

**Aus der Kinderklinik und Kinderpoliklinik im
Dr. von Haunerschen Kinderspital**

**Vorstand: Prof. Dr. med. Karl-Walter Jauch
Direktor: Prof. Dr. med. Dr. sci. nat. Christoph Klein**

**Assoziation von Asthma bronchiale im Kindesalter mit
Umweltexpositionen:
von mikrobieller Exposition bis zu Wohnortfaktoren**

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

**Vorgelegt von
Susanne Elfriede Karolina Müller-Rompa, MPH**

**aus
Neuburg an der Donau**

2019

**Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München**

Berichterstatter: Prof. Dr. Markus Ege, MA, MPH

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Katja Radon, MSc

Prof. Dr. Rainer Haas

Mitbetreuung durch
den promovierten Mitarbeiter: _____

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 03.04.2019

1. Eidesstattliche Versicherung

Müller-Rompa Susanne Elfriede Karolina

Name, Vornamen

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

**„Assoziation von Asthma bronchiale im Kindesalter mit Umweltexpositionen:
von mikrobieller Exposition bis zu Wohnortfaktoren“**

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, 24.04.2019

Susanne Müller-Rompa

Ort, Datum

Unterschrift Doktorandin/Doktorand

2. Inhaltsverzeichnis

Inhalt

1.	Eidesstattliche Versicherung	3
2.	Inhaltsverzeichnis	4
3.	Abkürzungsverzeichnis	6
4.	Publikationsliste	8
5.	Bestätigung der Ko-Autoren	9
6.	Einleitende Zusammenfassung.....	10
6.1.	Hintergrund	10
	Die Krankheit Asthma bronchiale.....	10
	Veränderte Lebensbedingungen: Der Bauernhof-Effekt.....	11
	Der Bauernhof-Effekt und mikrobielle Exposition	11
	Spezifische Umweltdeterminanten und Asthma	12
6.2.	Methoden.....	12
	GABRIELA-Studie, Studienpopulationen und Outcome-Definitionen	12
	Expositionserfassung von spezifischen Pilztaxa in Matratzenstäuben	13
	Expositionserfassung von Umweltvariablen am Wohnort.....	14
6.3.	Ergebnisse.....	15
	Identifizierte protektive Pilze im Matratzenstaub	15
	Umweltvariablen und Nähe zu Bauernhöfen als Expositionsparameter	16
6.4.	Diskussion.....	18
	Pilze im Matratzenstaub.....	18
	Umweltparameter am Wohnort	18
	Abschließende Zusammenfassung	19
6.5.	Eigenanteil an den Manuskripten	20
	Publikation 1 (Originalarbeit): Identification of fungal candidates for asthma protection in a large population-based study.....	20
	Publikation 2 (Originalarbeit): An approach to the asthma-protective farm effect by geocoding: good farms and better farms	20
	Publikation 3 (Übersichtsarbeit/Buchkapitel): The Hygiene Hypothesis of Allergy and Asthma..	20
7.	Zusammenfassung auf Deutsch.....	21
8.	Zusammenfassung auf Englisch (Abstract).....	22
9.	Publikation 1: Originalarbeit	23
10.	Publikation 2: Originalarbeit	24

11.	Publikation 3: Übersichtsarbeit	25
12.	Literaturverzeichnis	26
13.	Danksagung	28

3. Abkürzungsverzeichnis

Abs.	Absatz
Art.	Artikel
BayDSG	Bayerisches Datenschutzgesetz
bzw.	beziehungsweise
DNS	Desoxyribonukleinsäure
EU	Endotoxin-Einheit (endotoxin unit)
GABRIELA-Studie	multidisziplinäre Studie zur Erforschung der genetischen und umweltbedingten Ursachen für Asthma in der Europäischen Gemeinschaft – Erweiterte Studie (Multidisciplinary study to identify genetic and environmental causes of asthma in the European Community – advanced study)
ITS	Internal transcribed spacer
i. V. m.	in Verbindung mit
KI	Konfidenzintervall
km	Kilometer
kU/L	kilo Unit pro Liter
LDBV	Landesamt für Digitalisierung, Breitband und Vermessung
m	Meter
NDVI	Vegetationsgrad, "greenness" (Normalized difference vegetation index)
NH₃	Ammoniak
NO₂	Stickstoffdioxid
Nr.	Nummer
O₃	Ozon
OR	Odds ratio (aOR adjustierte Odds ratio)
OTU	operational taxonomic unit
p_{roh}	p-Wert aus der unadjustierten Analyse
p_{adj}	p-Wert aus der adjustierten Analyse
PM₁₀	Feinstaub mit einer Partikelgröße ≤10µm (particular matter)

rRNS	ribosomale Ribonukleinsäure
SSCP	single-strand conformation polymorphism
StMELF	Staatsministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten
usw.	und so weiter
UTM	Universal Transverse Mercator
z. B.	zum Beispiel

4. Publikationsliste

Ege M., **Rompa S.**, 2016. The Hygiene Hypothesis of Allergy and Asthma. In: Ratcliffe, M.J.H. (Editor in Chief), Encyclopedia of Immunobiology, Vol. 5, pp. 328-335. Oxford: Academic Press.

Susanne Mueller-Rompa, Tobias Janke, Karin Schwaiger, Melanie Mayer, Johann Bauer, Jon Genuneit, Charlotte Braun-Fahrlaender, Elisabeth Horak, Andrzej Boznanski, Erika von Mutius, Markus J. Ege & the GABRIELA study group. Identification of fungal candidates for asthma protection in a large population-based study.

Pediatr Allergy Immunol 2017 Feb;28(1):72-78. doi 10.1111/pai.12665

Susanne E. K. Mueller-Rompa, Iana Markevych, Alexander J. Hose, Georg Loss, Inge M. Wouters, Jon Genuneit, Charlotte Braun-Fahrlaender, Elisabeth Horak, Andrzej Boznanski, Dick Heederik, Erika von Mutius, Joachim Heinrich, Markus J. Ege and the GABRIELA study group. An approach to the asthma-protective farm effect by geocoding: good farms and better farms.

Pediatr Allergy Immunol. 2018 Jan 4. doi: 10.1111/pai.12861

5. Bestätigung der Ko-Autoren

Siehe Antrag auf Zulassung zur Promotion zum Doktor der Humanbiologie

6. Einleitende Zusammenfassung

6.1. Hintergrund

Die Krankheit Asthma bronchiale

Asthma bronchiale ist eine inflammatorische, obstruktive Lungenerkrankung mit variabler bronchialer Hyperreagibilität. Betroffene Personen klagen über wiederkehrende Episoden von Atemnot, Husten oder pfeifenden Atemgeräuschen (1). Die Prävalenz dieser Krankheit stieg in den letzten Jahrzehnten, vor allem in den Industrienationen, stark an und hat mittlerweile ein Plateau erreicht oder geht sogar leicht zurück (2). Asthma bronchiale ist im Kindesalter die häufigste chronische Erkrankung und zeigt sich sehr heterogen, mit verschiedenen Phänotypen und Schweregraden (3, 4). Die Krankheit kann zum Beispiel gemeinsam mit verschiedenen Allergien (z. B. auf Gräserpollen) oder erblich bedingt auftreten, wenn es Fälle in der Familie gibt (1, 3). Zudem können verschiedenste Umwelteinflüsse Asthma bedingen, wie zum Beispiel Rauchen oder Luftschadstoffbelastung (5). Es gibt auch Zusammenhänge mit bestimmten Infektionen oder Mikroben und Asthma (6, 7). Diese breite Spanne an Assoziationen könnte eine mögliche Ursache dafür sein, dass eine Behandlung mitunter schwierig ist und es bisher keine wirksamen primären Präventionsmaßnahmen gibt.

Betrachtet man die zeitliche Parallele zwischen den Veränderungen der Lebensbedingungen in den westlichen Industrienationen innerhalb der letzten Jahrzehnte und dem Anstieg der Asthmaprävalenz, liegt es nahe veränderte Umweltexpositionen oder Lebensverhältnisse als Ursache zu vermuten. Obwohl es eine genetische Komponente gibt, scheint diese für den starken Anstieg eher irrelevant, da sich Änderungen im Erbgut in so kurzer Zeit nicht so stark hätten durchsetzen können. Eine Antwort auf die Frage, was der Grund für die steigende Prävalenz von Asthma und Atopie sein könnte, liefert die sogenannte Hygienehypothese. David Strachan zeigte schon 1989, dass die Prävalenz von Heuschnupfen negativ mit der Anzahl an Geschwistern assoziiert ist (8). Mehr Geschwister bedeuten demnach wahrscheinlich mehr harmlose Infektionen, schon im Mutterleib oder während der frühen Kindheit und wirken sich schützend aus. Es gibt weitere Hinweise in der Literatur, dass das Immunsystem des Menschen ursprünglich gut an verschiedenste Einflüsse, z. B. Infektionen oder mikrobielle Expositionen, angepasst war. Da viele dieser Infektionen durch verbesserte Hygienestandards nicht mehr auftreten, wird das Immunsystem nicht mehr im ursprünglichen Maße trainiert und reagiert nun mit inflammatorischen Krankheiten, wie beispielsweise Asthma oder Atopie (9). Um letztendlich die Prävalenz von Asthma und assoziierter Erkrankungen zu senken, muss man versuchen die Entstehung der Krankheit genauer zu verstehen, um passende Präventionsmaßnahmen entwickeln zu können.

Veränderte Lebensbedingungen: Der Bauernhof-Effekt

Der westliche Lebensstil ist mit verstärkter Urbanisierung verknüpft und bedeutet somit zwangsläufig, dass Menschen nicht mehr den gleichen Lebensbedingungen wie früher ausgesetzt sind. Eine Vielzahl epidemiologischer Studien in unterschiedlichen Ländern zeigt, dass eine pränatale oder frühkindliche Bauernhof-Exposition vor Asthma, Heuschnupfen und atopischer Sensibilisierung schützt (10-13). Diese Beobachtung ist der sogenannte „Bauernhof-Effekt“. Viele dieser Studien wurden in Deutschland, Österreich und der Schweiz durchgeführt, wo der traditionelle Bauernhof oft durch Milchwirtschaft bestimmt ist, aber zusätzlich auch andere Tiere, wie Schweine oder Hühner gehalten werden. Viele Bauernhöfe in diesen Ländern sind nur in geringem Maße industrialisiert und werden von einer Familie bewirtschaftet. Das bedeutet, dass Kinder ab der Geburt, teils sogar schon pränatal (während der Stallarbeit der Mutter) mit Ställen, Tieren und Futtermitteln (z. B. Heu und Stroh) in Kontakt kommen (13). Es konnten bereits einige bauernhof-spezifische Determinanten bestimmt werden, die zum schützenden Effekt auf Asthma und Allergien beitragen. Dazu gehören zum Beispiel der regelmäßige Stallaufenthalt, der Kontakt mit Futtermitteln (Silage, Heu, Stroh) oder der regelmäßige Konsum unbehandelter Milch direkt vom Hof (14-17). Diese Effekte sind unabhängig voneinander und auch nicht durch andere Störfaktoren erklärbar.

Der Bauernhof-Effekt und mikrobielle Exposition

Neben diesen spezifischen Determinanten wurde ein Zusammenhang von Bauernhofexpositionen mit mikrobieller Exposition nachgewiesen (18, 19). Es ist möglich spezifische Proben (z. B. Matratzenstaub oder abgelagerten Schwebstaub) auf Mikroben (z. B. Bakterien oder Pilze) hin zu analysieren (20, 21), um sie dann mit dem Krankheitsstatus oder mit dem Leben auf dem Bauernhof zu assoziieren. Kinder von einem Bauernhof sind einer höheren mikrobiellen Diversität ausgesetzt, Asthmatiker hingegen weisen signifikant geringere Werte auf als Gesunde (21). Mit Hilfe moderner Labormethoden können unterschiedliche generische Marker, die beispielsweise spezifisch für Pilze oder Bakterien sind, im Matratzenstaub gemessen werden, um so die individuelle, mikrobielle Exposition von Personen zu erfassen.

Viele Pilztaxa, die in Innenräumen nachgewiesen wurden, sind Risikofaktoren für bestimmte Atemwegserkrankungen, wie zum Beispiel Asthma bronchiale (6). Es gibt allerdings auch (Schimmel-)Pilze, die negativ mit Asthma assoziiert sind und einen schützenden Effekt vermuten lassen (22). Solche potentiell protektiven Pilze wurden auch schon im Bauernhofumfeld nachgewiesen (23). Die meisten bisherigen Publikationen zu Pilzen und ihrer Assoziation mit Asthma haben generische Marker oder kulturelle Methoden verwendet. Diese klassischen Verfahren sind nicht sehr spezifisch oder können lediglich kultivierbare

Pilze nachweisen, was nur einen geringen Teil aller vorhandenen Taxa ausmacht (ca. 10%) (24). Ein aktuelleres molekulares Verfahren, mit dem prinzipiell alle Taxa und sogar Pilzsporen erfasst werden können, ist die SSCP-Methode (single-strand conformation polymorphism). Sie erlaubt eine Abbildung des gesamten Expositionsspektrums, teils bis auf Speziesebene.

Ein Ziel dieser Doktorarbeit war es, Pilze im Matratzenstaub anhand dieser Methode nachzuweisen. Es sollte überprüft werden, ob bereits aus der Literatur bekannte Taxa auch in der GABRIELA-Studie (multidisziplinäre Studie zur Erforschung der genetischen und umweltbedingten Ursachen für Asthma in der Europäischen Gemeinschaft) zu finden sind und es sollte nach neuen protektiven Kandidaten gesucht werden.

Spezifische Umweltdeterminanten und Asthma

Zunehmend geraten auch Faktoren wie z. B. Feinstaubbelastung, Ozonwerte, Nähe zu Grünflächen und Wald, oder Bevölkerungsdichte in den Fokus der Asthmaforschung. Solche Umweltdaten werden aufgrund des Klimawandels an vielen Standorten erfasst. Diese Daten können vorhandene Datensätze mit Gesundheitsdaten erweitern und so ist es möglich Assoziationen mit bestimmten Erkrankungen zu untersuchen. Oftmals wird bei Studien zur Erforschung von Atemwegserkrankungen die Landbevölkerung mit der Bevölkerung großer Städte verglichen. Die Ergebnisse für Luftschadstoffe oder Zugang zu Grünflächen zeigen allerdings entgegengesetzte oder keine Effekte (25, 26).

Es ist bislang noch völlig unklar, ob, und wenn ja, wie sich Kinder aus ländlichen Gebieten in Bezug auf verschiedene Parameter am Wohnort (Ozon (O_3), Feinstaub (PM_{10}), Stickstoffdioxid (NO_2), Vegetationsgrad (NDVI) usw.) unterscheiden.

In dieser Doktorarbeit sollte nun untersucht werden, ob Umweltvariablen einen Einfluss auf den Bauernhofeffekt haben und ob sich Bauernhöfe bzw. kranke und gesunde Kinder bezüglich ihrer Umweltparameter unterscheiden.

6.2. Methoden

GABRIELA-Studie, Studienpopulationen und Outcome-Definitionen

Es wurden Daten aus der GABRIELA-Studie untersucht (27). Die GABRIELA-Studie ist ein multizentrisches, europäisches Forschungsprojekt, das die genetischen und umweltbedingten Ursachen von Asthma und allergischer Sensibilisierung untersucht. Die Studie fand in ländlichen Regionen von vier Ländern (Deutschland, Österreich, Schweiz und Polen) statt und es wurden Kinder im Grundschulalter eingeschlossen. Insgesamt gab es

drei Studienphasen. Phase 1 (N=103,219) war populationsbasiert, um die Prävalenzen sowohl von Asthma und Allergien, als auch die Menge an Kindern, die auf einem Bauernhof leben, abschätzen zu können.

Für die zweite Phase (N=15,255) wurden dann zufällig Kinder innerhalb drei verschiedener Expositionsstraten (Bauern, exponierte Nicht-Bauern und Nicht-exponierte Nicht-Bauern) ausgewählt, deren Eltern weiteren Analysen zugestimmt hatten. Bauernkinder sind Kinder, die auf einem familiengeführten Bauernhof aufgewachsen sind und dort leben. Exponierte Nicht-Bauern sind definiert als Kinder, die regelmäßigen Kontakt zum Bauernhof haben, aber nicht dort leben. Diese Kinder trinken entweder unverarbeitete Milch von einem Bauernhof oder halten sich regelmäßig auf Bauernhöfen auf. Nicht-exponierte Nicht-Bauern sind Kinder, die überhaupt keinen Kontakt mit Bauernhöfen haben.

In der dritten Studienphase (N=895) wurden nur bayerische Kinder ausgewählt, für die nun verschiedene weitere Proben, zum Beispiel Matratzenstaubproben, gesammelt wurden. Außerdem gab es ausführliche Fragebogendaten zu den Bereichen Bauernhofexposition (z. B. Aufenthalt im Stall, Kontakt mit Tieren, Trinken von unbehandelter Milch) und Krankheitsanzeichen (Asthmadiagnose, Bronchitishäufigkeit, pfeifende Atemgeräusche) zu verschiedenen Zeitpunkten bis zum Alter von 10 Jahren.

Für die sich anschließenden Analysen wurde Asthma mit einer breiten Definition erfasst, als Asthmadiagnose, mindestens zweimalige obstruktive Bronchitis, Asthmamedikation oder pfeifende Atemgeräusche innerhalb der letzten 12 Monate. Atopische Sensibilisierung wurde mittels allergenspezifischem IgE (Immunglobulin E) nachgewiesen. Kinder mit einem Testergebnis von $\geq 0.7 \text{ kU/L}$ für *Dermatophagoides pteronyssimus* (d1), Katze (e1), Wiesenlieschgras (g6), Roggen (g12), Birke (t3), Beifuß (w6), eine Mischung aus Nahrungsmittelallergenen (fx5: Eiweiß, Milch, Fisch, Weizen, Erdnuss, Soja) oder eine Mischung aus Gräserpollen (gx3: Goldgras, Weidelgras, Wiesenlieschgras, Roggen, wolliges Honiggras) wurden als sensibilisiert eingruppiert.

Expositionserfassung von spezifischen Pilztaxa in Matratzenstäuben

Für diese Arbeit wurde pilzspezifische DNS mit Hilfe der SSCP-Methode direkt aus Matratzenstaubproben nachgewiesen. Für den Nachweis von Pilz-DNS ist besonders der „internal transcribed spacer“ (ITS) von Interesse. Das ITS-Fragment innerhalb der DNS wurde amplifiziert und mittels Gelelektrophorese auf einem nicht-denaturierenden Gel aufgetrennt. Bei der SSCP-Methode faltet sich der DNS-Einzelstrang gemäß seiner Primärstruktur und wandert im Gel an eine bestimmte Position, wodurch nach Färbung des Gels einzelne Banden zu sehen sind. Die gefärbten Gele wurden mit Hilfe eines Scanners digitalisiert und so in Zahlenwerte umgewandelt. Die Zahl 0 bedeutete, dass an dieser Stelle des Gels keine Bande vorhanden war, eine Zahl >0 bedeutete, dass hier eine Bande detektiert

wurde. Die in der statistischen Analyse identifizierten Banden konnten nachträglich aus den Gelen ausgeschnitten und die DNS herausgelöst, aufgereinigt, amplifiziert und sequenziert werden. Anschließend konnte die DNS-Sequenz mittels Datenbankabgleich bestimmten Taxa zugeordnet werden.

Es wurden zwei verschiedene statistische Herangehensweisen verwendet. Ein hypothesengetriebener Ansatz überprüfte acht aus der Literatur bekannte Spezies auf ihre Assoziation mit Asthma im GABRIELA-Datensatz. Dann wurde die jeweilige Assoziation für jede im GABRIELA-Datensatz vorhandene Gelposition adjustiert und die Änderung des β -Schätzers (Change-in-Estimate) berechnet, um herauszufinden, ob der bekannte Effekt durch die jeweilige Gelposition zu erklären ist. In einem weiteren, datengetriebenen Ansatz, wurde jede einzelne Gelposition auf ihre Assoziation mit Asthma untersucht.

Expositionserfassung von Umweltvariablen am Wohnort

Zur genauen Bestimmung der Umweltexpositionen am Wohnort, wurden die Adressdaten aller bayerischen Kinder aus der zweiten Studienphase der GABRIELA-Studie jeweils in einen Geocode umgewandelt. Das bedeutet, dass die Angaben Straße, Hausnummer, Postleitzahl und Wohnort mittels einer Datenbank des Landesamts für Digitalisierung, Breitband und Vermessung (LDBV) in die entsprechenden Angaben zu Längen- und Breitengrad im UTM-System (Universal Transverse Mercator) umgewandelt wurden. Mit diesen Geocodes konnten dann Umweltparameter wie Ozon- oder Stickstoffdioxidwerte, Feinstaubbelastung oder Vegetationsgrad (greenness, treecover) aus verschiedenen Datenbanken abgeleitet werden. Die Bevölkerungsdichte wurde näherungsweise aus der Anzahl der Adressen im Umkreis von 500 m bestimmt. Der Abstand zum nächsten Bauernhof mit Rinderhaltung wurde für die Umkreisgrößen 25 m bis 10 km berechnet. Bei Bauernkindern wurde ebenfalls der Abstand zum nächsten Bauernhof berechnet, der eigene Hof ging in diese Berechnung nicht mit ein. Dies geschah mit einem Datensatz des Bayerischen Staatsministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten (StMELF), in dem jeder bayerische Bauernhof mit Rinderhaltung aufgeführt war. Hierfür wurden wiederum die Adressen der landwirtschaftlichen Betriebe mit Hilfe des Datensatzes vom LDBV in Geocodes umgewandelt und dann die Abstände zwischen den beiden Datenpunkten berechnet. Für die Verwendung von Adressdaten der Studienteilnehmer wurde ein Datenschutzkonzept ausgearbeitet und von der Abteilung für Datenschutz des Klinikums der Universität München freigegeben (datenschutzrechtliche Verfahrensfreigabe nach Art. 26 Abs. 2 BayDSG (Bayerisches Datenschutzgesetz) für das Projekt „527.a.) GABRIEL-Studie 2006 KK 2. Revision“ der Kinderklinik und Poliklinik im Dr. von Hauner'schen Kinderspital am Klinikum der Universität München). Die Übermittlung der Adressdaten der landwirtschaftlichen Betriebe wurde vom Bayerischen Staatsministerium für Ernährung,

Landwirtschaft und Forsten (gemäß § 18 Abs. 1 i. V. m. Art. 17 Abs. 2 Nr. 11 BayDSG) bejaht. Für einen Teil der Kinder (N=501) gab es zudem Sequenzierungsdaten der 16S rRNS aus Matratzenstäuben. Die entsprechenden reads aus der Sequenzierung wurden in OTUs (operational taxonomic units) eingeteilt und damit für jedes Kind die α -Diversität („richness“) bestimmt. Außerdem standen für einen Teil der Kinder (N=446) Endotoxin-Messungen aus Matratzenstaub zur Verfügung. Assoziationen zwischen Asthma oder Atopie und den Expositionsvariablen wurden mittels logistischer Regression berechnet und für die bekannten Determinanten (Milchkonsum, Kontakt zu Kühen/Stroh) adjustiert.

6.3. Ergebnisse

Identifizierte protektive Pilze im Matratzenstaub

Im hypothesenbasierten Ansatz konnten zunächst zwei Pilztaxa als protektiv auf Asthma identifiziert werden (*Penicillium chrysogenum* (Gelposition 627, $p_{roh}=0.020$) und *Wallemia sebi* (Gelposition 1568, $p_{roh}=0.043$)). Nach gegenseitiger Adjustierung blieb die Spezies *Penicillium chrysogenum* im Modell (aOR 0.80 [0.66-0.96], $p_{adj}=0.020$) (Tabelle 1). Da dieser Keim bereits aus einer Analyse mit kulturellem Verfahren in der GABRIELA-Studie bekannt war (21), sollte dieser Effekt nun noch genauer untersucht werden. Insgesamt zehn Gelbanden verursachten eine Änderung des β -Schätzers (Change-in-Estimate) von mindestens 10%. Zwei Banden verblieben als signifikante Variablen im Endmodell und erklärten den protektiven Effekt auf Asthma zu knapp 40%. Da diese Banden auch im datengetriebenen Ansatz ein Signal zeigten, konnten sie bestimmten Taxa zugeordnet werden.

Tabelle 1: Zusammenhang von spezifischen, bekannten Pilzspezies mit Asthma (28)

Siehe Tabelle 2 in der Publikation:

Mueller-Rompa S, Janke T, Schwaiger K, Mayer M, Bauer J, Genuneit J, et al. Identification of fungal candidates for asthma protection in a large population-based study. *Pediatr Allergy Immunol* 2017;28(1):72-78. Doi:10.1111/pai.12665

Im datengetriebenen Ansatz wurden Gelbanden über die p-Werte der Assoziationen jeder einzelnen Gelposition mit Asthma identifiziert. Drei dieser Gelbanden zeigten eine signifikante Assoziation mit Asthma, nach Korrektur für multiples Testen nach Bonferroni blieb eine der Banden signifikant assoziiert (OR=0.79 [0.69-0.91]). Diese Bande enthielt DNS von *Metschnikowia* sp. und *Aureobasidium pullulans* (Gelposition 685) (siehe Tabelle 2).

Tabelle 2: Assoziation der einzelnen Gelpositionen mit Asthma (28)

Siehe Tabelle 4 in der Publikation:

Mueller-Rompa S, Janke T, Schwaiger K, Mayer M, Bauer J, Genuneit J, et al. Identification of fungal candidates for asthma protection in a large population-based study. *Pediatr Allergy Immunol* 2017;28(1):72-78. Doi:10.1111/pai.12665

Umweltvariablen und Nähe zu Bauernhöfen als Expositionsparameter

Die Prävalenzen von Asthma und Atopie zwischen den drei Expositionsgruppen (Bauern, exponierte Nicht-Bauern, Nicht-exponierte Nicht-Bauern) waren unterschiedlich. Bauernkinder hatten die niedrigsten Prävalenzen, exponierte Nicht-Bauernkinder nahmen eine Mittelposition ein, Kinder, die überhaupt keinen Kontakt zum Bauernhof haben, wiesen die höchsten Prävalenzen auf. Auch die erfassten Umweltvariablen unterschieden sich in den Gruppen teils deutlich voneinander. Bauernkinder wohnten beispielsweise in einer Umgebung mit hohem Vegetationsgrad, die exponierte Gruppe nahm wieder eine Mittelposition ein und Nicht-exponierte Nicht-Bauern hatten den geringsten Vegetationsgrad in dieser Studie. Den gegenteiligen Effekt zeigte die Variable Bodenversiegelung. Hier hatten Bauernkinder die niedrigsten Werte, Nicht-Exponierte Nicht-Bauern die höchsten und die exponierten Nicht-Bauern wiesen mittlere Werte auf (Abbildung 1).

Siehe Abbildung 2 in der Publikation:

Mueller-Rompa SEK, Markevych I, Hose AJ, Loss G, Wouters IM, Genuneit J, et al. An approach to the asthma-protective farm effect by geocoding: Good farms and better farms. *Pediatr Allergy Immunol* 2018;1-8. Doi:10.1111/pai.12861

Abbildung 1: Verteilung der Umweltvariablen über die drei Expositionsstraten 1=Bauern, 2=exponierte Nicht-Bauern, 3=Nicht-exponierte Nicht-Bauern (29)

Wenn sich im Umkreis bis 100 m zur Wohnadresse eines Kindes ein Bauernhof befindet, wurden signifikante protektive Effekte auf Asthma und Atopie beobachtet (siehe Abbildung 2).

Siehe Abbildung 3 in der Publikation:

Mueller-Rompa SEK, Markevych I, Hose AJ, Loss G, Wouters IM, Genuneit J, et al. An approach to the asthma-protective farm effect by geocoding: Good farms and better farms. *Pediatr Allergy Immunol* 2018;1-8. Doi:10.1111/pai.12861

Abbildung 2: Assoziation eines Bauernhofes im entsprechenden Abstand zur Wohnadresse mit Asthma bzw. Atopie. Gezeigt sind OR mit 95%-KI (29)

Die Frage war nun, wie dieser protektive Effekt des „nahen Bauernhofs“ erklärt werden kann. Die Modelle wurden folglich für Bauernkinder und Nicht-Bauernkinder stratifiziert. Bei den

Nicht-Bauernkindern wurde der Effekt eines Hofes in der Nähe fast vollständig durch den Konsum von Milch direkt vom Bauernhof erklärt, bei den Bauernkindern lediglich teilweise. Es war zu außerdem zu beobachten, dass sich Bauernkinder mit einem weiteren Bauernhof in der Nähe in den Umweltvariablen von anderen Bauernkindern unterschieden. Bauernkinder mit einem weiteren Hof in der Umgebung waren einer höheren Diversität an Bakterien, gemessen im Matratzenstaub, exponiert (siehe Abbildung 3A). Die Endotoxinwerte hingegen waren in beiden Gruppen ähnlich (siehe Abbildung 3B). Bei Bauernkindern kann der schützende Effekt eines weiteren Bauernhofes in der nahen Umgebung auf Asthma durch die bakterielle Diversität erklärt werden (siehe Abbildung 3C für die individuellen Modelle und 3D für das adjustierte Modell). Dies trifft für Atopie nicht zu.

Siehe Abbildung 5 in der Publikation:

Mueller-Rompa SEK, Markevych I, Hose AJ, Loss G, Wouters IM, Genuneit J, et al. An approach to the asthma-protective farm effect by geocoding: Good farms and better farms. *Pediatr Allergy Immunol* 2018;1-8. Doi:10.1111/pai.12861

Abbildung 3: A-B: Verteilung der bakteriellen Diversität und Endotoxin über vier Expositionsstraten: 1A=Bauern mit einem anderen Hof in der Nähe, 1B=Bauern ohne einen anderen Hof in der Nähe, 2=exponierte Nicht-Bauern, 3=Nicht-exponierte Nicht-Bauern. C-D: Assoziation eines Hofes in der Nähe auf Asthma im separaten, sowie im adjustierten Modell. Der Effekt eines Hofes in der Nähe wird durch die bakterielle Diversität erklärt. (29)

6.4. Diskussion

Pilze im Matratzenstaub

In dieser Arbeit wurden mehrere Pilztaxa gefunden, die mit Asthma negativ assoziiert sind und somit einen schützenden Effekt auf die Krankheit haben. Die Ergebnisse beruhen auf molekularen Identifikationsmethoden für Pilze mittels DNS-Abgleich und sind robuster als klassische kulturelle Verfahren. Einige Pilze, die bereits aus der Literatur bekannt waren, wurden im GABRIELA-Datensatz mit insgesamt fast 900 Kindern wiedergefunden. Außerdem wurden neue asthma-protective Kandidaten generiert. Ein Nachteil der gelbasierten SSCP-Methode ist, dass nicht alle Banden zweifelsfrei einem bestimmten Taxon zugeordnet werden können, da manche Pilze Doppelbanden bilden. Außerdem besteht die Möglichkeit, dass zwei Banden sehr nah aneinander liegen und deshalb beim Ausschneiden für eine Bande gehalten werden. Auch ist mit dieser Methode kein quantitativer Nachweis möglich. Dass Schimmelpilze einen schützenden Effekt auf Atemwegserkrankungen haben, erscheint zunächst unerwartet. Jedoch sind Pilze in der Lage viele verschiedene Metaboliten zu bilden, die wiederum vielfältige Einflüsse auf den menschlichen Organismus haben können. Wie genau der schützende Effekt zustande kommt ist weitgehend ungeklärt. Es muss zukünftig untersucht werden, über welche möglichen Wirkmechanismen dieser Effekt beim Menschen ankommt und welche Substanzen oder Metaboliten genau beteiligt sind. Wenn man diese kennt, können in weiteren Experimenten Präventionsmaßnahmen oder neuen Therapieverfahren für Asthma im Kindesalter entwickelt werden, wofür die bereits bekannten Kandidaten eine Grundlage bilden.

Umweltparameter am Wohnort

Zwischen Bauernkindern und anderen Kindern wurden Unterschiede bezüglich ihrer Umweltvariablen am Wohnort gefunden. Ein geringer Abstand zum Bauernhof zeigte außerdem schützenden Effekt auf Atopie und Asthma.

Die Literatur zu Umweltexpositionen und ihrer Wirkung auf Asthma ist widersprüchlich, vermutlich spielt der individuelle Kontext der entsprechenden Studie eine Rolle. So können die Ergebnisse der GABRIELA-Studie, die in ländlichen Gebieten stattgefunden hat, nicht direkt mit den Daten einer städtischen Kohorte verglichen werden. Dies könnte auch ein Grund dafür sein, dass keine negativen Effekte von Luftverschmutzung auf Atemwegserkrankungen gefunden wurden. Die Umweltparameter am Wohnort erklären den Bauernhof-Effekt nicht vollständig. Sie geben aber einen Hinweis darauf, dass der Bauernhof-Effekt ein eher lokales Phänomen ist, worauf die starken protektiven Effekte eines Bauernhofes in unmittelbarer Umgebung (bis 100 m) schließen lassen. Dafür sprechen auch die bereits gefundenen Determinanten „Konsum von Milch direkt vom Hof“ und „Kontakt mit

Kühen und Stroh“. Beides findet wahrscheinlich nur regelmäßig statt, wenn man in unmittelbarer Nähe zu einem traditionell bewirtschafteten Bauernhof wohnt, auf dem man frische, unverarbeitete Milch kaufen kann oder die Kinder dorthin, zum Beispiel in die Scheune oder den Stall, zum Spielen gehen. Bauernkinder, die einen weiteren Hof in der Nähe hatten, wiesen den größtmöglichen Schutz in dieser Studie auf. Dieser Effekt konnte durch die vermehrte bakterielle Diversität erklärt werden. Diese weiteren Höfe könnten anderen Familienmitgliedern gehören, was der traditionellen, eher kleineren Hofstruktur entspräche, die man aus den untersuchten Gebieten kennt. In Matratzenstäuben von Kindern, die auf diesen Höfen leben, wurde außerdem eine höhere bakterielle Diversität nachgewiesen. Höfe, die weiter von anderen entfernt waren, zeigten sich eher als Risikofaktoren. Diese Höfe könnten generell größer sein, mehr Tiere halten und möglicherweise dadurch auch mehr Luftschadstoffe produzieren, die dann wiederum in einen Risikoeffekt umschlagen. Solche negativen Effekte auf die Atemwegsgesundheit sind beispielsweise aus den Niederlanden oder Nordamerika bekannt. Hier gibt es große Tierfarmen, die hohe Mengen an Ammoniak (NH_3) ausstoßen, was wiederum ein Risiko für Atemwegserkrankungen darstellt (30-32).

Abschließende Zusammenfassung

In einer großen Querschnittstudie wurden sowohl das Mikrobiom in Matratzenstäuben, als auch die Umweltexpositionen am Wohnort der Studienkinder erfasst. Es konnten mit einer molekularen Methode verschiedene Pilztaxa gefunden werden, die einen schützenden Einfluss auf Asthma haben. Zusätzlich wurden individuelle, spezifische Umweltfaktoren gefunden, die ebenfalls protektiv auf Asthma wirken. Diese Ergebnisse sind weitere Anknüpfungspunkte zur Erklärung des Bauernhof-Effekts und treiben die Entwicklung von Präventionsmaßnahmen oder weiteren Therapiemöglichkeiten für Asthma und allergischer Sensibilisierung weiter voran.

6.5. Eigenanteil an den Manuskripten

Publikation 1 (Originalarbeit): Identification of fungal candidates for asthma protection in a large population-based study

- Statistischen Analysen
- Ausschneiden der Gelbanden, die von Interesse waren
- Auftrag zur Sequenzierung der Gelbanden an eine kommerzielle Sequenzierfirma
- Auswertung der Sequenzierungsdaten und taxonomische Zuordnung der DNS mittels Datenbanken
- Interpretation und kritische Diskussion der Ergebnisse
- Verfassen der ersten Manuskriptversion

Publikation 2 (Originalarbeit): An approach to the asthma-protective farm effect by geocoding: good farms and better farms

- Akquise der entsprechenden Datensätze bei LDBV und StMELF inkl. datenschutzrechtlicher Freigabe
- Umwandlung der Adressdaten von Studienteilnehmern und Landwirtschaftsbetrieben in entsprechende Geocodes
- Berechnung der Abstandsvariablen, Bevölkerungsdichte
- Statistische Analysen (außer Pfadanalysen)
- Interpretation und kritische Diskussion der Ergebnisse
- Verfassen der ersten Manuskriptversion

Publikation 3 (Übersichtsarbeit/Buchkapitel): The Hygiene Hypothesis of Allergy and Asthma

- Literaturrecherche
- Verfassen der ersten Manuskriptversion

7. Zusammenfassung auf Deutsch

Asthma bronchiale ist die häufigste Erkrankung im Kindesalter. Da die Krankheit eine sehr hohe Heterogenität mit vielen verschiedenen Phänotypen aufweist, gestaltet sich die Forschung zur Entstehung und Maßnahmen zur Prävention schwierig. Es ist bereits bekannt, dass sowohl Asthma, als auch atopische Sensibilisierung mit verschiedenen Umweltfaktoren assoziiert sind, die teilweise einen schützenden Effekt haben. Einer dieser protektiven Effekte ist der sogenannte Bauernhof-Effekt. Dieser besagt, dass Kinder, die auf einem Bauernhof aufwachsen, oder regelmäßig Kontakt zu Bauernhöfen haben, seltener an Asthma oder Atopie erkranken, als andere Kinder. Der Konsum unbehandelter Milch und der Kontakt zu Ställen, Kühen und Futtermitteln zeigten sich in vielen Studien als schützende Faktoren. Es gibt außerdem einen Zusammenhang von erhöhter mikrobieller Exposition und dem Leben auf dem Bauernhof.

In dieser Dissertation wurden Pilze aus Matratzenstaubproben auf ihre Assoziation mit Asthma hin untersucht. Es wurden einige bereits aus der Literatur bekannte Pilze auch in der GABRIELA-Studie wieder gefunden. Der bereits bekannte, protektive Effekt von *Penicillium chrysogenum* konnte teilweise durch weitere Taxa erklärt werden. Außerdem wurde ermittelt, ob Umweltvariablen am Wohnort der Kinder mit Asthma oder Atopie in Verbindung stehen und ob es einen Einfluss von Bauernhöfen in der Nähe gibt. Ein geringer Abstand zu einem Bauernhof zeigte protektive Effekte auf Asthma und Atopie. Die übrigen erfassten Umweltvariablen, wie Vegetationsgrad oder Bevölkerungsdichte, waren mit diesen beiden Krankheiten nicht assoziiert, unterschieden sich aber bei Bauern und Nicht-Bauern. Der Effekt eines Bauernhofes in der Nähe konnte bei Nicht-Bauernkindern durch die beiden bekannten Determinanten „Trinken von unbehandelter Milch“ und „Kontakt zu Kühen und/oder Stroh“ erklärt werden, bei Bauernkindern blieb der Effekt weitgehend unerklärt. Weiterhin stellte sich heraus, dass sich Bauernkinder mit einem weiteren Hof in der Nähe von anderen Bauernkindern (ohne einen Hof in der Nähe) unterscheiden. Die Bauernkinder mit einem Hof in der Nähe wiesen eine höhere bakterielle Diversität im Matratzenstaub auf. Diese Beobachtung deutet darauf hin, dass es Unterschiede zwischen Bauernhöfen gibt. Bauernhöfe mit einem weiteren Hof in der Nähe könnten für einen traditionelleren Hof sprechen, der in dieser Studie den besten Schutz vor Asthma gezeigt hat.

Die Ergebnisse dieser Doktorarbeit zeigen, dass es sowohl Pilze, als auch spezifische Expositionen am Wohnort gibt, die vor Asthma bzw. atopischer Sensibilisierung schützen können. Damit bilden diese Ergebnisse die Grundlage für weitere Untersuchungen zu Präventionsmaßnahmen für Asthma und Atopie im Kindesalter.

8. Zusammenfassung auf Englisch (Abstract)

Asthma is the most prevalent disease in childhood. The origin and prevention strategies for this disease are difficult, because of a high heterogeneity and different phenotypes. It is known, that asthma and atopic sensitization are associated with a variety of environmental determinants, partly showing a protective effect. One of those protective effects is the so called "farm effect". It suggests that children, who grow up on a farm or have regular contact to farming environments, suffer less often from asthma and atopy than their peers. Consumption of unprocessed milk and contact to stables or barns, cows and their fodder have been found as protective factors in many studies. Moreover, an association of farm living and increased microbial exposure has been shown.

In this doctoral thesis, fungi from mattress dust and their association with asthma were assessed. Known fungi from the literature have been replicated in this study. The protective effect of *Penicillium chrysogenum* could partially be explained by other taxa. Moreover, different environmental variables and presence of farms at the residence of the children were associated with asthma and atopic sensitization. The assessed environmental variables (for example degree of vegetation or population density) differed between farm and non-farm children, but were not associated with asthma or atopy. Only presence of a farm nearby showed protective effects on both diseases. This effect of a farm nearby could be explained by consumption of unprocessed milk and contact to cows and/or straw in non-farm children. However, in farm children this effect was not explained by those variables. Farm children with another farm nearby differed from other farm children. Those farm children with another farm nearby had higher values for bacterial richness in mattress dust, which could be a hint for differences between types of farms. It suggests that there are specific farms with a higher potential for protection.

The results of this thesis shed light on specific protective fungi and environmental exposures and provide relevant information to investigate further strategies to prevent asthma and atopy in childhood.

9. Publikation 1: Originalarbeit

„Identification of fungal candidates for asthma protection in a large population-based study”

Dieses Paper wurde publiziert von:

Susanne Mueller-Rompa*, Tobias Janke*, Karin Schwaiger, Melanie Mayer, Johann Bauer, Jon Genuneit, Charlotte Braun-Fahrlaender, Elisabeth Horak, Andrzej Boznanski, Erika von Mutius, Markus J. Ege & the GABRIELA study group

In: *Pediatr Allergy Immunol* 2017 Feb;28(1):72-78. doi 10.1111/pai.12665

* geteilte Erstautorenschaft

Dieser Artikel wurde als „Editor’s choice“ ausgewählt

10. Publikation 2: Originalarbeit

„An approach to the asthma-protective farm effect by geocoding: good farms and better farms”

Dieses Paper wurde publiziert von:

Susanne E. K. Mueller-Rompa, Iana Markevych, Alexander J. Hose, Georg Loss, Inge M. Wouters, Jon Genuneit, Charlotte Braun-Fahrlaender, Elisabeth Horak, Andrzej Boznanski, Dick Heederik, Erika von Mutius, Joachim Heinrich, Markus J. Ege and the GABRIELA study group

In: *Pediatr Allergy Immunol.* 2018 Jan 4. doi: 10.1111/pai.12861

Dieser Artikel wurde als “Editor’s choice” ausgewählt. Außerdem dient er als Grundlage für die Titelseite der Mai-Ausgabe 2018 des Journals.

11. Publikation 3: Übersichtsarbeit

“The Hygiene Hypothesis of Allergy and Asthma”

Dieser Artikel wurde publiziert von:

Ege M., **Rompa S.**

In: Ratcliffe, M.J.H. (Editor in Chief), Encyclopedia of Immunobiology, Vol. 5, pp. 328-335.
2016. Oxford: Academic Press.

12. Literaturverzeichnis

1. Lemanske RF, Busse WW. 6. Asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2003;**111**(2, Supplement 2):S502-S519.
2. Pearce N, Ait-Khaled N, Beasley R, Mallol J, Keil U, Mitchell E, et al. Worldwide trends in the prevalence of asthma symptoms: phase III of the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). *Thorax* 2007;**62**(9):758-766.
3. Cookson WOC. Asthma Genetics. *Chest* 2002;**121**(3, Supplement):7S-13S.
4. Eder W, Ege MJ, von Mutius E. The asthma epidemic. *N Engl J Med* 2006;**355**(21):2226-2235.
5. Khreis H, Kelly C, Tate J, Parslow R, Lucas K, Nieuwenhuijsen M. Exposure to traffic-related air pollution and risk of development of childhood asthma: A systematic review and meta-analysis. *Environ Int* 2017;**100**:1-31.
6. Reponen T, Lockey J, Bernstein DI, Vesper SJ, Levin L, Khurana Hershey GK, et al. Infant origins of childhood asthma associated with specific molds. *J Allergy Clin Immunol* 2012;**130**(3):639-644.e635.
7. Loss GJ, Depner M, Hose AJ, Genuneit J, Karvonen AM, Hyvarinen A, et al. The Early Development of Wheeze. Environmental Determinants and Genetic Susceptibility at 17q21. *Am J Respir Crit Care Med* 2016;**193**(8):889-897.
8. Strachan DP. Hay fever, hygiene, and household size. *BMJ* 1989;**299**(6710):1259-1260.
9. Ege M, Rompa S. The Hygiene Hypothesis of Allergy and Asthma. In: Ratcliffe MJH, editor. *Encyclopedia of Immunobiology*: Elsevier; 2016. p. 328-335.
10. Riedler J, Eder W, Oberfeld G, Schreuer M. Austrian children living on a farm have less hay fever, asthma and allergic sensitization. *Clin Exp Allergy* 2000;**30**(2):194-200.
11. Von Ehrenstein OS, Von Mutius E, Illi S, Baumann L, Bohm O, von Kries R. Reduced risk of hay fever and asthma among children of farmers. *Clin Exp Allergy* 2000;**30**(2):187-193.
12. Braun-Fahrlander C, Gassner M, Grize L, Neu U, Sennhauser FH, Varonier HS, et al. Prevalence of hay fever and allergic sensitization in farmer's children and their peers living in the same rural community. SCARPOL team. Swiss Study on Childhood Allergy and Respiratory Symptoms with Respect to Air Pollution. *Clin Exp Allergy* 1999;**29**(1):28-34.
13. von Mutius E, Vercelli D. Farm living: effects on childhood asthma and allergy. *Nat Rev Immunol* 2010;**10**(12):861-868.
14. Illi S, Depner M, Genuneit J, Horak E, Loss G, Strunz-Lehner C, et al. Protection from childhood asthma and allergy in Alpine farm environments-the GABRIEL Advanced Studies. *J Allergy Clin Immunol* 2012;**129**(6):1470-1477 e1476.
15. Riedler J, Braun-Fahrlander C, Eder W, Schreuer M, Waser M, Maisch S, et al. Exposure to farming in early life and development of asthma and allergy: a cross-sectional survey. *Lancet* 2001;**358**(9288):1129-1133.
16. Perkin MR, Strachan DP. Which aspects of the farming lifestyle explain the inverse association with childhood allergy? *J Allergy Clin Immunol* 2006;**117**(6):1374-1381.
17. Waser M, Michels KB, Bieli C, Floistrup H, Pershagen G, von Mutius E, et al. Inverse association of farm milk consumption with asthma and allergy in rural and suburban populations across Europe. *Clin Exp Allergy* 2007;**37**(5):661-670.
18. Vogel K, Blumer N, Korthals M, Mittelstadt J, Garn H, Ege M, et al. Animal shed *Bacillus licheniformis* spores possess allergy-protective as well as inflammatory properties. *J Allergy Clin Immunol* 2008;**122**(2):307-312, 312.e301-308.
19. Sudre B, Vacheyrou M, Braun-Fahrlander C, Normand AC, Waser M, Reboux G, et al. High levels of grass pollen inside European dairy farms: a role for the allergy-protective effects of environment? *Allergy* 2009;**64**(7):1068-1073.

20. van Strien RT, Engel R, Holst O, Bufe A, Eder W, Waser M, et al. Microbial exposure of rural school children, as assessed by levels of N-acetyl-muramic acid in mattress dust, and its association with respiratory health. *J Allergy Clin Immunol* 2004;**113**(5):860-867.
21. Ege MJ, Mayer M, Normand AC, Genuneit J, Cookson WO, Braun-Fahrlander C, et al. Exposure to environmental microorganisms and childhood asthma. *N Engl J Med* 2011;**364**(8):701-709.
22. Tischer C, Weigl F, Probst AJ, Standl M, Heinrich J, Pritsch K. Urban Dust Microbiome: Impact on Later Atopy and Wheezing. *Environ Health Perspect* 2016;**124**(12):1919-1923.
23. Ege MJ, Frei R, Bieli C, Schram-Bijkerk D, Waser M, Benz MR, et al. Not all farming environments protect against the development of asthma and wheeze in children. *J Allergy Clin Immunol* 2007;**119**(5):1140-1147.
24. Niemeier RT, Sivasubramani SK, Reponen T, Grinshpun SA. Assessment of fungal contamination in moldy homes: comparison of different methods. *J Occup Environ Hyg* 2006;**3**(5):262-273.
25. Fuertes E, Markevych I, Bowatte G, Gruziova O, Gehring U, Becker A, et al. Residential greenness is differentially associated with childhood allergic rhinitis and aeroallergen sensitization in seven birth cohorts. *Allergy* 2016;**71**(10):1461-1471.
26. Lambert KA, Bowatte G, Tham R, Lodge C, Prendergast L, Heinrich J, et al. Residential greenness and allergic respiratory diseases in children and adolescents - A systematic review and meta-analysis. *Environ Res* 2017;**159**:212-221.
27. Genuneit J, Buchele G, Waser M, Kovacs K, Debinska A, Boznanski A, et al. The GABRIEL Advanced Surveys: study design, participation and evaluation of bias. *Paediatr Perinat Epidemiol* 2011;**25**(5):436-447.
28. Mueller-Rompa S, Janke T, Schwaiger K, Mayer M, Bauer J, Genuneit J, et al. Identification of fungal candidates for asthma protection in a large population-based study. *Pediatr Allergy Immunol* 2017;**28**(1):72-78.
29. Mueller-Rompa SEK, Markevych I, Hose AJ, Loss G, Wouters IM, Genuneit J, et al. An approach to the asthma-protective farm effect by geocoding: Good farms and better farms. *Pediatr Allergy Immunol* 2018.
30. Radon K, Schulze A, Ehrenstein V, van Strien RT, Praml G, Nowak D. Environmental exposure to confined animal feeding operations and respiratory health of neighboring residents. *Epidemiology* 2007;**18**(3):300-308.
31. Pavilonis BT, Sanderson WT, Merchant JA. Relative exposure to swine animal feeding operations and childhood asthma prevalence in an agricultural cohort. *Environ Res* 2013;**122**:74-80.
32. Schinasi L, Horton RA, Guidry VT, Wing S, Marshall SW, Morland KB. Air pollution, lung function, and physical symptoms in communities near concentrated Swine feeding operations. *Epidemiology* 2011;**22**(2):208-215.

13. Danksagung

Zuerst möchte ich mich recht herzlich bei Frau Prof. Erika von Mutius und Herrn Prof. Markus Ege bedanken, die mir die Möglichkeit gegeben haben, ein sehr interessantes und aktuelles Thema zu bearbeiten und diese Doktorarbeit innerhalb ihrer Arbeitsgruppen anzufertigen.

Besonders von Herrn Ege wurde ich bezüglich Statistik und Auswertemöglichkeiten unterstützt und hatte immer einen Ansprechpartner für Fragen. Frau von Mutius war ebenfalls eine große Stütze und war immer offen für Diskussionen. Ich bekam außerdem viele Möglichkeiten, mich auf (inter-)nationalen Kongressen, Tagungen oder anderen Veranstaltungen fortzubilden und meine Ergebnisse der Fachwelt vorzustellen.

Weiterhin bedanken möchte ich mich bei allen (Büro-)KollegInnen, die die Zeit meiner Doktorarbeit abwechslungsreich gestaltet und mich über die Jahre begleitet haben. Auch hier bedanke ich mich für die zahlreichen Diskussionen, die konstruktive Kritik und Rat und Tat bei allen Problemen.

Ganz besonders möchte ich mich bei meinen Eltern bedanken, die mich unentwegt, geduldig und in allen Belangen unterstützt haben und mir diese langwierige Ausbildung überhaupt ermöglicht haben. Außerdem möchte ich mich bei all meinen Freunden bedanken, die mich über die lange Zeit der Dissertation begleitet und mich immer wieder ermutigt haben. Ein ganz besonderer Dank gilt meinem Mann, ohne den ich das alles nicht geschafft hätte und der mir immer die größte Stütze war.