positive Korrelation (OR > 1) zu Binde- und Tränenkanalentzündung. Positiv korrelierte auch IL-12 mit Schnupfen. Dagegen zeigten sich negative Korrelationen bei TNF- $\alpha$  und Ikterus, IFN- $\gamma$  und pfeifende, keuchende Atemgeräusche, TNF- $\alpha$  und Erstmanifestation eines Exanthems in Wochen und TNF- $\alpha$  und sonstige Erkrankungen ab der zweiten Lebenswoche.



**Tabelle 4-10:** Binär logistische Regression der Bauernkinder.

	P-Wert	OR	95% KI	
	Chi <sup>2</sup> Test		Unterer Wert	Oberer Wert
<b>Hautausschlag</b>				
IL10 (PI48h)	<b>0,044</b>	0,172	0,031	0,951
<b>Brustdrüsenanschwellung</b>				
IFN (LPS24h)	<b>0,038</b>	0,210	0,048	0,914
<b>Bindehaut- und Tränenkanalentzündung</b>				
IL5 (PI48h)	<b>0,036</b>	0,181	0,037	0,898
<b>Ikterus</b>				
TNF (SEB48h)	<b>0,023</b>	0,243	0,072	0,825
<b>sonstige fieberhafte Infekte</b>				
IL5 (LPS 24h)	<b>0,018</b>	0,017	0,001	0,501
IL5 (SEB 24h)	0,053	0,052	0,003	1,044
<b>Husten</b>				
IFN (LPS 24h)	<b>0,023</b>	0,203	0,051	0,803
<b>Neugeborenenexanthem</b>				
IL5 (PI 24h)	<b>0,021</b>	0,226	0,064	0,796
IL12 (LPS48h)	0,054	1,508	0,993	2,289
IFN (SEB 48h)	0,068	0,369	0,126	1,079
<b>Hautausschlag am Windelbereich</b>				
IFN (LPS24h)	<b>0,040</b>	0,271	0,078	0,943
<b>andere Hautveränderung</b>				
TNF (LPS24h)	<b>0,040</b>	0,304	0,097	0,950
<b>Bindehaut- und Tränenkanalentzündung ab der zweiten Lebenswoche</b>				
IL5 (PI48h)	<b>0,016</b>	0,143	0,029	0,701
TNF (SEB24h)	<b>0,008</b>	0,189	0,055	0,646
TNF (LPS 48h)	0,063	0,331	0,104	1,060

	P-Wert	OR	95% KI	
	Chi <sup>2</sup> Test		Unterer Wert	Oberer Wert
<b>sonstige Erkrankungen ab der zweiten Lebenswoche</b>				
IL12 (SEB48)	<b>0,035</b>	0,035	0,002	0,787

Abhängigkeit der dichotomen Zytokinkategorien von den postnatalen Erkrankungen der Bauernkinder (nur signifikante bzw. grenzwertig signifikante Ergebnisse dargestellt). Berechnung des P-Werts, der Odds Ratio (OR) und des 95% Konfidenzintervalls (95% KI) und mit der binär logistischen Regression.

Bei der Betrachtung der **Bauernkinder** kamen bei der Regressionsanalyse sowohl für TH1-, TH2- als auch für T- regulatorische Zytokine signifikante Korrelationen heraus. Negativ korrelierte (OR < 1) dabei IL-5 mit Bindehaut- und Tränenkanalentzündung, Neugeborenenexanthem und sonstigen fieberhaften Infekten, IL-10 mit Hautausschlag, IL-12 mit sonstigen Erkrankungen, IFN- $\gamma$  mit Brustdrüenschwellung, Husten, Neugeborenenexanthem und Hautausschlag am Windelbereich, und TNF- $\alpha$  mit Ikterus, anderen Hautveränderungen und Bindehaut- und Tränenkanalentzündung. Positiv korrelierte IL-12 mit Neugeborenenexanthem.

Da weder für Bauern- als auch für Nicht-Bauernkinder signifikante Störfaktoren gefunden werden konnten, wurden diese auch nicht in die logistische Regressionsanalyse miteinbezogen.

## **5 Diskussion**

### **5.1 Probanden**

Die PASTURE- Studie ist eine prospektive Studie, die in fünf europäischen Ländern (Deutschland, Österreich, Frankreich, Finnland, Schweiz) durchgeführt wurde. Die Probanden der PASTURE- Studie stellten eine sehr gut definierte Gruppe mit strikten Einschlusskriterien für die Teilnahme an der Studie dar. In der vorliegenden Arbeit wurden ausschließlich Daten der deutschen Teilnehmer analysiert, wodurch eine kleine Anzahl von Probanden zur Verfügung stand. Dies hat zum Nachteil, dass die Studienergebnisse eine geringere Aussagekraft besitzen. Ein Vorteil ist dagegen, dass innerhalb eines Landes nicht all zu große Unterschieden bezüglich der Art der Bauernhöfe und der Landwirtschaft vorherrschen.

### **5.2 Methoden**

In allen Zentren wurde ein streng definierter standardisierter Ansatz für die Stimulierung des Nabelschnurbluts der Bauern- und Nicht-Bauerkinder verwendet. Als Stimulantien wurden LPS, P/I und SEB verwendet, welche in Marburg auf die entsprechenden Endkonzentrationen verarbeitet wurden. Die Durchführung der Stimulation musste in allen Zentren innerhalb von 24h durchgeführt werden. Konnte eine Probe nicht innerhalb von 24h stimuliert werden, wurde sie verworfen. Alle Proben wurden blind bezüglich des Bauernstatus bearbeitet, um mögliche Einflüsse von Erwartungen, welche durch diese Information ausgelöst würden, zu eliminieren.

#### **5.2.1 Zytokinstimulation**

Für die Zytokinstimulation wurde in der PASTURE- Studie Vollblut verwendet. Diese Stimulationsmethode war für uns besonders gut geeignet, da sie im Vergleich zu den Techniken mit Zellseparation weniger Zeit benötigt. Die Zeitspanne zwischen Blutentnahme und Inkubation der Blutproben konnte somit so kurz wie möglich gehalten werden.

Eine andere gängige Methode wäre zum Beispiel die Stimulation von isolierten PBMCs gewesen. Diese wäre aber nicht nur zeit-, sondern auch kostenintensiver gewesen (Miles, Bakewell et al. 2003). Dies wäre gerade für größere Feldstudien, wie unsere nachteilig gewesen.

Im Vergleich zur Vollblutstimulierung zeigte eine Studie von Hodge et al. eine erhöhte Apoptose von Leukozyten, die in PBMCs stimuliert wurden, woraus eine verminderte Konzentration der gemessenen Zytokine folgte. Eine niedrigere Zytokinkonzentration in PBMCs zeigte auch eine andere Studie, bei der das Sekretionsmuster mittels ELISA bestimmt wurde (De Groote, Zangerle et al. 1992). Aus diesem Grund wird Vollblut für die in-vitro Produktion von Zytokinen von einigen Autoren als sehr geeignet angesehen (De Groote, Zangerle et al. 1992; Hodge, Hodge et al. 2000). Bei beiden Methoden sind individuelle Unterschiede in der Zytokinsynthese unabhängig von deren Stimulus zu beachten. Diese Unterschiede können unter anderem von Gen- Polymorphismen abhängig sein, welche die Zytokinproduktion kontrollieren (Emonts, Veenhoven et al. 200). Ein Nachteil der Vollblutstimulierung ist, dass eine Zuordnung zwischen den stimulierten Zellpopulationen und den von ihnen produzierten Zytokinen nicht möglich ist. Außerdem kann man im Gegensatz zu isolierten PBMCs nicht kontrollieren, wie viele Zellen genau stimuliert wurden (Yaqoob, Newsholme et al. 1999). Aus diesem Grund wurde in der PASTURE- Studie ein Differentialblutbild angefertigt und die Zytokinkonzentration auf die Anzahl der Leukozyten bezogen.

### **5.2.2 Stimulantien und Zytokine**

Für die Stimulation des Vollbluts wurde aus der Vielzahl der mikrobiellen Antigene als Marker für gramnegative Bakterien LPS und für grampositive Bakterien Staphylokokkenenterotoxin B benutzt. Als drittes Stimulans wurde PMA/ Ionomycin verwendet. Ionomycin ist ein Calcium-Ionophosphor. Es bindet Calcium durch Komplexbildung und ermöglicht dadurch seinen Einstrom in die Zelle. PMA ist ein Aktivator der Proteinkinase C. Diese beiden Faktoren spielen bei der T-Zellaktivierung eine entscheidende Rolle und wirken synergistisch aufeinander (Lee and Gilman 1994). Alle drei sind gängige Stimulantien, die bereits in vielen Studien Verwendung fanden und somit gute Vergleichsdaten bieten.

Die von uns nach 24 und 48 Stunden Stimulation gemessenen Zytokine (IL-5, IL-10, IL-12, IFN- $\gamma$  und TNF- $\alpha$ ) wurden für die PASTURE- Studie deshalb ausgewählt, da sie repräsentative Zytokine der TH1- (IL-12, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ ), TH2- (IL-5) und T-regulatorischen (IL-10) Immunantwort darstellen. Darüber hinaus sind IL-12 und IFN- $\gamma$  anti- inflammatorische Zytokine und TNF- $\alpha$  ein pro- inflammatorisches Zytokin.

Da sich je nach Stimulationsdauer und Stimulus unterschiedliche Konzentrationen ergeben (Volante, Moretti et al. 2004; Mohamed, Cunningham-Rundles et al. 2007) wurden im Vorfeld verschiedene Untersuchungen zur Ermittlung der Zytokinkonzentration durchgeführt. Nach 24

und 48 Stunden konnte dabei eine ausreichende Produktion aller gemessenen Zytokine gefunden werden. Somit wurde dieser Zeitpunkt zur Abnahme der Zytokine bestimmt.

In der vorliegenden Arbeit waren vor allem bei IL-5 und IL-10 die Anzahl der Proben mit nachweisbaren Zytokinkonzentrationen sehr gering. IL-12, IFN- $\gamma$  und TNF- $\alpha$  waren meist in >40% der Proben messbar. Der Grund für die wenigen Responder könnte im Stimulationsansatz oder in technischen Messfehlern liegen. Auch könnte das noch nicht ausgereifte kindliche Immunsystem, welches unter anderem mit einer geringeren Zytokinsekretion einhergeht (Macaubas, de Klerk et al. 2003; Neaville, Tisler et al. 2003), eine entscheidende Rolle spielen.

## **5.3 Ergebnisse**

### **5.3.1 Zytokinsekretion aus Nabelschnurblut von Bauern- und Nicht- Bauernkindern**

Wie in der Einleitung beschrieben wurde in manchen Studien gezeigt, dass bei Bauernkindern im Vergleich zu Nicht-Bauernkindern eine niedrigere Prävalenz von Asthma beobachtet wurde, wenn Mütter während der Schwangerschaft weiter im Stall arbeiteten und durch den Kontakt zum Vieh vermehrt Endotoxinen und bakteriellen Antigenen ausgesetzt waren (Ege, Bieli et al. 2006; Ege, Herzum et al. 2008). Diese und andere Studien (Szepfalusi, Pichler et al. 2000; Devereux, Seaton et al. 2001) deuten darauf hin, dass die Entwicklung des Immunsystems, spezifisch die Prägung der T-Zelle, welche unter anderem von Umweltfaktoren abhängt, bereits in utero beginnt.

#### TH-1 Zytokinprofil

Bei Bauernkindern würden wir im Nabelschnurblut ein TH-1 Zytokinprofil mit assoziiert erhöhtem IFN- $\gamma$  und IL-12 erwarten.

In mehreren Studien konnte gezeigt werden, dass eine erniedrigte IFN- $\gamma$  Konzentration ein Risikofaktor für allergische Erkrankungen sein kann. So wiesen Nicht- Bauernkinder, die im Laufe ihrer ersten sechs Lebensjahre allergische Erkrankungen, wie z.B. allergische Rhinitis, atopische Dermatitis, Asthma entwickelten, geringere IFN- $\gamma$  Werte in Nabelschnurblut auf als Kinder, die keine allergische Erkrankung zeigten (Kondo, Kobayashi et al. 1998). Campbell et al. beobachtete erniedrigte IFN- $\gamma$  Werte bei Personen mit atopischer Dermatitis im Vergleich zu ihren gesunden, nicht atopischen Kontrollpersonen (Campbell, Fryga et al. 1999).

Andere Studien konnten solch eine Assoziation wiederum nicht zeigen (Smillie, Elderfield et al. 2001; Marks, Zhou et al. 2002). Prokesova et al. zum Beispiel beobachtete im ersten Lebensalter erhöhte IFN- $\gamma$  Konzentrationen bei Kindern allergischer Mütter im Vergleich zu Kindern gesunder Mütter (Prokesova, Lodinova-Zadnikova et al. 2006).

Wir fanden nach Stimulation mit P/I und SEB bei Bauernkindern höhere IFN- $\gamma$  Konzentrationen im Median als bei Nicht- Bauernkindern. Nach LPS Stimulation war aber die IFN- $\gamma$  Konzentration im Median bei Nicht- Bauernkindern sehr viel höher.

Die insgesamt geringere Produktion von IFN- $\gamma$  nach Stimulation mit LPS könnte darauf zurückzuführen sein, dass LPS nicht das beste Stimulanz insbesondere für IFN- $\gamma$  ist. Eine Kombination von LPS und PHA (Phytohemagglutinin) könnte eine verlässlichere Zytokinproduktion bewirken (De Groote, Zangerle et al. 1992).

Die IL-12 Konzentration im Median unterschied sich zwischen Bauern- und Nicht-Bauernkindern nicht erheblich. Wir hätten bei Bauernkindern eine erhöhte Konzentration des TH-1 Zytokins IL-12 erwartet. Nur nach 24-stündiger Stimulation mit LPS zeigten die Bauernkinder einen dreifach höheren Median als bei Nicht- Bauernkindern.

#### TH-2 Zytokinprofil

Ausgehend von der Hygiene-Hypothese würden wir bei Nicht-Bauernkindern eine erhöhte TH2-Immunantwort erwartet. Das TH2-Zytokin IL-5 wird mit atopischen Erkrankungen, wie allergischem Asthma, allergischer Rhinitis oder Dermatitis assoziiert (Takazu 2004). Mazur et al. beobachtete jedoch, dass eine TH2-Zell-Dominanz nicht generell bei Kindern mit allergischen Erkrankungen, wie zum Beispiel der atopischen Dermatitis, vorzuherrschen scheint (Machura, Mazur et al. 2007).

In der vorliegenden Arbeit zeigte IL-5 im Median eine sehr ähnliche und sehr kleine Konzentration nach Stimulation mit P/I, LPS und SEB sowohl bei Bauern- als auch bei Nicht-Bauernkindern.

#### T-regulatorisches Zytokinprofil

Im Vergleich zu den Nicht-Bauernkindern hätten wir bei Bauernkindern auch höhere Werte des T-regulatorischen Zytokins IL-10 erwartet, welches bei der Unterdrückung einer TH2-Immunantwort eine entscheidende Rolle spielt (Stock, De Kruyff et al. 2006). Es fanden sich aber kaum Unterschiede im Median von IL-10 im Nabelschnurblut von Bauern- und Nicht-Bauernkindern. Nach LPS und SEB Stimulation zeigten sogar Nicht-Bauernkinder minimal höhere Werte.

Prokesova et al. zeigte zum Beispiel, dass die IL-10 Konzentration bei Kindern allergischer Mütter einige Tage nach der Geburt erhöht war (Prokesova, Lodinova-Zadnikova et al. 2006). Die erwartete TH1-dominante Immunantwort bei Bauernkindern und TH2- dominante Immunantwort bei Nicht-Bauernkindern konnte somit nicht eindeutig bestätigt werden.

### **5.3.2 Korrelation zu Atemwegserkrankungen**

Atemwegserkrankungen, vorwiegend durch virale Infektionen wie dem respiratory syncytial virus (RSV) verursacht, sind während des ersten Lebensjahres sehr häufig. Laut Long et al. infizieren sich mindestens 80% der Säuglinge bis zu ihrem zweiten Lebensjahr mit RSV, von denen aber nur 1% ins Krankenhaus eingewiesen und lediglich 0,1% stationär behandelt werden müssen (Long, Mc Bride et al. 1995).

Eine Assoziation zu respiratorischen Erkrankungen wurde bei geringem Geburtsgewicht, Frühgeburtlichkeit, männlichem Geschlecht, Kindern in Tagesgrippen und Kindern mit älteren Geschwistern gefunden (Simoes 2003; Vrijlandt, Boezen et al. 2007). Trotz dieser Risikofaktoren leiden manche Säuglinge sehr viel schwerer und häufiger an Atemwegserkrankungen als andere. Die Entwicklung des pränatalen und postnatalen Immunsystems mag Einfluss auf die klinische Immunantwort des Kindes gegenüber viralen und bakteriellen Pathogenen haben. In der vorliegenden Arbeit wurden folgende signifikante Korrelationen zwischen dem Zytokinsekretionsmuster aus Nabelschnurblut und postnatalen Atemwegserkrankungen bei Bauern- und Nichtbauernkindern gefunden:

#### **IFN- $\gamma$ und Atemwegserkrankungen**

Bei Nicht-Bauernkindern fanden wir ein erhöhtes Risiko an pfeifenden und keuchenden Atemgeräuschen zu erkranken, wenn IFN- $\gamma$  hohe Werte zeigte. Bei Bauernkindern ging eine hohe IFN- $\gamma$  Konzentration mit einem geringeren Risiko für Husten einher. Letzterer Zusammenhang konnte in mehrere Studien bestätigt werden (Friedlander, Jackson et al. 2005; Gern, Brooks et al. 2006; Ly, Rifas-Shiman et al. 2007). So beobachtete Ly et al., dass erhöhte IFN- $\gamma$  Werte bei Geburt mit einem reduziertem Risiko für akute Atemwegserkrankungen, wie Bronchiolitis, Bronchitis, Pneumonie und Krupp während des ersten Lebensjahres einhergehen. In einer Studie von Bont et al. konnte außerdem gezeigt werden, dass die Schwere der durch RSV Viren verursachten Bronchitis einen inversen Zusammenhang mit der IFN- $\gamma$  Sekretion aus PBMCs während einer akuten Infektion hat (Bont, Heijnen et al. 2001).

Wie in anderen Studien, die den Zusammenhang zwischen Zytokinen aus Nabelschnurblut und akuten unteren Atemwegserkrankungen im ersten Lebensjahr eruierten (Copenhaver, Gern et al. 2004; Ly, Rifas-Shiman et al. 2007), konnten auch wir keine Assoziation anderer anti-inflammatorischer Zytokine wie IL-12 oder dem T-regulatorischem Zytokin IL-10 zu Husten und anderen unteren Atemwegserkrankungen finden. Wir konnten auch keinen Zusammenhang zwischen dem pro-inflammatorischen Zytokin TNF- $\alpha$  und Atemwegserkrankungen während der ersten zwei Lebensmonate aufzeigen.

### IL-12 und Schnupfen

Entgegen unseren Erwartungen konnten wir bei Nicht-Bauernkindern einen positiven Zusammenhang zwischen Schnupfen und IL-12 finden. Bei dem anti-inflammatorischen Zytokin IL-12 hätten wir eine negative Korrelation zu Schnupfen erwartet. Bei viral getriggelter Rhinitis zeigte eine Studie von Klemens et al. im Nasensekret vor allem Zytokine vom TH1- Typ mit pro-inflammatorischen Eigenschaften (Klemens, Rasp et al. 2007).

### **5.3.3 Korrelation zu Hautveränderungen**

Mit einer Prävalenz von 15-20% bei Zweijährigen gehört die atopische Dermatitis zu den häufigsten Hautveränderungen des Kindes (Yssel, De Waal Malefyt et al. 1992; Bolte, Bischof et al. 2003). Hautausschläge, chronische oder intermittierende Hautveränderungen aufgrund kutaner Reaktion und Juckreiz gehören zu den ersten Manifestationsformen atopischer Erkrankungen im Kindesalter (Illi, von Mutius et al. 2001). Die Entwicklung atopischer Erkrankungen ist abhängig von einem komplexen Zusammenspiel genetischer Faktoren, umweltbedingter Exposition gegenüber Allergenen und nichtspezifischen Allergie-fördernden Faktoren.

Mit einem erhöhten Risiko für das Auftreten eines Ekzems während der Kindheit konnten fieberhafte Infektionen der Mutter während der Schwangerschaft, mütterliche virale Infektionen und Atemwegserkrankungen (McKeever, Lewis et al. 2002), pränatale Antibiotika-Einnahme (McKeever, Lewis et al. 2002; McKeever, Lewis et al. 2002) und Rauchen während der Schwangerschaft (Schafer, Dirschedl et al. 1997) in Verbindung gebracht werden. Die grundlegenden Mechanismen sind dabei aber noch unklar.

In der vorliegenden Arbeit konnten wir eine signifikante Korrelation von Hauterkrankungen innerhalb der ersten zwei Lebensmonate und dem Zytokinprofil im Nabelschnurblut nur bei Bauernkindern feststellen.



Bei Bauernkindern zeigte das anti- inflammatorische Zytokin IL-12 eine positive Korrelation zum Neugeborenenexanthem. Alle anderen Zytokine zeigten eine negative Korrelation zu Hautausschlag, Hautausschlag am Windelbereich oder anderen Hautveränderungen. Problematisch für die Auswertung ist, dass diese Hautveränderungen sowohl atopischer als auch nicht atopischer Genese sein können. In den Fragebögen wird zwar speziell nach atopischer Dermatitis gefragt, doch wurde der Fragebogen nicht vom Arzt mit genauer Diagnose sondern von den Müttern beantwortet.

In der aktuellen Literatur sind keine Studien über die Korrelation zwischen Zytokinsekretion aus Nabelschnurblut und nicht- atopischen Hauterkrankungen zu finden.

#### IFN- $\gamma$ und Hautausschlag am Windelbereich, Neugeborenenexanthem

Wie erwartet zeigten in der vorliegenden Arbeit hohe Werte von IFN- $\gamma$  im Nabelschnurblut eine geringere Assoziation zu Hautausschlag am Windelbereich und Neugeborenenexanthem bei Bauernkindern.

Mehrere Studien konnten einen inversen Zusammenhang zwischen einem TH1- Zytokinprofil bei Geburt und der Entwicklung atopischer Erkrankungen feststellen (Macaubas, de Klerk et al. 2003; Moore, Rifas-Shiman et al. 2004; Kurzius-Spencer, Halonen et al. 2005). Zum Beispiel beschrieb Macaubas et al. eine negative Korrelation zwischen IFN- $\gamma$  und TNF- $\alpha$  im Nabelschnurblut und atopischen Erkrankungen im Kindesalter. Auch Campbell et al. fand mehr Kinder mit atopischen Erkrankungen, wenn IFN- $\gamma$  weniger synthetisiert wurde (Campbell, Fryga et al. 1999).

#### IL-12 und Neugeborenenexanthem

Wie oben erwähnt konnten wir eine positive Korrelation zwischen dem anti-inflammatorischen Zytokin IL-12 und Neugeborenenexanthem bei Bauernkindern aufzeigen. Die Tatsache, dass IL-12, welches anti-inflammatorische Eigenschaften besitzt, eine positive Korrelation zum Neugeborenenexanthem aufweist, ist verwunderlich. Man sollte dabei aber beachten, dass IL-12 nur einen grenzwertig signifikanten Zusammenhang zum Neugeborenenexanthem darstellt.

## IL-5 und Neugeborenenexanthem

IL-5, welches als Schlüsselzytokin für allergische Erkrankungen angesehen wird (Wauwe 2000), könnte eine Ursache für allergische Ekzeme in der postnatalen Periode darstellen. Bei hohen IL-5 Werten fanden wir aber ein vermindertes Risiko an nicht-allergischem Neugeborenenexanthem zu erkranken. Es gab keine signifikante Korrelation zu allergischen Hauterkrankungen. Hohe Werte des T-regulatorischen Zytokins IL-10 Werte reduzierten das Risiko für Hautausschlag. Aktuelle Literatur über die Korrelation von IL-5 und IL-10 zu Hauterkrankungen ist nicht vorhanden.

In einer prospektiven Kohortenstudie konnten Sugiyama et al. Korrelationen zwischen dem Zytokinsekretionsmuster von IL-5, IL-17 und MCP-1 aus Nabelschnurblut und atopischer Dermatitis und Neugeborenenekzem herausfinden. Kinder mit Neugeborenenekzem zeigten signifikant erhöhte Konzentrationen von IL-5, IL-17 und MCP-1 (Sugiyama, Arakawa et al. 2007). Es wird angenommen, dass das pro-inflammatorische Zytokin IL-17, welches von TH1- und TH2-Lymphozyten produziert wird, die Aktivierung von Neutrophilen und Makrophagen stimuliert (Sergejeva, Ivanov et al. 2005). Darüber hinaus reguliert IL-17 die Expression adhäsiver Moleküle und Chemokine, welche eine aktive Rolle bei entzündlichen Hauterkrankungen spielen (Albanesi, Scarponi et al. 2000).

## TNF- $\alpha$ und andere Hauterkrankungen

In unserer Studie konnten zwischen dem pro-inflammatorischen Zytokin TNF- $\alpha$  und anderen Hautveränderungen negative Korrelationen aufgewiesen werden, wobei hier unklar bleibt ob diese atopischen oder nicht-atopischen Ursprungs sind. Macaubas et al. beispielsweise zeigte eine negative Korrelation zwischen dem pro-inflammatorischen Zytokin TNF- $\alpha$  und atopischer Dermatitis.

### **5.3.4 Korrelation zu anderen postnatalen Erkrankungen**

Daten der bisherigen Literatur widersprechen sich in der Ansicht über die neonatale Immunantwort gegenüber allgemein bekannten Pathogenen. Manche Autoren beschreiben eine Überproduktion von pro-inflammatorischen Zytokinen als Antwort auf infektiöse Stimuli, sowohl in vivo als auch in vitro (Nesin and Cunningham-Rundles 2000; Hebra, Strange et al. 2001; Dembinski, Behrendt et al. 2003; Dembinski, Behrendt et al. 2003). Eine Überproduktion von pro-inflammatorischen Zytokinen könnte eine Rolle bei der Morbidität und Mortalität der neonatalen Sepsis spielen.

Behrendt et al. besagt, dass die Produktion pro-inflammatorischer Zytokine wie TNF- $\alpha$ , IL-6 und IL-1 $\beta$  im Nabelschnurblut nach LPS Stimulierung mit dem Gestationsalter korrelieren könnte (Dembinski, Behrendt et al. 2003). Die Produktion pro-inflammatorischer Zytokine von Nabelschnurblut war in einer anderen Studie erstens pathogenabhängig und zweitens höher als bei der Erwachsenen-Kontrollgruppe (Mohamed, Cunningham-Rundles et al. 2007). Andere beschreiben keine oder sogar eine verringerte Produktion von pro-inflammatorischen Zytokinen im Nabelschnurblut während einer Infektion im Vergleich zu Erwachsenen (Rowen, Smith et al. 1995; Berner, Welter et al. 2002).

Insgesamt werden in der aktuellen Literatur keine Zusammenhänge von Zytokinen in Nabelschnurblut und banalen postnatalen Erkrankungen beschrieben.

Signifikante Zusammenhänge zu banalen Infektionen zeigten in der vorliegenden Arbeit bei Bauern- und Nicht-Bauernkindern unterschiedliche Korrelationen und unterschiedliche Zytokine:

#### Bindehaut- und Tränenkanalentzündung

Nicht-Bauernkinder wiesen eine positive Korrelation zu Bindehaut- und Tränenkanalentzündung auf, wenn TNF- $\alpha$  erhöhte Werte zeigte. Das pro-inflammatorische Zytokin TNF- $\alpha$  scheint also bei Nicht-Bauernkindern das Risiko für Erkrankungen wie Bindehaut- und Tränenkanalentzündung zu erhöhen. Dies wurde bis jetzt nur bei schweren Erkrankungen, wie der early onset Infektion, beschrieben. Kashlan et al. beobachtete zum Beispiel eine Assoziation von erhöhten Konzentrationen vom pro-inflammatorischen Zytokin IL-6 im Nabelschnurblut mit early onset Infektionen bei Frühgeborenen (Kashlan, Smulian et al. 2000). Dagegen konnten in der vorliegenden Studie bei Nicht-Bauernkindern protektive Effekte von TNF- $\alpha$  für sonstige Erkrankungen nach der zweiten Lebenswoche gefunden werden. Hohe TNF- $\alpha$  Werte bei Geburt scheinen unabhängig vom Bauernstatus auch vor Neugeborenen-Ikterus zu schützen.

Bauernkinder dagegen, deren Mütter einer erhöhten Exposition von Allergenen und Mikroorganismen ausgesetzt sind, hatten ein erhöhtes Erkrankungsrisiko für Bindehaut- und Tränenkanalentzündung, wenn das TH2- Zytokin IL-5 geringe Werte aufwies. Sie erkrankten ab der zweiten Lebenswoche signifikant häufiger an Bindehaut- und Tränenkanalentzündung, wenn sowohl das pro-inflammatorische Zytokin TNF- $\alpha$ , als auch das TH2-Zytokin IL-5 niedrige Werte zeigten. Niedrige IL-5 Konzentrationen bei Bauernkindern gingen außerdem auch mit einem erhöhten Risiko einher, an sonstigen fieberhaften Infekten zu erkranken.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen einen vorwiegend protektiven Effekt auf postnatale Erkrankungen wie Bindehaut- und Tränenkanalentzündung, Neugeborenen-Ikterus, und sonstige fieberhafte Infekte bei Bauernkindern, wenn sowohl TH1-, TH2- und T-regulatorische, als auch pro-inflammatorische Zytokine positive Werte zeigten. Bei Nicht-Bauernkindern waren es nur die TH1-Zytokine, die vorwiegend schützend wirkten.

Die Hypothese, dass anti-inflammatorische TH1-Zytokine wie IFN- $\gamma$  und IL-12 vor infektiösen Erkrankungen schützen, kann folglich eher aus den Ergebnissen der Nicht-Bauernkinder abgeleitet werden. Man sollte bei der Interpretation auch beachten, dass das TH1/ TH2-System des Neugeborenen bisher vorwiegend bei Nicht-Bauernkindern untersucht worden ist.

Wichtige Einflüsse für die Entwicklung des Immunsystems des Bauernkindes stellen sicherlich auch Ernährungsgewohnheiten, die Häufigkeit des Stallaufenthaltes, der Kontakt zum Vieh und Umwelteinflüsse dar. Um den pränatalen Einfluss dieser Umweltfaktoren auf die Zytokinsynthese der Bauernkinder und um den Einfluss der Zytokinsekretion bei Geburt auf postnatale Erkrankungen besser verstehen zu können, sollten weitere Untersuchungen vorgenommen werden.

## Zusammenfassung

Die Konfrontation des Immunsystems mit einem definierten Antigen löst eine spezifische Immunantwort aus. Daran beteiligt sind die T- Helfer (TH) Zellen, die anhand der von ihnen sezernierten Zytokine in TH1-, TH2- und T-regulatorische Zellen unterschieden werden können. In der vorliegenden Arbeit werden die TH1- typischen Zytokine IL-12, IFN- $\gamma$ , und TNF- $\alpha$ , das TH2- typische Zytokin IL-5 und das typische T- regulatorischen Zytokin IL-10 untersucht.

Die Auseinandersetzung des Immunsystems mit mikrobiellen Antigenen scheint bereits in utero das kindliche Immunsystem zu beeinflussen. Durch den ungleichen Kontakt zu Umweltfaktoren der Mutter könnte es bei Bauern- und Nicht-Bauernkindern zu verschiedenen Immunreaktionen auf mikrobielle Antigene kommen. Bisherige Studien zeigen keine Zusammenhänge vom Zytokinsekretionsmuster aus Nabelschnurblut auf banale postnatale Erkrankungen. Da klinische sowie laborchemische Parameter für die Diagnostik postnataler Erkrankungen häufig nicht genügend aussagekräftig sind, ist es Ziel der vorliegenden Arbeit herauszufinden, erstens ob sich das Zytokinsekretionsmuster im Nabelschnurblut der Bauern- und Nicht-Bauernkinder bei Geburt nach Stimulation mit verschiedenen Antigenen unterscheidet und zweitens wie die unterschiedlichen Zytokine Einfluss auf postnatale Erkrankungen in den ersten zwei Lebensmonaten haben.

In einer prospektiven Kohortenstudie wurde im ersten Schritt das Zytokinsekretionsmuster der oben genannten TH1, TH2 und T- regulatorischen Zellen aus Nabelschnurblut von Bauern- und Nicht- Bauernkindern nach Stimulation mit LPS, P/I und PMA analysiert. In einem zweiten Schritt sollte untersucht werden, ob sich ein signifikanter Zusammenhang der Zytokine mit infektiösen Erkrankungen innerhalb der ersten zwei Lebensmonate zeigen lässt.

### Methoden:

Für die vorliegende Arbeit stand eine Subpopulation von 65 Bauernkindern und 81 Nicht-Bauernkindern zur Verfügung, die im Rahmen der PASTURE- Studie rekrutiert wurden. Vollblut aus Nabelschnurblut wurde innerhalb von 24 Stunden mit P/I, LPS und PMA stimuliert. Nach 24 und 48 Stunden Inkubationszeit wurden die Überstände abgenommen und mittels ELISA das Sekretionsmuster der Zytokine IL-5, IL-10, IL-12, IFN- $\gamma$  und TNF- $\alpha$  bestimmt.

Die postnatale Infektionsrate des Kindes wurde anhand eines Fragebogens für den zweiten Lebensmonat eruiert. Es wurden Fragen zum Gesundheitszustand des Kindes, seine

Lebensumstände, seine Ernährung und andere Umweltfaktoren innerhalb der ersten zwei Lebensmonate gestellt.

Ergebnisse:

Bei Bauernkindern konnten nach SEB und P/I Stimulation ein TH1- Zytokinprofil mit erheblich höheren Konzentrationen von IFN- $\gamma$  und TNF- $\alpha$  nachgewiesen werden. Wohingegen nach LPS Stimulation Nicht-Bauernkinder höhere Konzentrationen von IFN- $\gamma$  und TNF- $\alpha$  im Nabelschnurblut aufwiesen.

IL-5, IL-10 und IL-12 zeigten insgesamt sehr geringe Konzentrationen im Nabelschnurblut sowohl bei Bauern- als auch bei Nicht-Bauernkindern. So konnte wider Erwarten kein TH2- Zytokinprofil bei Nicht- Bauernkindern festgestellt werden.

Die postnatalen Erkrankungen wurden zur besseren Übersicht in Atemwegserkrankungen, Hauterkrankungen und sonstige Erkrankungen eingeteilt. Insgesamt konnte eine vermehrte Korrelation der Zytokine zu postnatalen Erkrankungen bei Bauernkindern aufgewiesen werden. Hierbei hatten sowohl TH1-, TH2- als auch T-regulatorische Zytokine vor allem einen protektiven Einfluss auf postnatale Erkrankungen. Signifikante Korrelationen zu postnatalen Erkrankungen zeigten bei Nicht- Bauernkindern ausschließlich TH1- Zytokine, wobei diese sowohl negative als auch positive Korrelationen vorwiesen.

Statistisch signifikante Korrelationen bei Nicht-Bauern- und Bauernkindern wurden im Folgenden aufgeführt:

Nicht-Bauernkinder wiesen für TNF- $\alpha$  eine positive Korrelation (OR > 1) zu Binde- und Tränenkanalentzündungen auf. Positiv korrelierte auch IL-12 mit Schnupfen. Dagegen zeigten negative Korrelationen (OR < 1) TNF- $\alpha$  und Ikterus, IFN- $\gamma$  und pfeifende, keuchende Atemgeräusche, TNF- $\alpha$  und Erstmanifestation eines Exanthems in Wochen und TNF- $\alpha$  und sonstige Erkrankungen ab der zweiten Lebenswoche.

Bei Bauernkindern korrelierte IL-12 positiv mit Neugeborenenexanthem. Negativ korrelierte IL-5 mit Bindehaut- und Tränenkanalentzündung, Neugeborenenexanthem und sonstigen fieberhaften Infekten, IL-10 mit Hautausschlag, IL-12 mit sonstigen Erkrankungen, IFN- $\gamma$  mit Brustdrüenschwellung, Husten, Neugeborenenexanthem und Hautausschlag am Windelbereich, und TNF- $\alpha$  mit Ikterus, anderen Hautveränderungen und Bindehaut- und Tränenkanalentzündung.

#### Schlussfolgerung:

- Die Detektion der Zytokine im Vollblut war mittels ELISA gut möglich. Außer IL-5 nach 24- stündiger LPS Stimulierung konnten alle Zytokine nachgewiesen werden.
- Bei Bauernkindern konnten höhere Konzentrationen von IFN- $\gamma$  und TNF- $\alpha$  im Nabelschnurblut nach SEB und P/I Stimulation nachgewiesen werden.
- Es gab kein TH2- dominantes Zytokinprofil bei Nicht- Bauernkindern im Nabelschnurblut.
- Ein vor postnatalen Erkrankungen schützendes TH1- Profil konnte sowohl bei Bauern- als auch bei Nicht-Bauernkinder für IFN- $\gamma$  gefunden werden.
- Die Korrelationen zu postnatalen Erkrankungen sind teilweise unerwartet. Beispielsweise ist eine positive Korrelation zwischen dem anti- inflammatorischen Zytokin IL-12 und Neugeborenenexanthem und eine negativen Korrelation von IL-5 und fieberhaften Infekten bei Bauernkindern gefunden worden.
- Um den Zusammenhang der Zytokine im Nabelschnurblut von Bauern- und Nicht-Bauernkindern mit banalen postnatalen Erkrankungen besser verstehen zu können und das Zytokinsekretionsmuster als prognostischen Marker ansehen zu können, sind weitere Studien notwendig.

## Quellenverzeichnis

- Abbas, A. (2003). "The control of T cell activation vs. tolerance." Autoimmun Rev **2(3)**: 115-8.
- Adkins, B. (1999). "T-cell function in newborn mice and humans." Immunol Today **20(7)**: 330-5.
- Adkins, B., C. Leclerc, et al. (2004). "Neonatal adaptive immunity comes of age." Nat Rev Immunol **4(7)**: 553-64.
- Albanesi, C., C. Scarponi, et al. (2000). "Interleukin-17 is produced by both Th1 and Th2 lymphocytes, and modulates interferon-gamma- and interleukin-4-induced activation of human keratinocytes." J Invest Dermatol **115(1)**: 81-7.
- Asher, M. I., S. Montefort, et al. (2006). "Worldwide time trends in the prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and eczema in childhood: ISAAC Phases One and Three repeat multicountry cross-sectional surveys." Lancet **368(9537)**: 733-43.
- Bach, J. F. (2002). "The effect of infections on susceptibility to autoimmune and allergic diseases." N Engl J Med **347(12)**: 911-20.
- Baecher-Allan, C. and D. A. Hafler (2006). "Human regulatory T cells and their role in autoimmune disease." Immunol Rev **212**: 203-16.
- Berner, R., P. Welter, et al. (2002). "Cytokine expression of cord and adult blood mononuclear cells in response to Streptococcus agalactiae." Pediatr Res(51(3)): 304-9.
- Bohjanen, P. R., M. Okajima, et al. (1990). "Differential regulation of interleukin 4 and interleukin 5 gene expression: a comparison of T-cell gene induction by anti-CD3 antibody or by exogenous lymphokines." Proc Natl Acad Sci USA(87): 5283-7.
- Bolte, G., W. Bischof, et al. (2003). "Early endotoxin exposure and atopy development in infants: results of a birth cohort study." Clin Exp Allergy **33(6)**: 770-6.
- Bonnelykke, K., C. B. Phipper, et al. (2008). "Sensitization does not develop in utero." J Allergy Clin Immunol **121(3)**: 646-51.
- Bont, L., C. J. Heijnen, et al. (2001). "Local interferon-gamma levels during respiratory syncytial virus lower respiratory tract infection are associated with disease severity." J Infect Dis **184(3)**: 355-8.
- Borghesi, L. and C. Milcarek (2006). "From B cell to plasma cell: regulation of V(D)J recombination and antibody secretion." Immunol Res **36(1-3)**: 27-32.
- Broide, D. H. (2008). "Immunologic and inflammatory mechanisms that drive asthma progression to remodeling." J Allergy Clin Immunol **121(3)**: 560-70; quiz 571-2.
- Burg, N. D. and M. H. Pillinger (2001). "The neutrophil: function and regulation in innate and humoral immunity." Clin Immunol **99(1)**: 7-17.
- Busse, W. W. and L. J. Rosenwasser (2003). "Mechanisms of asthma." J Allergy Clin Immunol **111(3 Suppl)**: S799-804.
- Calder, P. C., S. Krauss-Etschmann, et al. (2006). "Early nutrition and immunity - progress and perspectives." Br J Nutr **96(4)**: 774-90.
- Campbell, D. E., A. S. Fryga, et al. (1999). "Intracellular interferon-gamma (IFN-gamma) production in normal children and children with atopic dermatitis." Clin Exp Immunol **115(3)**: 377-82.
- Chipeta, J., Y. Komada, et al. (2000). "Neonatal (cord blood) T cells can competently raise type 1 and 2 immune responses upon polyclonal activation." Cell Immunol **205(2)**: 110-9.
- Chirico, G., R. Maccario, et al. (1990). "Natural killer cell activity in preterm infants: effect of intravenous immune globulin administration." J Pediatr **117(3)**: 465-6.
- Conti, P., D. Kempuraj, et al. (2003). "IL-10, an inflammatory/inhibitory cytokine, but not always." Immunol Lett.(86(2)): 123-9.



- Copenhaver, C. C., J. E. Gern, et al. (2004). "Cytokine response patterns, exposure to viruses, and respiratory infections in the first year of life." Am J Respir Crit Care Med **170**(2): 175-80.
- Cowell, R. M., J. M. Plane, et al. (2003). "Complement activation contributes to hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats." J Neurosci **23**(28): 9459-68.
- Curti, A., A. Tafuri, et al. (2002). "Interleukin-11 induces proliferation of human T-cells and its activity is associated with downregulation of p27(kip1)." Haematologica **87**(4): 373-80.
- De Groote, D., P. F. Zangerle, et al. (1992). "Direct stimulation of cytokines (IL-1 beta, TNF-alpha, IL-6, IL-2, IFN-gamma and GM-CSF) in whole blood. I. Comparison with isolated PBMC stimulation." Cytokine. 239-48;239-48 **4**(6)(4(3)): 239-48.
- de Waal Malefyt, R., J. Abrams, et al. (1991). "10(IL-10) inhibits cytokine synthesis by human monocytes: an autoregulatory role of IL-10 produced by monocytes." J Exp Med.(174(5)): 1209-20.
- Del Prete, G., M. De Carli, et al. (1993). "Human IL-10 is produced by both type 1 helper (Th1) and type 2 helper (Th2) T cell clones and inhibits their antigen-specific proliferation and cytokine production." J Immunol(150(2)): 353-60.
- Della Bella, S., S. Nicola, et al. (2004). "Functional repertoire of dendritic cells generated in granulocyte macrophage-colony stimulating factor and interferon-alpha." J Leukoc Biol **75**(1): 106-16.
- Dembinski, J., D. Behrendt, et al. (2003). "Neonatal inflammatory response." Pediatr Res **53**(5): 866; author reply 866-8.
- Dembinski, J., D. Behrendt, et al. (2003). "Modulation of pro- and anti-inflammatory cytokine production in very preterm infants." Cytokine **21**(4): 200-6.
- Detournay, O., N. Mazouz, et al. (2005). "IL-6 produced by type I IFN DC controls IFN-gamma production by regulating the suppressive effect of CD4+ CD25+ regulatory T cells." Hum Immunol **66**(5): 460-8.
- Devereux, G., A. Seaton, et al. (2001). "In utero priming of allergen-specific helper T cells." Clin Exp Allergy **31**(11): 1686-95.
- Dodge, I. L., M. W. Carr, et al. (2003). "IL-6 production by pulmonary dendritic cells impedes Th1 immune responses." J Immunol **170**(9): 4457-64.
- Dorner, T. and A. Radbruch (2007). "Antibodies and B cell memory in viral immunity." Immunity **27**(3): 384-92.
- Ege, M. J., C. Bieli, et al. (2006). "Prenatal farm exposure is related to the expression of receptors of the innate immunity and to atopic sensitization in school-age children." J Allergy Clin Immunol **117**(4): 817-23.
- Ege, M. J., I. Herzum, et al. (2008). "Prenatal exposure to a farm environment modifies atopic sensitization at birth." J Allergy Clin Immunol **122**(2): 407-12, 412 e1-4.
- Emonts, M., R. H. Veenhoven, et al. (2000). "Genetic polymorphisms in immunoresponse genes TNFA, IL6, IL10, and TLR4 are associated with recurrent acute otitis media." Pediatrics(120(4)): 814-23.
- Fabbri, M., C. Smart, et al. (2003). "T lymphocytes." Int J Biochem Cell Biol **35**(7): 1004-8.
- Farrar, J. D., H. Asnagli, et al. (2002). "T helper subset development: roles of instruction, selection, and transcription." J Clin Invest **109**(4): 431-5.
- Friedlander, S. L., D. J. Jackson, et al. (2005). "Viral infections, cytokine dysregulation and the origins of childhood asthma and allergic diseases." Pediatr Infect Dis J **24**(11 Suppl): S170-6, discussion S174-5.
- Gabrielsson, S., A. Soderlund, et al. (2001). "Influence of atopic heredity on IL-4-, IL-12- and IFN-gamma-producing cells in in vitro activated cord blood mononuclear cells." Clin Exp Immunol **126**(3): 390-6.
- Garn, H. and H. Renz (2007). "Epidemiological and immunological evidence for the hygiene hypothesis." Immunobiology **212**(6): 441-52.

- Gasparoni, A., L. Ciardelli, et al. (2003). "Age-related changes in intracellular TH1/TH2 cytokine production, immunoproliferative T lymphocyte response and natural killer cell activity in newborns, children and adults." Biol Neonate **84**(4): 297-303.
- Gattoni, A., A. Parlato, et al. (2006). "Interferon-gamma: biologic functions and HCV therapy (type I/II) (1 of 2 parts)." Clin Ter **157**(4): 377-86.
- Gern, J. E., G. D. Brooks, et al. (2006). "Bidirectional interactions between viral respiratory illnesses and cytokine responses in the first year of life." J Allergy Clin Immunol **117**(1): 72-8.
- Gleich, G. J. (2000). "Mechanisms of eosinophil-associated inflammation." J. Allergy Clin. Immunol.(105): 651.
- Haddad, J. J., N. E. Saade, et al. (2003). "Interleukin-10 and the regulation of mitogen-activated protein kinases: are these signalling modules targets for the anti-inflammatory action of this cytokine?" Cell Signal.(15(3)): 255-67.
- Halonen, M., I. C. Lohman, et al. (2009). "Th1/Th2 patterns and balance in cytokine production in the parents and infants of a large birth cohort." J Immunol **182**(5): 3285-93.
- Han, P. and G. Hodge (1999). "Intracellular cytokine production and cytokine receptor interaction of cord mononuclear cells: relevance to cord blood transplantation." Br J Haematol.(107(2)): 450-7.
- Hebra, A., P. Strange, et al. (2001). "Intracellular cytokine production by fetal and adult monocytes." J Pediatr Surg **36**(9): 1321-6.
- Hodge, G., S. Hodge, et al. (2000). "Increased levels of apoptosis of leukocyte subsets in cultured PBMCs compared to whole blood as shown by Annexin V binding: relevance to cytokine production." Cytokine(12(12)): 1763-8.
- Holzl, M. A., J. Hofer, et al. (2008). "Host antimicrobial proteins as endogenous immunomodulators." Immunol Lett **119**(1-2): 4-11.
- Horita, H., E. Kuroda, et al. (2007). "[Role of cytokine in implantation and maintenance of pregnancy]." J Uoeh **29**(3): 291-302.
- Illi, S., E. von Mutius, et al. (2001). "Early childhood infectious diseases and the development of asthma up to school age: a birth cohort study." Bmj **322**(7283): 390-5.
- Illi, S., E. von Mutius, et al. (2001). "The pattern of atopic sensitization is associated with the development of asthma in childhood." J Allergy Clin Immunol **108**(5): 709-14.
- Iwama, T., H. Nagai, et al. (1993). "Effect of murine recombinant interleukin-5 on bronchial reactivity in guinea-pigs." Clin Exp Allergy **23**(1): 32-8.
- Iwasaki, A. and R. Medzhitov (2004). "Toll-like receptor control of the adaptive immune responses." Nat Immunol **5**(10): 987-95.
- Izcue, A., J. L. Coombes, et al. (2006). "Regulatory T cells suppress systemic and mucosal immune activation to control intestinal inflammation." Immunol Rev(212): 256-271.
- Janeway, C., M. Walport, et al. (2005). Immunologie.
- Janeway C., T. P., Walport M., Shlomchik M. (2002). Immunologie, Spektrum Akademischer Verlag.
- Janeway, C. A., Jr. and R. Medzhitov (2002). "Innate immune recognition." Annu Rev Immunol **20**: 197-216.
- Joffre, O., M. A. Nolte, et al. (2009). "Inflammatory signals in dendritic cell activation and the induction of adaptive immunity." Immunol Rev **227**(1): 234-47.
- Joyner, J. L., N. H. Augustine, et al. (2000). "Effects of group B streptococci on cord and adult mononuclear cell interleukin-12 and interferon-gamma mRNA accumulation and protein secretion." J Infect Dis **182**(3): 974-7.
- Kaan, A., H. Dimich-Ward, et al. (2000). "Cord blood IgE: its determinants and prediction of development of asthma and other allergic disorders at 12 months." Ann Allergy Asthma Immunol **84**(1): 37-42.

- Kaiko, G. E., J. C. Horvat, et al. (2008). "Immunological decision-making: how does the immune system decide to mount a helper T-cell response?" Immunology **123**(3): 326-38.
- Kashlan, F., J. Smulian, et al. (2000). "Umbilical vein interleukin 6 and tumor necrosis factor alpha plasma concentrations in the very preterm infant." Pediatr Infect Dis J **19**(3): 238-43.
- Kidd, P. (2003). "Th1/Th2 balance: the hypothesis, its limitations, and implications for health and disease." Altern Med Rev **8**(3): 223-46.
- Kim, J. M. and A. Rudensky (2006). "The role of the transcription factor Foxp3 in the development of regulatory T cells." Immunol Rev **212**: 86-98.
- Klemens, C., G. Rasp, et al. (2007). "Mediators and cytokines in allergic and viral-triggered rhinitis." Allergy Asthma Proc **28**(4): 434-41.
- Kondo, N., Y. Kobayashi, et al. (1998). "Reduced interferon gamma production by antigen-stimulated cord blood mononuclear cells is a risk factor of allergic disorders--6-year follow-up study." Clin Exp Allergy.(28(11)): 1313-6.
- Kurzius-Spencer, M., M. Halonen, et al. (2005). "Prenatal factors associated with the development of eczema in the first year of life." Pediatr Allergy Immunol **16**(1): 19-26.
- Lee, G. and M. Gilman (1994). "Dual modes of control of c-fos mRNA induction by intracellular calcium in T cells." Mol Cell Biol.(14(7)): 4579-87.
- Levy, O. (2007). "Innate immunity of the newborn: basic mechanisms and clinical correlates." Nat Rev Immunol **7**(5): 379-90.
- Lin, P. L., H. L. Plessner, et al. (2007). "Tumor necrosis factor and tuberculosis." J Investig Dermatol Symp Proc **12**(1): 22-5.
- Long, C. E., J. T. Mc Bride, et al. (1995). "Sequelae of respiratory syncytial virus infections. A role for intervention studies." J Respir Crit Care Med. **151**(5): 1678-80.
- Ly, N. P., S. L. Rifas-Shiman, et al. (2007). "Cord blood cytokines and acute lower respiratory illnesses in the first year of life." Pediatrics **119**(1): e171-8.
- Macaubas, C., N. H. de Klerk, et al. (2003). "Association between antenatal cytokine production and the development of atopy and asthma at age 6 years." Lancet **362**(9391): 1192-7.
- Machura, E., B. Mazur, et al. (2007). "Intracellular production of IL-2, IL-4, IFN-gamma, and TNF-alpha by peripheral blood CD3+ and CD4+ T cells in children with atopic dermatitis." Eur J Pediatr **166**(8): 789-95.
- Male D. (2005). Immunologie auf eine Blick, Urban & Fisher.
- Marchant, A. and M. Goldman (2005). "T cell-mediated immune responses in human newborns: ready to learn?" Clin Exp Immunol **141**(1): 10-8.
- Marks, G. B., J. Zhou, et al. (2002). "Cord blood mononuclear cell cytokine responses in relation to maternal house dust mite allergen exposure." Clin Exp Allergy.(32(3)): 355-60.
- Marodi, L. (2006). "Neonatal innate immunity to infectious agents." Infect Immun **74**(4): 1999-2006.
- Marodi, L., P. C. Leijh, et al. (1985). "Opsonic activity of cord blood sera against various species of microorganism." Pediatr Res **19**(5): 433-6.
- Matthews, N. C., M. Wadhwa, et al. (2000). "Sustained expression of CD154 (CD40L) and proinflammatory cytokine production by alloantigen-stimulated umbilical cord blood T cells." J. Immunol(164): 6206-6212.
- Mc Heyzer-Williams, M. G. (1989). "Combinations of interleukins 2, 4 and 5 regulate the secretion of murine immunoglobulin isotypes." Eur J Immunol.(19(11)): 2025-30.
- McKeever, T. M., S. A. Lewis, et al. (2002). "Early exposure to infections and antibiotics and the incidence of allergic disease: a birth cohort study with the West Midlands General Practice Research Database." J Allergy Clin Immunol **109**(1): 43-50.

- McKeever, T. M., S. A. Lewis, et al. (2002). "The importance of prenatal exposures on the development of allergic disease: a birth cohort study using the West Midlands General Practice Database." *Am J Respir Crit Care Med* **166**(6): 827-32.
- McNamara, P. S., B. F. Flanagan, et al. (2005). "Production of chemokines in the lungs of infants with severe respiratory syncytial virus bronchiolitis." *J Infect Dis* **191**(8): 1225-32.
- Medzhitov, R. (2001). "Toll-like receptors and innate immunity." *Nat Rev Immunol* **1**(2): 135-45.
- Metzger, D. W., J. M. Buchanan, et al. (1996). "Enhancement of humoral immunity by interleukin-12." *Ann N Y Acad Sci* **795**: 100-15.
- Meylan, E., J. Tschopp, et al. (2006). "Intracellular pattern recognition receptors in the host response." *Nature* **442**(7098): 39-44.
- Michaelsson, J., J. E. Mold, et al. (2006). "Regulation of T cell responses in the developing human fetus." *J Immunol* **176**(10): 5741-8.
- Miles, E. A., L. Bakewell, et al. (2003). "Production of lymphocyte-derived cytokines by whole umbilical cord blood cultures stimulated with mitogens and allergens." *Cytokine* **21**(2): 74-83.
- Mingari, M. C., E. Maggi, et al. (1996). "Development in vitro of human CD4+ thymocytes into functionally mature Th2 cells. Exogenous interleukin-12 is required for priming thymocytes to produce both Th1 cytokines and interleukin-10." *Eur J Immunol* **26**(5): 1083-7.
- Mohamed, M. A., S. Cunningham-Rundles, et al. (2007). "Levels of pro-inflammatory cytokines produced from cord blood in-vitro are pathogen dependent and increased in comparison to adult controls." *Cytokine* **39**(3): 171-7.
- Moore, K. W., R. de Waal Malefyt, et al. (2001). "Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor." *Annu Rev Immunol*(19): 683-765.
- Moore, M. M., S. L. Rifas-Shiman, et al. (2004). "Perinatal predictors of atopic dermatitis occurring in the first six months of life." *Pediatrics* **113**(3 Pt 1): 468-74.
- Morein, B., I. Abusugra, et al. (2002). "Immunity in neonates." *Vet Immunol Immunopathol* **87**(3-4): 207-13.
- Morein, B., G. Blomqvist, et al. (2007). "Immune responsiveness in the neonatal period." *J Comp Pathol* **137 Suppl 1**: S27-31.
- Mori A, O. H., Kobayashi N, Akiyama K. (2001). "Selective regulation of T cell IL-5 synthesis by OM-01, JTE-711 and p38 MAP kinase inhibitor: independent control of Th2 cytokines, IL-4 and IL-5." *Int Arch Allergy Immunol* **124**(1-3): 172-5.
- Mullen, A. C., F. A. High, et al. (2001). "Role of T-bet in commitment of TH1 cells before IL-12-dependent selection." *Science* **292**(5523): 1907-10.
- Murphy, K. M., Ouyang, W, Farrar JD (2000). "Signaling and transcription in T helper development." *Annu Rev Immunol* **18**: 451-94.
- Neaville, W. A., C. Tisler, et al. (2003). "Developmental cytokine response profiles and the clinical and immunologic expression of atopy during the first year of life." *J Allergy Clin Immunol* **112**(4): 740-6.
- Nesin, M. and S. Cunningham-Rundles (2000). "Cytokines and neonates." *Am J Perinatol* **17**(8): 393-404.
- Nilsson, C., A. Linde, et al. (2005). "Does early EBV infection protect against IgE sensitization?" *Allergy clin Immunol* **116**: 438-44.
- Pelosi, U., G. Porcedda, et al. (2005). "The inverse association of salmonellosis in infancy with allergic rhinoconjunctivitis and asthma at school-age: a longitudinal study." *Allergy* **60**(5): 626-30.
- Petrova, A. and R. Mehta (2007). "Dysfunction of innate immunity and associated pathology in neonates." *Indian J Pediatr* **74**(2): 185-91.

- Piguet, P. F., G. E. Grau, et al. (1992). "Evolution of collagen arthritis in mice is arrested by treatment with anti-tumour necrosis factor (TNF) antibody or a recombinant soluble TNF receptor." *Immunology*(77): 510-4.
- Portielje J.E., L. C. H., Kruit W.H., Sparreboom A., Bolhuis R.L., Stoter G., Huber C. and Gratama J. W. (2003). "Repeated administration of IL-12 are associated with persistently elevated plasma levels of IL-10 and declining levels of IFN gamma, Tumor necrosis factor alpha, IL-6 and IL 9 responses." *Clin cancer Res*(9): 76-83.
- Prescott, S. L., C. Macaubas, et al. (1999). "Development of allergen-specific T-cell memory in atopic and normal children." *Lancet* **353**(9148): 196-200.
- Pretolani, M. and M. Goldman (1997). "IL-10: a potential therapy for allergic inflammation?" *Immunol Today* **18**(6): 277-80.
- Prokesova, L., R. Lodinova-Zadnikova, et al. (2006). "Cytokine levels in healthy and allergic mothers and their children during the first year of life." *Pediatr Allergy Immunol* **17**(3): 175-83.
- Raghupathy, R. (2001). "Pregnancy: success and failure within the Th1/Th2/Th3 paradigm." *Semin Immunol* **13**(4): 219-27.
- Reis e Sousa, C. (2001). "Dendritic cells as sensors of infection." *Immunity* **14**(5): 495-8.
- Riedler, J., C. Braun-Fahrlander, et al. (2001). "Exposure to farming in early life and development of asthma and allergy: a cross-sectional survey." *Lancet* **358**(9288): 1129-33.
- Roach, D. R., A. G. Bean, et al. (2002). "TNF regulates chemokine induction essential for cell recruitment, granuloma formation, and clearance of mycobacterial infection." *J Immunol* **168**(9): 4620-7.
- Romagnani, S. (2004). "Immunologic influences on allergy and the TH1/TH2 balance." *J Allergy Clin Immunol* **113**(3): 395-400.
- Roncarolo, M. G., S. Gregori, et al. (2006). "Interleukin-10-secreting type 1 regulatory T cells in rodents and humans." *Immunol Rev* **212**: 28-50.
- Rouse, B. T., P. P. Sarangi, et al. (2006). "Regulatory T cells in virus infections." *Immunol Rev* **121**: 272-286.
- Rowen, J. L., C. W. Smith, et al. (1995). "Group B streptococci elicit leukotriene B4 and interleukin-8 from human monocytes: neonates exhibit a diminished response." *J Infect Dis* **172**(2): 420-6.
- Sakaguchi, S., M. Ono, et al. (2006). "Foxp3+ CD25+ CD4+ natural regulatory T cells in dominant self-tolerance and autoimmune disease." *Immunol Rev* **212**: 8-27.
- Schafer, T., P. Dirschedl, et al. (1997). "Maternal smoking during pregnancy and lactation increases the risk for atopic eczema in the offspring." *J Am Acad Dermatol.* **36**(4): 550-6.
- Schaub, B., R. Lauener, et al. (2006). "The many faces of the hygiene hypothesis." *J Allergy Clin Immunol* **117**(5): 969-77; quiz 978.
- Schottelius, A. J., L. L. Moldawer, et al. (2004). "Biology of tumor necrosis factor-alpha-implications for psoriasis." *Exp Dermatol* **13**(4): 193-222.
- Scirica, C. V., D. R. Gold, et al. (2007). "Predictors of cord blood IgE levels in children at risk for asthma and atopy." *J Allergy Clin Immunol* **119**(1): 81-8.
- Sergejeva, S., S. Ivanov, et al. (2005). "Interleukin-17 as a recruitment and survival factor for airway macrophages in allergic airway inflammation." *Am J Respir Cell Mol Biol* **33**(3): 248-53.
- Siegrist, C. A. (2007). "The challenges of vaccine responses in early life: selected examples." *J Comp Pathol* **137 Suppl 1**: S4-9.
- Simoes, E. A. (2003). "Environmental and demographic risk factors for respiratory syncytial virus lower respiratory tract disease." *J Pediatr.*(143(5 Suppl)): S118-26.

- Smillie, F. I., A. J. Elderfield, et al. (2001). "Lymphoproliferative responses in cord blood and at one year: no evidence for the effect of in utero exposure to dust mite allergens." Clin Exp Allergy **31**(8): 1194-204.
- Staros, E. B. (2005). "Innate immunity: New approaches to understanding its clinical significance." Am J Clin Pathol **123**(2): 305-12.
- Stock, P., R. H. De Kruyff, et al. (2006). "Inhibition of the allergic response by regulatory T cells." Curr Opin Allergy Clin Immunol **6**(1): 12-6.
- Strachan, D. P. (1989). "Hay fever, hygiene, and household size." Bmj **299**(6710): 1259-60.
- Stuart, L. M. and R. A. Ezekowitz (2005). "Phagocytosis: elegant complexity." Immunity **22**(5): 539-50.
- Sugiyama, M., H. Arakawa, et al. (2007). "Early-life risk factors for occurrence of atopic dermatitis during the first year." Pediatrics.(119(3)): 716-23.
- Szebeni, B., R. Szekeres, et al. (2006). "Genetic polymorphisms of CD14, toll-like receptor 4, and caspase-recruitment domain 15 are not associated with necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants." J Pediatr Gastroenterol Nutr **42**(1): 27-31.
- Szekeres-Bartho, J., Z. Faust, et al. (1996). "The immunological pregnancy protective effect of progesterone is manifested via controlling cytokine production." Am J Reprod Immunol **35**(4): 348-51.
- Szefalusi, Z., J. Pichler, et al. (2000). "Transplacental priming of the human immune system with environmental allergens can occur early in gestation." J Allergy Clin Immunol **106**(3): 530-6.
- Takala, A., I. Nupponen, et al. (2002). "Markers of inflammation in sepsis." Ann Med **34**(7-8): 614-23.
- Takazu, K. (2004). "Role of interleukin-5 in immune regulation and inflammation." Nippon Rinsho.(62(10)): 1941-51.
- Trinchieri, G. (2003). "Interleukin-12 and the regulation of innate resistance and adaptive immunity." Nat Rev Immunol **3**(2): 133-46.
- Trinchieri, G. (2004). "Cytokines and cytokine receptors." Immunol Rev **202**: 5-7.
- Trivedi, H. N., K. T. HayGlass, et al. (1997). "Analysis of neonatal T cell and antigen presenting cell functions." Hum Immunol **57**(2): 69-79.
- Umetsu, D. T. and R. H. De Kruyff (2006). "The regulation of allergy and asthma." Immunol Rev **212**: 238-255.
- Upham, J. W., P. T. Lee, et al. (2002). "Development of Interleukin-12-Producing Capacity throughout Childhood." Infect Immun(70 (12)): 6583-6588.
- van Lookeren Campagne, M., C. Wiesmann, et al. (2007). "Macrophage complement receptors and pathogen clearance." Cell Microbiol **9**(9): 2095-102.
- Vandenbulcke, L., C. Bachert, et al. (2006). "The innate immune system and its role in allergic disorders." Int Arch Allergy Immunol **139**(2): 159-65.
- Volante, E., S. Moretti, et al. (2004). "Early diagnosis of bacterial infection in the neonate." J Matern Fetal Neonatal Med **16 Suppl 2**: 13-6.
- von Mutius, E. and S. Schmid (2006). "The PASTURE project: EU support for the improvement of knowledge about risk factors and preventive factors for atopy in Europe." Allergy **61**(4): 407-13.
- Vrijlandt, E. J., H. M. Boezen, et al. (2007). "Respiratory health in prematurely born preschool children with and without bronchopulmonary dysplasia." J Pediatr **150**(3): 256-61.
- Walport, M. J. (2001). "Complement. First of two parts." N Engl J Med **344**(14): 1058-66.
- Wan, Y. Y. and R. A. Flavell (2006). "The roles for cytokines in the generation and maintenance of regulatory T cells." Immunol Rev(212 (1)): 114-130.
- Wang, Z. Y., S. Kusam, et al. (2006). "Regulation of Th2 cytokine expression in NKT cells: unconventional use of Stat6, GATA-3, and NFAT2." J Immunol **176**(2): 880-8.

- Wauwe, J. V. (2000). "Interleukin-5 as a potential target for asthma treatment." Drug News Perspect **13**(4): 197-205.
- Weltman, J. K. and A. S. Karim (1998). "Interleukin-5: a proeosinophil cytokine mediator of inflammation in asthma and a target for antisense therapy." Allergy Asthma Proc **19**(5): 257-61.
- White, G. P., P. M. Watt, et al. (2002). "Differential patterns of methylation of the IFN-gamma promoter at CpG and non-CpG sites underlie differences in IFN-gamma gene expression between human neonatal and adult CD45RO- T cells." J Immunol **168**(6): 2820-7.
- Willems, F., S. Vollstedt, et al. (2009). "Phenotype and function of neonatal DC." Eur J Immunol **39**(1): 26-35.
- Yaqoob, P., E. A. Newsholme, et al. (1999). "Comparison of cytokine production in cultures of whole human blood and purified mononuclear cells." Cytokine **11**(8): 600-5.
- Yates, A., C. Bergmann, et al. (2000). "Cytokine-modulated regulation of helper T cell populations." J Theor Biol **206**(4): 539-60.
- Yssel, H., R. De Waal Malefyt, et al. (1992). "IL-10 is produced by subsets of human CD4+ T cell clones and peripheral blood T cells." J Immunol **149**(7): 2378-84.
- Zinkernagel, R. M. (2001). "Maternal antibodies, childhood infections, and autoimmune diseases." N Engl J Med **345**(18): 1331-5.

## Anhangsverzeichnis

Anhang 1: Populationsbeschreibung der Studienteilnehmer für die Gruppen der Bauern- und Nicht- Bauernkinder mit Zytokindaten .....	97
Anhang 2: Fragebogen.....	107



Anhang 1: Populationsbeschreibung der Studienteilnehmer für die Gruppen der Bauern- und Nicht- Bauernkinder mit Zytokindaten.

	Nicht-Bauern		Bauern		P-Wert
	[N]	[%]	[N]	[%]	
<b>Total</b>	<b>81</b>		<b>65</b>		
<b>Geschlecht</b>	<b>n= 81</b>		<b>n= 65</b>		<b>0,517</b>
Junge	38	46,9	34	52,3	
Mädchen	43	53,1	31	47,6	
<b>Geburtsgewicht</b>					<b>0,03</b>
2000 - 2400g	0	0	1	1,5	
2401 - 3000g	11	13,6	2	3,1	
3001 - 3500g	66	81,5	53	81,5	
3501 - 4000g	4	4,9	9	13,9	
4001 - 5000g					
<b>Gewicht in Perzentilen/ Mädchen</b>	<b>n= 43</b>		<b>n= 31</b>		<b>0,035</b>
2000 - 2500g (<3.Perz.)	0	0,0	1	3,2	
2501 - 3300 (3.-50. Perz)	20	46,5	7	22,6	
3301 - 4000 (>50-97.Perz)	22	51,2	18	58,1	
4001 - 5000 (>97.Perz)	1	2,3	5	16,1	
<b>Gewicht in Perzentilen/ Jungen</b>	<b>n= 38</b>		<b>n= 34</b>		<b>0,436</b>
2000 - 2300g (<3.Perz.)	0	0,0	1	2,9	
2301 - 3500 (3.-50. Perz)	19	50,0	12	35,3	
3501 - 4300 (>50-97.Perz)	18	47,4	19	55,9	
4301 - 5000 (>97.Perz)	1	2,6	2	5,9	
<b>Geburtsmodus</b>	<b>n= 80</b>		<b>n= 65</b>		<b>0,428</b>
spontan	57	71,3	52	80	
vaginale Operation	3	3,8	1	1,5	
Sectio	20	25	12	18,5	
<b>Auffälligkeiten innerhalb der ersten Lebenswochen</b>					
<b>Hautauschlag</b>	<b>n= 81</b>		<b>n= 65</b>		<b>0,421</b>
ja	11	13,6	12	18,5	
nein	70	86,4	53	81,5	
<b>Brustdrüsenanschwellung</b>					<b>0,314</b>
	<b>n= 81</b>		<b>n= 65</b>		
ja	8	9,9	10	15,4	
nein	73	90,1	55	84,6	

Kinder n = 146	Nicht-Bauern		Bauern		P-Wert
	[N]	[%]	[N]	[%]	
<b>Bindehaut- und Tränenkanalentzündung</b>	<b>n= 81</b>		<b>n= 65</b>		0,197
ja	13	16	16	24,6	
nein	68	84	49	75,4	
<b>Ikterus</b>					0,253
ja	31	38,3	19	29,2	
nein	50	61,7	46	70,8	
<b>Durchfall</b>					
ja	0	0	0	0	
nein	81	100	65	100	
<b>Unterzucker</b>					0,875
ja	1	1,2	1	1,5	
nein	80	98,8	64	98,5	
<b>Lungenentzündung</b>					
ja	0	0	0	0	
nein	81	100	65	100	
<b>sonstige fieberhafte Infekte</b>					0,112
ja	0	0	2	3	
nein	81	100	63	97	
<b>Verlegung auf eine andere Abteilung wegen o.g. Auffälligkeiten</b>	<b>n= 44</b>		<b>n= 38</b>		0,123
ja	0	0	2	5,3	
nein	44	100	36	94,7	
<b>leichte und schwere Infektionskrankheiten und Medikation des Kindes</b>					
<b>Antibiose in erster Woche</b>	<b>n= 81</b>		<b>n= 65</b>		0,112
ja	0	0	2	3	
nein	81	100	63	97	
<b>Schnupfen</b>	<b>n= 80</b>		<b>n= 65</b>		<b>0,039</b>
ja	27	33,8	33	50,8	
nein	53	66,2	32	49,2	
<b>Häufigkeit Schnupfen</b>	<b>n= 26</b>		<b>n= 31</b>		
1 mal	22	84,6	28	90,3	0,524
2 mal	3	11,5	3	9,7	
3-5 mal	1	3,8	0	0	

<b>Kinder n = 146</b>	<b>Nicht-Bauern</b>		<b>Bauern</b>		<b>P-Wert</b>
	<b>[N]</b>	<b>[%]</b>	<b>[N]</b>	<b>[%]</b>	
<b>Husten</b>	<b>n= 81</b>		<b>n= 65</b>		0,433
ja	10	12,3	11	17	
nein	71	87,7	54	83	
<b>Husten ohne Fieber ohne Schnupfen</b>	<b>n= 10</b>		<b>n= 11</b>		0,157
kein mal	9	90	7	63,6	
ein mal	1	10	4	36,4	
<b>Husten mit Schnupfen und/oder Fieber</b>	<b>n= 10</b>		<b>n= 11</b>		0,36
kein mal	1	10	4	36,4	
ein mal	8	80	6	54,5	
zwei oder mehr mal	1	10	1	9,1	
<b>Fieber &gt;38,5</b>	<b>n= 81</b>		<b>n= 65</b>		0,214
ja	1	1,2	3	4,6	
nein	80	98,8	62	95,4	
<b>pfeifende, keuchende Atemgeräusche</b>	<b>n= 81</b>		<b>n= 65</b>		0,681
ja	5	6,2	3	4,6	
nein	76	93,8	62	95,4	
<b>Medikamente gegen Atemgeräusche</b>	<b>n= 12</b>		<b>n= 10</b>		0,696
ja	5	41,7	5	50	
nein	7	58,3	5	50	
<b>Alter bei o.g. Medikamenteneinnahme</b>	<b>n= 5</b>		<b>n= 4</b>		0,487
0-2 Tage	0	0	1	25	
3-5 Tage	2	40	1	25	
6-8 Tage	3	60	2	50	
<b>Einnahme von Antibiotika</b>	<b>n= 81</b>		<b>n= 65</b>		<b>0,003</b>
nein	80	98,8	54	83,1	
ja, nur äußerlich als Tropfen, Hautsalbe	1	1,2	7	10,8	
ja, nur als Saft, Spritze oder Infusion	0	0	4	6,1	

Kinder n = 146	Nicht-Bauern		Bauern		P-Wert
	[N]	[%]	[N]	[%]	
<b>bisher fiebersenkende Mittel erhalten</b>					
ja	1	1,2	0	0	0,369
nein	80	98,8	65	100	
<b>Medikamente aus der Homöopathie oder Schulmedizin</b>					
	<b>n= 36</b>		<b>n= 29</b>		0,726
ausschließlich Schulmedizin	1	2,8	2	6,9	
sowohl als auch	28	77,8	22	75,9	
ausschließlich Homöopathie	7	19,4	5	17,2	
<b>Hautveränderungen</b>					
<b>Neugeborenenexanthem</b>					
	<b>n= 81</b>		<b>n= 65</b>		0,434
ja	60	70,1	42	64,6	
nein	19	23,5	20	30,8	
weiß nicht	2	2,4	3	4,6	
<b>Alter bei Erstmanifestation Exanthem</b>					
	<b>n= 60</b>		<b>n= 42</b>		0,831
1-2 Tage	8	13,3	5	11,9	
3-5 Tage	52	86,7	37	88,1	
1-2 Wochen	12	20	10	23,8	0,645
3-5 Wochen	48	80	32	76,2	
<b>Exanthem verschwunden</b>					
	<b>n= 60</b>		<b>n= 41</b>		0,146
Ausschlag völlig verschwunden	31	51,7	23	54,8	
Ausschlag kommt und geht	23	38,3	10	23,8	
Ausschlag noch vorhanden	6	10	9	21,4	
<b>Hautausschlag im Windelbereich</b>					
	<b>n= 81</b>		<b>n= 65</b>		0,82
ja	20	25	15	23,1	
nein	61	75	50	76,9	
<b>bereits Hautausschlag gehabt</b>					
	<b>n= 81</b>		<b>n= 64</b>		0,617
ja	36	44,5	31	48,4	
nein	44	54,3	33	51,6	
weiß nicht	1	1,2	0	0	

Kinder n = 146	Nicht-Bauern		Bauern		P-Wert
	[N]	[%]	[N]	[%]	
<b>gesundheitliche Probleme nach der zweiten Lebenswoche bis heute</b>					
	<b>n= 81</b>		<b>n= 65</b>		
<b>Sepsis/Blutvergiftung</b>					0,263
ja	0	0	1	1,5	
nein	81	100	64	98,5	
<b>Durchfall über mehrere Tage</b>					0,823
ja	2	2,5	2	3,1	
nein	79	97,5	63	96,9	
<b>Bindehaut- und Tränenkanalentzündung</b>					0,58
ja	18	22,2	17	26,2	
nein	63	77,8	48	73,8	
<b>Mundsoor</b>					0,768
ja	10	12,3	7	10,8	
nein	71	87,7	58	89,2	
<b>sonstige Erkrankungen</b>					0,571
ja	7	8,6	4	6,2	
nein	74	91,4	61	93,8	
<b>Kontakt zu anderen Kindern</b>					
	<b>n= 81</b>		<b>n= 65</b>		0,985
ja	41	50,6	33	50,8	
nein	40	49,4	32	49,2	
<b>Anzahl der Kontaktkinder</b>	<b>n= 41</b>		<b>n= 33</b>		0,385
0-9 Kinder	34	82,9	30	90,9	
10-19 Kinder	5	12,2	3	9,1	
20-29 Kinder	2	4,9	0	0	
<b>Kontakt in h/Woche</b>	<b>n= 41</b>		<b>n= 33</b>		0,565
0-9 h	36	87,8	30	91	
10-19 h	3	7,3	1	3	
20-29 h	2	4,9	1	3	
30-39 h	0	0	1	3	

Kinder n = 146	Nicht-Bauern		Bauern		P-Wert
	[N]	[%]	[N]	[%]	
<b>Zustand der Mutter während der Schwangerschaft</b>					
	n= 81		n= 65		
<b>Wassereinlagerung</b>					0,868
ja	40	49,4	33	50,8	
nein	41	50,6	32	49,2	
<b>erhöhter Blutdruck</b>					0,384
ja	5	6,2	2	3,1	
nein	76	93,8	63	96,9	
<b>erhöhte Blutzuckerwerte</b>					
ja	3	3,7	2	3,1	0,836
nein	78	96,3	63	96,9	
<b>stationärer Aufenthalt über Nacht wegen Komplikationen während der Schwangerschaft</b>					
ja	11	13,6	5	7,7	0,258
nein	70	86,4	60	92,3	
<b>Aufenthalt im Krankenhaus/ Tage</b>	n= 11		n= 5		0,273
0 - 5 d	8	72,7	2	40	
6 -10 d	2	18,2	2	40	
11 -15 d	0	0	1	20	
16 -20 d	1	9,1	0	0	
<b>wegen vorzeitigen Wehen</b>					
ja	1	9,1	4	80	<b>0,05</b>
nein	10	90,9	1	20	
<b>wegen Wassereinlagerungen</b>					
ja	0	0	1	20	0,126
nein	11	100	4	80	
<b>wegen sonstigen Erkrankungen</b>					
ja	10	90,9	1	20	<b>0,05</b>
nein	1	9,1	4	80	
<b>Antibiose während der Schwangerschaft</b>	n= 81		n= 65		0,112
ja	15	18,5	6	9,2	
nein	66	81,5	59	90,8	

Kinder n = 146	Nicht-Bauern		Bauern		P-Wert
	[N]	[%]	[N]	[%]	
<b>vor der Geburt Medikamente zur Unterstützung der Lungenreife</b>					0,426
ja	3	3,7	1	1,5	
nein	78	96,3	64	98,5	
<b>Geburt und Schwangerschaft</b>					
<b>Entbindung</b>					0,296
stationär	72	88,9	61	93,8	
ambulant	9	11,1	4	6,2	
<b>Zeit des Kindes im Wochenbett</b>					0,282
	<b>n= 72</b>		<b>n= 61</b>		
< 8h/d im Zimmer der Mutter	1	1,4	4	6,6	
8-16h/d im Zimmer der Mutter nur zum Stillen im Mutterzimmer, sonst Kinderzimmer	17	23,6	15	24,6	
	54	75	41	67,2	
<b>Anzahl der Geburten</b>					0
	<b>n= 81</b>		<b>n= 65</b>		
eine	46	56,8	17	26,2	
zwei	22	27,2	19	29,2	
drei	2	2,5	17	26,2	
> vier	1	1,2	12	18,5	
<b>Anzahl der Schwangerschaften</b>					0
ein - zwei	66	81,5	30	46,2	
drei - vier	14	17,3	32	49,2	
fünf - sechs	0	0	1	1,5	
> sieben	1	1,2	2	3,1	
<b>Geburt in welcher Schwangerschaftswoche</b>					0,898
	<b>n= 79</b>		<b>n= 65</b>		
35. - 37. Woche	4	5,1	4	6,1	
38. - 40. Woche	49	62	38	58,5	
41. - 43. Woche	26	32,9	23	35,4	
<b>Geburtslänge</b>					0,941
46 - 49cm	8	9,9	7	10,8	
50 - 53cm	57	70,3	44	67,7	
54 - 57cm	16	19,8	14	21,5	

Kinder n = 146	Nicht-Bauern		Bauern		P-Wert
	[N]	[%]	[N]	[%]	
<b>Apgar 5min</b>					0,442
5-8	5	6,2	2	3,1	
9	8	9,9	10	15,4	
9-10	68	83,9	53	81,5	
<b>Apgar 10min</b>					0,435
<9	0	0	0	0	
9	1	1,2	2	3,1	
10	80	98,8	63	96,9	
<b>PH Wert Nabelschnur</b>					0,57
7,0 - 7,19	6	7,4	5	7,7	
7,2 - 7,29	28	43,1	17	26,2	
7,3 - 7,39	26	32,1	27	41,5	
7,4 - 7,49	7	8,6	4	24,6	
<b>Rauchgewohnheiten der Mutter</b>					
<b>raucht zur Zeit</b>	<b>n= 81</b>		<b>n= 65</b>		0,165
ja	7	8,6	2	3,1	
nein	74	91,4	63	96,9	
<b>Anzahl der Zigaretten/ Tag</b>	<b>n= 7</b>		<b>n= 2</b>		0,526
eine - vier	2	28,6	1	50	
fünf - acht	2	28,6	1	50	
neun - zwölf	3	42,8	0	0	
<b>in den ersten zwei Lebenswochen des Kindes geraucht</b>	<b>n= 80</b>		<b>n= 64</b>		<b>0,061</b>
ja	7	8,8	1	1,6	
nein	73	91,2	63	98,4	
<b>Anzahl der Zigaretten/ Tag im o.g. Zeitraum</b>	<b>n= 7</b>		<b>n= 1</b>		0,33
weniger als eine	2	28,6	0	0	
eine - vier	1	14,3	0	0	
fünf - acht	1	14,3	1	100	
neun - zwölf	3	42,8	0	0	



Kinder n = 146	Nicht-Bauern		Bauern		P-Wert
	[N]	[%]	[N]	[%]	
<b>Zigarettenkonsum anderer Personen in der selben Wohnung</b>					
	<b>n= 80</b>		<b>n= 65</b>		0,212
keine	77	96,3	62	95,4	
1 - 10	1	1,2	3	4,6	
20 - 30	2	2,5	0	0	

ab der zweiten Lebenswoche

Beschreibung der Studienpopulation mit Zytokindaten in Anzahl (N) und Prozentwerten (%). Der P-Wert wurde mit Hilfe des Chi<sup>2</sup>- Tests berechnet, als Signifikanzniveau wurde  $p \leq 0,05$  gewählt. Insgesamt standen Angaben von 146 Kindern zur Verfügung. Bei folgenden Variablen konnte kein Zusammenhang berechnet werden: Lungenentzündung, Mittelohrentzündung, Harnwegsinfekt.



ID: \_\_\_\_\_

Fragen 3 - 24 Mutter

Fragen 25 – 30 Kind erste Lebenswoche

Fragen 31 – 48 Stillen und Füttern

Fragen 49 – 74 Erkrankungen der Mutter

Fragen 75 – 107 Erkrankungen des Kindes

Fragen 108-110 Kontakt zu anderen Kindern




Fragebogen

für den


2. Lebensmonat

Ulm, Januar 2003

**1. Befragten-ID:**

 von Interviewer/in auszufüllen \_\_\_\_\_

**2. Interview wer-ID:**


 von Interviewer/in auszufüllen \_\_\_\_\_

**3. Interview wform**


 von Interviewer/in auszufüllen

Persönlich .....


Telefonisch .....

 Wenn die Familie seit dem 1. Interview umgezogen ist, bitte **Anlage-Umzug** ausfüllen.

**4. Datum des Interviews:**

 von Interviewerin auszufüllen \_\_\_\_\_  
Tag/                      Monat/ Jahr

**5. Beginn des Interviews (Uhrzeit):**

 Interviewer/in, bitte genaue Uhrzeit eintragen \_\_\_\_\_  
Std/ Min

**Ü1**  Vor Beginn des Interviews bitte inhaltlich wiedergeben

- Begrüßung
- Dauer des Interviews (ca. 30-45 min) erläutern
- Erläuterung des Interviewablaufs

*Die meisten Fragen können mit Ja/ Nein beantwortet werden*

*Bei einigen Fragen gibt es andere Antwortmöglichkeiten*

*Bitte        Fragen erst beantworten, nachdem sie vollständig vorgelesen wurden*

*Bei Verständnisproblemen bitte reagieren*


- Hinweis, dass nun das Interview mit einigen Fragen zur Schwangerschaft und zum Kind der Befragten beginnt.

**6. Ist Ihr Kind ein Junge oder ein Mädchen?**

Junge .....

Mädchen .....

**7. Wie heißt Ihr Kind? \_\_\_\_\_**

 *Achtung: Ab dieser Frage sollten Sie (der / die Interviewer(in)) den Vornamen des Kindes benutzen*

**8. Hatten Sie während dieser Schwangerschaft Wassereinlagerungen?**

Ja .....

Nein.....  ⇒ **weiter mit Frage 11**

**9. In welchem Schwangerschaftsmonat traten die Wassereinlagerungen erstmals auf?**

\_\_SSM

**10. In welchem Schwangerschaftsmonat traten die Wassereinlagerungen zuletzt auf?**

\_\_SSM

**11. Hatten Sie während dieser Schwangerschaft einen erhöhten Blutdruck?**

Ja .....

Nein.....  ⇒ **weiter mit Frage 14**

**12. In welchem Schwangerschaftsmonat trat der erhöhte Blutdruck erstmals auf?**

\_\_SSM

13. In welchem Schwangerschaftsmonat trat der erhöhte Blutdruck zuletzt auf?  
\_\_SSM

14. Hatten Sie während dieser Schwangerschaft erhöhte Blutzuckerwerte?

Ja .....

Nein.....  ⇒ **weiter mit Frage 17**

15. In welchem Schwangerschaftsmonat traten die erhöhten Blutzuckerwerte erstmals auf?  
\_\_SSM

16. In welchem Schwangerschaftsmonat traten die erhöhten Blutzuckerwerte zuletzt auf?  
\_\_SSM

17. Waren Sie vor der Geburt Ihres Kindes aufgrund von Komplikationen während der Schwangerschaft über Nacht im Krankenhaus?

Ja .....


Nein.....  ⇒ **weiter mit Frage 20**

18. Wie viele Tage? \_\_Tage

**19. Warum waren Sie im Krankenhaus?**

		<b>Ja</b>	<b>Nein</b>
Wegen	<input type="checkbox"/>	vorzeitiger Wehen/ Blutungen .....	<input type="checkbox"/>
Wegen	<input type="checkbox"/>	Wassereinlagerungen .....	<input type="checkbox"/>
Wegen	<input type="checkbox"/>	erhöhten Blutdrucks .....	<input type="checkbox"/>
Wegen	<input type="checkbox"/>	erhöhten Blutzuckers .....	<input type="checkbox"/>
Sonstiges:	_____	.....	<input type="checkbox"/>

**20. Haben Sie während dieser Schwangerschaft irgendwelche Antibiotika eingenommen?**

 *Diese Frage wurde schon im Schwangerschaftsfragebogen gestellt, aber es ist möglich, dass Mütter am Ende der Schwangerschaft nach dem ersten Interview Antibiotika erhalten haben. Da es schwierig sein dürfte, sich zu erinnern, ob das Antibiotikum schon im ersten Interview angegeben worden war, sollten hier alle Antibiotikaeinnahmen während der gesamten Schwangerschaft notiert werden.*

Ja .....

Nein .....

⇒ **weiter mit Überleitung 2 (S.6)**

**21. In welchen Schwangerschaftsmonaten haben Sie Antibiotika eingenommen?**

im	Schwangerschaftsmonat	___	Antibiotik	um	_____
im	Schwangerschaftsmonat	___	Antibiotik	um	_____
im	Schwangerschaftsmonat	___	Antibiotik	um	_____

Ü2  bitte vorlesen

**Die folgenden Fragen beziehen sich auf Ihre Schwangerschaft und Ihren Klinikaufenthalt**

**22. Haben Sie vor der Geburt von *[Vornamen sagen]* Medikamente zur Unterstützung der Lungenreifung bekommen (z.B. Cortison)?**

Ja .....

Nein.....

**23. Haben Sie ambulant oder stationär entbunden?**

stationär .....

ambulant .....

⇒ **weiter mit Frage 25**

**24. Wie viel Zeit war *[Vornamen sagen]* im Wochenbett bei Ihnen im Zimmer?**

Weniger als 8 Stunden täglich im Zimmer der Mutter .....

8-16 Stunden täglich im Zimmer der Mutter .....

Mehr als 16 Stunden täglich im Zimmer der Mutter .....

Kind war meist im Kinderzimmer und nur zum Stillen etc.

im Zimmer der Mutter .....



**25. Gab es bei [Vornamen sagen] innerhalb der ersten Lebenswoche eine der folgenden Auffälligkeiten?**

		Ja	Nein
Hautausschlag	.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Brustdrüsen	entzündung.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Bindehaut-	bzw. Tränenkanalentzündung .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Gelbsucht	.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Durchfall	.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Unterzucker	.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Lungenentzündung	.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sonstige	febrile Erkrankungen.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

 *Achtung*

*Wenn alle Fragen mit „Nein“ beantwortet wurden, weiter mit Frage 28!  
Sonst weiter mit Frage 26*

**26. Musste [Vornamen sagen] aufgrund dieser Auffälligkeit in eine andere Abteilung verlegt werden? Wenn „Ja“, welche?**

Ja, und zwar: \_\_\_\_\_

Nein.....  ⇒ **weiter mit Frage 28**

**27. Wie lange wurde [Vornamen sagen] in dieser Abteilung behandelt?**


\_\_\_Tage

**28. Hat [Vornamen sagen] in der ersten Lebenswoche Antibiotika erhalten?**

**Ja** .....

**Nein.....**

**29. Wurde [Vornamen sagen] unmittelbar nach der Geburt künstlich mit Sauerstoff beatmet?**


 Wenn das Kind für einige Tage eine cPAP-Beatmung erhielt, zählt das als Antwortmöglichkeit 1

1 Ja, und zwar an einer Maschine


2 Ja, aber nicht an einer Maschine  ⇒ **weiter mit Überleitung 3 (S.9)**


3 Nein .....  ⇒ **weiter mit Überleitung 3 (S.9)**

**30. Wie lange wurde [Vornamen sagen] künstlich an einer Maschine beatmet?  
\_\_Tage**

Ü3  bitte vorlesen

**Die folgenden Fragen beziehen sich auf das Stillen und Füttern Ihres Kindes**

 Vorlesen

 Zuerst interessieren uns ganz speziell die ersten 3 Lebenstage Ihres Kindes.

Möglicherweise hat es in dieser Zeit (z.B. vor dem Milcheinschuss) andere Milch erhalten als jene, die Sie zur Zeit füttern.

**31. Welche der folgenden Milcharten hat [Vornamen sagen] in den ersten 3 Lebenstagen bekommen?**

		Ja	Nein
Eigene	Muttermilch .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Säuglings	milch.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Andere Milch (z.B. Ziegenmilch).....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>


 Achtung

Wenn mindestens zweimal mit „Ja“ geantwortet wurde, weiter mit Frage 32!  
Sonst weiter mit Frage 33.

**32. Welche der Milcharten hat [Vornamen sagen] hauptsächlich bekommen?**

Eigene	Muttermilch .....	<input type="checkbox"/>
Säuglings	milch.....	<input type="checkbox"/>
	Andere Milch (z.B. Ziegenmilch)....	<input type="checkbox"/>

**33. Haben Sie [Vornamen sagen] jemals gestillt?**

 Diese Frage selbst mit „Ja“ ausfüllen, wenn die Mutter bei Frage 31 angegeben

hat, dass ihr Kind in den ersten 3 Lebenstagen eigene Muttermilch erhalten hat.

Ja .....

Nein.....  ⇒ **weiter mit Frage 41**

**34. Haben Sie zur Vorbeugung von Allergien bei [Vornamen sagen] während der Stillzeit in Ihrer eigenen Ernährung auf bestimmte Nahrungsmittel bewusst ganz verzichtet?**

Ja .....

Nein.....  ⇒ **weiter mit Frage 36**

**35. Haben Sie dabei für mehr als einen Tag auf eine(s) der folgenden Nahrungsmittel(gruppen) verzichtet?**

	Ja	Nein
Milch und Milchprodukte .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Getreideprodukte .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Eier .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Fisch .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Nüsse (einschließlich Erdnüsse).....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Soja .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Zitrusfrüchte.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Anderes Obst und Gemüse .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sonstiges: _____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

**36. Haben Sie aus anderen Gründen während der Stillzeit Ihre Ernährung auf eine der folgenden Weisen verändert?**

	<b>Ja</b>	<b>Nein</b>
Verzicht auf scharf gewürzte Speisen.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Verzicht auf saure Speisen und Getränke (z.B. Fruchtsäfte) .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Verzicht auf blähende Speisen (z.B. Kohlgerichte).....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Verzicht auf koffeinhaltige Getränke (z.B. Kaffee) .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Mehr Milch getrunken / mehr Milchprodukte gegessen .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

**37. Haben Sie während der Stillzeit eines oder mehrere der folgenden Medikamente eingenommen?**

	<b>Ja</b>	<b>Nein</b>
Antibiotika .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Fiebersenkende Mittel.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Schmerzmittel (sowohl chemische als auch homöopathische) ....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>


 *Achtung: Wenn 'Ja' bei Antibiotika, weiter mit Frage 38, sonst weiter mit Frage 39.*

**38. Haben Sie in dieser Zeit weiter gestillt?**

**Ja** .....

**Nein.....**

**39. Stillen Sie [Vornamen sagen] zur Zeit noch?**

 „Ausschließlich stillen“ heißt, dass nichts gegeben wird außer Muttermilch,  
  
Wasser und Tee.


Ja, und zwar ausschließlich, d.h.

ohne andere Nahrung zu füttern.  ⇒ **weiter mit Überleitung 4 (S.15)**

Ja, aber nicht ausschließlich.....  ⇒ **weiter mit Frage 41**

Nein .....  ⇒ **weiter mit Frage 40**

**40. Wie alt war [Vornamen sagen], als Sie mit dem Stillen ganz aufgehört haben?**

 Nur dann Tage angeben, wenn bereits in der ersten Lebenswoche abgestillt wurde. Sonst immer Wochen angeben. Falls die Mutter die Angabe in Lebensmonaten macht, bitte in Wochen umrechnen.


 Achtung: 1 Monat=4,5 Wochen!

wie viele Tage \_\_\_\_\_

**oder**

wie viele Wochen \_\_\_\_\_

**41. Wie alt war [Vornamen sagen], als Sie anfangen, ihm / ihr regelmäßig Säuglingsmilch zu geben?**

 Nur dann Tage angeben, wenn bereits in der ersten Lebenswoche zugefüttert wurde. Sonst immer Wochen angeben. Falls die Mutter die Angabe in Lebensmonaten macht, bitte in Wochen umrechnen.

 Achtung: 1 Monat=4,5 Wochen!

wie viele Tage \_\_\_\_\_

**oder**

wie viele Wochen \_\_\_\_\_


**42. Welche Säuglingsmilch geben Sie [Vornamen sagen] zur Zeit überwiegend?**


 *Handelsnamen der Säuglingsmilch notieren*

Ausschließlich: \_\_\_\_\_

Überwiegend: 1. \_\_\_\_\_

2. \_\_\_\_\_

 *Beim Interview wird nur der Markenname, ggf. mit Zusatz (z.B. Humana HA, Humana SL) notiert. Die Zuordnung zu den einzelnen Gruppen von Säuglingsmilch erfolgt im jeweiligen Studienzentrum bzw. bei der Kodierung.*

 *Achtung*

*Wenn es sich bei der Säuglingsmilch um eine hypoallergene Milch (d.h. mit Namenszusatz „HA“) handelt, weiter mit Frage 43!*

*Wenn es sich bei der Säuglingsmilch um ein Sojamilchprodukt handelt, weiter mit Frage 44!*

*Sonst weiter mit Frage 45.*

**43. Warum geben Sie [Vornamen sagen] eine hypoallergene Säuglingsmilch (HA)?**


		<b>Ja</b>	<b>Nein</b>
Zur	<u>Vorbeugung</u> von Allergien .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Zur	<u>Behandlung</u> von Beschwerden wurde auf hypoallergene Milch umgestellt.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Weil von Hebamme, Kinderarzt, Entbindungsklinik etc. so empfohlen .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

**44. Warum geben Sie [Vornamen sagen] ein Sojamilchprodukt?**

		<b>Ja</b>	<b>Nein</b>
Zur	<u>Vorbeugung</u> von Allergien .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Zur	<u>Behandlung</u> von Beschwerden wurde auf das Sojamilchprodukt umgestellt.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Weil von Hebamme, Kinderarzt, Entbindungsklinik etc. so empfohlen .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

**45. Haben Sie [Vornamen sagen] bisher eine der folgenden Milcharten direkt von Ihrem eigenen oder einem anderen Bauernhof gefüttert (egal ob mit oder ohne Verdünnung)?**


		<b>Ja</b>	<b>Nein</b>
Kuhmilch,	ohne Abkochen .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Kuhmilch,	abgekocht .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Ziegenm	ilch .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

 Wenn keine dieser Milcharten gefüttert wurde ⇒ **weiter mit Frage 47**

**46. Wie alt war [Vornamen sagen], als Sie zum ersten Mal diese Milch gefüttert haben?      \_\_Wochen**



**47. Haben Sie [Vornamen sagen] bisher Beikost, d.h. breiige oder feste Kost bzw. Saft gefüttert? Wenn „Ja“, was?**

 *Beikost ist alles außer Muttermilch, Flaschennahrung, Wasser und Tee. Beikost*

*ist*

*u.a. Brei und Saft.*

Nein .....  ⇒ **weiter mit Überleitung 4 (S.15)**

Ja, Säfte (z.B. Orangensaft) .....

Ja, Brei als Fertigprodukt.....

Ja, selbsthergestellten Brei.....

**48. Wie alt war [Vornamen sagen], als Sie zum ersten Mal diese Kost gefüttert haben? Welchen Saft oder welchen Brei haben Sie gefüttert?**

5.3.4.1.1.1.1.1.1 Säfte

**Welche?** 1. \_\_\_\_\_ Alter: \_\_ \_\_ Woche(n)

2. \_\_\_\_\_ Alter: \_\_ \_\_ Woche(n)

Brei


**Welche?** 1. \_\_\_\_\_ Alter: \_\_ \_\_ Woche(n)

2. \_\_\_\_\_ Alter: \_\_ \_\_ Woche(n)

3. \_\_\_\_\_ Alter: \_\_ \_\_ Woche(n)

Ü4  bitte vorlesen

**Die folgenden Fragen beziehen sich auf Ihre Gesundheit und die Ihres Kindes**

 Wenn die Mutter zum Zeitpunkt des Interviews noch stillt, so sollten die Fragen zur „Stillzeit“ nicht gestellt werden, sondern vom Interviewer direkt mit „Ja“ beantwortet werden. Diese Fragen sind eingerückt, damit sie leichter zu finden sind.

**49. Haben / hatten Sie seit der Geburt von [Vornamen sagen] Husten, obwohl Sie nicht erkältet waren?**

Ja .....

Nein.....  ⇒ **weiter mit Frage 51**

**50. War das während Ihrer Stillzeit?**

Ja.....

Nein...

**51. Haben / hatten Sie seit der Geburt von [Vornamen sagen] Schleim abgehustet, obwohl Sie nicht erkältet waren?**

Ja .....

Nein.....  ⇒ **weiter mit Frage 53**

**52. War das während Ihrer Stillzeit?**

Ja.....

Nein...

**53. Haben / hatten Sie seit der Geburt von [Vornamen sagen] jemals ein pfeifendes oder keuchendes Geräusch in Ihrem Brustkorb, obwohl Sie nicht erkältet waren?**

Ja .....

Nein.....  ⇒ **weiter mit Frage 56**

**54. Wie oft hatten Sie ein solches pfeifendes oder keuchendes Geräusch?**  
\_\_\_ mal

**55. Hatten Sie dieses Geräusch während Ihrer Stillzeit?**

Ja.....

Nein...

**56. Hatten Sie seit der Geburt von [Vornamen sagen] einen Anfall von pfeifender oder keuchender Atmung, der mit Atemnot einherging?**

Ja .....

Nein.....  ⇒ **weiter mit Frage 59**

**57. Wie oft hatten Sie diese Anfälle?**  
\_\_\_ mal

**58. Hatten Sie diese Beschwerden während Ihrer Stillzeit?**

Ja.....

Nein...

**59. Hatten Sie seit der Geburt von [Vornamen sagen] einen Asthmaanfall?**

Ja .....

Nein.....  ⇒ **weiter mit Frage 61**

**60. War das während Ihrer Stillzeit?**

Ja.....

Nein...

**61. Haben Sie seit der Geburt von [Vornamen sagen] irgendwelche Asthma-Medikamente eingenommen? Gemeint sind Tabletten, Sprays oder andere Formen der Inhalation.**

Ja .....

Nein.....  ⇒ **weiter mit Frage 64**

**62. Welche Medikamente haben Sie eingenommen?**

1. Nennung: \_\_\_\_\_

2. Nennung: \_\_\_\_\_

3. Nennung: \_\_\_\_\_

**63. Haben Sie diese Medikamente auch während der Stillzeit eingenommen?**

Ja.....

Nein...

**64. Haben / hatten Sie seit der Geburt von [Vornamen sagen] Heuschnupfen-Beschwerden oder eine laufende oder verstopfte Nase, obwohl Sie nicht erkältet waren?**

Ja .....

Nein.....  ⇒ **weiter mit Frage 66**

**65. War das während Ihrer Stillzeit?**

Ja.....

Nein...

**66. Haben / hatten Sie seit der Geburt von [Vornamen sagen] juckende, tränende oder brennende Augen, obwohl Sie nicht erkältet waren?**

Ja .....

Nein.....  ⇒ **weiter mit Frage 68**

**67. War das während Ihrer Stillzeit?**

Ja.....

Nein...

**68. Haben Sie seit der Geburt von [Vornamen sagen] irgendwelche Heuschnupfen-Medikamente (einschließlich Nasensprays) eingenommen?**

Ja .....

Nein.....  ⇒ **weiter mit Frage 70**

**69. War das während Ihrer Stillzeit?**

Ja.....

Nein...

**70. Haben / hatten Sie seit der Geburt von [Vornamen sagen] Neurodermitis, auch atopisches oder endogenes Ekzem genannt?**

 *Eine Nickelkontaktallergie oder Sonnenallergie sind hier nicht gemeint!*

Ja .....

Nein.....  => **weiter mit Frage 72**

**71. War das während Ihrer Stillzeit?**

Ja.....

Nein...

**72. Sind Sie seit der Geburt von [Vornamen sagen] sonst krank gewesen? Gemeint sind dabei sowohl banaler Schnupfen, als auch schwerere Erkrankungen.**

Ja .....

Nein.....  => **weiter mit Frage 75**


**73. Haben Sie eine der folgenden Erkrankungen gehabt? (mehrere Antworten möglich)**

Ja		Nein
	Eine Erkältung ohne Fieber (d.h. Heiserkeit, Halsschmerzen, Schnupfen oder Husten).....	<input type="checkbox"/> .....
	Eine Erkältung mit Fieber (über 38,5 Grad) .....	<input type="checkbox"/> .....
Eine	Magen-Darm-Grippe.....	<input type="checkbox"/> .....
	Andere Infektionen (z.B. Lungenentzündung, Harnwegsinfekt).....	<input type="checkbox"/> .....
Sonstiges:	_____ .....	<input type="checkbox"/> .....

**74. Haben Sie während dieser Zeit gestillt?**

	<b>Ja</b>	<b>Nein</b>
Während der Erkältung ohne Fieber .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Während der Erkältung mit Fieber.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Während der Magen-Darm-Grippe.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Während der anderen Infektionen .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Während der sonstigen Erkrankungen .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

**75. Hatte [Vornamen sagen] bereits einen Schnupfen?**

 *Das milchige Sekret, das v.a. nach dem Stillen aus der Nase läuft, ist hier nicht gemeint.  
Wenn die Mutter sagt, das Kind hätte immer Schnupfen, dann ist „Nein“ anzukreuzen.  
Gemeint sind hier Episoden von laufender oder verstopfter Nase.*

Ja .....

Nein.....  ⇒ **weiter mit Frage 77**

**76. Wie oft hatte [Vornamen sagen] Schnupfen?**

\_\_\_ mal

**77. Hatte [Vornamen sagen] bereits Husten?**

 *Gelegentliches Hüsteln ist hier nicht gemeint.*

Ja .....

Nein.....  ⇒ **weiter mit Frage 79**

**78. Wie oft hatte [Vornamen sagen] Husten?**

1. Ohne Schnupfen und ohne Fieber (>38,5°C) \_\_\_ mal

2. Mit Schnupfen und /oder Fieber (>38,5°C) \_\_\_ mal

**79. Hatte [Vornamen sagen] bereits Fieber (d.h. eine Körpertemperatur über 38,5 Grad)?**


Ja .....

Nein.....  ⇒ **weiter mit Frage 81**

**80. Wie oft hatte [Vornamen sagen] bisher Fieber über 38,5 Grad?**


\_\_\_ mal

**81. Hatte [Vornamen sagen] pfeifende oder keuchende Atemgeräusche?**

 Wenn die Mutter keine Vorstellung hat, was pfeifende Atemgeräusche sind, bitte „Nein“ angeben.

Ja .....

Nein.....

 Diese Frage bitte nur stellen, wenn eines der Atemwegssymptome (Husten, pfeifende Atmung) bejaht wurde. Sonst weiter mit Frage 86.

**82. Hat [Vornamen sagen] Medikamente gegen Husten bzw. pfeifende oder keuchende Atmung erhalten?**

Ja .....

Nein.....  ⇒ **weiter mit Frage 86**

**83. Welche Mittel gegen Husten bzw. pfeifende oder keuchende Atmung hat [Vornamen sagen] bisher erhalten?**

 Bitte Handelsnamen notieren.

1. Nennung: \_\_\_\_\_

2. Nennung: \_\_\_\_\_


3. Nennung: \_\_\_\_\_



**84. Wie alt war [Vornamen sagen], als [sie/er] zum ersten Mal diese Mittel erhielt?**

\_\_\_ Wochen

**85. Wie häufig hat [Vornamen sagen] bisher solche Mittel erhalten?**

 Häufigkeit bitte nur für folgende broncholytisch wirkende Medikamente notieren:  
*Atrovent / Apsomol / Berodual / Bricanyl / Broncho-Inhalat / Pädiamol / Salbuhexal / Salbutamol / Sultanol*  
*Asthmalitan-Tropfen / Bricanyl-Elixier / Spasmo-Mucosolvan / Spiropent-Saft*  
Wenn der Name des Medikamentes nicht zugeordnet werden kann, Häufigkeit notieren und nach Rückkehr in der Roten Liste nachschauen, ob es sich um ein Broncholytikum handelt. Ggf. Häufigkeit dann wieder streichen

\_\_\_ mal

**86. Hat [Vornamen sagen] bisher Antibiotika (z.B. Penicillin) erhalten?**

Nein .....  ⇒ **weiter mit Frage 91**

Ja, aber nur äußerlich als Augentropfen

oder Hautsalbe .....  ⇒ **weiter mit Frage 91**

Ja, nur als Saft, Spritze oder Infusion .....

Ja, äußerlich als Augentropfen oder Hautsalbe  
und als Saft, Spritze oder Infusion .....

**87. Wie alt war [Vornamen sagen], als [sie/er] zum ersten Mal Antibiotika erhielt?**


\_\_\_ Wochen

**88. Wie viele Tage hat [Vornamen sagen] dieses Antibiotikum eingenommen?**

\_\_\_ Tage

**89. Wie häufig hat Ihr Kind bisher Antibiotika erhalten?**

\_\_\_ mal

 *Achtung*

*Wenn bei Frage 89 „Einmal“ angegeben wurde, weiter mit Frage 91!  
Sonst weiter mit Frage 90.*

**90. Wie viele Tage wurde [Vornamen sagen] insgesamt seit der Geburt mit Antibiotika behandelt?**

\_\_\_ Tage

**91. Hat [Vornamen sagen] bisher fiebersenkende Mittel erhalten?**

Ja .....

Nein.....  ⇒ **weiter mit Frage 97**

**92. Hat [Vornamen sagen] homöopathische Mittel zum Fiebersenken erhalten (z.B. Viburcol-Zäpfchen, Globuli, etc.)?**

Ja .....

Nein.....  ⇒ **weiter mit Frage 94**

**93. Wie viele Tage wurde [Vornamen sagen] insgesamt seit der Geburt mit solchen Mitteln behandelt?**

\_\_\_ Tage

**94. Hat [Vornamen sagen] sonstige Medikamente zum Fiebersenken erhalten, wie Ben-u-ron oder Paracetamol?**

 *Paracetamol-haltige Fiebersenker sind:*

*Ben-u-ron, Captin, Doloreduct, Enelfa, Finiweh, Gelonida-Saft, Mono Praecimed, Paedialgon, Paedisup, Pyromed, RubieMol, Talvosilen sowie alle Medikamente, die „Paracetamol“ im Namen haben.*

Ja..... \_\_\_\_\_ Name des Präparates

Nein....... => **weiter mit Frage 97**

**95. Wie alt war [Vornamen sagen], als [sie/er] zum ersten Mal \_\_\_\_\_ (Name des Präparates aus Frage 94) erhielt?**  
\_\_\_\_\_ Wochen

**96. Wie viele Tage wurde [Vornamen sagen] insgesamt seit der Geburt mit \_\_\_\_\_ (Name des Präparates aus Frage 94) behandelt?**  
\_\_\_\_\_ Tage

**97. Hat [Vornamen sagen] bereits irgendwelche anderen Medikamente außer D-Fluoretten, Vigantoletten oder Sab simplex erhalten?**

Ja .....

Nein.....  => **weiter mit Frage 99**

**98 . Geben Sie [Vornamen sagen] vorzugsweise Medikamente aus der Schulmedizin oder aus der Naturheilkunde bzw. der Homöopathie?**

Ausschließlich aus der Schulmedizin.....

sowohl aus der Schulmedizin als auch aus der Naturheilkunde

bzw. der Homöopathie.....

Ausschließlich aus der Naturheilkunde bzw. der Homöopathie .....

**99. Hatte [Vornamen sagen] schon einmal Babyakne / Neugeborenenexanthem?**

Ja.....   
 Nein.....  ⇒ **weiter mit Frage 102**  
 Weiß nicht .....  ⇒ **weiter mit Frage 102**

**100. Wie alt war [Vornamen sagen] als die Babyakne bzw. das Neugeborenenexanthem zum ersten Mal auftrat?**

☞ *Wenn das Kind weniger als 1 Woche alt war, bitte Tage angeben. Sonst immer nur Wochen angeben.*

\_\_\_\_\_ Tage?  
 \_\_\_\_\_ Wochen?


**101. Ist die Babyakne bzw. das Neugeborenenexanthem wieder völlig verschwunden oder „kommt und geht“ der Hautausschlag?**

Der Ausschlag ist völlig verschwunden.....   
 Der Ausschlag „kommt und geht“ .....   
 Der Ausschlag ist noch da .....

**102. Hatte [Vornamen sagen] schon einmal Neurodermitis / atopische Dermatitis?**

Ja.....   
 Nein.....  ⇒ **weiter mit Frage 105**  
 Weiß nicht .....  ⇒ **weiter mit Frage 105**

**103. Wie alt war [Vornamen sagen] als die Neurodermitis / atopische Dermatitis zum ersten Mal auftrat?**

 Wenn das Kind weniger als 1 Woche alt war, bitte Tage angeben. Sonst immer nur

Wochen angeben.

\_\_\_\_\_ Tage?

\_\_\_\_\_ Wochen?


**104. Ist die Neurodermitis / atopische Dermatitis wieder völlig verschwunden oder „kommt und geht“ der Hautausschlag?**

Der Ausschlag ist völlig verschwunden.....

Der Ausschlag „kommt und geht“ .....

Der Ausschlag ist noch da .....

**105. Hatte [Vornamen sagen] einen Hautausschlag im Windelbereich?**

 Zum Windelbereich zählen sowohl der Genitalbereich als auch die Pobacken.

Ja .....


Nein.....

**106. Hatte [Vornamen sagen] auch schon einmal andere Hautveränderungen?**

Milchschorf                      Ja            Nein    Weiß nicht                      ..... .....

Sonstiges: \_\_\_\_\_


 Bitte vorlesen

 Ganz am Anfang des Fragebogens haben wir speziell nach Gesundheitsstörungen Ihres Kindes während der ersten Lebenswoche gefragt. Die folgende Frage bezieht sich auf die Zeit ab der zweiten Lebenswoche bis heute:

**107. Hatte [Vornamen sagen] seither eines der folgenden anderen gesundheitlichen Probleme?**

	<b>Ja</b>	<b>Nein</b>
Sepsis / Blutvergiftung .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Lungenentzündung .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Mittelohrentzündung .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Harnwegsinfekt .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Hartnäckiger Durchfall über mehrere Tage.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Bindehautentzündung / Entzündung des Tränenkanals .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Mundsoor (Pilzinfektion im Mundbereich).....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sonstiges _____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

**108. Hat [Vornamen sagen] regelmäßig (d.h. mindestens einmal pro Woche) Kontakt zu anderen Kindern, z.B. in einer Mutter-Kind-Gruppe, ausgenommen die eigenen Geschwister?**

 Bitte nur dann „Ja“ angeben, wenn das Kind wirklich Kontakt zu diesen Kindern hat, z.B. indem es auf den Arm genommen wird oder durch Benutzen desselben Schnullers. Beispiel: Die Mutter hat während ihres Klinikaufenthaltes bei der Entbindung eine andere junge Mutter kennen gelernt, die ihr erstes Kind bekam. Die beiden Frauen treffen sich jetzt regelmäßig. Dabei liegt jeder der beiden Säuglinge in seinem eigenen Kinderwagen, und Schnuller, Fläschchen etc. werden nicht gemeinsam benutzt. Dann würde die Antwort „Nein“ lauten.

Ja .....

Nein .....

⇒ weiter mit Überleitung 5 (S.28)

**109. Mit wie vielen anderen Kindern hat [Vornamen sagen] bei diesen Gelegenheiten Kontakt?**

Mit insgesamt ca. \_\_\_\_\_ Kindern

**110. Wie viele Stunden pro Woche hat [Vornamen sagen] im Durchschnitt Kontakt mit anderen Kindern?**

\_\_\_\_\_ Stunden


Ü5  Bitte vorlesen

**Die folgenden Fragen beziehen sich auf Ihre Wohnungsumgebung**

**111. Wie viele Einwohner hat die Gemeinde, in der Sie leben?**

- Weniger als 500.....
- 500 bis unter 5.000 .....
- 5.000 bis unter 15.000 .....
- 15.000 bis unter 30.000 .....
- 30.000 und mehr.....

**112. Wie groß ist die Entfernung von Ihrer Wohnung bis zum nächsten Haus?**

 *Wo eindeutig ersichtlich ist, dass das nächste Haus direkt nebenan steht, braucht diese Frage nicht gestellt werden, sondern kann vom Interviewer direkt ausgefüllt werden.*

- Höchstens 100 m.....
- Mehr als 100 m, nämlich ca. \_\_\_\_\_ Meter

**113. Auf welcher Meereshöhe liegt Ihr Wohnhaus etwa?**

- Unter 500 m.....
- 500 bis 1000 m .....
- über 1000 m .....



**114. Wie häufig fahren im Durchschnitt Traktoren (lokal übliche Bezeichnung verwenden!) an einem gewöhnlichen Werktag durch die Straße, in der Sie wohnen?**

Weniger als 5mal pro Tag.....

5-25mal pro Tag .....

Mehr als 25mal pro Tag.....

**115. Befinden sich innerhalb von 300 m um Ihre Wohnung Felder, die regelmäßig geodelt (ggf. lokal übliche Bezeichnung für „odeln“ verwenden) werden?**

Ja .....

Nein.....  ⇒ **weiter mit Frage**

**117**

**116. Befinden sich diese Felder 100 m oder weniger von Ihrer Wohnung entfernt?**

Ja .....

Nein.....

**117. Befindet sich in der Nähe Ihrer Wohnung ein Misthaufen (Festmiststapel)?**

Ja .....

Nein.....  ⇒ **weiter mit Frage**

**120**

**118. Wie weit ist der Misthaufen vom Wohnhaus entfernt?**

Weniger als 10 m.....

10 bis 50 m .....

Mehr als 50 m .....

**119. Ist dieser Misthaufen abgedeckt (umschlossen) oder offen gelagert?**

Abgedeckt .....

Offen .....

**120. Haben Sie auf Ihrem Grundstück einen Komposthaufen?**

Ja .....

Nein.....  ⇒ **weiter mit Frage**

**122**

**121. Wie weit ist der Komposthaufen vom Wohnhaus entfernt?**

Weniger als 10 m.....

10 bis 50 m .....

Mehr als 50 m .....

Ü6  Bitte vorlesen

Die folgenden Fragen beziehen sich auf Ihr Lebensumfeld

**122. Hat einer Ihrer Verwandten jemals aufgrund einer allergischen Erkrankung (Asthma, Heuschnupfen, Neurodermitis) einen Bauernhof aufgegeben oder nicht übernommen?**

Ja .....

Nein.....  ⇒ **weiter mit Frage**

**124**

**123. Wer?**

		Ja	Nein
	Ihre Mutter (d.h. die Großmutter von [Vornamen sagen]) .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Geschwister	Ihrer Mutter .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Die	Eltern Ihrer Mutter .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Ihr	Vater .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Geschwister	Ihres Vaters .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Die	Eltern Ihres Vaters .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Ihre	eigenen Geschwister.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Geschwister	der Großeltern .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

**124. Waren Sie seit der Geburt von [Vornamen sagen] auf einem Bauernhof tätig?**

Ja .....

Nein.....  ⇒ **weiter mit Frage**


**130**

**125. Haben Sie in dieser Zeit gestillt?**

**Ja** .....

**Nein.....**

**126. Wie häufig haben Sie sich im Durchschnitt in den letzten 2 Monaten in einem Stall aufgehalten?**

 Gemeint sind Ställe von Großvieh, d.h. Kühe, Schweine, Pferde, Schafe, Ziegen. Es können auch halbe Stunden (0,5 Std.) angegeben werden.

**In den Wochen, in denen Sie stillten:**

Wie viele Tage pro Woche? \_\_\_\_\_ Tage durchschnittlich

Wie viele Stunden pro Tag? \_\_\_\_\_ Stunden durchschnittlich

**Ggf. seit dem Abstillen:**

Wie viele Tage pro Woche? \_\_\_\_\_ Tage durchschnittlich

Wie viele Stunden pro Tag? \_\_\_\_\_ Stunden durchschnittlich

**127. Wie häufig haben Sie sich im Durchschnitt in den letzten 2 Monaten in einer Scheune aufgehalten?**

 Es können auch halbe Stunden (0,5 Std.) angegeben werden.

**In den Wochen in denen Sie stillten:**


Wie viele Tage pro Woche? \_\_\_\_\_ Tage durchschnittlich


Wie viele Stunden pro Tag? \_\_\_\_\_ Stunden durchschnittlich

**Ggf. seit dem Abstillen:**

Wie viele Tage pro Woche? \_\_\_\_\_ Tage durchschnittlich

Wie viele Stunden pro Tag? \_\_\_\_\_ Stunden durchschnittlich

 Vorlesen

 Im letzten Interview haben wir Sie nach den Tätigkeiten gefragt, bei denen Sie normalerweise in Ihrem landwirtschaftlichen Betrieb beteiligt sind, also z.B. Melken etc.

**128. Hat sich die Art Ihrer Aufgaben auf dem Hof seit dem letzten Interview in irgendeiner Form verändert?**

Ja .....

Nein .....

⇒ **weiter mit Überleitung 7 (S.34)**

**129. Wie haben sich Ihre Aufgaben verändert?**

---

---

---

**130. Wie häufig haben Sie sich im Durchschnitt in den letzten 2 Monaten in einem Stall oder in einer Scheune aufgehalten?**

**In den Wochen, in denen Sie stillten?**

Durchschnittlich \_\_\_\_\_ Stunden pro Monat

**Ggf. seit dem Abstillen?**

Durchschnittlich \_\_\_\_\_ Stunden pro Monat

**131. Haben Sie seit dem letzten Interview Ihre Berufstätigkeit als Landwirtin aufgegeben?**


Ja .....


Nein .....

⇒ **weiter mit Überleitung 7 (S.34)**

**132. Warum haben Sie die Tätigkeit aufgegeben?**

	Ja	Nein
Wegen Allergien / Atemwegsbeschwerden eines Kindes .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Wegen eigener Allergien / Atemwegsbeschwerden .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Aus familiären Gründen (z.B. Zeitmangel) .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Weil der landwirtschaftliche Betrieb aus gesundheitlichen Gründen komplett aufgegeben wurde .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Weil der landwirtschaftliche Betrieb aus wirtschaftlichen oder anderen Gründen komplett aufgegeben wurde .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

**Ü7**  *Vor dem Interview nachschauen, ob im ersten Interview angegeben wurde, dass die Familie einen Bauernhof bewirtschaftet.*

 *Entsprechend hier vermerken:*


*Bauernkind Ja → weiter mit Fragen 133- 173*

*Nein → weiter mit Ü12 auf Seite 47*

 *Bitte vorlesen*

**Die folgenden Fragen beziehen sich auf Ihren Bauernhof.**

**133. Wie häufig wurde [Vornamen sagen] durchschnittlich in den letzten 4 Wochen mit in den Stall genommen?**

 *Gemeint sind hier Ställe von Großvieh, d.h. Kühe, Schweine, Pferde, Schafe, Ziegen. Es können auch halbe Stunden (0,5 Std.) angegeben werden.*

Durchschnittlich \_\_\_\_\_ Tage pro Woche

Durchschnittlich \_\_\_\_\_ Stunden pro Tag

**134. Wie alt war [Vornamen sagen], als [er / sie] zum ersten Mal mit in einen Stall genommen wurde?**

\_\_\_\_\_ Wochen

**135. Hat [Vornamen sagen] darüber hinaus Kontakt zu Nutztieren (z.B. Geflügel, Kaninchen)?**

 Kontakt bedeutet in die Nähe kommen, z.B. Mitnahme zum Stall

Ja .....


Nein.....  ⇒ **weiter mit Frage**

**138**

**136. Wo hat [Vornamen sagen] derartigen Tierkontakt?**

		Ja	Nein
Im	Geflügelstall / Taubenschlag.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Im	Hasen- bzw. Kaninchenstall.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sonstiges:	_____ .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

**137. Wie oft hat [Vornamen sagen] derartigen Tierkontakt?**

 Wenn Stunden pro Monat angegeben werden, bitte in Wochenstunden umrechnen: 1 Stunde pro Monat entspricht 0,25 Wochenstunden

Durchschnittlich \_\_\_\_\_ Stunden pro  
Woche

**138. Wie häufig wurde [Vornamen sagen] durchschnittlich in den letzten 4 Wochen mit in die Scheune genommen?**

Durchschnittlich \_\_\_\_\_ Stunden pro  
Woche

**139. Was wird auf Ihrem Hof betrieben bzw. angebaut?**

	Haupt- bewirtschaftungs- form	aufgabe	Neben- Nein
Milchviehhaltung .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Schweinezucht oder -mast .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Geflügelhaltung .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sonstige Tierhaltung (z.B. Rinder, Pferde) .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Ackerbau (Getreide etc.) .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sonderkulturen (d.h. Gemüse, Obst, Beeren, Futterpflanzen wie Klee, Mais, Raps) .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Waldwirtschaft .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sonstiges: _____			

**140. Gab es in den letzten 3 Monaten irgendwelche wesentlichen strukturellen Veränderungen in Ihrem Betrieb?**

Ja .....

Nein.....  ⇒ **weiter mit Frage**

**143**



**141. Welche?**

- Der Betrieb wurde ganz aufgegeben .....  ⇒ **weiter mit Frage 143**
- Die Milchviehhaltung wurde komplett  
aufgegeben.....  ⇒ **weiter mit Frage 142**
- Der Milchviehbestand wurde erheblich  
reduziert.....  ⇒ **weiter mit Frage 142**
- Der Milchviehbestand wurde erheblich  
erweitert.....  ⇒ **weiter mit Frage 142**
- Sonstige Rinderhaltung wurde komplett  
aufgegeben.....  ⇒ **weiter mit Frage 142**
- Die Schweinehaltung (Zucht, Mast etc.)  
wurde komplett aufgegeben.....  ⇒ **weiter mit Frage 142**
- Die Zahl der Schweine wurde erheblich  
reduziert.....  ⇒ **weiter mit Frage 142**
- Die Zahl der Schweine wurde erheblich  
vergrößert .....  ⇒ **weiter mit Frage 142**
- Sonstiger Tierbestand wurde aufgegeben  
oder in seiner Zahl verändert. ....  ⇒ **weiter mit Frage 142**

**142. Welche Nutztiere werden zur Zeit gehalten, und in welcher Zahl?**

- Milchkühe \_\_\_\_\_ Anzahl
- sonstige Rinder / Kälber / Jungvieh \_\_\_\_\_ Anzahl
- Schweine \_\_\_\_\_ Anzahl
- Geflügel (Hühner, Puten, Enten, Gänse etc.) \_\_\_\_\_ Anzahl
- Pferde ( Ponys, Esel etc. ) \_\_\_\_\_ Anzahl
- Schafe / Ziegen \_\_\_\_\_ Anzahl
- Hasen / Kaninchen \_\_\_\_\_ Anzahl
- Sonstige: \_\_\_\_\_ Anzahl

**143. Haben Sie in den letzten 3 Monaten eine Hauptreinigung Ihrer Ställe durchgeführt?**

Ja .....

Nein.....  ⇒ **weiter mit Frage**

**146**

**144. Wann?**

\_\_\_\_\_   
 Monat/ Jahr

**145. Waren Sie selbst dabei aktiv beteiligt?**

Ne in .....

Ja, ausschließlich bei der Feuchtreinigung (d.h. Einweichen, Reinigung mit Hochdruckreinigern) .....

Ja, ausschließlich bei der Trockenreinigung (d.h. beim Kehren) .....

Ja, sowohl bei der Feucht- als auch bei der Trockenreinigung.....

**146. Sind Ihre Nutztiere (Kühe, Pferde etc.):**

Im Sommer immer auf der Weide

(z.B. auf Almen) .....  ⇒ **weiter mit Frage 147**

Im Sommer nur tagsüber auf der Weide.....  ⇒ **weiter mit Frage 147**

Das ganze Jahr über tagsüber auf der Weide  ⇒ **weiter mit Frage 148**

Das ganze Jahr über im Stall.....  ⇒ **weiter mit Frage 148**

**147. Wenn Ihre Tiere im Sommer auf der Weide sind:**

**In welchen Monaten sind sie üblicherweise auf der Weide?**


Etwa von \_\_\_\_ bis \_\_\_\_   
 Monat Monat

**148. Wie ist Ihr Haupt-Stallgebäude belüftet?**

Natürlich (d.h. durch Öffnen von Fenstern und Türen und / oder

durch eine Trauf-First-Belüftung) .....

Zwangselüftung (d.h. mit Ventilatoren) .....

 *Vor dem Interview im Schwangerschaftsfragebogen nachschauen, welche Tiere*

*auf dem Hof gehalten wurden. Dann die folgenden Fragen entsprechend einleiten und stellen.*

*Z.B.: "Sie haben ja Kühe, in was für einem Stall halten Sie sie?..." oder "Halten Sie immer noch Kühe?" - Antwort JA - „In was für einem Stall...“*

Gehalten wurden: \_\_\_\_\_ *Milchkühe*  
\_\_\_\_\_ *sonstige Rinder / Kälber*  
\_\_\_\_\_ *Schweine*

Ü8  Bitte vorlesen

**Die folgenden Fragen beziehen sich auf Ihre Kuhhaltung.  
(sonst weiter mit Frage 157!)**

**149. In was für einem Stall werden Ihre Kühe gehalten?**

- Anbindes tall .....
- Tieflaufstall (voll eingestreut) .....
- Box enlaufstall .....
- Sonstiges (z.B. vollautomatisierter Stall mit  
Melkroboter).....

**150. Werden Ihre Kühe von Hand gebürstet?**

- Ja** .....
- Nein.....**

**151. Welches Futter erhalten die Tiere?**

	<b>Ja</b>	<b>Nein</b>
Heu .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Heusilage.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Maissilage.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Andere Silage .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Grascops .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Anderes Futter in pelletierter Form .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Krafffutter bzw. Milchleistungsfutter.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sonstiges: _____ .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>



**152. Wie werden die Tiere gefüttert?**

Überwiegend von Hand .....

Überwiegend automatisch .....

**153. Wie wird das Heu oder das Futter von der Tenne bzw. der Scheune in den Stall transportiert?**

Das Heu wird durch die Tür in den Stall gebracht  
(manuell oder maschinell).....

Der Transport des Futters erfolgt von der Tenne durch spezielle  
Abwurfteinrichtungen (z.B. Rohre).....

Das Futter wird von der Tenne direkt in den Stall abgeworfen .....

**154. Was für ein Entmistungssystem haben Sie in Ihrem Kuhstall?**

Ausschließlich Spaltenböden.....  ⇒ **weiter mit Frage 156**

Spaltenböden und Einstreu mit automatischer  
Entfernung des Mistes .....

Spaltenböden und Einstreu mit manueller  
Entfernung des Mistes .....

Ausschließlich Einstreu mit automatischer  
Entfernung des Mistes .....

Ausschließlich Einstreu mit manueller  
Entfernung des Mistes .....

**155. Welche Art von Einstreu wird in Ihrem Kuhstall verwendet?**

<b>Ja</b>				<b>Nein</b>
Rindenmulch	mulch	.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sägemehl	/ Hobelspäne	.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Langes	Stroh	.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Gehäckseltes	Stroh	.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Saures Gras aus Feuchtwiesen	.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sonstiges:	_____	.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

**156. Wenn Sie Milchvieh haben: Wie werden Ihre Kühe gemolken?**

Von	Hand	.....	<input type="checkbox"/>
	Mit einer Eimermelkanlage oder einer Rohrmelkanlage	.....	<input type="checkbox"/>
	In einem Melkstand oder mit einem Melkroboter	.....	<input type="checkbox"/>
Nicht	zutreffend, da kein Milchvieh	.....	<input type="checkbox"/>

Ü9  Bitte vorlesen

**Die folgenden Fragen beziehen sich auf Ihre Schweinehaltung  
(mindestens 10 Schweine, sonst weiter mit Frage 163)**

**157. In was für einem Stall werden Ihre Schweine gehalten?**

- |           |                  |                          |
|-----------|------------------|--------------------------|
| Laufstall | eingestreut..... | <input type="checkbox"/> |
| Dreifläc  | henbucht.....    | <input type="checkbox"/> |
| Teilspa   | ltenboden .....  | <input type="checkbox"/> |
| Vollspal  | tenboden .....   | <input type="checkbox"/> |

**158. Welches Futter erhalten die Tiere?**

- |              |  | Ja                       | Nein                     |
|--------------|--|--------------------------|--------------------------|
| Flüssigfutte | r („Brei“).....                            | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Feuchtes     | Futter, krümelig .....                     | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
|              | Trockenes Futter in pelletierter Form..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Trockenes    | Futter in Mehlform.....                    | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

**159. Wie werden die Tiere gefüttert?**

- |             |                   |                          |
|-------------|-------------------|--------------------------|
| Überwiegend | von Hand .....    | <input type="checkbox"/> |
| Überwiegend | automatisch ..... | <input type="checkbox"/> |

**160. Was für ein Entmistungssystem haben Sie in Ihrem Schweinestall?**

- |                |   |                          |                               |
|----------------|---|--------------------------|-------------------------------|
| Ausschließlich | Spaltenböden.....                           | <input type="checkbox"/> | ⇒ <b>weiter mit Frage 162</b> |
|                | Sowohl Spaltenböden als auch Einstreu ..... | <input type="checkbox"/> |                               |
| Ausschließlich | Einstreu.....                               | <input type="checkbox"/> |                               |



**161. Welche Einstreu wird in Ihrem Schweinestall verwendet?**

		<b>Ja</b>	<b>Nein</b>
Langes	Stroh .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Gehäckseltes	Stroh .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sonstiges:	_____		

**162. Haben Sie in Ihrem Schweinestall eine zusätzliche Belüftungsanlage?**

<b>Ja</b>	..... <input type="checkbox"/>
<b>Nein.....</b>	<input type="checkbox"/>

Ü10  Bitte vorlesen

**Die folgenden Fragen beziehen sich auf Ihre Pferdehaltung  
(sonst weiter mit Frage 167)**

**163. Wo werden Ihre Pferde gehalten?**

- In einem eigenen Pferdestall .....
- Im Kuhstall.....

**164. Wofür halten Sie Ihre Pferde?**

- Nur als Hobby .....
- Pferdezucht, z.B. für Reitpferde.....
- Zur Fleischproduktion .....

**165. Welche Einstreu wird in Ihrem Pferdestall verwendet?**

- |                          | Ja                       | Nein                     |
|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Langes Stroh .....       | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Gehäckseltes Stroh ..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Sägemehl .....           | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Torf .....               | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Sonstiges: _____         |                          |                          |

**166. Befeuchten Sie das Heu vor der Verfütterung an die Pferde?**

- Ja .....
- Nein.....

Ü11  Bitte vorlesen

**Die folgenden Fragen beziehen sich auf das Heu als Futter.**

**167. Wie trocknen Sie Ihr Heu?**

 Erste Kategorie (Nicht zutreffend) bitte nicht vorlesen!


Nicht zutreffend, da keine Heufütterung .....

Natürlich .....

Mit einer Heutrocknungsanlage mit Kaltluft ....

Mit einer Heutrocknungsanlage mit Warmluft .

**168. Wie lagern Sie das Heu?**

 Erste Kategorie (Nicht zutreffend) bitte nicht vorlesen!

Nicht zutreffend, da keine Heufütterung .....

Lose .....

In Ballen.....

Sonstiges: \_\_\_\_\_

**169. Wie sorgen Sie während der Lagerung für eine Belüftung des Heus?**

 Erste Kategorie (Nicht zutreffend) bitte nicht vorlesen!

Nicht zutreffend, da keine Heufütterung .....

Ohne besonderen Maßnahmen zur Belüftung

Mit zwischen den Ballen freibleibenden

Luftschächten zur Belüftung .....

Mit einer Heu-Belüftungsanlage.....


**170. Wies Ihr Heu im letzten Winter jemals sichtbaren Schimmel oder graue Beläge auf?**

Ja .....

Nein .....

Nicht zutreffend, da keine Heufütterung .....

**171. Wies Ihre Silage im letzten Winter jemals Schimmelbefall auf?**

 *Letzte Kategorie (nicht zutreffend) nicht vorlesen!*

Ja .....

Nein .....

Nicht zutreffend, da keine Silagefütterung .....

**172. Ist das Wohngebäude mit einem von Nutztieren bewohnten Stall zusammengebaut?**

Ja .....

Nein.....


**173. Betreten Sie Ihre Wohnräume in Arbeitskleidung?**

Nein, nie, wir wechseln unsere Arbeitskleidung außerhalb  
der Wohnung (z.B. in einer Schleuse) .....

Ja, aber selten (z.B. um mal kurz ans Telefon zu gehen).....


Ja, häufig (z.B. während der Mittagspause) .....

Ja, regelmäßig (wir wechseln unsere Arbeitskleidung grundsätzlich  
innerhalb des Wohnbereiches, z.B. im Flur) .....

Ü12  *vorlesen*

**Die folgenden Fragen beziehen sich auf alle Kinder, unabhängig davon, ob die Kinder selbst auf einem Bauernhof leben.**

**174. Hält [Vornamen sagen] sich regelmäßig auf einem Bauernhof auf (z.B. bei Großeltern, Tanten, Freunden)? Mit regelmäßig meinen wir mindestens einmal pro Woche.**


 *Bei Nicht-Bauernkindern generell nach einem Bauernhof fragen, bei Bauernkindern nach einem anderen Hof als dem elterlichen.*

**Ja** .....

**Nein** .....

⇒ **weiter mit Überleitung 13 (S.48)**

**175. Wie häufig wird [Vornamen sagen] dort mit in den Stall genommen?**


 *Bei Antwort ‚gar nicht‘ bitte 0 Stunden eintragen*


Durchschnittlich ca. \_\_\_\_\_ Stunden pro Monat

Ü13  Bitte vorlesen

**Die folgenden Fragen beziehen sich auf die Eigenschaften Ihrer Wohnung**

**176. Wie viele Zimmer hat Ihre Wohnung bzw. Ihr Haus?**

 ohne Küche, Bad und Keller

 Halbe Zimmer (ohne eigene Tür) zählen nicht extra, bei z.B. 3 ½ Zimmer  
3 Zimmer angeben.

\_\_\_ Zimmer

**177. Wie groß ist Ihre Wohnung bzw. Ihr Haus ungefähr in qm?**

 Die Wohnfläche ist hier gemeint

\_\_\_\_\_ qm Weiß nicht....

**178. Gab es in Ihrer Wohnung in den vergangenen 12 Monaten irgendwelche Feuchtigkeitsflecken oder Schimmel an Wänden oder Decken?**

Ja, Feuchtigkeitsflecken ohne Schimmel.....

Ja, Feuchtigkeitsflecken mit Schimmel .....

Nein .....  ⇒ **weiter mit Frage 183**

**179. In welchen Räumen Ihrer Wohnung traten oder treten diese Feuchtigkeitsflecken bzw. der Schimmel auf?**

		Ja	Nein
Wohnzimmer	.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Elternschlafzimmer	.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Kinderzimmer	.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Küche	.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Badezimmer	.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Anderer Raum:	_____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

**180. Waren diese Feuchtigkeitsflecken bzw. der Schimmel bereits während Ihrer Schwangerschaft vorhanden?**

Ja .....

Nein.....

**181. Ist oder war von den Feuchtigkeitsflecken bzw. dem Schimmel eine Fläche von mindestens der Größe einer Postkarte befallen?**

Ja .....

Nein.....

**182. Haben Sie etwas gegen die Feuchtigkeitsflecken oder den Schimmel unternommen?**

Ja .....


Nein.....

**183. Haben Sie in Ihrer Wohnung in den vergangenen 12 Monaten einen Geruch nach Schimmel oder einen „Kellergeruch“ bemerkt?**

Ja .....

Nein.....

**184. Verwenden Sie in Ihrem Haushalt - egal ob regelmäßig oder nur gelegentlich- ein Holz- oder Kohlefeuer zum Beheizen der Wohnung (z.B. einen offenen Kamin oder einen Kachelofen)?**

 *Wenn der Ofen ausschließlich während der Wintermonate, dann aber regelmäßig verwendet wird, bitte „Ja, regelmäßig“ ankreuzen.*

nein .....

Ja, ab und zu .....


Ja, regelmäßig .....

**185. Wie wird die Wohnung, in der Sie leben, überwiegend beheizt?**

Zentralheizung (Keine Brennstelle in der Wohnung) .....  **Ja** .....  **Nein**


Etagenheizung (Eine Brennstelle in der Wohnung) .....  .....

Einzelraumheizung, z.B. mehrere Öfen  
(Mehrere Brennstellen in der Wohnung, gemeint sind auch ein offener Kamin oder Kachelofen) .....  .....

 *Wenn Zentralheizung ‚JA‘, dann ⇒ weiter mit Frage 187*



**186. Welche Brennstoffe oder Energieart verwenden Sie zum Heizen in der Wohnung?**

 *Nur Angaben für Brennstellen in der Wohnung, nicht für Zentralheizung*

	als überwiegende Energieart	als zusätzliche Energieart	gar nicht
Gas .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Öl .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Holz .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Kohle / Briketts.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Strom .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sonstiges: _____			

**187. Wird das Schlafzimmer beheizt?**

**Ja** .....

**Nein.....**

Ü14  Bitte vorlesen

Die folgenden Fragen beziehen sich auf Veränderungen in Ihrer Wohnung

188. Wurden in Ihrer Wohnung innerhalb der letzten 12 Monate Renovierungsarbeiten durchgeführt oder neue Möbel angeschafft?

Ja .....

Nein .....

⇒ weiter mit Überleitung 15 (S.53)

189. Welche der folgenden Veränderungen wurden im Kinderzimmer (d.h. in dem Zimmer, in dem [Vornamen sagen] schläft) durchgeführt?

	Ja	Nein
Teppichboden verlegt .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sonstigen Boden neu verlegt oder versiegelt .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Streichen / Lackieren von Wänden, Fensterrahmen etc. ....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Wände tapeziert.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Neue Möbel angeschafft.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sonstiges: _____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

190. Haben Sie auch in anderen Zimmern Veränderungen durchgeführt?


Ja .....

Nein .....

⇒ weiter mit Überleitung 15 (S.53)

**191. In welchen Zimmern haben Sie diese Veränderungen durchgeführt?**

	<b>Ja</b>	<b>Nein</b>
Kinderzimmer von Geschwistern .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Elternschlafzimmer .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Wohnzimmer .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sonstige Räume (z.B. Küche, Arbeitszimmer): _____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Ü15  vorlesen

**Die folgenden Fragen beziehen sich auf die Haustierhaltung**

 Vor dem Interview übertragen, welche Haustiere beim ersten Interview gehalten wurden.

Dann gegebenenfalls fragen, ob eines dieser Tiere inzwischen verstorben ist oder weggegeben wurde.


Gehalten wurden: \_\_\_\_\_ Hunde

\_\_\_\_\_ Katzen

\_\_\_\_\_ Vögel

\_\_\_\_\_ sonstige

**192. Haben Sie seit dem letzten Interview vor etwa 3 Monaten Haustiere angeschafft oder weggegeben?**

 Bitte Tierart und Anzahl notieren


Ja, weggegeben: \_\_\_\_\_ ⇒ **weiter mit Frage 193**

Ja, ein Tier ist gestorben: \_\_\_\_\_ ⇒ **weiter mit Frage 194**

Ja, angeschafft: \_\_\_\_\_ ⇒ **weiter mit Frage 194**

Nein..... ⇒ **weiter mit Frage 194**

**193. Warum haben Sie die Haustiere bzw. das Haustier weggegeben?**

 Die Antwortmöglichkeiten dieser Frage sollten nicht vorgelesen werden, um die Probandin nicht auf eine bestimmte Schiene (Vermeidung von Allergien etc.) zu locken.

	Ja	Nein
Wegen Allergien bzw. Atemwegsbeschwerden des Kindes	<input type="checkbox"/> .....	<input type="checkbox"/>
Wegen Allergien bzw. Atemwegsbeschwerden anderer Familienmitglieder	<input type="checkbox"/> .....	<input type="checkbox"/>
Zur Vorbeugung von Allergien	<input type="checkbox"/> .....	<input type="checkbox"/>
Sonstiges	<input type="checkbox"/> .....	<input type="checkbox"/>


**194. Haben Sie [Vornamen sagen] bewusst von Haustieren wie Hunden oder Katzen ferngehalten?**

Ja .....

Nein.....  ⇒ **weiter mit Frage**

**196**

**195. Warum haben Sie [Vornamen sagen] von Haustieren ferngehalten?**

 Die Antwortmöglichkeiten dieser Frage sollten nicht vorgelesen werden, um die Probandin nicht auf eine bestimmte Schiene (Vermeidung von Allergien etc.) zu locken.

	Ja	Nein
Wegen Allergien bzw. Atemwegsbeschwerden des Kindes	<input type="checkbox"/> .....	<input type="checkbox"/>
Wegen Allergien bzw. Atemwegsbeschwerden anderer Familienmitglieder	<input type="checkbox"/> .....	<input type="checkbox"/>
Zur Vorbeugung von Allergien	<input type="checkbox"/> .....	<input type="checkbox"/>
Sonstiges	<input type="checkbox"/> .....	<input type="checkbox"/>

**196. Haben Sie eine Katze?**

Ja .....

Nein.....  ⇒ **weiter mit Frage**

**200**

**197. Hält sich die Katze seit der Geburt von [Vornamen sagen] innerhalb der Wohnräume auf?**

Nie .....  ⇒ **weiter mit Frage 200**

Gelegentlich .....

Häufig .....

Meistens .....

**198. Hält sich die Katze in dem Zimmer auf, in dem [Vornamen sagen] schläft?**

- Nie .....  ⇒ **weiter mit Frage 200**
- Gelegentlich .....
- Häufig .....
- Meistens .....

**199. Hält sich die Katze im Bett von [Vornamen sagen] auf?**

- Nie .....
- Gelegentlich .....
- Häufig .....
- Meistens .....

**200. Haben Sie einen Hund?**

- Ja .....
- Nein .....  ⇒ **weiter Überleitung 16 (S.56)**

**201. Hält sich der Hund seit der Geburt von [Vornamen sagen] innerhalb des Hauses auf?**

- Nie .....  ⇒ **weiter Überleitung 16 (S.56)**
- Gelegentlich .....
- Häufig .....
- Meistens .....

**202. Hält sich der Hund in dem Zimmer auf, in dem [Vornamen sagen] schläft?**

- Nie .....  ⇒ **weiter Überleitung 16 (S.56)**
- Gelegentlich .....
- Häufig .....
- Meistens .....

**203. Hält sich der Hund im Bett von [Vornamen sagen] auf?**

- Nie .....
- Gelegentlich .....
- Häufig .....
- Meistens .....

Ü16  Bitte vorlesen

Die folgenden Fragen beziehen sich auf das Rauchverhalten in Ihrer Familie

204. Rauchen Sie zur Zeit Zigaretten?

Ja .....

Nein.....  ⇒ **weiter mit Frage**

**206**

205. Wie viele Zigaretten rauchen Sie durchschnittlich am Tag?

Durchschnittlich ca. \_\_\_\_\_ pro Tag

206. Haben Sie während der ersten 2 Lebensmonate von [Vornamen sagen] geraucht?

Ja .....

Nein.....  ⇒ **weiter mit Frage**


**208**

207. Wie viele Zigaretten haben Sie während der ersten beiden Lebensmonate von [Vornamen sagen] geraucht?

Durchschnittlich \_\_\_\_\_ Zigaretten täglich



**208. Wie viele Zigaretten werden durchschnittlich am Tag in Ihrer Wohnung von anderen Personen geraucht?**

 *Zigaretten die auf dem Balkon geraucht werden zählen hier nicht! (keine=0)*

**Wie viele von...**


der Mutter Durchschnittlich \_\_\_\_\_pro Tag

dem Partner / Ehemann Durchschnittlich \_\_\_\_\_pro Tag


anderen Personen Durchschnittlich \_\_\_\_\_pro Tag

---

Insgesamt Durchschnittlich \_\_\_\_\_pro Tag

 *vorlesen*

**196. Haben Sie noch Anmerkungen zu diesem Interview?**

 *Bitte Anmerkungen notieren*

 Bitte vorlesen

**Ich danke Ihnen ganz herzlich für Ihre Mitarbeit**

 Interviewer/in, bitte genaue Uhrzeit eintragen


**Ende des Interviews ( Uhrzeit )**    \_\_\_\_\_  
Std/ Min

## **Frage an die Interviewerin/ den Interviewer**

**Waren außer der Probandin und dem Säugling noch andere Personen während des Interviews anwesend? ( mehrere Antworten möglich )**

- Ne            in .....
- Ja, der Ehemann/ Partner.....
- Ja, die Mutter der Probandin .....
- Ja, die Schwiegermutter der Probandin .....
- Ja, ein oder mehrere Kinder .....
- Ja, sonstige Personen \_\_\_\_\_ ....


## Angaben aus Mutterpass und Kinderuntersuchungsheft

 Diese Angaben soweit wie möglich aus dem Mutterpass bzw. dem Untersuchungsheft entnehmen und nur bei fehlenden Einträgen oder Unklarheiten die Mutter selbst befragen!

### A. Geburtsdatum des Kindes

 von Karteikarte übernehmen und beim Interview überprüfen!


\_\_\_\_ \_  
Tag/                      Monat/ Jahr

 Mutterpass: D Seite 7 (bzw. beim zweiten Kind Seite 23); A Seite 15  
Die Angaben zu Größe und Gewicht der Mutter vor der Schwangerschaft werden aus dem Mutterpass erfasst, da die Angaben im 1. Interview ungenau sein könnten.


B. Körpergröße:      \_\_              \_\_ \_\_ cm

C. Körpergewicht zu Beginn der Schwangerschaft      \_\_ \_\_ \_\_, \_\_ kg


D. Körpergewicht am Ende der Schwangerschaft      \_\_ \_\_ \_\_, \_\_ kg

 Deutscher Mutterpass Seite 2 und 3 (bzw. beim zweiten Kind Seite 18 und 19)


### E. Serologische Untersuchungen?

 Seite 2 und 3 (bzw. beim 2. Kind Seite 18 und 19)

	Nicht Durchgeführt	Negativ	Positiv
<b>Antikörpersuchtest (Coombstest)</b>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Titer 1 : __ __
Antikörpersuchtest – Kontrolle	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Titer 1 : __ __
Antikörpersuchtest – Kontrolle	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Titer 1 : __ __
<b>Röteln-HAH-Test</b>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Titer 1 : __ __
Röteln-HAH-Test – Kontrolle	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Titer 1 : __ __
<b>Nachweis von Chlamydia t.-Antigen aus der Zervix</b>			
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>Nachweis von HBs-Antigen aus dem Serum</b>			
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>


 Seite 4 (bzw. beim 2. Kind Seite 20)

<b>Toxoplasmose-Test</b>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>B-Streptokokken-Test</b>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

 Deutscher Mutterpass Seite 15 (bzw. beim zweiten Kind Seite 31)

**F. Anzahl der Geburten (mit dieser) —**

**G. Anzahl der Schwangerschaften (mit dieser)**

 auch nicht ausgetragene Schwangerschaften mitzählen, d.h. Fehl- und Totgeburten

—

**H. In der wievielten Schwangerschaftswoche wurde das Kind geboren?**

\_\_ \_\_ SSW

 *Mutterpass: D Seite 15; A Seite 24*

**J. Geburtsmodus**

Spontan (einschließlich Wassergeburt) .....

Vaginale Operation (Saugglocke oder Zange)

Sectio .....

**K. Geburtsgewicht (g)    \_\_        \_\_ \_\_ \_\_ g**


**L. Körperlänge bei Geburt (cm)        \_\_ \_\_, \_\_ cm**

**M. Kopfumfang bei Geburt (cm)        \_\_ \_\_, \_\_ cm**

**N. Apgar-Zahl    \_\_        \_\_ / \_\_ \_\_**  
**5 Min. / 10 Min.**

**O. ph-Wert (Nabelarterie)    \_\_, \_\_        \_\_**

Angaben aus dem Kinderuntersuchungsheft

 Angaben zur U2 (3.-10. Tag)

**P. Datum der U2**                    \_\_\_\_\_  
Tag/                    Monat/ Jahr                    \_\_\_\_\_

**Q. Körpergewicht (g)**    \_                    \_ \_ \_ g

**R. Körperlänge**    \_                    \_\_, \_\_ cm

**S. Kopfumfang**    \_                    \_\_, \_\_ cm

 Angaben zur U3 (4.-6. Lebenswoche)

**T. Datum der U3**                    \_\_\_\_\_  
Tag/                    Monat/ Jahr                    \_\_\_\_\_

**U. Körpergewicht (g)**    \_                    \_ \_ \_ g

**V. Körperlänge**    \_                    \_\_, \_\_ cm

**W. Kopfumfang**    \_                    \_\_, \_\_ cm