

Aus der Kinderklinik und Kinderpoliklinik
im Dr. von Haunerschen Kinderspital
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktor: Professor Dr. med. Dietrich Reinhardt

**Einfluss des Allergiestatus von Bäuerinnen und Nicht-
Bäuerinnen auf das Zytokinexpressionsmuster im plazentaren
Nabelschnurblut ihrer Neugeborenen**



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

vorgelegt von
Eva-Christina Schnabel
aus München
2008

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

1.Berichterstatter:	Prof. Dr. Erika von Mutius
Mitberichterstatter:	Priv. Doz. Dr. Rudolf A. Jörres
	Prof. Dr. Orsolya Genzel- Boroviczeny
Mitbetreuung durch promovierten Mitarbeiter:	PD Dr. Susanne Krauss- Etschmann
Dekan:	Prof. Dr. Dietrich Reinhard
Tag der mündlichen Prüfung:	10.07.2008

1	Einleitung	6
1.1	Beschreibung und Entstehung allergischer Erkrankungen	6
1.1.1	Definition und Zusammenhang zwischen Allergie und Atopie.....	6
1.1.2	Epidemiologie und Prävalenz allergischer Erkrankungen.....	6
1.1.3	Beschreibung, Ursachen und Auswirkungen allergischer Erkrankungen.	7
1.2	Die Immunologie allergischer Erkrankungen	8
1.2.1	Die Reaktionsmechanismen von T-Zellen im Th1- und Th2-Modell	8
1.2.2	Bildung der IgE-Antikörper und die allergische Entzündungsreaktion..	10
1.2.3	Entstehung von Zytokinen und ihre Auswirkungen auf das Immunsystem.....	11
1.2.4	Besonderheiten des neonatalen Immunsystems.....	13
1.3	Risikofaktoren für die Entwicklung allergischer Erkrankungen	14
1.3.1	Einfluss von Umwelt- und Sozialfaktoren.....	14
1.3.2	Einfluss von genetischen Faktoren	15
2	Zielsetzung und zentrale Fragestellungen	17
3	Material und Methoden – Beschreibung der PASTURE-Studie	19
3.1	Zielsetzung und Beteiligte der PASTURE-Studie	19
3.2	Rekrutierung der Studienpopulation	20
3.3	Materialgewinnung und Datenerhebung	21
3.3.1	Blutentnahme und Analyse Typ.....	21
3.3.2	Erhebung epidemiologischer Daten.....	22
3.4	Methoden	23
3.4.1	Zytokinbestimmung durch Stimulation	23
3.4.2	IgE-Bestimmung	24
3.4.3	Differenzialblutbild.....	25
3.5	Statistische Analyse	25
3.6	Verbrauchsmaterialien und Geräte	26
3.6.1	Geräte.....	26
3.6.2	Verbrauchsmaterialien	26
3.6.3	Reagenzien.....	26
4	Ergebnisse	28
4.1	Zusammensetzung der Studienpopulation und Sammlung der Materialproben	28
4.2	Auswertung der Fragebögen	29

4.2.1	Allgemeine Charakteristika der Studienpopulation	29
4.2.2	Allergien der Mütter	33
4.3	Analyse der IgE-Werte der Mütter	35
4.4	Analyse der Zytokinwerte der Kinder	38
4.4.1	Deskription der Zytokinwerte der Subpopulation.....	38
4.4.2	Vergleich der Zytokinkategorien der Kinder in Abhängigkeit vom mütterlichen Allergiestatus	40
4.4.3	Vergleich der Zytokinkategorien der Kinder in Abhängigkeit vom mütterlichen Sensibilisierungsstatus	49
4.4.4	Störfaktoren für die Zytokinkategorien in Abhängigkeit vom Allergie- und Sensibilisierungsstatus der Mutter	51
4.4.5	Binäre logistische Regression: Abhängigkeit der dichotomen Zytokinkategorien vom Allergie- und Sensibilisierungsstatus der Mutter	53
5	Diskussion	55
5.1	Studiendesign und Probanden	56
5.2	Methoden.....	57
5.3	Ergebnisse	59
5.3.1	Allergien der Mütter	59
5.3.2	IgE-Werte der Mütter.....	59
5.3.3	Zytokinwerte der Kinder.....	60
5.4	Ausblick.....	74
6	Zusammenfassung	75
7	Anhang.....	77
7.1	Tabellenverzeichnis	89
7.2	Abbildungsverzeichnis	90
	Literaturverzeichnis.....	91

Verwendete Abkürzungen:

Ag	Antigen
AD	atopische Dermatitis
APZ	antigenpräsentierende Zellen
AR	allergische Rhinokonjunktivitis
BHR	bronchiale Hyperreagibilität
NBMZ	Nabelschnurblut Mononukleäre Zellen
CD	Cluster of Differentiation
DZ	dendritische Zellen
FA	Familienanamnese
IgE	Immunglobulin E
IL	Interleukin
INF	Interferon
LPS	Lipopolysaccharid
NK-Zellen	natürliche Killerzellen
MHC	Major Histocompatibility Complex
PI	Phorbol-12-Myristat-13-Acetat und Ionomycin
PBMZ	periphere Blut Mononukleäre Zellen
SEB	Staphylokokken Enterotoxin B
Tc-Zellen	zytotoxische T-Zellen
TZR	T-Zell-Rezeptor
TGF	Transforming Growth Factor
Th-Zellen	T-Helferzellen
TNF	Tumornekrosefaktor
Treg	regulatorische T-Zellen

1 Einleitung

1.1 Beschreibung und Entstehung allergischer Erkrankungen

1.1.1 Definition und Zusammenhang zwischen Allergie und Atopie

Der Begriff Allergie wurde zum ersten Mal von Pirquet 1906 beschrieben [77]. Er definierte darunter eine veränderte, überschießende Immunreaktion beim zweiten oder folgenden Kontakt mit einem harmlosen Allergen. Beim Erstkontakt mit dem Allergen kommt es zunächst zur Sensibilisierung und erst bei erneuter Allergenexposition erfolgt dann die allergische Reaktion. Heute wird eine Typ-I-Überempfindlichkeitsreaktion (Allergische Reaktion vom Soforttyp nach Coombs und Gell [19]) als Allergie bezeichnet. Hierbei kommt es zu einer überschießenden Produktion von spezifischen IgE-Antikörpern gegen harmlose nicht pathologische Antigene. Durch die Vernetzung Mastzellgebundener IgE-Antikörper mit Antigenen, werden aus den Mastzellen Mediatoren freigesetzt, die dann zu den allergischen Symptomen führen [53]. Zu den klinischen Manifestationen zählen zum Beispiel das Asthma bronchiale, die atopische Dermatitis und die allergische Rhinokonjunktivitis [53].

Der Begriff Atopie wurde erstmalig 1923 von Coca und Cooce verwendet [19]. Atopie bezeichnet die genetische Veranlagung, d.h. die Neigung eines Menschen zur Typ-I-Überempfindlichkeitsreaktion.

1.1.2 Epidemiologie und Prävalenz allergischer Erkrankungen

Im Laufe der letzten Jahrzehnte ist die Prävalenz von Asthma, atopischer Dermatitis und allergischer Rhinokonjunktivitis in den westlichen Industrieländern stark angestiegen [13]. Zur Zeit scheint jedoch ein Plateau erreicht zu sein [161]. So leiden nach Schätzungen der WHO (World Health Organisation) ca. 300 Millionen Menschen weltweit an Asthma und im Jahr 2005 sind daran 255 000 Menschen verstorben [3]. Allein in Deutschland wird bei Erwachsenen die Prävalenz von Asthma auf ca. 5-9% geschätzt, bei Neurodermitis liegt der Anteil der Betroffenen zwischen 9% und 12% und bei allergischem Schnupfen zwischen 18% und 25%. Bei allen drei Krankheiten nimmt die Prävalenz mit dem Alter ab [30]. Auch in anderen Studien zeigte sich deutlich der bedrohliche Anstieg in der Prävalenz allergischer Erkrankungen. So konnte in einer Studie eine Verdoppelung der Prävalenz von Asthma, allergischer Rhinokonjunktivitis und atopischer Dermatitis bei schwedischen Schulkindern zwischen 1979 und 1991 nachgewiesen werden [5]. Laut einer finnischen Studie verdreifachte

sich sogar die Prävalenz von Asthma und allergischer Rhinokonjunktivitis bei Erwachsenen von 1977 bis 1991 [114]. Die ISAAC-Studie (International Study of Asthma and Allergies in Childhood) war die erste weltweit durchgeführte Studie mit einem einheitlichen, standardisierten Fragebogen, die eine bessere Vergleichbarkeit und allgemeine Aussagen ermöglichte. Anhand dieser Studie wurden große regionale Unterschiede in der Prävalenz von allergischen Krankheiten bei Kindern deutlich [1]. Darüber hinaus zeigte sich auch hier deutlich, dass Asthma inzwischen zu der häufigsten chronischen Erkrankung im Kindesalter geworden ist. So liegt weltweit die Häufigkeit von kindlichem Asthma im Mittel bei 14%, wobei Australien, Neuseeland, USA, Kanada und einzelne europäische Länder die höchsten Anteile mit bis zu 36% aufweisen [1].

1.1.3 Beschreibung, Ursachen und Auswirkungen allergischer Erkrankungen

Das **Asthma bronchiale** ist eine chronisch-entzündliche Erkrankung der Atemwege. Durch die Entzündung kommt es zu rezidivierenden Episoden mit Husten, Giemen, Dyspnoe und Engegefühl in der Brust, insbesondere nachts und frühmorgens. Außerdem besteht eine bronchiale Hyperreaktivität gegenüber verschiedenen Stimuli [2]. Die Einteilung erfolgt nach pathogenetischen Kriterien (extrinsic versus intrinsic Asthma) und nach klinischem Schweregrad (leicht, mittel, schwer), abhängig von der Anzahl der Anfälle und dem Medikamentenbedarf [2]. Im Kindesalter, meist zwischen dem 3. und 10. Lebensjahr, ist die extrinsische allergische Genese mit über 90% am häufigsten [33]. Dennoch müssen primär anatomisch-strukturelle Besonderheiten vorliegen, damit eine Inhalationssensibilisierung durch Allergene zum Asthma führt [17]. Daraus lässt sich schließen, dass die asthmatische Reaktion genetisch determiniert ist und Asthmaanfälle lediglich durch Sensibilisierung und allergische Entzündung getriggert werden. Dies zeigte sich in einer dänischen Zwillingspaarstudie, in welcher 73% der Asthmaerkrankungen genetisch bedingt waren [130]. Im Erwachsenenalter nimmt die intrinsische nicht-allergische Form mit ca. 30-50% an Bedeutung zu. Hier sind die Auslöser meist virale oder bakterielle Infekte [33]. Aber auch im Kindesalter können zum Beispiel RSV-Infekte zu einer Sensibilisierung gegenüber Luftallergenen führen und damit zu einem erhöhten Risiko für die Entstehung von Asthma [34;134].

Die **atopische Dermatitis** (AD), auch Neurodermitis genannt, ist eine chronisch - rezidivierende, juckende und entzündliche Hauterkrankung. Sie ist gekennzeichnet durch unscharf begrenzte Erytheme, meist an den Armbeugen und Kniekehlen, mit

Schuppenbildung, Papulovesikeln und quälendem Pruritus [155]. Auch hier werden eine extrinsische Form, die 80% der Erkrankten betrifft, und eine intrinsische Form unterschieden. Meist tritt die Erkrankung schon im Säuglings- und Kindesalter auf. Dabei treten 60% der Erkrankungen bis zum 1. Lebensjahr auf, weitere 25% bis zum 5. Lebensjahr. [155]. Eine genetische Disposition konnte ebenfalls nachgewiesen werden durch eine Konkordanz bei monozygoten Zwillingen von 72% [124].

Die **allergische Rhinokonjunktivitis** (AR) oder auch Heuschnupfen ist eine heterogene Störung in Folge einer allergischen Entzündung der oberen Atemwege nach Allergenexposition. Ihre Symptome sind Niesen, Rhinorrhoe und Pruritus [7]. Man unterscheidet einerseits zwischen einer saisonalen, perennialen oder berufsbedingten Form. Darüber hinaus hat die WHO eine neue Klassifizierung nach Dauer, Stärke und Belastung der Symptomatik vorgeschlagen [7]. Die AR hat eine hohe Komorbidität mit anderen allergischen Erkrankungen. So ist zum Beispiel das Risiko eines Asthmaleidens bei AR-Patienten 3,2 mal höher als in der Normalbevölkerung [8].

1.2 Die Immunologie allergischer Erkrankungen

1.2.1 Die Reaktionsmechanismen von T-Zellen im Th1- und Th2-Modell

Das Immunsystem hat verschiedene Möglichkeiten auf eingedrungene Antigene zu reagieren. Durch die humorale und die zelluläre Immunität bzw. die unspezifische und die spezifische Abwehr. Im Rahmen der spezifischen Abwehr bekämpft das Immunsystem mit Hilfe von T- und B-Lymphozyten, Plasmazellen und Antikörpern eingedrungene Antigene [53].

Die T-Zellen reifen im Thymus, wo ihr T-Zell-Rezeptor (TZR) entsteht. Dieser erkennt jeweils ein spezifisches Antigen. Dieses ist an den Major Histocompatibility Complex (MHC) von körpereigenen antigenpräsentierenden Zellen (APZ) gebunden und wird somit auf deren Oberfläche präsentiert. Die T-Zellen werden anhand ihres Membran-Markers (Cluster Determinante CD) in T-Helferzellen (CD4) und zytotoxische Zellen (CD8) unterschieden. Naive CD4-T-Zellen können nach ihrer Aktivierung abhängig vom Zytokinmilieu entweder zu **Th1-** oder **Th2-Zellen** differenzieren (Abb.1). Diese können anhand ihres sezernierten Zytokinmusters unterschieden werden [93]. Th1-Zellen sind charakterisiert durch die Produktion der Interleukine IL-2 und IL-12, des Interferons IFN- γ und des Tumornekrosefaktors TNF- α , während Th2-Zellen die Interleukine IL-4, IL-5, IL-9, und IL-13 sezernieren [116]. Hauptaufgabe der Th1-

Zellen ist die zelluläre Immunantwort zur Infektabwehr von Bakterien, Viren, Pilzen und die Krebsbekämpfung durch Aktivierung von Makrophagen, natürlichen Killerzellen und zytotoxischen T-Zellen [27]. Th2-Zellen sind für die humorale Antwort der B-Zellen verantwortlich, indem sie gemeinsam mit weiteren kostimulatorischen Signalen den Isotypswitch der Antikörpersynthese zu IgE induzieren [37;111]. Dies spielt eine zentrale Rolle in der Pathogenese allergischer Erkrankungen [27]. Darüber hinaus aktivieren sie Mastzellen und induzieren die Ausreifung von eosinophilen und basophilen Granulozyten zur Bekämpfung von Parasiten und Würmern [4]. Sie werden in ihrer Aktivität und Differenzierung bzw. Ausreifung durch IFN- γ der Th1-Zellen gehemmt, weshalb Th2-Zellen eine eher allergiefördernde Rolle haben. Im Gegenzug unterdrücken Th2-Zellen über IL-4 die Aktivierung von Th1-Zellen [116] (Abb. 1). Ob sich T-Helferzellen eher zu allergieprotektiven Th1-Zellen oder zu allergiefördernden Th2-Zellen differenzieren, hängt u.a. vom Zytokinmilieu zum Zeitpunkt der T-Zelldifferenzierung ab. So entwickeln sich in der Gegenwart von IL-12 und IFN- γ Th1-Zellen, während IL-4 die Entstehung von Th2-Zellen fördert [131] (Abb. 1). Aber auch die Konzentration des Antigens ist entscheidend für die T-Zell-Prägung [27]. Man nimmt an, dass niedrige Ag-Konzentrationen eher eine Th1-Antwort und hohe Konzentrationen eine Th2-Antwort fördern [52]. Einen wesentlichen Einfluss auf das Verhältnis zwischen Th1- und Th2-Zellen haben die sogenannten regulatorischen T-Zellen. Diese erstmals in der Mitte der 90er Jahre beschriebene Population der **Th3- oder regulatorischen T-Zellen (Treg)** bzw. **Supressor-T-Zellen** ist durch die Sezernierung von IL-10 und den Transforming Growth Faktor TGF- β gekennzeichnet [154]. Sie tragen neben dem CD4-Rezeptor noch weitere Oberflächen-Marker (CD25, CTLA-4, GITR). Darüber hinaus exprimieren sie den Transkriptionsfaktor FOXP3, der entscheidend zur Bildung von Tregs beiträgt. Sein Funktionsverlust führt zu einer autoaggressiven Lymphoproliferation und ist ursächlich an der Entstehung seltener X-chromosomal vererbter Krankheiten wie IPEX (Immundysregulation, Polyendokrinopathie, Enteropathie, X-chromosomal) und XLAAD (X-chromosomale Autoimmunität, allergische Dysregulation) beteiligt [15]. Die Wirkungsmechanismen der Tregs sind noch nicht vollständig aufgeklärt, wahrscheinlich spielen Zell-Zell-Kontakt abhängige Mechanismen und die Zytokine IL-10 und TGF- β eine Rolle. So tragen Tregs entscheidend zu Induktion von Toleranz gegenüber Selbst- und Fremd-Antigenen bei, indem sie die Aktivierung und Expansion von autoreaktiven T-Zellen unterdrücken [154]. Darüber hinaus unterdrücken sie Basophile, Eosinophile, Mastzellen sowie antigenpräsentierende Zellen und verhindern dadurch die überschießende Erzeugung

von Effektor Th1- und Th2-Zellen [6]. Eine weitere Fähigkeit besteht in der Steuerung von B-Zellen. Hierbei inhibieren sie mit Hilfe von Zytokinen die Bildung von spezifischen IgE und induzieren IgG4 und IgA [6]. Die Tregs lassen sich in natürlich vorkommende Tregs und in adaptive/induzierte Tregs unterscheiden [15]. Durch Defekte in der Entwicklung und Funktion der Tregs kann es zu einem funktionellen Ungleichgewicht zwischen Th1- und Th2-Zellen kommen. Durch die Dominanz der Th1-Antwort ist das Risiko für die Entstehung von Autoimmunerkrankungen, chronischen Entzündungen und Kontaktdermatitis deutlich erhöht [15]. Andererseits führt ein Übergewicht der Th2-Zellen zu allergischen Erkrankungen [143].

Abbildung 1: Zytokinabhängige T-Zelldifferenzierung

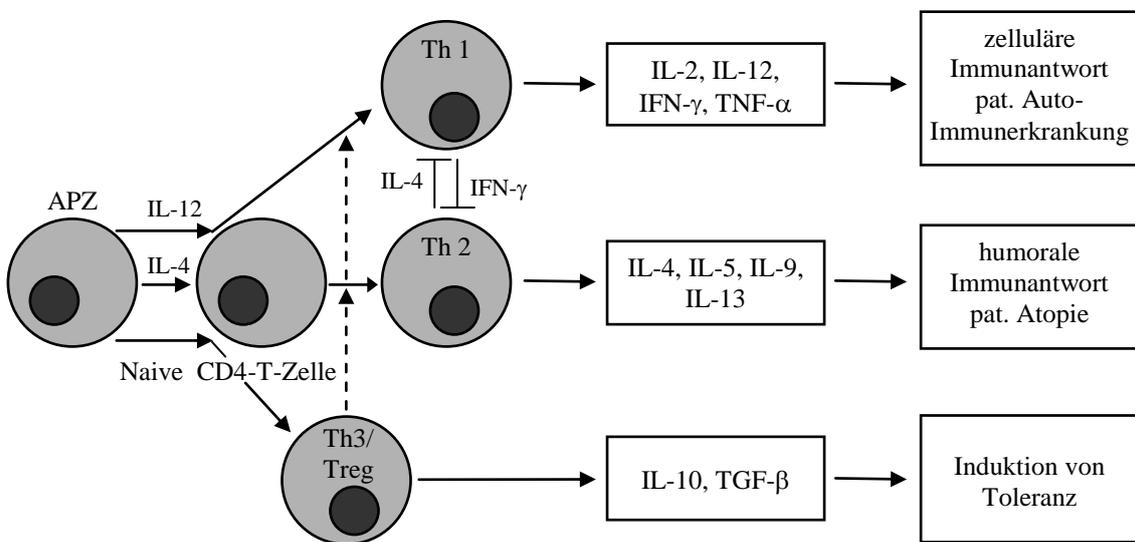


Abb. 1: Differenzierung der naiven CD4-T-Zelle in Th1-, Th2- und Th3/Treg-Zellen in Abhängigkeit von der Einwirkung der von den APZ produzierten Zytokine IL-12 bzw. IL-4. Der Mechanismus der Th3/Treg-Zellentstehung ist nicht vollständig aufgeklärt. Regulatorische Funktion der Th3/Treg-Zellen auf die Th1/Th2-Zellentstehung. Hemmung der Th1-Differenzierung durch IL-4 der Th2-Zellen bzw. der Th2-Differenzierung durch IFN- γ der Th1-Zellen. Zytokinproduktion der Th-Zellen und die Auswirkung auf das Immunsystem.

1.2.2 Bildung der IgE-Antikörper und die allergische Entzündungsreaktion

Für die Entstehung von allergischen Erkrankungen ist eine gesteigerte Immunglobulin E (IgE) Produktion verantwortlich. Hierfür ist der Isotypswitch der B-Lymphozyten notwendig (Abb. 2). Diese wandeln sich nach wiederholtem Allergenkontakt in Abhängigkeit vom Zytokinmilieu von IgM zu IgE oder IgG produzierenden B-Zellen um. Bei einem überwiegenden IFN- γ Milieu kommt es zu einer Differenzierung in Richtung IgG produzierende B-Zellen, während ein IL-4 oder IL-13-Milieu zu IgE-produzierenden B-Zellen führt [32;38]. IgE bindet an den Fc-Rezeptor auf Mastzellen,

Basophilen und Eosinophilen. Bei einem zweiten Allergenkontakt kommt es durch Quervernetzung zwischen spezifischem Antigen und zwei benachbarten IgE-Molekülen („Bridging“) zur Degranulation von Mastzellen [63]. Die hierbei freigesetzten Mediatoren wie Histamin, Serotonin und Prostaglandin, lösen durch Interaktion mit immunkompetenten Zellen sowie Gefäß- und Muskelzellen die allergischen Symptome aus. So kommt es zum Beispiel im Bronchialsystem zur Vasodilatation mit Schleimhautödem und zur Bronchokonstriktion, als Leitsymptome des allergischen Asthmas [41]. Die von T-Zellen und Makrophagen gebildeten Zytokine sind für weitere immunologische Reaktionen verantwortlich, indem sie auf komplexe Weise mit den Immunzellen interagieren. So fördert IL-4 die Antigenpräsentation, indem es die Expression des CD23-Rezeptors (niedrig-affiner IgE-Rezeptor) auf aktivierten B-Lymphozyten induziert [162]. Durch antigenpräsentierende B-Zellen wird nun wiederum die Th2-Immunantwort gefördert. Ferner ist IL-4 ein wichtiger Vermehrungsfaktor für bereits existierende Th2-Zellen und inhibiert die Th1-Immunität [116]. Ein weiteres wichtiges Zytokin ist IL-5, das ebenfalls von Th2-Zellen produziert wird. Es begünstigt die Reifung und die Rekrutierung der eosinophilen Granulozyten ins entzündliche Gewebe und verlängert gleichzeitig ihr Überleben durch Hemmung der Apoptose [127].

Abbildung 2: Isotypswitch der B-Lymphozyten

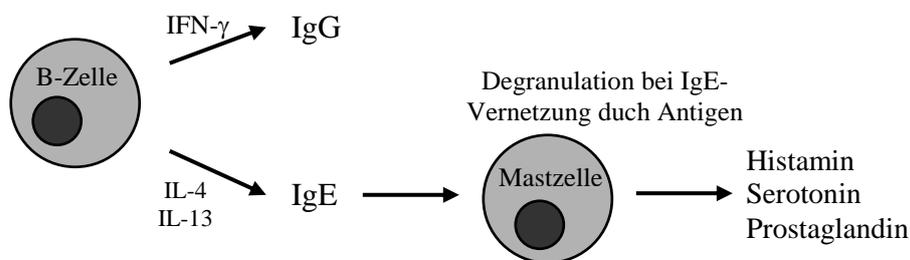


Abb. 2: Differenzierung der B-Zelle in IgG und IgE-produzierende B-Zellen unter dem Einfluß eines IFN- γ bzw. IL-4, IL-13 Milieus. Mastzelldegranulation bei Quervernetzung mastzellständiger IgE-Moleküle durch Antigene. Freisetzung von Mediatoren.

1.2.3 Entstehung von Zytokinen und ihre Auswirkungen auf das Immunsystem

Zytokine sind eine heterogene Gruppe von Proteinhormonen, die von einer Vielzahl von Zellen produziert werden und als Vermittler der eigentlichen Effektorfunktion der Zellen und der Kommunikation zwischen den Zellpopulationen dienen. Zu ihnen zählen unter u.a. Interleukine (IL), Interferone (IFN), Tumornekrosefaktoren (TNF). Kennzeichnend für sie ist, dass sie sowohl **autokrin**, **parakrin** und **endokrin** wirken

können. Sie haben die verschiedensten Effekte auf ihre Zielzellen, wie Zellwachstum, Differenzierung, Aktivierung, Proliferation, Chemotaxis und Apoptose. Darüber hinaus können sie die Wirkung anderer Zytokine verstärken, überlagern oder aufheben und deren Synthese fördern oder hemmen. Gleiche Zytokine können von vielen Zellen produziert werden (keine Spezifität der Produktion) und auf verschiedene Zellen wirken (Pleiotropismus: keine Spezifität der Wirkung). Sie werden von Zellen kurz und selbstlimitierend sekretiert und benötigen nur geringe Mengen für ihre Wirkung [53]. Wie in Kapitel 1.2.1 bereits gezeigt wurde, spielen Zytokine eine wichtige Rolle in der T- und B-Zell-Differenzierung, dem Verhältnis der Th1- und Th2-Zellen und in der Entstehung von allergischen Erkrankungen.

In der vorliegenden Arbeit wurden fünf Zytokine untersucht, deren Funktionen im Folgenden genauer beschrieben werden.

1. IL-5 wird hauptsächlich von Th2-Zellen aber auch von aktivierten Mastzellen und Eosinophilen produziert. Seine Funktion besteht in der Stimulation, Produktion und Differenzierung von Eosinophilen, auf die es auch chemotaktisch und lebensverlängernd wirkt [18;157]. Weiterhin ist IL-5 Kostimulator für das Wachstum und die Differenzierung aktivierter B-Zellen [69]. Zusammen mit IL-2 und IL-4 fördert es den Isotypswitch der B-Zellen und leistet somit einen entscheidenden Beitrag zur Th2-vermittelten allergischen Reaktion [110].

2. IL-10 wird von Treg-, Th1- und Th2-Zellen, Tc-Zellen, aktivierten B-Zellen, Makrophagen und von nicht-lymphozytären Zellen, wie Kerationozyten produziert [132]. Es spielt eine wichtige Rolle in der Regulation der Immunreaktion, indem es Makrophagen, T-Zellen, B-Zellen und natürliche Killerzellen hemmt und deren Zytokin- und Chemokinproduktion verlangsamt [122;132]. Weiterhin inhibiert es die Proliferation von antigenspezifischen Th-Zellen, durch Herunterregulation der MHC-II Antigene auf Monozyten und damit der Antigen-Präsentationsfähigkeit [26;132]. Außerdem vermindert es die Überlebensdauer von Eosinophilen und die Umwandlung von B-Zellen in IgE sezernierende Zellen. Andererseits erhöht es die IgE- und IgG-Produktion bereits umgewandelter B-Zellen [54]. Somit wirkt es sowohl immunsuppressiv, als auch immunstimulierend.

3. IL-12 ist ein wichtiges Zytokin der frühen Th1-Antwort, es wird aber auch von aktivierten B-Zellen, Monozyten, Makrophagen und dendritischen Zellen sezerniert [142]. Seine Hauptaufgabe besteht in der Aktivierung und Differenzierung der NK- und Th1-Zellen. Dadurch fördert es letztendlich die Th1-Zytokinproduktion [80;142]. Im

Gegenzug hemmt es die Th2-Zellen, deren Zytokinproduktion und damit die IL-4 abhängige IgE-Produktion [85].

4. IFN- γ stellt ein wichtiges Zytokin der späten Phase der Th1-Antwort dar. Darüber hinaus wird es von aktivierten B-Zellen und natürlichen Killerzellen produziert [23]. IL-2 und IL-12 wirken dabei als Verstärker [142]. IFN- γ hemmt Th2-Zellen und damit auch die IL-4 induzierte IgE-Produktion von B-Zellen, fördert aber im Gegenzug die Th1-Differenzierung [83]. Außerdem aktiviert es Makrophagen und deren TNF- α Produktion, Neutrophile und die Zytotoxizität von NK-Zellen [25]. Es hat weiter eine proinflammatorische Wirkung, indem es die Produktion von IL-1 fördert und gleichzeitig die IL-10-Produktion von Monozyten hemmt [16].

5. TNF- α wird vorwiegend von aktivierten Monozyten und Makrophagen gebildet, aber auch von aktivierten T-Zellen und Eosinophilen [20]. Es steigert die Phagozytose und die Zytotoxizität von Neutrophilen und Makrophagen. Darüber hinaus fördert es die MHC-II Expression, die IL-2 Synthese und die Aktivierung von T-Zellen [123]. TNF- α verstärkt ferner die chronische Entzündungsreaktion der Atemwege beim Asthma [126].

1.2.4 Besonderheiten des neonatalen Immunsystems

In der Schwangerschaft liegt in der uteroplazentaren Einheit und somit auch im Fetus physiologischerweise eine Th2-Polarisierung vor. Ziel ist es, durch die Unterdrückung der Th1-Reaktion, eine Abstoßung des semiallogenen fetalen Gewebes zu verhindern [153]. Darüber hinaus wird der mütterliche Organismus vor dem plazenta-toxischen IFN- γ der Th1-Zellen geschützt. Auch in Neugeborenen findet man dieses Ungleichgewicht zwischen Th1- und Th2-Zellen [106]. Das neonatale Immunsystem ist bereits bei Geburt zu einer positiven Proliferationsantwort gegenüber Allergenen fähig [57]. Dennoch sind die Funktionen des kindlichen Immunsystems noch unreif. So zeigen sich quantitative und funktionelle Unterschiede bezüglich verschiedener Zelltypen, wie APZ, NK-Zellen und B-Zellen, im Vergleich zum erwachsenen Immunsystem. Die T-Zell-Funktion ist vermindert, besonders die Produktionskapazität von IL-4 und IFN- γ . Aber auch die Antikörper-Synthese ist herabgesetzt [67]. Man nimmt an, dass während der frühen Kindheit mikrobielle Stimuli zu einer Ausreifung des Immunsystems führen und somit der Th1-Arm der Immunantwort ansteigt. Bei Kindern, die später eine Allergie entwickelten, konnte hingegen weiterhin eine Th2-dominierte Immunantwort gezeigt werden [82]. Man nimmt an, dass diese mangelnde Ausreifung der Th1-Immunität im Zusammenhang steht mit der Empfindlichkeit von

Neugeborenen gegenüber einer allergischen Sensibilisierung. Somit stellt die Neonatalperiode ein kritisches Zeitfenster für die Entstehung von Allergien dar [51].

1.3 Risikofaktoren für die Entwicklung allergischer Erkrankungen

Zahlreiche Faktoren haben einen Einfluss auf die Entstehung von allergischen Erkrankungen. Im Folgenden werden einige Wesentliche erläutert.

1.3.1 Einfluss von Umwelt- und Sozialfaktoren

Eine mögliche Erklärung für die Zunahme allergischer Erkrankungen bietet die „Hygiene Hypothese“ [146]. In diesem Model beschrieb Strachan zum ersten Mal, dass die Anzahl der älteren Geschwister einen protektiven Effekt hat. Später wurde hieraus abgeleitet, dass die verbesserten hygienischen Bedingungen eines „westlichen Lebensstils“ zu einer verminderten Interaktion des frühkindlichen Organismus mit Mikroorganismen und damit zu weniger bakteriellen und viralen Infektionen führt. Dadurch wird die Th1-Antwort seltener stimuliert und es kommt zu einer Verschiebung des Gleichgewichts der Immunantwort in Richtung Th2 [89]. So konnte in mehreren Studien eine inverse Korrelation zwischen verschiedenen Infektionen und allergischen Erkrankungen bestätigt werden [58;90;148]. Auch die Konfrontation des frühkindlichen Verdauungstraktes mit bakteriellen Antigenen stimuliert die Th1-Antwort und die Toleranzentwicklung gegenüber diesen Antigenen und vermindert somit das Allergierisiko [60]. Eine wichtige Rolle spielt auch die frühe Exposition mit Endotoxinen und Lipopolysacchariden, deren protektiver Effekt in vielen Studien diskutiert wurde [12;147]. So konnte eine verminderte Prävalenz allergischer Erkrankungen bei Kindern von Bauern im Vergleich zu Nicht-Bauern nachgewiesen werden [11;145], wobei hier vor allem der regelmäßige Kontakt zu landwirtschaftlichen Nutztieren protektiv zu sein scheint [152]. Der Einfluss des Lebensstilfaktors auf die Allergieprävalenz wird deutlich in Vergleichsstudien zwischen Ost- und Westdeutschland. Hier zeigten Kinder in Westdeutschland häufiger eine Sensibilisierung gegenüber Luftallergenen. Dies erklärt die Unterschiede in der Prävalenz von Asthma und allergischer Rhinokonjunktivitis [74;150]. Auch ein höherer Sozialstatus ist assoziiert mit der Entstehung von Allergien [44]. Bestimmt wird er durch verschiedene Faktoren, wie dem hohen Bildungsgrad der Eltern, der geringeren Zahl älterer Geschwister [149], dem späteren Besuch von Kindertagesstätten [70], sowie dem besseren Impfstatus und dem häufigeren Einsatz von antimikrobiellen Therapien

[98]. Dies konnte jedoch nicht für die atopische Dermatitis nachgewiesen werden [158]. Daneben gibt es eine Vielzahl von Triggerfaktoren für allergische Reaktionen, wie verkehrsbedingte Luftschadstoffe [48], Tabakrauch [71] und Schadstoffe in der Innenraumluft [45].

1.3.2 Einfluss von genetischen Faktoren

Seit langem ist bekannt, dass genetische Einflüsse wichtige Belastungsfaktoren für die Entstehung von allergischen Erkrankungen sind. So schätzte eine dänische Zwillingsstudie, dass 73% der Asthmaerkrankungen genetisch bedingt sind [130]. Eine andere Untersuchung zeigte ein Risiko von 10% für eine allergische Erkrankung ohne familiäre Belastung, welches sich auf 20-30% erhöhte, wenn ein Elternteil betroffen war, und auf ungefähr 60%, wenn beide Eltern unter Allergien litten [9]. In einer weiteren Studie zeigte sich, dass das Risiko einer Vererbung durch die Mutter höher ist als durch den Vater [118]. Allergische Erkrankungen folgen jedoch nicht den klassischen Mendelschen Erbgängen (autosomal rezessiv und dominant), sondern sind komplexe genetische Merkmale, die durch verschiedenste vererbte Komponenten bestimmt werden [87]. Die genetische Analyse komplexer Erbgänge wird durch einige Grundprobleme erschwert. So können Individuen, obwohl sie ein prädisponierendes Gen geerbt haben, nicht erkranken (inkomplette Penetranz), wohingegen andere, die dieses Gen nicht besitzen, trotzdem auf Grund von Umweltfaktoren erkranken (Phänokopie). Die genetische Heterogenität besagt, dass verschiedene Mutationen den identischen Phänotyp und damit dieselbe Krankheit zur Folge haben können. Gleichzeitig müssen aber verschiedene Genmutationen vorliegen, um die Krankheit auszulösen (polygene Vererbung) [73]. Die genetische Komplexität spiegelt sich in der ständig steigenden Zahl gekoppelter chromosomaler Regionen und Polymorphismen. Es wurden bereits zahlreiche Kopplungsstudien genomweit und in Kandidatengen durchgeführt, um „Atopiegene“ zu lokalisieren. Dabei konnten in folgenden chromosomalen Regionen wiederholt eine Kopplung mit Atopie assoziierten Phänotypen aufwiesen werden: Chromosom 5q23-33, 6q21-23, 11q13, 12q14-24 und 13q11-32 [125]. Diese enthalten zahlreiche Gene, die an verschiedenen allergischen Entzündungen beteiligt sind (Tab. 1).

Tabelle 1: Chromosomale Regionen mit Hinweis auf Kopplung mit Atopie assoziierten Phänotypen in ≥ 3 unabhängigen Studienpopulationen [125].

Chromosomale Region	Kandidatengene	Phänotyp
5q23-33	IL-4, IL-13, IL-3, IL-5, IL-9, GMCSF, CD14, SPINK5, ADRB2, GR	Asthma, BHR, Atopie, Gesamt- und spezifisches IgE, AD, Eosinophilie
6p21-23	HLAII, TNFA	Spezifisches IgE, Gesamt-IgE, Asthma, allergisches Asthma
11q13	FCER1B, GSTP1, CC16	Asthma, BHR, Atopie, Gesamt- und spezifisches IgE, AD
12q14-24	IFNG, MMP19, IL-22, IL-26, BTL1, KIT-ligand, LTA4 Hydrolase, NFYB, IGF1, PLA2	Gesamt-IgE, Asthma, BHR, Atopie, Eosinophilen-Konzentration
13q11-32	HMGP1 HRF	Asthma, allergisches Asthma, Atopie, AD, spezifisches IgE, Eosinophilen-Konzentration

2 Zielsetzung und zentrale Fragestellungen

Mehrere Zwillings- und Familienstudien belegen, dass die Vererbung eine entscheidende Rolle bei der Entstehung von allergischen Krankheiten spielt [120;130]. Dabei hat in Bezug auf eine allergische Anamnese, der mütterliche Einfluss eine sehr viel größere Rolle als der Einfluss des Vaters [118]. Man nimmt an, dass Grundsteine für eine allergische Prägung bereits pränatal und postnatal in den ersten Lebensmonaten, gelegt werden. Daraus lässt sich die Hypothese ableiten, dass es besondere Immunmechanismen zwischen Mutter und Kind geben muss, die während der Schwangerschaft und der Stillzeit die Entstehung von Allergien beeinflussen. Über diese Mechanismen ist aber bisher noch wenig bekannt.

Ziel dieser Arbeit ist es deshalb, im Rahmen einer multizentrischen, europaweiten Studie die Zusammenhänge zwischen dem Allergiestatus der Mutter und dem Immunstatus des Neugeborenen unter besonderer Berücksichtigung des Bauernstatus zu untersuchen. Hierfür wurden allein die deutschen Probanden der sog. PASTURE-Studie untersucht.

Dabei wird folgende Hypothese aufgestellt:

Der Allergiestatus der Mutter beeinflusst im Nabelschnurblut von Neugeborenen das Expressionsmuster von Zytokinen.

Im Einzelnen wurden folgende Fragen gestellt:

1. a) Können in den Überständen von Nabelschnurblutzellen (NBMC), die mit LPS, SEB und PI stimuliert wurden, die mit der Pathogenese von Allergien in Zusammenhang stehenden Zytokine IL-5, IL-10, IL-12, IFN- γ und TNF- α nachgewiesen werden?

b) Unterscheiden sich die Zytokinmuster nach einer 24 Stunden Stimulation gegenüber einer 48 Stunden Stimulation?
2. Zeigen NBMC nach Stimulation mit LPS, SEB und PI eher eine Th1 oder Th2 assoziierte Zytokinproduktion?
3. Korrelieren der mütterliche Allergiestatus und die mütterliche Sensibilisierung gegen verschiedene Inhalations- und Nahrungsmittelallergene mit dem Bauernstatus der Mutter?

4. Unterscheidet sich die Zytokinproduktion bei Neugeborenen von Müttern mit positiver Allergianamnese gegenüber Neugeborenen, deren Mütter eine negative Allergianamnese haben?
5. Welche Unterschiede treten in der Zytokinproduktion bei Neugeborenen von Müttern mit und ohne allergische Sensibilisierung auf?
6. Hat der Bauernstatus einen Einfluss auf die unter 4. und 5. beschriebenen Zusammenhänge?

3 Material und Methoden – Beschreibung der PASTURE-Studie

3.1 Zielsetzung und Beteiligte der PASTURE-Studie

Die PASTURE-Studie ist eine prospektive Geburtskohorten-Studie, die in fünf Europäischen Ländern (Deutschland, Österreich, Frankreich, Finnland, Schweiz) in überwiegend ländlichen Gebieten durchgeführt wurde. In Deutschland lief „PASTURE – Protection against Allergy: Study in Rural Environments“ unter dem Namen „LUKAS – ländliche Umgebung und Kinder: Allergiestudie“. Ziel der Studie war es, Risikofaktoren bei der Entstehung allergischer Erkrankungen im Kindesalter zu untersuchen. Hierbei lag der Schwerpunkt auf der bäuerlichen Lebensweise, um mögliche protektive Faktoren, wie Innenraum-Exposition gegenüber mikrobiellen Bestandteilen, zu identifizieren. Weiterhin sollte der Einfluss immunologischer und genetischer Mechanismen auf die Allergieentstehung untersucht werden. Die an der PASTURE-Studie beteiligten Partner und die Studienzentren sind in Tabelle 2 aufgeführt.

Tabelle 2: Partner und Studienzentren der PASTURE-Studie

Partner	Studienzentrum
Erika von Mutius (Koordinatorin)	Hauersches Kinderspital, München, Deutschland
Charlotte Braun-Fahrländer	Institut für Sozial- und Präventivmedizin, Basel, Schweiz
Joseph Riedler	Kinderspital der LKA, Salzburg, Österreich
Juha Pekkanen	Unit of Environmental Epidemiology, National Public Health Institut, Kuopio, Finnland
Bert Brunekreef	Utrecht Universität, Utrecht, Niederlande
Roger Lauener	Kinderspital Zürich, Schweiz
Udo Herz	Philips-Universität Marburg, Deutschland
Harald Renz	Philips-Universität Marburg, Deutschland
Michael Kabesch	Hauersches Kinderspital München, Deutschland
Stephan Weiland (†)	Department für Epidemiologie, Ulm, Deutschland
Jean-Charles Dalphin	Universität von Franche Comtè, Besancon, Frankreich
Verantwortliche für die Feldarbeit	
Erika von Mutius	München, Deutschland
Juha Pekkanen	Kuopio, Finnland
Joseph Riedler	Salzburg, Österreich
Charlotte Braun-Fahrländer	Basel, Schweiz
Dominique Vuitton	Besancon, Frankreich

In Deutschland fand die Rekrutierung der Familien in den südbayerischen Krankenhäusern Peißenberg, Penzberg, Bad Tölz und Wolfratshausen statt. Der zeitliche Ablauf der Untersuchungen ist in Abbildung 3 dargestellt. Die für diese Arbeit relevanten Untersuchungen werden im Folgenden genauer beschrieben.

Abbildung 3: Zeitlicher Ablauf der Untersuchungen



3.2 Rekrutierung der Studienpopulation

Die Rekrutierung in den vier Krankenhäusern in Südbayern fand im Rahmen von Schwangerschaftskursen, der Erstvorstellung der Mütter in der Geburtsklinik und den regelmäßigen Treffen der „Ortsbäuerinnen“ statt. Jede Schwangere wurde über die Studie informiert und gebeten, einen Fragebogen zur Erhebung demographischer Daten auszufüllen. Bei Erfüllung der Einschlusskriterien, wurden sie anschließend telefonisch um die Teilnahme an der Studie gebeten. Die Einteilung der rekrutierten Schwangeren erfolgte jeweils in die entsprechende Gruppe „Bäuerinnen“ oder „Nicht-Bäuerinnen“.

Definition „Bäuerin“: Jede Frau, die auf einem Bauernhof lebt auf dem Tierhaltung betrieben wird. Dabei wird nicht zwischen Voll- und Teilzeitbauern unterschieden.

Definition „Nicht-Bäuerin“: Frauen, die in der gleichen Gegend, aber nicht auf einem Bauernhof mit Tierhaltung leben und im gleichen Krankenhaus rekrutiert wurden, wie die Bäuerinnen. Frauen aus Städten mit mehr als 30.000 Einwohnern oder aus Industriestandorten wurden ausgeschlossen.

Einschlusskriterien:

- Schwanger im 3. Trimenon
- Wohnort im Einzugsgebiet eines der vier Krankenhäuser

Allgemeine Ausschlusskriterien:

- Frauen unter 18 Jahren
- Zwillingsschwangerschaften
- Geschwister, die bereits an der Studie teilnehmen
- Hausgeburten (außer in München)

- Geplanter Wegzug aus dem Studiengebiet
- Familien ohne Telefon oder mit mangelnden Kenntnissen der deutschen Sprache
- Familien, in denen ein Elternteil täglich in die Stadt pendelt

Ausschlusskriterien nach der Geburt:

- Frühgeburten vor der 37. Schwangerschaftswoche
- Schwerwiegende Erkrankungen des Kindes

3.3 Materialgewinnung und Datenerhebung

3.3.1 Blutentnahme und Analyse Typ

Falls die Eltern ihre Einwilligung zur Studienteilnahme gegeben hatten, wurden bei der Geburt von der Hebamme ca. 24 ml plazentares Nabelschnurblut und venöses Blut der Mutter abgenommen. Des Weiteren wurde im Rahmen des 1-Jahres-Interviews jeweils ca. 15ml venöses Blut vom Kind und beiden Eltern entnommen. Alle Blutproben wurden der Reihe nach in Blutröhrchen gefüllt und unter gleichen Transportbedingungen bei 4°C in Kühlboxen in das Dr. von Haunersche Kinderspital transportiert. Dort war die Arbeitsgruppe von Dr. med. Susanne Krauss-Etschmann u.a. für folgende Aufgaben verantwortlich:

- Stimulationsansatz zur späteren Zytokinbestimmung
- Gewinnung von Serum für die IgE-Bestimmung
- Blutbild zur Bestimmung der Leukozyten/Lymphozytenzahl

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

Unter Leitung von Prof. Dr. med. Harald Renz und PD Dr. med. Udo Herz wurden in Marburg (Department für Klinische Chemie und Molekulare Diagnostik) die Zytokine in Nabelschnurblut und die IgE-Werte im Serum bestimmt. Die Dateneingabe erfolgte in Ulm (Department für Epidemiologie) unter der Leitung von Prof. Dr. med. Stephan Weiland.

Tabelle 3 zeigt eine Übersicht der benötigten Blutproben und deren Analyse.

Tabelle 3: Blutproben und Analyse Typ

Blutprobe	Analyse Typ	Zeitpunkt der Analyse
Lithium-Heparin-Blut 2,5ml	Zytokinmessung	Geburt und 1 Jahr
EDTA-Blut 2,5ml	Differentialblutbild und die DNA-Analysen	Geburt, Mutter, Vater
Serum 4ml	Gesamt IgE, Spezifisches IgE	1 Jahr, Mutter, Vater

PAXgene 2,5ml	Extraktion von mRNA	Geburt, 1 Jahr, Mutter, Vater
EDTA-Blut 10ml	Isolierung von peripheren mononukleären Zellen (PBMC)	Geburt

Die Blutabnahme erfolgte nach einer festgelegten Reihenfolge, wobei der Stimulationsansatz die höchste Priorität besaß. Die Regelung war nötig, da nicht immer ausreichend Blut gewonnen werden konnte, um alle Bestimmungen durchzuführen.

3.3.2 Erhebung epidemiologischer Daten

a) Schwangerschafts-Fragebogen

Vor der Geburt wurde ein 1. Interview durchgeführt, mit dem Ziel, die Lebensumstände der Mutter und ihre Exposition während der Schwangerschaft abzufragen. Der Fragebogen basiert auf einem international standardisierten Fragebogen der ISAAC-Studie. Die Fragen betrafen folgende Punkte:

1. Allgemeine Angaben zur Mutter (Größe, Gewicht, Geburtsdatum etc.)
2. Gesundheit der Mutter, der Eltern der Mutter, der Geschwister des Kindes (v.a. bezüglich Asthma, Neurodermitis und Heuschnupfen) und Erkrankungen der Mutter während der Schwangerschaft (v.a. Infektionen)
3. Lebenssituation (Fragen zum Leben auf dem Bauernhof, Tierhaltung, Rauchen etc.)
4. Ernährungsfragen (Lebensmittel, Milch aus eigener Erzeugung oder industriell erzeugte Milch)
5. Weitere soziale und wirtschaftliche Angaben (Familien- und Bildungsstand etc.)

b) Vater-Fragebogen

Kurz vor dem nächsten Interview wurde ein selbst auszufüllender Fragebogen bezüglich der Gesundheit und Lebenssituation des Vaters an die Familie verschickt. Dieser wurde anschließend im Rahmen des 2. Interviews eingesammelt.

c) 2-Monats-Fragebogen

Das 2. Interview erfolgte im Kindesalter von 2 Monaten. Hier wurden die Lebensumstände des Kindes, seine Ernährung und andere Umweltfaktoren abgefragt. Zudem wurden hierbei Daten aus dem Mutterpass und dem Kinderuntersuchungsheft übernommen.

d) 1-Jahres-Fragebogen

Im Alter von 1 Jahr fand ein 3. Interview statt, bei dem u.a. die Symptome von allergischen Erkrankungen des Kindes erhoben wurden.

e) Tagebücher

Ab einem Kindesalter von 2 Monaten bis zum 1. Jahr wurden die Eltern gebeten, wöchentlich ein Tagebuch auszufüllen. Hier standen die Gesundheit des Kindes, sein Kontakt mit Stall und Tieren sowie die Ernährung im Mittelpunkt der Fragen.

3.4 Methoden

3.4.1 Zytokinbestimmung durch Stimulation

Die Bestimmung der Zytokinsekretionsmuster erfolgte im Vollblut. Dabei wurden die bakteriellen Stimuli Lipopolysaccharid (LPS) und Staphylokokken Enterotoxin B (SEB) sowie die Mitogene Phorbol-12-Myristat-13-Acetat und Ionomycin (PI) verwendet. Mit Hilfe von Qualitätskontrollen wurde in Vorversuchen die Reproduzierbarkeit dieser Methode geprüft. Die Stimulation erfolgte mit Lithium-Heparin-Blut, das innerhalb von 24 Stunden nach Abnahme verarbeitet werden musste. Die Zeit zwischen Blutentnahme und Verarbeitungsbeginn wurde dokumentiert. Die Stimulation wurde für zwei Inkubationszeiten (24 Std./48 Std.) in Duplikaten durchgeführt. Zunächst wurde 2,5 ml Blut mit 7,5 ml Medium im Verhältnis 1:4 verdünnt. Der Stimulationsansatz erfolgte in einer 24-Well-Platte (Tab. 4). 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 wurden nun die Stimulantien nach unten aufgeführtem Schema (Tab. 4) dazu pipettiert.

Tabelle 4: Stimulationsschema

	1	2	3	4	5	6
A, 24h	1000 µl PBS	nur 500 µl Medium	10 µl LPS	10 µl P + 5 µl I	4 µl SEB	1000 µl PBS
B, 24h	1000 µl PBS	nur 500 µl Medium	10 µl LPS	10 µl P + 5 µl I	4 µl SEB	1000 µl PBS
C, 48h	1000 µl PBS	nur 500 µl Medium	10 µl LPS	10 µl P + 5 µl I	4 µl SEB	1000 µl PBS
D, 48h	1000 µl PBS	nur 500 µl Medium	10 µl LPS	10 µl P + 5 µl I	4 µl SEB	1000 µl PBS

Anschließend wurden die Spalten 2 bis 5 mit je 500 µl des vorher verdünnten Blutes aufgefüllt. Wenn weniger als 2,5 ml unverdünntes Blut vorlagen, wurde dabei wie folgt vorgegangen. Zunächst wurden die Reihen B und C befüllt, angefangen mit Medium (Negativkontrolle), dann LPS, SEB und zuletzt PI. Hier lagen die besten Bedingungen vor, da jedes Well von anderen Wells umgeben war, die entweder mit Medium oder PBS befüllt waren. Dann erst wurden die Duplikate in den Reihen A und D nach dem gleichen Schema angelegt. Anschließend wurden die Platten bei 37°C und 5% CO₂-befeuchteter Raumluft inkubiert. Nach 24 Stunden wurden die Überstände der Reihen A und B, nach 48 Stunden die der Reihen C und D abgenommen. Dazu wurden die Überstände der einzelnen Wells in Eppendorf Tubes abpipettiert und bei 5000 rpm 3 Minuten zentrifugiert. Die zellfreien Überstände hiervon wurden vorsichtig in Eppendorf Tubes abpipettiert, die mit den ID-Nummern der jeweiligen Kinder versehen wurden. Diese wurden bei -20°C bis zum Versand nach Marburg gelagert. Gegebenenfalls wurde übriges Lithium-Heparin-Blut im Verhältnis von 1:4 mit Trizol gemischt und bei -20°C eingefroren. In Marburg wurden dann die Kulturüberstände mit Hilfe von automatischen und manuellen ELISA Techniken (Enzym-linked-immuno-Assay) analysiert. Die folgenden Zytokine wurden dabei quantitativ gemessen: IL-5, IL-10, IL-12, IFN-γ und TNF-α.

3.4.2 IgE-Bestimmung

Zur IgE-Bestimmung wurden 4ml Blut bei 3500 rpm 5 Minuten lang zentrifugiert. Anschließend wurde das dabei gewonnene Serum in Eppendorf Tubes pipettiert und mit der jeweiligen ID-Nummer versehen. Vom Kind wurde jeweils 500 µl Serum pro Tube aliquotiert, bei der Mutter je 1000 µl pro Tube. Die mit ID-Nummern gekennzeichneten Serum Tubes wurden bei -20° C bis zum weiteren Versand gelagert. In Marburg fand dann die Analyse der spezifischen IgE-Werte mit Hilfe des neuen Allergie Screening Systems (Mediwiss Analytic, Moers, Deutschland) statt [47]. Es wurden die spezifischen IgE-Werte gegen insgesamt zwanzig verschiedene Inhalations- und Nahrungsmittelallergene bestimmt. Zu den getesteten inhalativen Allergenen gehörten Erlen- und Birkenpollen, Haselnuss- und Graspollen, Weidelgras, Beifuß, Spitzwegerich, Schimmelpilz und Hausstaubmilbe (2 Arten), Katze-, Hund-, und Pferdehaare bzw. Epithel. Zu den Nahrungsmittelallergenen zählten Hühnereier, Kuhmilch, Erdnuss, Haselnuss, Karotte, Weizenmehl und Sojabohnen.

3.4.3 Differenzialblutbild

Die Bestimmung des Differenzialblutbildes war notwendig zur Ermittlung des prozentualen Anteils der Leukozyten/Lymphozyten für eine Standardisierung der Zytokinproduktion. Hierfür wurde EDTA-Blut verwendet, das innerhalb von 24 Stunden bearbeitet werden musste. Es wurden 0,5 ml Blut in ein neues Röhrchen pipettiert. Die Erstellung des Differenzialblutbildes erfolgte mit dem Gerät XT-1800i. Das restliche Blut wurde mit ID-Nummern gekennzeichnet und bei -20°C für die weitere DNA-Extraktion gelagert.

3.5 Statistische Analyse

Die statistische Auswertung der gesamten Daten erfolgte mittels des Statistical Package for Social Sciences (SPSS) für Windows Version 14.0. Die Häufigkeiten der Probandencharakteristika, der allergischen Diagnosen und Sensibilisierungen der Mütter wurden zwischen Bauern und Nicht-Bauern verglichen. Hierfür wurde der Chi²-Test nach Pearson eingesetzt. Die Zytokinwerte wurden als Median, 25. und 75. Perzentile dargestellt. Auf Grund der unregelmäßigen Verteilung und der vielen Null-Werte wurden die Zytokine zunächst in drei Kategorien (Kat. 0: Null-Werte; Kat. 1: Positive Werte kleiner oder gleich dem jeweiligen Median; Kat. 2: Positive Werte über dem jeweiligen Median) und anschließend in zwei Kategorien (Kat. 0: Null-Werte; Kat. 1: Positive Werte) eingeteilt. Für die weitere Analyse der Zytokinkategorien in Abhängigkeit der mütterlichen Allergien und Sensibilisierungen kam wieder der Chi²-Test nach Pearson bzw. der exakte Test nach Fisher zur Anwendung. Als Signifikanzniveau wurde jeweils $p \leq 0,05$ gewählt. Zuletzt wurde mit dem Verfahren der binären logistischen Regression die Abhängigkeit der dichotomen Zytokinkategorien vom Allergie- und Sensibilisierungsstatus der Mutter untersucht. Dabei wurden lediglich die Zusammenhänge dargestellt, bei denen der Chi²-Test nach Pearson bzw. der exakte Test nach Fisher signifikant oder grenzwertig signifikant ($P\text{-Wert} \leq 0,069$) waren. Bei nicht signifikanten Zusammenhängen konnte auch bei einer Berechnung mit der binären logistischen Regression keine weitere Signifikanz erwartet werden. Potentielle Störfaktoren wurden auf ihre Signifikanz bezüglich der Zytokinkategorien und der mütterlichen Allergien bzw. Sensibilisierungen überprüft (Chi²-Test für nominalskalierte Variablen und Mann-Whitney-U-Test für verhältnisskalierte Variablen). Hier wurde als Signifikanzniveau $p \leq 0,069$ gewählt, um ein größeres Spektrum an Einflussfaktoren zu erfassen. Nur falls sie einen signifikanten

Einfluss auf das Ergebnis und die Exposition hatten, wurden sie in das Modell mit einbezogen. Diese Ergebnisse wurden als geometrisches Mittel mit einem 95% Konfidenzintervall angegeben.

3.6 Verbrauchsmaterialien und Geräte

3.6.1 Geräte

Tabelle 5: Geräte

Geräte	Hersteller
Eigener Laptop mit Windows XP Home, SPSS V12, Reference Manager	
Blutbild Gerät: XT-1800i	Sysmex America, Inc. Mundelein, USA
LaminAir HBB 2472	Hereaus, Langenseslbold, Deutschland
CO2-Inkubator BB6060	Hereaus, Langenseslbold, Deutschland
Tischzentrifuge 5415C	Eppendorf, Hamburg, Deutschland
Ultrazentrifuge	Heraeus, Osterode, Deutschland
Pipetten Research (0-2 µl, 2-20 µl, 10-100 µl, 100-1000 µl)	Eppendorf, Hamburg, Deutschland
Vortex Genie 2	Scientific Industries, Bohemia, NY, USA
+ 4°C Kühlschrank	Gerlingen-Schillerhöhe, Deutschland
- 20°C Gefrierschrank	Siemens, München, Deutschland
- 20°C Gefrierschrank	Kendro, Thermo Electron Corporation, Langenseslbold, Deutschland

3.6.2 Verbrauchsmaterialien

Tabelle 6: Verbrauchsmaterialien

Verbrauchsmaterialien	Hersteller
Gewebekulturplatten, 24 Wells (steril)	Becton & Dickinson GmbH, Heidelberg, Deutschland
Reaktionsgefäße, 1,5 ml	Eppendorf, Hamburg, Deutschland
Probenröhrchen Falcon, 15 ml, Polystyren	Becton & Dickinson GmbH, Heidelberg, Deutschland
Probenröhrchen Falcon, 50 ml, Polystyren	Eppendorf, Hamburg, Deutschland
Pipettenspitzen	Nunc, Deutschland
Kryoröhrchen	Nunc, Deutschland

3.6.3 Reagenzien

Tabelle 7: Reagenzien

Kulturmedium	Hersteller
RPMI mit:	Gibco, Karlsruhe, Deutschland
20% inaktiviertem fetalem Kälberserum (FCS)	PAA, Cölbe, Deutschland
Antibiotika/Antimykotika (100x)	Gibco, Karlsruhe, Deutschland

Stimulantien

<u>PMA</u> (Phorbol-12-Myristat-13-Acetat) Stammlösung: 10 mg in 1 ml DMSO (Dimethylsulfoxid, organisches Lösungsmittel) Endkonzentration: 5 µg/ml	Sigma, Deisenhofen, Deutschland
<u>Ionomycin</u> Stammlösung : 1 mg in 200 µl DMSO Endkonzentration : 1 µg/ml	Sigma, Deisenhofen, Deutschland
<u>LPS</u> (Lipopolysaccharide) Stammlösung : 1 mg in 4 ml RPMI Endkonzentration : 0,1 µg/ml	freundlicher Weise zur Verfügung gestellt von Prof. Otto Holst, Forschungszentrum Borstel, Deutschland
<u>SEB</u> (Staphylokokken Enterotoxin B) Stammlösung: 250 µg in 1 ml Medium Endkonzentration: 0,1 µg/ml	Sigma, Deisenhofen, Deutschland

Lösungen

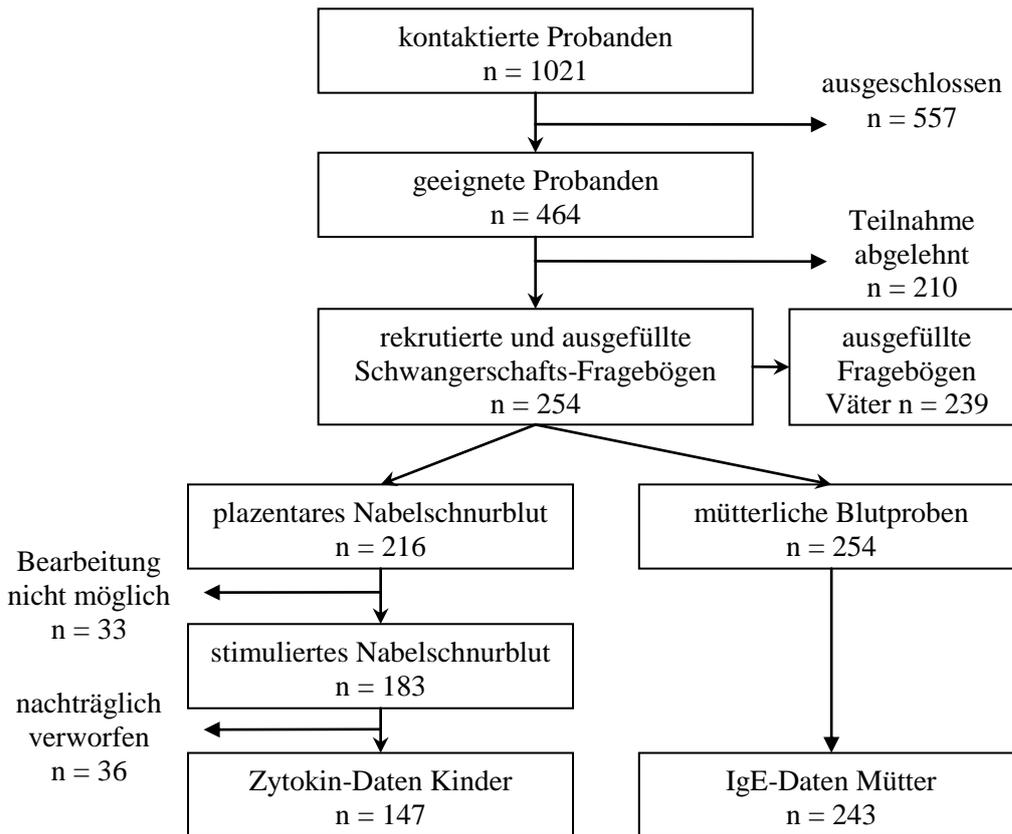
PBS (Phosphate Buffered Saline):
137 mM NaCl
2,7 mM KCl
4,3 mM Na₂HPO₄
1,4 mM KH₂PO₄
pH auf 7,3 eingestellt

4 Ergebnisse

4.1 Zusammensetzung der Studienpopulation und Sammlung der Materialproben

Im Rahmen der PASTURE-Studie wurden in Südbayern 1021 Frauen im 3. Schwangerschaftsmonat kontaktiert (Abb. 4).

Abbildung 4: Zusammensetzung der Studienpopulation und gewonnenes Material



Es wurden zunächst 557 Frauen ausgeschlossen, da sie entweder nicht die Einschlusskriterien erfüllten bzw. Ausschlusskriterien auf sie zutrafen oder keine vollständigen Informationen über sie vorlagen. Von den verbleibenden 464 geeigneten Frauen waren 210 nicht daran interessiert, an der Studie teilzunehmen. So ergab sich letztendlich eine Studienpopulation von 254 Familien, von denen im Rahmen des 1. Interviews der Schwangerschafts-Fragebogen ausgefüllt wurde. Von 239 Vätern wurden Fragebögen zum Zeitpunkt des 2. Interviews eingesammelt. Bei der Geburt konnte von 216 Kindern plazentares Nabelschnurblut und von 254 Müttern venöses Blut entnommen werden. Anschließend wurden 183 Lithium-Heparin-Blut Proben der Kinder stimuliert und für die Zytokinanalyse nach Marburg verschickt. Die restlichen 33 Proben konnten nicht bearbeitet werden, da einige bereits geronnen waren oder zu

wenig Blut für einen Stimulationsansatz vorhanden war. Weitere 36 Proben wurden nachträglich verworfen. Gründe hierfür waren zum Beispiel eine verzögerte Stimulation (> 72 Std.) oder nicht plausible Leukozyten Zahlen. Von 243 Serumproben der Mütter erfolgte die weitere Analyse der spezifischen IgE-Werte in Marburg. Nach der Auswertung standen von 147 Kindern Zytokindaten und von 243 Müttern spezifische IgE-Werte zur Verfügung.

4.2 Auswertung der Fragebögen

4.2.1 Allgemeine Charakteristika der Studienpopulation

Die gesamte Studienpopulation von 254 Familien setzte sich aus 112 Bauernfamilien (44%) und 142 Nicht-Bauernfamilien (56%) zusammen. Ihre Darstellung findet sich im Anhang (Tab. 8). Die Subpopulation von 147 Familien mit sowohl vollständigen Zytokin- als auch IgE-Daten besteht aus 66 Bauernfamilien (45%) und 81 Nicht-Bauernfamilien (55%). Diese wurde für die weitere Analyse der IgE-Werte der Mütter, der Zytokinwerte der Kinder und für die logistische Regressionsanalyse verwendet. Dabei zeigten sich folgende signifikante Unterschiede (Tab. 9):

- Alter der Mutter
- Schulabschluss von Mutter und Vater
- Anzahl der Geschwister der Mutter und des Vaters
- Rauchgewohnheiten der Mutter
- Verzehr von Frischmilch während der Schwangerschaft
- Diagnose Asthma und subjektive Aussagen über allergischen Schnupfen des Vaters
- Besitz von Haustieren

Tabelle 9: Populationsbeschreibung der Studienteilnehmer für die Gruppe der Bauern und Nicht-Bauern (Subpopulation mit Zytokindaten).

Mütter	Nicht-Bauern		Bauern		P-Wert
	[N]	[%]	[N]	[%]	
Total	81	55	66	45	
Alter					0,034
< 25 Jahre	13	16	2	3,0	
25 - 35	56	69	52	79	
> 35	12	15	12	18	
BMI					0,153
<18	0	0,0	0	0,0	
18-25	64	57	43	65	
25-30	13	16	19	29	
>30	4	4,9	4	6,1	
Schulabschluss					0,004
keiner	0	0,0	1	1,5	
Hauptschule	15	19	22	33	
Realschule	41	51	32	49	
Abitur	7	8,6	9	14	
Hochschule	18	22	2	3	
Sonstige	0	0,0	0	0,0	
Anzahl der Geschwister der Mutter					0,006
0	11	14	4	6,1	
1	31	38	13	20	
2	22	27	20	30	
3 und mehr	17	21	29	44	
Frischmilch während SS					0,000
ja	17	21	50	76	
nein	64	79	16	24	
Wird Frischmilch abgekocht					0,840
ja, nur im Sommer	0	0,0	1	2,0	
ja, immer	2	12	6	12	
nein	15	88	43	86	
Insges. > 5 Pack. Zigaretten im Leben					0,001
ja	37	46	13	20	
nein	44	54	53	80	
Rauchen während SS, momentan					0,040
ja	5	6,0	0	0,0	
nein	76	94	66	100	
Anzahl Zigaretten pro Tag					0,040
<=10/d	5	6,2	0	0,0	
keine	76	94	66	100	
Rauchen aufgehört	32		13		0,031
in der SS	13	41	1	7,6	
vor der SS	19	59	12	92	
Haustiere					0,032
ja	41	51	45	68	
nein	40	49	21	31	

Väter	Nicht-Bauern		Bauern		P-Wert
	[N]	[%]	[N]	[%]	
Total	79	55	65	45	
Alter					0,657
< 25 Jahre	3	3,8	1	1,5	
25 - 35	43	54	34	52	
> 35	33	42	30	46	
Schulabschluss					0,005
keiner	1	1,3	0	0,0	
Hauptschule	29	37	44	68	
Realschule	29	37	14	22	
Abitur	5	6,3	3	4,6	
Hochschule	15	19	4	6,2	
Sonstige	0	0,0	0	0,0	
Anzahl der Geschwister des Vaters	78				0,000
0	12	15	2	3,1	
1	35	45	16	25	
2	21	27	20	31	
3 und mehr	10	13	27	42	
Insges. > 5 Pack. Zigaretten im Leben					0,701
ja	39	49	30	46	
nein	40	51	35	54	
Rauchen derzeit					0,639
ja	23	59	16	53	
nein	16	41	14	47	
Asthma					0,391
ja	8	10	4	6,2	
nein	71	90	61	94	
Diagnose Asthma					0,028
ja	8	100	2	50	
nein	0	0,0	2	50	
Allergischer Schnupfen					0,002
ja	34	43	12	19	
nein	45	57	53	81	
Diagnose allergischer Schnupfen					0,65
ja	25	74	8	67	
nein	9	26	4	33	
Neurodermitis					0,239
ja	6	7,6	2	3,1	
nein	73	92	63	97	
Diagnose Neurodermitis					0,206
ja	3	50	2	100	
nein	3	50	0	0,0	

Kinder	Nicht-Bauern		Bauern		P-Wert
	[N]	[%]	[N]	[%]	
Total	81	56	65	45	
Geschlecht					0,517
Junge	38	47	34	52	
Mädchen	43	53	31	48	
Gewicht in Perzentilen/Mädchen					0,035
2000 - 2500g (<3.Perz.)	0	0,0	1	3,2	
2501 - 3300 (3.-50. Perz)	20	47	7	23	
3301 - 4000 (>50-97.Perz)	22	51	18	58	
4001 - 5000 (>97.Perz)	1	2,3	5	16	
Gewicht in Perzentilen/Jungen					0,436
2000 - 2300g (<3.Perz.)	0	0,0	1	2,9	
2301 - 3500 (3.-50. Perz)	19	50	12	35	
3501 - 4300 (>50-97.Perz)	18	47	19	56	
4301 - 5000 (>97.Perz)	1	2,6	2	5,9	
Länge in Perzentilen/Mädchen					0,562
40-46cm (<3.Perz)	0	0,0	0	0,0	
47-50 (3.-50.Perz)	13	30	6	19	
51-54 (50-97.Perz)	28	65	23	74	
55-60 (>97.Perz)	2	4,7	2	6,5	
Länge in Perzentilen/Jungen					0,449
40-46cm (<3.Perz)	0	0,0	0	0,0	
47-50 (3.-50.Perz)	7	18	4	12	
51-56 (50-97.Perz)	30	79	30	88	
57-60 (>97.Perz)	1	2,6	0	0,0	
Geburtsmodus	80				0,428
spontan	57	71	52	80	
vaginale Operation	3	3,8	1	1,5	
per Kaiserschnitt	20	25	12	19	

Beschreibung der Studienpopulation mit Zytokindaten in Anzahl [N] und Prozentwerten [%]. Der P-Wert wurde mit Hilfe des Chi²-Tests berechnet, als Signifikanzniveau wurde $p \leq 0,05$ gewählt. Insgesamt standen Angaben von 147 Müttern, 144 Vätern und 146 Kindern zur Verfügung. Bei folgenden Variablen fehlten Angaben: Anzahl der Geschwister des Vaters (n=1); Geburtsmodus (n=1).

In der Subpopulation der 147 Familien zeigte sich ein signifikanter Unterschied in der Altersstruktur der Mütter. Dabei lag das Alter der Bäuerinnen häufiger über 25 Jahre. Bezüglich des Bildungsniveaus wiesen die Eltern aus Bauernfamilien deutlich öfter einen Hauptschulabschluss vor, während sie in Nicht-Bauernfamilien mehr Hochschulabschlüsse hatten. In Bauernfamilien wuchsen die Eltern häufiger mit drei und mehr Geschwistern auf, wogegen bei Nicht-Bauern meist nur ein Kind vorkam. Unter den Nicht-Bäuerinnen hatten deutlich mehr bereits einmal in ihrem Leben geraucht und taten dies auch noch während der Schwangerschaft bzw. hörten erst während der Schwangerschaft auf. Bei den Vätern hingegen wurde kein signifikanter Unterschied bezüglich des Rauchverhaltens deutlich. Während der Schwangerschaft

tranken deutlich mehr Bäuerinnen Frischmilch. In beiden Gruppen unterschied sich jedoch die Anzahl der Mütter, die Frischmilch zuvor abkochten, kaum. In der Gruppe der Nicht-Bauern lag bei den Vätern häufiger die Arzt diagnose „Asthma“ vor. Ebenso litten sie deutlich öfter unter allergischem Schnupfen, was aber nicht durch eine ärztliche Diagnose bestätigt werden konnte. Des Weiteren besaßen Bauernfamilien häufiger Haustiere.

Bezüglich Alter und Body-Mass-Index der Mütter und der Väter ergaben sich keine signifikanten Unterschiede. Auch die Kinder unterschieden sich nicht in Bezug auf ihr Geschlecht, ihre Geburtsgewicht und -länge. Nur bei den Mädchen zeigten die Bauernkinder ein höheres Gewicht. Hinsichtlich des Geburtsmodus war das Verhältnis zwischen Bauern- und Nicht-Bauernkindern annähernd gleich.

In der gesamten Studienpopulation der 254 rekrutierten Familien konnten ähnliche Unterschiede nachgewiesen werden. Die Signifikanz nahm dabei leicht zu. Nur bezüglich des Alters der Mütter, des Geburtsgewichtes der Mädchen und der Arzt diagnose „Asthma“ bei den Vätern zeigten sich hier keine signifikanten Zusammenhänge mehr. Diese Veränderungen sind auf die niedrigere Fallzahl und das selektive Ausscheiden von Familien in der Subpopulation zurück zu führen.

4.2.2 Allergien der Mütter

Bei der Betrachtung der mütterlichen Allergien in der Subpopulation wurde sowohl die subjektive Aussage der Mütter als auch die Diagnose eines Arztes unterschieden (Tab. 10). Hier zeigte sich ein nicht-signifikanter Trend hinsichtlich der Angabe der Mütter zu allergischem Schnupfen. So gaben mehr Nicht-Bäuerinnen an, unter allergischem Schnupfen zu leiden. Dies wurde bestätigt durch mehr Nicht-Bäuerinnen mit einer Arzt diagnose „allergischer Schnupfen“. Bei der Prävalenz von Asthma und Neurodermitis ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen Bäuerinnen und Nicht-Bäuerinnen. Ebenso unterschieden sich die Gruppen nicht hinsichtlich des Auftretens von allergischen Symptomen während der Schwangerschaft.

Tabelle 10: Allergische Erkrankungen der Mütter für die Gruppe der Bäuerinnen und Nicht-Bäuerinnen (Subpopulation mit Zytokindaten).

Mütter	Nicht-Bäuerinnen		Bäuerinnen		P-Wert
	[N]	[%]	[N]	[%]	
Total	81	55	66	45	
Asthma					0,211
ja	13	16	6	9,0	
nein	68	84	60	91	
Diagnose Asthma					0,310
ja	11	85	6	100	
nein	2	15	0	0,0	
Asthma in SS					0,793
ja	3	18	2	33	
nein	8	72	4	67	
Allergischer Schnupfen					0,079
ja	32	40	17	26	
nein	49	60	49	74	
Diagnose allerg. Schnupfen					0,025
ja	31	96	13	77	
nein	1	3,1	4	23	
Allerg. Schnupfen in SS					0,426
ja	16	52	5	39	
nein	15	48	8	61	
Hautausschlag > 6 Monate					0,972
ja	28	35	23	35	
nein	53	65	43	65	
Neurodermitis					0,691
ja	10	35,7	7	30	
nein	18	64,3	16	70	
Diagnose Neurodermitis					
ja	10	100	7	100	
nein	0	0,0	0	0,0	
Neurodermitis in SS					0,585
ja	3	30	3	43	
nein	7	70	4	57	

Beschreibung der allergischen Erkrankungen der Mütter mit Zytokindaten in Anzahl [N] und Prozentwerten [%]. Der P-Wert wurde mit Hilfe des Chi²-Tests berechnet, als Signifikanzniveau wurde $p \leq 0,05$ gewählt. Insgesamt standen Angaben von 147 Müttern zur Verfügung.

Die Darstellung der gesamten Studienpopulation erfolgt im Anhang (Tab. 11). Hier zeigte sich lediglich ein nicht-signifikanter Trend in Bezug auf die Arzt diagnose „allergischer Schnupfen“. Dafür gaben hier mehr Nicht-Bäuerinnen an unter Asthma zu leiden. Dieser Zusammenhang konnte aber nicht durch eine ärztliche Diagnose bestätigt werden. Weitere Unterschiede zwischen der Gesamtpopulation und der Subpopulation, die Gegenstand der vorliegenden Arbeit ist, wurden nicht gefunden.

4.3 Analyse der IgE-Werte der Mütter

Anhand von spezifischen Serum-IgE-Werten für die häufigsten inhalativen- und nutritiven Allergene wurde der mütterliche Sensibilisierungsstatus ermittelt. Dabei wurden die spezifischen IgE-Werte in die folgenden drei Kategorien unterteilt:

0,00 – 0,19 kU/l : Kat. 1, keine Sensibilisierung

0,20 – 0,34 kU/l : Kat. 2, Sensibilisierung

≥ 0,35 kU/l : Kat. 3, Atopie (≥ RAST-Klasse I; Radio-Allergo-Sorbent-Assay)

In Tabelle 12 sind die Häufigkeiten und die Prozentwerte der einzelnen Allergene nach Kategorien bei Bäuerinnen und Nicht-Bäuerinnen der Subpopulation dargestellt. Lediglich die Verteilung der Kategorien bei Spitzwegerich und Pferdehaar ergaben signifikante Unterschiede. So zeigten deutlich mehr Bäuerinnen IgE-Werte der Kategorie 3 gegenüber beiden Allergenen.

Tabelle 12: Darstellung der Allergene in Kategorien für die Gruppe der Bäuerinnen und Nicht-Bäuerinnen (Subpopulation mit Zytokindaten).

Allergen	Kat.	Bäuerinnen		Nicht-Bäuerinnen		Gesamt		Chi ² -Test P-Wert
		[N]	[%]	[N]	[%]	[N]	[%]	
Hausstaubmilbe 1	1	52	79	59	73	111	76	0,260
	2	0	0,0	3	3,7	3	2,0	
	3	14	21	19	24	33	22	
Hausstaubmilbe 2	1	49	74	59	73	108	74	0,177
	2	0	0,0	4	4,9	4	2,7	
	3	17	26	18	22	35	24	
Erlenpollen	1	50	76	59	73	109	74	0,921
	2	3	4,5	4	4,9	7	4,8	
	3	13	20	18	22	31	21	
Birkenpollen	1	51	77	55	68	106	72	0,405
	2	2	3,0	5	6,2	7	4,8	
	3	13	20	21	26	34	23	
Haselnusspollen	1	44	67	56	69	100	68	0,202
	2	6	9,1	2	2,5	8	5,4	
	3	16	24	23	28	39	27	
Graspollen	1	45	68	51	63	96	65	0,661
	2	5	7,6	5	6,2	10	6,8	
	3	16	24	25	31	41	28	
Weidelgras	1	38	58	51	63	89	61	0,796
	2	5	7,6	5	6,2	10	6,8	
	3	23	35	25	31	48	33	

Allergen	Kat.	Bäuerinnen		Nicht-Bäuerinnen		Gesamt		Chi ² -Test
		[N]	[%]	[N]	[%]	[N]	[%]	P-Wert
Beifuss	1	57	86	71	88	128	87	0,353
	2	0	0,0	2	2,5	2	1,4	
	3	9	14	8	9,9	17	12	
Spitzwegerich	1	59	89	80	99	139	95	0,043
	2	1	1,5	0	0,0	1	0,7	
	3	6	9,1	1	1,2	7	4,8	
Katzenhaare	1	55	83	71	88	126	86	0,276
	2	4	6,1	1	1,2	5	3,4	
	3	7	11	9	11	16	11	
Pferdehaare	1	60	91	79	98	139	95	0,039
	2	1	1,5	2	2,5	3	2,0	
	3	5	7,6	0	0,0	5	3,4	
Hundehaare	1	46	70	66	82	112	76	0,247
	2	5	7,6	4	4,9	9	6,1	
	3	15	23	11	14	26	18	
Schimmelpilz	1	65	99	79	98	144	98	0,684
	3	1	1,5	2	2,5	3	2,0	
Hühnerei	1	60	91	77	95	137	93	0,426
	2	1	1,5	0	0,0	1	0,7	
	3	5	7,6	4	4,9	9	6,1	
Kuhmilch	1	56	85	72	89	128	87	0,746
	2	5	7,6	5	6,2	10	6,8	
	3	5	7,6	4	4,9	9	6,1	
Erdnuss	1	56	85	72	89	128	87	0,617
	2	2	3,0	3	3,7	5	3,4	
	3	8	12	6	7,4	14	9,5	
Haselnuss	1	51	77	67	83	118	80	0,165
	2	6	9,1	10	12	16	11	
	3	9	14	4	4,9	13	8,8	
Karotte	1	51	77	72	89	123	84	0,112
	2	4	6,1	1	1,2	5	3,4	
	3	11	17	8	9,9	19	13	
Weizenmehl	1	58	88	74	91	132	90	0,581
	2	1	1,5	2	2,5	3	2,0	
	3	7	11	5	6,2	12	8,2	
Sojabohnen	1	58	88	70	86	128	87	0,120
	2	2	3,0	8	9,9	10	6,8	
	3	6	9,1	3	3,7	9	6,1	

Beschreibung der IgE-Kategorien für alle getesteten inhalativen Allergene und Nahrungsmittelallergene in Anzahl [N] und Prozentwerten [%]. Die Kategorien entsprechen folgenden IgE-Werten: **Kat.1:** 0,00 – 0,19 kU/l; **Kat.2:** 0,20 – 0,34 kU/l; **Kat.3:** $\geq 0,35$ kU/l. Der P-Wert wurde mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests berechnet, als Signifikanzniveau wurde $p \leq 0,05$ gewählt. Insgesamt standen Angaben von 147 Müttern, 66 Bäuerinnen und 81 Nicht-Bäuerinnen, zur Verfügung.

Die Gesamtpopulation ist im Anhang dargestellt (Tab. 13). Hier ergaben sich die gleichen Unterschiede bezüglich Spitzwegerich und Pferdehaar, wobei diesmal ersterer knapp nicht signifikant war. Darüber hinaus zeigte sich derselbe Zusammenhang für das Allergen Karotte. In Bezug auf die übrigen Allergene stimmten die Gesamt- und die Subpopulation überein.

Die einzelnen Allergene können nach Art des Kontakts mit dem Allergen in zwei Hauptgruppen unterteilt werden:

- Inhalative Allergene:
 - Saisonale inhalative Allergene: Erlen- und Birkenpollen, Haselnuss- und Graspollen, Weidelgras, Beifuß, Spitzwegerich, Schimmelpilz
 - Perenniale inhalative Allergene: Hausstaubmilbe (2 Arten), Katzen-, Hunde- und Pferdehaare
- Nahrungsmittelallergene: Hühnerei, Kuhmilch, Erdnuss, Haselnuss, Karotte, Weizenmehl, Sojabohnen

Für die weiteren Berechnungen wurden die Kategorien 2 und 3 zusammengefasst, um so deutlicher zwischen Sensibilisierung und Nicht-Sensibilisierung unterscheiden zu können. Es wurde folgende Einteilung gewählt:

Spezifischer IgE-Wert $\leq 0,19$ kU/l : keine Sensibilisierung

Spezifischer IgE-Wert $\geq 0,20$ kU/l : Sensibilisierung

In der Tabelle 14 wird die Sensibilisierung gegenüber mindestens einem Allergen der jeweiligen Gruppe von Bäuerinnen und Nicht-Bäuerinnen verglichen. Sowohl bei der Subpopulation (Tab. 14), als auch bei der gesamten Studienpopulation (Tab. 15 im Anhang) zeigten sich keine signifikanten Unterschiede.

Tabelle 14: Darstellung des Sensibilisierungsstatus der Mütter gegen Allergen-Gruppen für die Gruppe der Bäuerinnen und Nicht-Bäuerinnen (Subpopulation mit Zytokindaten).

Allergen-Gruppen	Sensibilisiert	Bäuerinnen		Nicht-Bäuerinnen		Gesamt		Chi ² -Test
		[N]	[%]	[N]	[%]	[N]	[%]	P-Wert
Inhalative Allergene	Ja	47	71	53	65	100	68	0,455
	Nein	19	29	28	35	47	32	
Nahrungsmittel-allergene	Ja	30	46	34	42	64	44	0,672
	Nein	36	54	47	58	83	56	
Saisonale inhalative Allergene	Ja	32	49	41	51	73	50	0,797
	Nein	34	51	40	49	74	50	
Perenniale inhalative Allergene	Ja	33	50	40	49	73	50	0,941
	Nein	33	50	41	51	74	50	
alle Allergene	Ja	52	79	63	78	115	78	0,883
	Nein	14	21	18	22	32	22	

Beschreibung des Sensibilisierungsstatus der Mütter gegen die Gruppe aller Allergene, der Nahrungsmittelallergene, der inhalativen Allergene und deren Untergruppen in Anzahl [N] und Prozentwerten [%]. Ein positiver Sensibilisierungsstatus bedeutet eine Sensibilisierung gegenüber mindestens einem Allergen der jeweiligen Gruppe (IgE \geq 0,20 kU/l). Der P-Wert wurde mit Hilfe des Chi²-Tests berechnet, als Signifikanzniveau wurde $p \leq 0,05$ gewählt. Insgesamt standen Angaben von 147 Müttern, 66 Bäuerinnen und 81 Nicht-Bäuerinnen zur Verfügung.

4.4 Analyse der Zytokinwerte der Kinder

4.4.1 Deskription der Zytokinwerte der Subpopulation

Zur Deskription der Zytokinwerte werden zunächst die Mediane und die Interquartilen Abstände der einzelnen Zytokine aller Kinder dargestellt. Die Darstellung erfolgt getrennt nach den einzelnen Stimulantien (PI, LPS und SEB) in Tabelle 16.

Tabelle 16: Darstellung der Zytokinwerte der Subpopulation nach Stimulantien sortiert.

	PI 24h				PI 48h				
	N	Perzentile			N	Perzentile			
		25.	75.	50. (Median)		25.	75.	50. (Median)	
IL-5	143	0,0	2,7	0,5	IL-5	140	0,0	3,5	0,9
IL-10	131	0,0	2,4	0,9	IL-10	130	0,0	1,8	0,0
IL-12	142	0,0	0,0	0,0	IL-12	138	0,0	0,0	0,0
IFN-γ	135	0,0	149,2	27,4	IFN-γ	138	0,0	169,7	43,0
TNF-α	136	0,0	90,5	25,3	TNF-α	137	0,0	61,7	12,6

LPS 24h					LPS 48h				
	N	Perzentile				N	Perzentile		
		25.	75.	50. (Median)			25.	75.	50. (Median)
IL-5	142	0,0	0,0	0,0	IL-5	141	0,0	0,0	0,0
IL-10	132	5,7	35,6	18,2	IL-10	131	3,8	24,9	10,4
IL-12	143	0,0	0,0	0,0	IL-12	140	0,0	0,0	0,0
IFN-γ	138	0,0	4,3	0,0	IFN-γ	137	0,0	11,5	0,0
TNF-α	137	0,0	18,1	5,9	TNF-α	138	0,0	5,7	0,0

SEB 24h					SEB 48h				
	N	Perzentile				N	Perzentile		
		25.	75.	50. (Median)			25.	75.	50. (Median)
IL-5	143	0,0	0,0	0,0	IL-5	140	0,0	0,0	0,0
IL-10	130	0,0	5,7	1,0	IL-10	131	0,0	6,5	1,4
IL-12	140	0,0	0,0	0,0	IL-12	138	0,0	0,0	0,0
IFN-γ	137	0,0	17,2	0,0	IFN-γ	138	0,0	64,1	5,4
TNF-α	136	0,0	1,6	0,0	TNF-α	137	0,0	2,0	0,0

Darstellung der Zytokinwerte [pg/ml] nach Stimulation mit PI, LPS und SEB (jeweils 24 und 48 Std. Stimulationsdauer). Angegeben ist die Anzahl der auswertbaren Zytokine [N], der Median, die 25. und 75. Perzentilen.

Alle fünf Zytokine konnten in den Überständen nachgewiesen werden. Es zeigten sich jedoch deutliche Unterschiede in den Konzentrationen bezüglich der Zytokine untereinander und der verwendeten Stimulantien. So betrug zum Beispiel die IL-12 Konzentration im Median bei allen drei Stimulantien 0 pg/ml. Der Median der INF- γ Konzentration hingegen lag nach PI-Stimulation (24 Std.) bei 27,4 pg/ml. Nach LPS- und SEB-Stimulation (24 Std.) zeigte sich aber auch hier ein Median von 0 pg/ml. Ebenso ergab der Median der IL-5 Konzentration nur nach PI-Stimulation einen Wert größer Null. Auch beim Vergleich zwischen 24-stündiger und 48-stündiger Stimulation konnten unterschiedliche Zytokinkonzentrationen nachgewiesen werden. So war der Median der INF- γ Konzentration nach 48-stündiger PI-Stimulation erhöht, wohingegen der Median der TNF- α Konzentration niedriger war. Insgesamt waren die Zytokinkonzentrationen sehr unregelmäßig mit einer breiten Streuung verteilt und ein Großteil der Werte betrug 0 pg/ml.

Auf Grund dieser Verteilung der Zytokinkonzentrationen 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

4.4.2 Vergleich der Zytokinkategorien der Kinder in Abhängigkeit vom mütterlichen Allergiestatus

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

Der mütterliche Allergiestatus wurde anhand der vom Arzt gestellten Diagnose Asthma, allergischer Schnupfen oder Neurodermitis bestimmt. Darüber hinaus bedeutet die Diagnose „Allergie“, dass mindestens eine Diagnose vom Arzt als positiv bestätigt wurde. Im Folgenden wurden zunächst die drei Zytokinkategorien aller Kinder in Abhängigkeit vom mütterlichen Allergiestatus dargestellt. Anschließend wurden Bauern- und Nicht-Bauernkinder getrennt untersucht. In den Tabellen 17-19 sind lediglich die signifikanten Ergebnisse bzw. knapp signifikante Trends dargestellt.

Tabelle 17: Darstellung der Zytokinkategorien (Kat. 0, 1, 2) **aller Kinder** in Abhängigkeit vom mütterlichen Allergiestatus (nur signifikante bzw. grenzwertig signifikante Ergebnisse dargestellt).

	Zyt. Kat.	[N] [%]	Gesamt	Diagnose		P-Wert Chi ² -Test
				Ja	Nein	
Diagnose Asthma						
IFN-γ (LPS 48h)	0	[N]	89	14	75	0,088
		%	65	88	62	
	1	[N]	24	2	22	
		%	18	13	18	
	2	[N]	24	0	24	
		%	18	0,0	20	
TNF-α (LPS 24h)	0	[N]	45	3	42	0,072
		%	33	20	34	
	1	[N]	46	9	37	
		%	34	60	30	
	2	[N]	46	3	43	
		%	34	20	35	
IL-10 (PI 24h)	0	[N]	54	10	44	0,067
		%	41	63	38	
	1	[N]	38	5	33	
		%	29	31	29	
	2	[N]	39	1	38	
		%	30	6,3	33	
Diagnose Neurodermitis						
IL-10 (LPS 48h)	0	[N]	13	1	12	0,046
		%	10	7,7	10	
	1	[N]	59	2	57	
		%	45	15	48	
	2	[N]	59	10	49	
		%	45	77	42	

	Zyt. Kat.	[N] [%]	Gesamt	Diagnose		P-Wert Chi ² -Test
				Ja	Nein	
Diagnose „Allergie“						
TNF- α (LPS 24h)	0	[N]	14	31	45	0,073
		%	29	35	33	
	1	[N]	22	24	46	
		%	46	27	34	
	2	[N]	12	34	46	
		%	25	38	34	

Darstellung der Zytokinkategorien: **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 Zusammenhanges zwischen erkrankten und gesunden Müttern erfolgte mit Hilfe des Chi²-Tests, als Signifikanzniveau wurde $p \leq 0,05$ gewählt.

Tabelle 18: Darstellung der Zytokinkategorien (Kat. 0, 1, 2) der **Bauernkinder** in Abhängigkeit vom mütterlichen Allergiestatus (nur signifikante bzw. grenzwertig signifikante Ergebnisse dargestellt).

	Zyt. Kat.	[N] [%]	Gesamt	Diagnose		P-Wert Chi ² -Test
				Ja	Nein	
Diagnose Asthma						
IL-12 (PI 24h)	0	[N]	54	4	50	0,002
		%	84	67	86	
	1	[N]	3	2	1	
		%	4,7	33	1,7	
	2	[N]	7	0	7	
		%	11	0,0	12	
IL-12 (LPS 24h)	0	[N]	60	5	55	0,007
		%	94	83	95	
	1	[N]	1	1	0	
		%	1,6	17	0,0	
	2	[N]	3	0	3	
		%	4,7	0,0	5,2	
IL-10 (PI 24h)	0	[N]	31	6	25	0,067
		%	55	100	50	
	1	[N]	12	0	12	
		%	21	0,0	24	
	2	[N]	13	0	13	
		%	23	0,0	26	
Diagnose allerg. Schnupfen						
IL-12 (LPS 24h)	0	[N]	60	12	48	0,096
		%	94	92	94	
	1	[N]	1	1	0	
		%	1,6	7,7	0,0	
	2	[N]	3	0	3	
		%	4,7	0,0	5,9	

	Zyt. Kat.	[N] [%]	Gesamt	Diagnose		P-Wert Chi ² -Test
				Ja	Nein	
IL-12 (LPS 48h)	0	[N]	59	11	48	0,018
		%	95	85	98	
	1	[N]	2	2	0	
		%	3,2	15	0,0	
	2	[N]	1	0	1	
		%	1,6	0,0	2,0	
Diagnose Neurodermitis						
TNF-α (LPS 24h)	0	[N]	21	0	21	0,072
		%	33	0,0	38	
	1	[N]	23	5	18	
		%	37	71	32	
	2	[N]	19	2	17	
		%	30	29	30	
IL-5 (LPS 24h)	0	[N]	62	6	56	0,015
		%	97	86	98	
	1	[N]	1	0	1	
		%	1,6	0,0	1,8	
	2	[N]	1	1	0	
		%	1,6	14	0,0	
Diagnose „Allergie“						
IL-12 (LPS 48h)	0	[N]	59	15	44	0,055
		%	95	88	98	
	1	[N]	2	2	0	
		%	3,2	12	0,0	
	2	[N]	1	0	1	
		%	1,6	0,0	2,2	
IFN-γ (LPS 48h)	0	[N]	42	12	30	0,059
		%	67	71	65	
	1	[N]	11	5	6	
		%	17	29	13	
	2	[N]	10	0	10	
		%	16	0,0	22	
TNF-α (LPS 24h)	0	[N]	21	4	17	0,080
		%	33	24	37	
	1	[N]	23	10	13	
		%	37	58	28	
	2	[N]	19	3	16	
		%	30	18	35	

Darstellung der Zytokinkategorien: **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 Zusammenhanges zwischen erkrankten und gesunden Müttern erfolgte mit Hilfe des Chi²-Tests, als Signifikanzniveau wurde $p \leq 0,05$ gewählt.

Tabelle 19: Darstellung der Zytokinkategorien (Kat. 0, 1, 2) der **Nicht-Bauernkinder** in Abhängigkeit vom mütterlichen Allergiestatus (nur signifikante bzw. grenzwertig signifikante Ergebnisse dargestellt).

	Zyt. Kat.	[N] [%]	Gesamt	Diagnose		P-Wert Chi ² -Test
				Ja	Nein	
Diagnose Asthma						
IFN-γ (SEB 24h)	0	[N]	38	9	29	0,029
		%	51	90	45	
	1	[N]	22	1	21	
		%	30	10	33	
	2	[N]	14	0	14	
		%	19	0,0	22	
IFN-γ (LPS 48h)	0	[N]	47	10	37	0,036
		%	64	100	58	
	1	[N]	13	0	13	
		%	17	0,0	20	
	2	[N]	14	0	14	
		%	19	0,0	22	
TNF-α (PI 24h)	0	[N]	16	1	15	0,070
		%	22	11	23	
	1	[N]	24	6	18	
		%	33	67	28	
	2	[N]	33	2	31	
		%	45	22	48	
IL-5 (LPS 24h)	0	[N]	75	9	66	0,028
		%	96	90	97	
	1	[N]	1	1	0	
		%	1,3	10	0,0	
	2	[N]	2	0	2	
		%	2,6	0,0	2,9	
IL-10 (SEB 48h)	0	[N]	23	5	18	0,077
		%	31	45	28	
	1	[N]	22	5	17	
		%	29	45	27	
	2	[N]	30	1	29	
		%	40	9,1	45	
Diagnose allerg. Schnupfen						
IL-12 (PI 48h)	0	[N]	69	29	40	0,093
		%	91	100	85	
	1	[N]	3	0	3	
		%	4,0	0,0	6,4	
	2	[N]	4	0	4	
		%	5,3	0,0	8,5	

	Zyt. Kat.	[N] [%]	Gesamt	Diagnose		P-Wert Chi ² -Test
				Ja	Nein	
Diagnose „Allergie“						
IL-12 (PI 48h)	0	[N]	69	33	36	0,052
		%	91	100	84	
	1	[N]	3	0	3	
		%	4,0	0,0	7,0	
	2	[N]	4	0	4	
		%	5,3	0,0	9,3	

Darstellung der Zytokinkategorien: **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 Zusammenhanges zwischen erkrankten und gesunden Müttern erfolgte mit Hilfe des Chi²-Tests, als Signifikanzniveau wurde $p \leq 0,05$ gewählt.

Für *alle Kinder* konnte nur in Abhängigkeit von der Diagnose Neurodermitis ein signifikanter Zusammenhang gezeigt werden. Hier zeigten sich bei Müttern mit Neurodermitis häufiger IL-10 Werte oberhalb des Medians im plazentaren Nabelschnurblut der Neugeborenen.

Bei der Betrachtung der *Bauernkinder* fanden sich für drei Diagnosen (Asthma, allergischer Schnupfen und Neurodermitis) signifikante Unterschiede. So zeigten sich bei Müttern mit Asthma öfter IL-12 Konzentrationen unterhalb des Medians. Auch für die Diagnose allergischer Schnupfen wurden mehr IL-12 Werte kleiner dem Median gefunden. Im Gegensatz dazu lagen die IL-5 Konzentrationen häufiger über dem Median, wenn die Mütter an Neurodermitis erkrankt waren.

Bei *Nicht-Bauernkindern* ergab sich nur für Asthma ein signifikanter Unterschied. So lagen die INF- γ Konzentrationen bei Müttern ohne Asthma öfter über dem Median. Bei Müttern mit Asthma hingegen, zeigten sich mehr IL-5 Werte unterhalb des Medians.

Des Weiteren konnten folgende „Borderline“ Signifikanzen für *alle Kinder* nachgewiesen werden. Waren die Mütter nicht an Asthma erkrankt, tendierten INF- γ , TNF- α und IL-10 zu mehr Werten über dem Median. Dagegen fanden sich bei Müttern mit einer Diagnose „Allergie“ geringfügig häufiger TNF- α Konzentrationen oberhalb des Medians.

Bauernkinder, deren Mütter gesund waren, zeigten im Folgenden tendenziell öfter Zytokinwerte oberhalb des Medians: IL10 bei Asthma, IL-12 bei allergischem Schnupfen, TNF- α bei Neurodermitis sowie IL-12, INF- γ und TNF- α bei der Diagnose „Allergie“.

Nicht-Bauernkinder, deren Mütter gesund waren, hatten tendenziell mehr Zytokinwerte oberhalb des Medians, wie folgende Gegenüberstellungen zeigen: TNF- α und IL-10 bei Asthma, IL-12 bei allergischem Schnupfen und Diagnose „Allergie“.

Bei allen Ergebnissen ist jedoch zu berücksichtigen, dass die Werte mit unterschiedlichen Stimulantien erhoben wurden.

Die Zusammenfassung der oben beschriebenen Ergebnisse zeigte, dass in den Gruppen der gesunden Mütter die **Th1 Zytokine (IL-12, INF- γ und TNF- α)** mehrheitlich Werte oberhalb des Medians aufwiesen. Eine Ausnahme dabei bildete TNF- α , das in der Gruppe aller Kinder mit Müttern ohne Diagnose „Allergie“ tendenziell weniger Werte über dem Median zeigte.

Für das **Th2 Zytokin (IL-5)** konnten einerseits bei Bäuerinnen mit Neurodermitis, andererseits bei Nicht-Bäuerinnen ohne Asthma häufiger Werte oberhalb des Medians nachgewiesen werden.

IL-10 zeigte bei Müttern mit Asthma größtenteils Werte unterhalb des Medians. Für Mütter mit Neurodermitis hingegen ergaben sich mehr Werte über dem Median.

Darstellung der zwei Zytokinkategorien (Kat. 0, 1)

Für die Erstellung einer logistischen Regressionsanalyse war es nötig, die Zytokinkonzentrationen 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

In den Tabellen 20-22 sind die signifikanten Zusammenhänge bzw. die nicht signifikanten Trends zwischen den zwei Zytokinkategorien und dem Allergiestatus der Mütter dargestellt. Da für die Berechnung der logistischen Regressionsanalyse lediglich die Ergebnisse verwendet wurden bei denen ein P-Wert $\leq 0,069$ vorlag, sind im Folgenden auch nur diese Ergebnisse beschrieben.

Tabelle 20: Darstellung der Zytokinkategorien (Kat. 0,1) **aller Kinder** in Abhängigkeit vom mütterlichen Allergiestatus (nur signifikante bzw. grenzwertig signifikante Ergebnisse dargestellt).

	Zyt. Kat.	[N] [%]	Gesamt	Diagnose		P-Wert
				Ja	Nein	Chi ² -Test
Diagnose Asthma						
IL-10 (PI 24h)	0	N	54	10	44	0,065
		%	41	63	38	
	1	N	77	6	71	
		%	59	37	62	
IFN- γ (LPS 48h)	0	N	89	14	75	0,044
		%	65	88	62	
	1	N	48	2	46	
		%	35	12	38	
Diagnose allerg. Schnupfen						
IL-10 (SEB 24h)	0	N	52	11	41	0,098
		%	40	29	45	
	1	N	78	27	51	
		%	60	71	55	
Diagnose „Allergie“						
IL-10 (SEB 24h)	0	N	52	13	39	0,082
		%	40	30	45	
	1	N	78	31	47	
		%	60	70	55	

Darstellung der Zytokinkategorien: **Kat. 0:** Null-Werte; **Kat. 1:** Positive Werte. Angegeben sind die Anzahl der gemessenen Zytokine [N] und der Prozentsatz [%]. Die Berechnung des Zusammenhanges zwischen der Gruppe der erkrankten und der gesunden Mütter erfolgte mit Hilfe des Chi²-Tests, als Signifikanzniveau wurde $p \leq 0,05$ gewählt.

Tabelle 21: Darstellung der Zytokinkategorien (Kat. 0,1) der **Bauernkinder** in Abhängigkeit vom mütterlichen Allergiestatus (nur signifikante bzw. grenzwertig signifikante Ergebnisse dargestellt).

	Zyt. Kat.	[N] [%]	Gesamt	Diagnose		P-Wert
				Ja	Nein	Fisher Test
Diagnose Asthma						
IL-10 (PI 24h)	0	N	31	6	25	0,023
		%	55	100	50	
	1	N	25	0	25	
		%	45	0,0	50	
IL-10 (PI 48h)	0	N	34	6	28	0,041
		%	61	100	56	
	1	N	22	0	22	
		%	39	0,0	44	

	Zyt. [N] Kat. [%]	Gesamt	Diagnose		P-Wert Fisher Test
			Ja	Nein	
Diagnose allerg. Schuppen					
IL-10 (LPS 48h)	0	N	6	3	0,083
		%	11	27	
	1	N	50	8	
		%	89	73	
Diagnose Neurodermitis					
TNF- α (LPS 24h)	0	N	21	0	0,049
		%	33	0,0	
	1	N	42	7	
		%	67	100	
TNF- α (SEB 24h)	0	N	45	3	0,095
		%	71	43	
	1	N	18	4	
		%	29	57	

Darstellung der Zytokinkategorien: **Kat. 0:** Null-Werte; **Kat. 1:** Positive Werte. Angegeben sind die Anzahl der gemessenen Zytokine [N] und der Prozentsatz [%]. Die Berechnung des Zusammenhanges zwischen der Gruppe der erkrankten und der gesunden Mütter erfolgte mit Hilfe des exakten Tests nach Fisher, als Signifikanzniveau wurde $p \leq 0,05$ gewählt.

Tabelle 22: Darstellung der Zytokinkategorien (Kat. 0,1) der **Nicht-Bauernkinder** in Abhängigkeit vom mütterlichen Allergiestatus (nur signifikante bzw. grenzwertig signifikante Ergebnisse dargestellt).

	Zyt. [N] Kat. [%]	Gesamt	Diagnose		P-Wert Fisher Test
			Ja	Nein	
Diagnose Asthma					
IFN- γ (SEB 24h)	0	N	38	9	0,009
		%	51	90	
	1	N	36	1	
		%	49	10	
IFN- γ (LPS 48h)	0	N	47	10	0,007
		%	64	100	
	1	N	27	0	
		%	36	0,0	
Diagnose allerg. Schnupfen					
IL-5 (PI 48h)	0	N	35	10	0,070
		%	45	33	
	1	N	42	20	
		%	54	67	
IL-12 (PI 48h)	0	N	69	29	0,029
		%	91	100	
	1	N	7	0	
		%	9,2	0,0	

	Zyt. Kat.	[N] [%]	Gesamt	Diagnose		P-Wert Fisher Test
				Ja	Nein	
Diagnose Neurodermitis						
IL-5 (PI 48h)	0	N	35	2	33	0,080
		%	45	20	49	
	1	N	42	8	34	
		%	55	80	51	
IFN- γ (PI 48h)	0	N	20	5	15	0,084
		%	27	50	23	
	1	N	55	5	50	
		%	73	50	77	
TNF- α (LPS 48h)	0	N	44	3	41	0,052
		%	59	30	63	
	1	N	31	7	24	
		%	41	70	37	
Diagnose „Allergie“						
IL-12 (PI 48h)	0	N	69	33	36	0,015
		%	91	100	84	
	1	N	7	0	7	
		%	9,2	0,0	16	

Darstellung der Zytokinkategorien: **Kat. 0:** Null-Werte; **Kat. 1:** Positive Werte. Angegeben sind die Anzahl der gemessenen Zytokine [N] und der Prozentsatz [%]. Die Berechnung des Zusammenhanges zwischen der Gruppe der erkrankten und der gesunden Mütter erfolgte mit Hilfe des exakten Tests nach Fisher, als Signifikanzniveau wurde $p \leq 0,05$ gewählt.

Bei der Betrachtung *aller Kinder* zeigten sich bei Müttern mit Asthma signifikant weniger positive IFN- γ Werte und tendenziell (nicht signifikant) weniger positive IL-10 Werte im Vergleich zu nicht an Asthma erkrankten Müttern.

Für *Bauernkinder* konnten folgende signifikante Unterschiede festgestellt werden. Bei Müttern mit Asthma fanden sich deutlich weniger bzw. keine positiven IL-10 Werte. Hingegen zeigten sich bei Müttern mit Neurodermitis häufiger positive TNF- α Werte. Bei *Nicht-Bauernkindern*, deren Mütter an Asthma erkrankt waren, wurden signifikant weniger positive IFN- γ Werte nachgewiesen. Ebenso zeigten sich bei Müttern mit allergischem Schnupfen bzw. einer Diagnose „Allergie“ seltener bzw. keine positiven IL-12 Werte. Im Gegensatz dazu fand sich bei Müttern mit Neurodermitis ein tendenziell höherer Anteil an positiven TNF- α Werten.

Auch hier ist wiederum zu beachten, dass die Werte mit unterschiedlichen Stimulantien bestimmt wurden.

Bei der Zusammenfassung der Ergebnisse zeigten auch hier die **Th1 Zytokine (IL-12 und IFN- γ)** in der Gruppe der gesunden Mütter deutlich häufiger positive Werte. Im Gegensatz dazu wurden beim Th1 Zytokin **TNF- α** sowohl bei Bäuerinnen als auch bei Nicht-Bäuerinnen mit Neurodermitis größtenteils positive Werte nachgewiesen. Für **IL-10** konnten bei Müttern mit Asthma weniger positive Werte nachgewiesen werden.

4.4.3 Vergleich der Zytokinkategorien der Kinder in Abhängigkeit vom mütterlichen Sensibilisierungsstatus

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

Der Sensibilisierungsstatus der Mutter wurde anhand der spezifischen IgE-Werte gegen die oben bereits erwähnten inhalativen Allergene und Nahrungsmittelallergene bestimmt. Wobei eine positive Sensibilisierung bedeutet, dass der spezifische IgE-Wert für mindestens ein Allergen mehr als 0,20 kU/l beträgt. In Tabelle 23 sind die signifikanten Ergebnisse bzw. die nicht signifikanten Trends der drei Zytokinkategorien in Abhängigkeit vom mütterlichen Sensibilisierungsstatus dargestellt. Zunächst erfolgt die Beschreibung aller Kinder und anschließend werden die beiden Gruppen der Bauern- und Nicht-Bauernkinder getrennt dargestellt.

Tabelle 23: Darstellung der Zytokinkategorien (Kat. 0, 1, 2) in Abhängigkeit vom mütterlichen Sensibilisierungsstatus für alle **Kinder, Bauern- und Nicht-Bauernkinder** (nur signifikante bzw. grenzwertig signifikante Ergebnisse dargestellt).

Sensibilisierung der Mutter	Zyt. Kat.	[N] [%]	Gesamt	Diagnose		P-Wert Chi ² -Test		
				Ja	Nein			
Alle Kinder								
IFN- γ (SEB 48h)	0	[N] %	60 43	45 41	15 53	0,069		
	1	[N] %	39 28	29 26	10 36			
	2	[N] %	39 28	36 33	3 11			
	Bauernkinder							
	IFN- γ (PI 48h)	0	[N] %	19 30	12 23		7 64	0,027
		1	[N] %	17 27	15 29		2 18	
2		[N] %	27 43	25 48	2 18			

Sensibilisierung der Mutter	Zyt. Kat.	[N] [%]	Gesamt	Diagnose		P-Wert Chi ² -Test
				Ja	Nein	
Nicht-Bauernkinder						
IFN- γ (SEB 24h)	0	[N]	38	32	6	0,028
		%	51	56	35	
	1	[N]	22	18	4	
		%	30	32	24	
	2	[N]	14	7	7	
		%	19	12	41	

Darstellung der Zytokinkategorien: **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 Zusammenhanges zwischen der Gruppe der sensibilisierten und der nicht sensibilisierten Mütter erfolgte mit Hilfe des Chi²-Tests, als Signifikanzniveau wurde $p \leq 0,05$ gewählt

Ein signifikanter Unterschied lag lediglich in den beiden Untergruppen *Bauernkinder* und *Nicht-Bauernkinder* für IFN- γ vor. Bei sensibilisierten Bäuerinnen zeigten sich häufiger IFN- γ Werte oberhalb des Medians. Hingegen lagen bei sensibilisierten Nicht-Bäuerinnen weniger IFN- γ Werte über dem Median vor. Für *alle Kinder* zusammen konnten lediglich tendenziell mehr IFN- γ Werte größer dem Median bei den sensibilisierten Müttern gezeigt werden. Auch hier ist zu beachten, dass unterschiedliche Stimulantien verwendet wurden. Weitere signifikante Abhängigkeiten zwischen den Zytokinkategorien der Kinder und dem mütterlichen Sensibilisierungsstatus konnten nicht gefunden werden.

Zusammenfassend zeigten sich bei sensibilisierten Müttern mehrheitlich **IFN- γ (Th1 Zytokine)** Konzentrationen oberhalb des Medians, außer bei den Nicht-Bäuerinnen.

Darstellung der zwei Zytokinkategorien (Kat. 0, 1)

Wie zuvor wurden für die Erstellung einer logistischen Regressionsanalyse die Zytokinkonzentrationen in eine dichotome Variable umgewandelt:

Kat. 0: Null-Werte

Kat. 1: Positive Werte

Tabelle 24 zeigt die signifikanten Unterschiede bzw. die nicht signifikanten Trends der zwei Zytokinkategorien in Abhängigkeit vom Sensibilisierungsstatus der Mutter. Zur anschließenden Berechnung der logistischen Regressionsanalyse wurden lediglich die Ergebnisse verwendet, die einen P-Wert $\leq 0,069$ zeigten, welche im Folgenden beschrieben werden.

Tabelle 24: Darstellung der Zytokinkategorien (Kat. 0,1) der **Bauernkinder** in Abhängigkeit vom mütterlichen Sensibilisierungsstatus (nur signifikante bzw. grenzwertig signifikante Ergebnisse dargestellt)

Sensibilisierung der Mutter	Zyt. Kat.	[N] [%]	Gesamt	Diagnose		P-Wert Fisher Test
				Ja	Nein	
IL-5 (PI 48h)	0	N	26	19	7	0,097
		%	41	37	64	
	1	N	37	33	4	
		%	59	63	36	
IFN-γ (LPS 24h)	0	N	46	33	13	0,053
		%	73	67	93	
	1	N	17	16	1	
		%	27	33	7,0	
IFN-γ (PI 48h)	0	N	19	12	7	0,013
		%	30	23	64	
	1	N	44	40	4	
		%	70	77	36	

Darstellung der Zytokinkategorien: **Kat. 0:** Null-Werte; **Kat. 1:** Positive Werte. Angegeben sind die Anzahl der gemessenen Zytokine [N] und der Prozentsatz [%]. Die Berechnung des Zusammenhanges zwischen der Gruppe der sensibilisierten und der nicht sensibilisierten Mütter erfolgte mit Hilfe des exakten Tests nach Fisher, als Signifikanzniveau wurde $p \leq 0,05$ gewählt.

Lediglich für *Bauernkinder* konnte ein Zusammenhang nachgewiesen werden. Hier lagen bei sensibilisierten Bäuerinnen häufiger positive INF- γ Werte vor. Weitere signifikante Unterschiede fanden sich nicht.

Dieses Ergebnis zeigt, dass **IFN- γ (Th1 Zytokine)** bei sensibilisierten Müttern überwiegend positive Werte annimmt.

4.4.4 Störfaktoren für die Zytokinkategorien in Abhängigkeit vom Allergie- und Sensibilisierungsstatus der Mutter

Zunächst wurde der Zusammenhang zwischen möglichen Störfaktoren und den in Kapitel 4.4.2 und 4.4.3 beschriebenen Zytokinkategorien (Kat. 0, 1) untersucht (Tab. 25 im Anhang). Anschließend wurde der Einfluss dieser möglichen Störfaktoren auf den Allergiestatus (Diagnosen Asthma, allergischer Schnupfen, Neurodermitis und Diagnose „Allergie“) und den Sensibilisierungsstatus der Mütter überprüft (Tab. 26 im Anhang).

Es zeigte sich, dass lediglich die in Tabelle 27 und 28 dargestellten Störfaktoren sowohl den Allergie- bzw. den Sensibilisierungsstatus der Mütter als auch die

Zytokinkategorien beeinflussten. Die Anzahl der *Geschwister der Mutter* korreliert mit der Diagnose allergischer Schnupfen bzw. der Diagnose „Allergie“ sowie mit den IL-12 Kategorien der Kinder. Dabei zeigten sich bei Müttern mit mehr Geschwistern häufiger positive IL-12 Werte. Mütter mit allergischem Schnupfen bzw. der Diagnose „Allergie“ hatten jedoch weniger Geschwister. Weitere mögliche Störfaktoren sind der *Konsum von Frischmilch* und der *Nikotinabusus der Väter*. Bei diesen bestand bezüglich der Diagnose Asthma und der INF- γ Kategorien der Kinder eine signifikante Abhängigkeit. So fanden sich bei Müttern, die Frischmilch während der Schwangerschaft konsumierten, weniger positive INF- γ Werte und sie litten seltener unter Asthma. Falls die Väter jedoch mehr als 5 Packungen Zigaretten in ihrem Leben geraucht hatten, zeigten sich mehr positive INF- γ Werte und die Mütter hatten häufiger Asthma.

Tabelle 27: Störfaktoren für den Allergie- und Sensibilisierungsstatus der Mutter.

		Ja	Nein	Gesamt	P-Wert
Diagnose Asthma					
Frischmilch vom Hof	nein	14 82%	66 51%	80 54%	0,014
	ja	3 18 %	64 49 %	67 46 %	
Vater > 5 Pack. Zigaretten	nein	5 29%	70 55%	75 52%	0,046
	ja	12 71%	57 45%	69 48%	
Diagnose allergischer Schnupfen					
Geschwister der Mutter	Anzahl	44	103	147	0,000
	Mittlerer Rang	55,4	81,9		
Diagnose „Allergie“					
Geschwister der Mutter	Anzahl	52	95	147	0,001
	Mittlerer Rang	58,8	82,3		

Beschreibung der Störfaktoren für den Allergie- und Sensibilisierungsstatus der Mutter. Der P-Wert von nominalskalierten Variablen wurde mit dem Chi²-Test, von verhältnisskalierten Variablen mit dem Mann-Whitney-U-Test berechnet. Bei dem Störfaktor Geschwister der Mutter kann nur der Mittlere Rang angegeben werden, da es sich um eine verhältnisskalierte Variable handelt. Als Signifikanzniveau wurde $p \leq 0,05$ gewählt.

Tabelle 28: Störfaktoren für die signifikanten Zytokine der Kategorie (Kat. 0, 1).

		Kat. 0	Kat. 1	Gesamt	P-Wert
IL-12 (PI 48h)					
Geschwister der Mutter	Mittlerer Rang	67,5	90,4		0,051
IFN-γ (SEB 24h)					
Frischmilch vom Hof	nein	37	37	74	0,019
		46%	66%	54%	
	ja	44	19	63	
		54%	34%	46%	
Vater > 5 Pack. Zigaretten	nein	47	23	70	0,053
		59%	42%	52%	
	ja	33	32	65	
		41%	58%	48%	

Beschreibung der Störfaktoren für die signifikanten Zytokinkategorien (Kat. 0, 1). Der P-Wert von nominalskalierten Variablen wurde mit dem Chi²-Test, von verhältnisskalierten Variablen mit dem Mann-Whitney-U-Test berechnet. Bei dem Störfaktor Geschwister der Mutter kann nur der Mittlere Rang angegeben werden, da es sich um eine verhältnisskalierte Variable handelt. Als Signifikanzniveau wurde $p \leq 0,05$ gewählt.

4.4.5 Binäre logistische Regression: Abhängigkeit der dichotomen

Zytokinkategorien vom Allergie- und Sensibilisierungsstatus der Mutter

Tabelle 29 zeigt die Beziehung, positive bzw. negative Korrelation, zwischen den dichotomen Zytokinkategorien (aus Kapitel 4.4.2 und 4.4.3 mit $p \leq 0,069$) und dem Allergie- und Sensibilisierungsstatus der Mutter für alle Kinder sowie die Gruppen Bauern- und Nicht-Bauernkinder. Es wurden die oben genannten Störfaktoren mit einbezogen, die sowohl das Ergebnis als auch die Exposition beeinflussten (mit $p \leq 0,069$). Im Folgenden werden nur die Ergebnisse erläutert, bei denen auch eine binäre logistische Regression möglich war. Die anderen Abhängigkeiten wurden bereits in den Kapiteln 4.4.2 und 4.4.3 dargestellt. Die logistische Regression ergab lediglich bei *Nicht-Bauernkindern* für Asthma und IFN- γ und bei *Bauernkindern* für Sensibilisierung und IFN- γ einen signifikanten Zusammenhang. Dabei korrelierte Asthma negativ ($OR < 1$) und die Sensibilisierung positiv ($OR > 1$) mit IFN- γ . Die Adjustierung für Frischmilchkonsum ergab für Asthma und IFN- γ eine Zunahme der Signifikanz. Weitere Adjustierungen waren nicht möglich, da hier die Häufigkeit einer der beiden Zielvariablen bereits 0% betrug. Des Weiteren konnten folgende Trends gezeigt werden. Bei *allen Kindern* ergab sich für Asthma und IL-10 bzw. IFN- γ eine negative Korrelation. Neurodermitis hingegen korrelierte positiv mit TNF- α bei *Nicht-Bauernkindern*.

Insgesamt bestätigten diese Ergebnisse die Zusammenhänge, die bereits in den Kapiteln 4.4.2 und 4.4.3 beschrieben wurden. So zeigte **IFN- γ** bei Müttern mit Asthma deutlich weniger, bei sensibilisierten Bäuerinnen hingegen mehr positive Werte. Für **TNF- α** ergaben sich häufiger positive Werte bei Nicht-Bäuerinnen, die unter Neurodermitis litten. Bei Müttern mit Asthma fanden sich außerdem weniger positive **IL-10** Werte. Nur für **IL-12** konnte kein signifikanter Zusammenhang mehr gezeigt werden.

Tabelle 29: Binäre logistische Regression: Abhängigkeit der dichotomen Zytokinkategorien vom Allergie- und Sensibilisierungsstatus der Mutter

	Alle Kinder			Bauernkinder			Nicht-Bauernkinder		
	OR	95% KI	P-Wert	OR	95% KI	P-Wert	OR	95% KI	P-Wert
Asthma									
IL-10 (PI 24h)	0,37	0,13-1,10	0,073	0,50	0,38-0,66	0,023*	0,62	0,16-2,45	0,494
IL-10 (PI 48h)	0,42	0,14-1,28	0,129	0,56	0,44-0,72	0,041*	0,71	0,20-2,57	0,603
IFN- γ (SEB 24h)	0,44	0,14-1,45	0,178	2,35	0,43-12,85	0,323	0,09	0,01-0,77	0,028
IFN- γ (LPS 48h)	0,23	0,05-1,07	0,061	1,00	0,17-5,96	1,000	0,58	0,47-0,71	0,007*
(1) IFN- γ (SEB 24h)	0,32	0,09-1,09	0,069	2,50	0,41-15,42	0,322	0,07	0,01-0,63	0,017
Allerg. Schnupfen									
IL-12 (PI 48h)	0,43	0,09-2,05	0,290	2,79	0,41-18,76	0,292	0,85	0,76-0,96	0,029*
Neurodermitis									
TNF- α (LPS 24h)	2,51	0,68-9,24	0,165	0,63	0,51-0,77	0,049*	1,14	0,27-4,86	0,860
TNF- α (LPS 48h)	1,60	0,58-4,43	0,367	0,46	0,08-2,58	0,379	3,99	0,94-16,88	0,060
Allergie									
IL-12 (PI 48h)	0,33	0,07-1,55	0,158	1,87	0,28-12,28	0,420	0,84	0,73-0,96	0,015*
Sensibilisiert									
IFN- γ (LPS 24h)	1,74	0,07-4,42	0,245	6,30	0,76-52,50	0,089	0,97	0,31-3,00	0,965
IFN- γ (LPS 48h)	1,66	0,68-4,04	0,262	5,83	1,46-23,36	0,013	0,57	0,14-2,26	0,424

Berechnung der Odds Ratio (OR), des 95% Konfidenzintervalls (95% KI) und des P-Werts mit binärer logistischer Regression. Bei den mit * gekennzeichneten P-Werten war eine logistische Regression und eine Adjustierung nicht möglich, da in einer der beiden Gruppen (Allergie- bzw. Sensibilisierungsstatus positiv oder negativ) keine Zytokinmesswerte vorhanden waren. Hier wurden für die Berechnung der Odds Ratio und des 95% Konfidenzintervalls Kreuztabellen und für den P-Wert der exakte Test nach Fisher verwendet. **(1)** Dieses Modell wurde adjustiert für Frischmilchkonsum. Als Signifikanzniveau wurde $p \leq 0,05$ gewählt. Eine negative Korrelation liegt bei $OR < 1$, eine positive Korrelation bei $OR > 1$ vor.

5 Diskussion

Die starke Zunahme der Prävalenz von allergischen Erkrankungen im Kindesalter verdeutlicht welchen gesundheitlichen und finanziellen Stellenwert Allergien in unserer Gesellschaft einnehmen [1,3]. So wurden in den letzten Jahren bereits zahlreiche Studien auf dem Gebiet der allergischen Krankheitsbilder durchgeführt, mit dem Ziel ihre Ursachen, Entstehungsmechanismen und ihren natürlichen Verlauf besser zu verstehen und somit neue therapeutische Möglichkeiten zu eröffnen [36;40;88;104;117;128;138]. Besonders wichtig ist dabei eine effektive Prävention, die jedoch eine genaue Kenntnis möglicher Risikofaktoren und Risikopopulationen voraussetzt. So zeigten mehrere Studien, dass eine positive allergische Familienanamnese, insbesondere mütterlicherseits, das Risiko für Kinder ebenfalls eine Allergie zu entwickeln deutlich erhöht [78;118]. Als Prädiktionsmarker für die Entwicklung einer allergischen Erkrankung wurde bei der Untersuchung Neugeborener immer wieder ein erhöhter Serum-IgE-Wert diskutiert [62]. Dieser besitzt zwar eine hohe Spezifität, dafür aber eine sehr geringe Sensitivität und eignete sich somit nicht als aussagekräftiger Prädiktionsmarker [62]. Aktuell wird das Augenmerk verstärkt auf die Zytokinproduktion von Nabelschnurblutzellen gerichtet, da diese einen zentralen Anteil am Pathomechanismus verschiedener allergischer Erkrankungen haben. So beschreiben Kondo et al. 1992 zum ersten Mal, dass Nabelschnurblut von Neugeborenen zu einer allergen-spezifischen Proliferationsantwort fähig ist [65]. Neben dieser Lymphozytenproliferation, welche eindeutig auf fetale und nicht auf mütterliche T-Zellen zurückzuführen ist, konnten Prescott et al. eine Th1/Th2 assoziierte Zytokinproduktion nachweisen [106]. Außerdem zeigte sich, wie bereits in der Einleitung beschrieben, dass Zytokine als Immunmodulatoren eine zentrale Rolle bei der Differenzierung der Lymphozyten in allergiefördernde Th2 oder allergiehemmende Th1 Subpopulationen spielen. Durch diese Beobachtungen verstärkte sich in den letzten Jahren das Interesse an der neonatalen Immunantwort im Zusammenhang mit einer späteren Allergieentstehung.

Ziel dieser Arbeit war es deshalb die Zusammenhänge zwischen dem Allergiestatus der Mutter und dem Immunstatus des Neugeborenen unter besonderer Berücksichtigung des Bauernstatus zu untersuchen. Hierfür wurde zunächst der Allergiestatus der Mutter anhand ihrer allergischen Anamnese und ihrer spezifischer Serum-IgE-Werte bestimmt. Ferner sollte der Immunstatus des Neugeborenen anhand der Zytokinproduktion von Nabelschnurblutzellen nach Stimulation mit Lipopolysacchariden (LPS),

Staphylokokken Enterotoxin B (SEB) und Phorbol-12-Myristat-13-Acetat /Ionomycin (PI) untersucht werden, um daraus Rückschlüsse auf den T-Zell-Effektorstatus ziehen zu können. Gemessen wurde dafür IFN- γ , TNF- α und IL-12 als Th1-typische Zytokine, IL-5 als Th2-typisches Zytokin und IL-10, welches zu den Treg Zytokinen zählt.

5.1 Studiendesign und Probanden

Die Untersuchungsergebnisse dieser Arbeit basieren auf der Datenerhebung innerhalb Deutschlands im Rahmen der PASTURE-Studie, einer prospektiven Geburtskohorten Studie. Die Rekrutierung der schwangeren Frauen fand in vier Krankenhäusern in ländlichen Gebieten Südbayerns statt. So war es möglich überwiegend Familien aus einem ähnlichen Lebensraum in die Studie aufzunehmen. An Hand vorher festgelegter Kriterien erfolgte die Einteilung der Schwangeren in die Gruppen „Bäuerinnen“ oder „Nicht-Bäuerinnen“. Das Studiendesign einer prospektiven Kohortenstudie eignet sich gut, um die Häufigkeit des Auftretens einer Krankheit unter bestimmten Bedingungen zu untersuchen [159]. So wurde in der vorliegenden Arbeit das Zytokinexpressionsmuster im Nabelschnurblut von Neugeborenen untersucht, da dieses einen zentralen Anteil am Pathomechanismus allergischer Erkrankungen hat. Anschließend wurden Zusammenhänge zwischen dem Zytokinexpressionsmuster und dem Allergiestatus sowie dem Bauernstatus der Mutter überprüft, um eine mögliche Kausalitäten festzustellen. Nachteilig bei prospektiven Kohortenstudien sind jedoch der hohe Aufwand, die hohen Kosten und die lange Zeitdauer, welche zu Kohortenverlusten führen kann [159]. Um daher die langfristige Teilnahmebereitschaft der Probanden zu sichern, zählten zu den Ausschlusskriterien ein geplanter Wegzug aus dem Studiengebiet und eine mangelhafte telefonische Erreichbarkeit der Familien. Dennoch konnten lediglich von 60% der Studienpopulation vollständige Daten erhoben werden. So war die Beurteilung der Ergebnisse teilweise auf Grund geringer Fallzahlen nur eingeschränkt möglich. Die gesamte Studienpopulation von 254 Familien stellt jedoch eine mit anderen Studien gut vergleichbare Anzahl dar [36;40;107;148]. Beim Vergleich der Subpopulation von 147 Familien, bei denen Zytokin- und IgE-Daten vorhanden waren, mit der Gesamtpopulation zeigten sich kaum Unterschiede in den allgemeinen Charakteristika der Studienpopulation. Lediglich bezüglich des Alters der Mütter fand eine Selektion in Richtung älterer Mütter statt. Dies belegt trotz relativ kleiner Fallzahlen den Charakter eines repräsentativen Normalkollektivs der Subpopulation.

5.2 Methoden

In der vorliegenden Arbeit wurde das Zytokinsekretionsmuster im Vollblut bestimmt. Dieses Verfahren erwies sich als besonders geeignet, da auf Grund der schnellen Durchführbarkeit die Zeitspanne zwischen Blutentnahme und Stimulation so kurz wie möglich gehalten werden konnte. Im Gegensatz zur Dichtezentrifugation sind der Zeitaufwand, die benötigte Blutmenge und auch die Materialkosten deutlich geringer. Die leichte technische Durchführbarkeit gewährleistet eine gute Reproduzierbarkeit. Dies alles sind Voraussetzungen für die Durchführbarkeit von größeren Studien [91]. Außerdem stellt der Vollblutansatz ein *in-vivo* nahes Modell dar, bei dem sich physiologische Verhältnisse der Blutzellen und aller Faktoren, die für die Aktivierung der Immunzellen verantwortlich sind, finden. Allerdings bringt dies wiederum den Nachteil mit sich, dass die genaue Zusammensetzung der stimulierten Zellen unbekannt ist. Somit kann keine Zuordnung der stimulierten Zellen zu den von ihnen produzierten Zytokinen vorgenommen werden. Nur ein Differenzialblutbild ermöglicht Rückschlüsse auf die Zusammensetzung der Blutkomponenten. Aber selbst die Ficoll-Dichtezentrifugation bietet keine absolute Reinheit der mononukleären Zellen [113]. Dies könnte nur durch mehrere Dichtezentrifugationsschritte erreicht werden, was aber wiederum die Apoptoserate steigern würde [49]. Ein weiterer Nachteil ist, dass es durch die Separation von mononukleären Zellen zur Voraktivierung der Immunzellen kommen kann [24]. So wurde nach Zellisoliationsprozessen von PBMC eine Steigerung der IL-2 und IL-6 beobachtet [24].

Zur Zellaktivierung wurden die Mitogene PMA (Phorbol-12-Myristat-13-Acetat) und Ionomycin sowie die mikrobiellen Antigene LPS (Lipopolysaccharid) und SEB (Staphylokokken Enterotoxin B) verwendet. PMA und Ionomycin bewirken eine nichtselektive, breite Lymphozytenaktivierung und gelten als verlässliche T-Zell-Stimulantien. Beide wirken jedoch auf unterschiedliche Art und Weise auf die verschiedenen T-Zell-Subpopulationen [42]. PMA aktiviert Proteinkinase C-abhängige Signalwege, wohingegen Ionomycin ein Calcium-Ionophor ist, das Calcium bindet und durch biologische Membranen transportiert. Letztendlich interferieren beide Mitogene mit intrazellulären Signaltransduktionswegen und führen somit zu einer Genaktivierung [42]. Da PMA und Ionomycin jedoch keine physiologischen Stimulantien sind, sind die Ergebnisse ihrer Zellstimulation kritisch zu beurteilen. LPS wurde als Modellstimulans für gram-negative Bakterien und SEB für gram-positive Bakterien verwendet. Bakterielle Stimuli bewirken eine Aktivierung von APC und führen in der Regel zu

einer Th1 geprägten Immunantwort. LPS als bakterielles Toxin bindet zusammen mit dem Lipopolysaccharid bindendem Protein (LBP) an TLR4 und den Korezeptor CD 4 und MD 2 z. B. von Monozyten. Diese setzen dann im aktivierten Zustand Zytokine, wie TNF- α oder IL-1 und IL-10 frei [21;141]. SEB, ein bakterielles Superantigen, bewirkt über eine Interaktion mit MHC-Klasse II Molekülen die Aktivierung von APC und T-Zellen. Diese produzieren dann wiederum Zytokine, wie TNF- α , IL-12, und INF γ [64]. Die Stimulation mit LPS und SEB spiegelt somit annähernd physiologische Bedingungen wieder. Dabei ist aber das Phänomen der „LPS Toleranz“ zu berücksichtigen [156]. Durch Prästimulation mit LPS oder durch Kreuzreaktion mit anderen exogenen Stimulantien kommt es zu einer verminderten Zytokinproduktion. So konnte eine geringe Konzentration von TNF- α , IL-10 und IL-12 nach LPS-Stimulation gezeigt werden [156].

Die Konzentration der Stimulantien und die Inkubationszeit wurden anhand von bereits durchgeführten Versuchsreihen innerhalb der ALEX-Studie ermittelt, um eine optimale Zytokinproduktion zu gewährleisten [152]. Des Weiteren wurden die Analysen nach dem empfohlenen Prinzip als Doppelbestimmungen unter einheitlichen und reproduzierbaren Bedingungen durchgeführt.

Die Zytokinbestimmung erfolgte mit Hilfe des ELISA-Tests (Enzyme-linked immunosorbent assay). Diese Methode ermöglicht es Zytokine im Zellüberstand einer Kultur mittels Zytokin-spezifischer Antikörper zu messen [31]. Somit können quantitative Aussagen über die Zytokinproduktion, jedoch nicht über die zytokinproduzierenden Zelltypen gemacht werden. So stellen zum Beispiel PMA und Ionomycin keine T-Zell-spezifischen Stimulantien dar und induzieren damit auch die Zytokinproduktion von Monozyten, dendritischen Zellen und NK-Zellen. Auf diese Weise können durch die unterschiedliche Anzahl von anderen zytokinproduzierenden Zellen der einzelnen Probanden die Ergebnisse verfälscht werden.

5.3 Ergebnisse

5.3.1 Allergien der Mütter

Bisher wurde für die Bestimmung des Allergierisikos bei Neugeborenen in erster Linie die allergische Belastung erstgradiger Verwandter berücksichtigt. In mehreren Studien konnte jedoch gezeigt werden, dass eine positive Familienanamnese von Seiten der Mutter ein deutlich größeres Risiko darstellt, als eine Belastung väterlicherseits [78;118]. Aus diesem Grund wurde bei der Auswertung zunächst nur der Einfluss des Allergiestatus der Mutter auf die Zytokinproduktion bei den Neugeborenen untersucht. Die Befragung der Mütter bezüglich Asthma, allergischem Schnupfen und Neurodermitis erfolgte mit Hilfe eines Fragebogens, der auf dem international standardisierten und validierten Fragebogen der ISAAC-Studie basierte [1]. Zunächst wurde die subjektive Aussage der Mutter mit der objektiven Diagnose eines Arztes verglichen. Es zeigte sich eine weitgehende Übereinstimmung, nur in Bezug auf allergischen Schnupfen ergab sich ein Unterschied. So konnte bei einem Teil der Bauernmütter die Diagnose nicht vom Arzt bestätigt werden. Auf Grund dieser Differenz und der objektiveren und damit besser vergleichbaren Aussage eines Arztes wurde für die Definition des Allergiestatus nur noch die Diagnose verwendet. Der Bauernstatus zeigte hier lediglich in Bezug auf die Diagnose allergischer Schnupfen einen Einfluss, mit signifikant mehr erkrankten Nicht-Bauern Müttern. Insgesamt stimmten die Häufigkeiten der einzelnen Diagnosen Asthma (12%), allergischer Schnupfen (30%) und Neurodermitis (12%) der Subpopulation (N = 147) mit denen der gesamten Studienpopulation (N = 254) überein. Dies steht im Einklang zu den Ergebnissen des „Gesundheitssurvey“ des Robert-Koch-Instituts [30]. Die Studienpopulation enthielt jedoch tendenziell mehr allergische Mütter, als die Gesamtbevölkerung. Dennoch wird auch hier der repräsentative Charakter der untersuchten Studienpopulation deutlich.

5.3.2 IgE-Werte der Mütter

Für die Bestimmung des Allergiestatus der Mutter wurden als ein weiterer objektiver Marker die spezifischen IgE-Werte gegenüber 20 verschiedenen inhalativen- und nutritiven Allergenen gemessen. Diese spiegeln den Sensibilisierungsstatus der Mutter gegenüber den gängigsten Allergenen wieder. Darüber hinaus konnte ein Zusammenhang zwischen IgE-Antikörpern und klinisch relevanten allergischen Symptomen gezeigt werden [99;119]. Für die Messung der spezifischen IgE-Werte

wurde ein neues Allergie Screening System angewandt. Dieses zeigte im Vergleich zu dem bereits etablierten Pharmacia CAP System und dem Pricktest eine sehr gute Übereinstimmung und Sensitivität [47]. Der Cut-off-Wert für eine positive Sensibilisierung wurde auf 0,2 kU/l gesenkt. Diese erschwerte insgesamt die Vergleichbarkeit mit anderen Studien, da dieser Wert nicht dem Standard (0,35 kU/l) für epidemiologische Studien entspricht. Dennoch erwies sich dieser niedrige Cut-off-wert als sinnvoll, da er in dieser Arbeit lediglich als Marker für eine positive Sensibilisierung, nicht aber für eine allergische Erkrankung mit Symptomen, eingesetzt wurde. Zunächst wurden die IgE-Werte in folgende Kategorien eingeteilt: Kat.1: keine Sensibilisierung (0,00 – 0,19 kU/l), Kat.2: Sensibilisierung (0,20 – 0,34 kU/l) und Kat.3: Atopie ($\geq 0,35$ kU/l; \geq RAST-Klasse I). Beim Vergleich mit den MONIKA- und KORA-Surveys, zweier im Raum Augsburg angesiedelter epidemiologischer Studienplattformen, zeigte sich in der PASTURE-Studie ein höherer Prozentsatz an IgE-Werten der Kategorie 3 gegenüber verschiedenen Nahrungsmittel- und Aeroallergenen [121]. Dies ist zum Teil auf unterschiedliche Untersuchungsmethoden zurückzuführen. So wurde in der KORA-Studie ein Lanzetten-Pricktest mit 9 Aero- und 10 Nahrungsmittelallergenen durchgeführt. Die MONIKA-Studie hingegen wertete spezifische IgE-Werte $> 0,35$ kU/l als eine positive Sensibilisierung, wobei aber im Vergleich zur PASTURE-Studie nur ein Teil der Allergene getestet wurde. Andererseits muss sowohl beim Sensibilisierungs- als auch beim Allergiestatus der Mütter davon ausgegangen werden, dass der Prozentsatz an betroffenen Müttern in der PASTURE-Studie höher ist als in der Normalbevölkerung [133]. Dies ist darauf zurückzuführen, dass erkrankte Personen in der Regel ein größeres Interesse an der Teilnahme an Gesundheitsstudien haben.

5.3.3 Zytokinwerte der Kinder

Darstellung der Zytokinwerte aller Kinder

Die Darstellung der Zytokinwerte aller Kinder zeigt, dass alle Zytokine nach Stimulation mit PI, LPS und SEB nachweisbar waren. Es fanden sich jedoch deutliche Unterschiede in den Konzentrationen der Zytokine untereinander und ein und desselben Zytokins je nach verwendetem Stimulus. Die Messwerte von IL-5 und IL-12 lagen sehr oft unterhalb der Nachweisgrenze, was bei der folgenden Bewertung der Ergebnisse berücksichtigt werden muss. Lediglich eine Stimulation mit PI verbesserte die Messbarkeit. Dies galt auch für die anderen Zytokine mit Ausnahme von IL-10, welches

die höchsten Konzentrationen nach LPS-Stimulation zeigte. Diese Unterschiede zeigen, dass es sinnvoll war drei verschiedene Stimulantien zu verwenden um eine optimale Messbarkeit der Zytokine zu erreichen. Dennoch muss beachtet werden, dass PI keine *in-vivo* Stimulation widerspiegelt, und ursprünglich auch nur als Positiv-Kontrolle gedacht war. Für die zwei Stimulationszeiten ergaben sich ebenfalls Unterschiede. So fand sich zum Beispiel für IFN- γ ein Anstieg der Konzentration nach 48 Stunden, bei TNF- α hingegen ein Abfall. Dies lässt sich durch die unterschiedliche Kinetik der einzelnen Zytokine erklären und machte den Einsatz verschiedener Stimulationszeiten sinnvoll. Insgesamt erwiesen sich die stetigen Zahlen jedoch auf Grund ihrer starken Streuung als nicht sehr aussagekräftig.

Trotz der Anpassung der Versuchsbedingungen lag ein Grossteil der Messwerte unterhalb der Nachweisgrenze. So war eine Einteilung der Zytokine in Kategorien nötig, um eine bessere Vergleichbarkeit zwischen Gruppen zu ermöglichen. Da es für Zytokinkonzentrationen im Nabelschnurblut bis jetzt noch keine optimale Auswertestrategie gibt, wurden zwei Modelle verwendet.

1. Modell: Kat. 0: Null-Werte

Kat. 1: Positive Werte kleiner oder gleich dem jeweiligen Median

Kat. 2: Positive Werte über dem jeweiligen Median

2. Modell: Kat. 0: Null-Werte

Kat. 1: Positive Werte

Beide Modelle erscheinen sinnvoll vor dem Hintergrund lediglich die Kapazität der Zytokinantwort zu bestimmen. Zum jetzigen Zeitpunkt gibt es jedoch noch keine Erkenntnisse darüber, ob allein das Vorhandensein von bestimmten Zytokinen oder deren Konzentration entscheidend für die Allergieentstehung ist. Demnach werden in der folgenden Diskussion die Ergebnisse beider Modelle berücksichtigt und bezüglich ihrer Sensitivität und Übereinstimmung verglichen.

Zusammenhang mit dem Allergiestatus der Mutter

IFN- γ

IFN- γ wird als klassisches Th1-Zytokin angesehen. Da es die IgE-Synthese hemmt, wurde bisher angenommen, dass ein vermindertes IFN- γ über konsekutiv erhöhte IgE-Spiegel entscheidend zur Manifestation von allergischen Krankheitsbildern beiträgt

[100]. So beschreiben viele Autoren eine Korrelation von Allergien und einer erniedrigten IFN- γ Produktion nach Stimulation von PBMC [59;88].

Daraus ergibt sich die Frage, ob bei Neugeborenen mit einem erhöhten Allergierisiko ebenfalls die IFN- γ Antwort verringert ist.

Es zeigte sich bei den vorliegenden Untersuchungen, dass bei Müttern mit Asthma alle Neugeborenen, unabhängig vom Bauernstatus, eine verminderte IFN- γ (LPS, 48 Std.) Produktionskapazität aufwiesen (2. Modell). Dies konnte durch einen nicht signifikanten Trend innerhalb des 1. Modells bestätigt werden. In beiden Modellen wurde bei den Nicht-Bauernkindern der gleiche Effekt beobachtet (LPS, 48 Std. und SEB, 24 Std.).

Dieses Ergebnis steht im Einklang mit zahlreichen Studien, die ebenfalls eine verminderte IFN- γ Produktion von NBMC bei Kindern mit einer allergischen Familienanamnese, gegenüber Neugeborenen ohne erhöhtes Risiko beobachteten [36;51;75;103;104;115]. Beim Vergleich dieser Studien fällt die Heterogenität der eingesetzten Methoden zur Messung der Zytokine auf. Lediglich Pohl et al. verwendeten die mikrobiellen Antigene LPS und SEB plus die Mitogene PMA und Ionomycin zur Restimulation. Hier zeigte sich jedoch nur bei einer Kombination von LPS und SEB ein Unterschied zwischen Neugeborenen mit hohem und niedrigem Allergierisiko [103]. In den meisten anderen Studien wurden entweder Mitogene oder Allergene zur Stimulation verwendet. Beim Vergleich mit unseren Ergebnissen muss betont werden, dass bei vielen Untersuchungen die Definition für ein hohes Allergierisiko „mindestens ein Elternteil mit Allergie“ ist. Nur wenige Studien betrachteten gesondert den Allergiestatus der Mutter. Prescott et al. fanden jedoch ebenfalls eine inverse Korrelation zwischen der mütterlichen Allergianamnese und der IFN- γ Produktion [104]. Gabrielsson et al. hingegen unterschieden zwischen einer doppelten (dh), einer mütterlichen (mh) und keiner allergischen Vererbung (nh). Sie stellten zunächst weniger IFN- γ produzierende Zellen in der „mh“ Gruppe im Vergleich zur „dh“ Gruppe fest. Aber beim Vergleich des Verhältnisses von IL-4/IFN- γ produzierenden Zellen zeigte sich in der „dh“ Gruppe der größte Th2/Th1-Anteil [36]. Diesem Ergebnis zufolge hat sowohl die Mutter als auch der Vater einen genetischen Einfluss auf die Zytokinproduktion. Andererseits darf man auch nicht die Arbeiten außer Acht lassen, die keinen Zusammenhang zwischen der Zytokinproduktion und dem genetischen Risiko fanden [40]. Dies ist eventuell auf die differierenden Definitionen

eines hohen Allergierisikos zurückzuführen. Bei Hagendorens et al. bedeutete ein hohes Risiko, dass ein oder beide Elternteile eine positive Allergianamnese und gleichzeitig erhöhte spezifische IgE-Werte hatten [40].

Dennoch stellt sich die Frage, ob eine erniedrigte IFN- γ Produktion der NBMC nicht unabhängig vom Allergiestatus der Eltern auftritt. Zahlreiche Studien belegen, dass die NBMC nach Stimulation vermehrt Th2 Zytokine produzieren bei einer verminderten IFN- γ Synthese [50;57;139]. Dies ist zum einen auf die unreife Produktionskapazität der neonatalen Zellen zurückzuführen. So sind die Makrophagen noch nicht ausgereift und damit ist die IFN- γ Synthese herabgesetzt [139]. Andererseits liegt während der Schwangerschaft in der uteroplazentaren Einheit und somit auch im Fetus physiologischerweise eine Th2-Polarisierung vor. Diese soll eine Abstoßung des Fetus durch eine Th1-Reaktion verhindern und die mütterliche Plazenta vor toxischem IFN- γ schützen [76;153]. Darüber hinaus führt möglicherweise bereits eine pränatale Exposition gegenüber Allergenen zu einer positiven Th2-Antwort bei der Geburt. [57;106]. In diesen Studien wurde jedoch nicht der Zusammenhang mit dem Allergiestatus der Eltern berücksichtigt.

Einige weitere prospektive Studien beschäftigen sich [66;88;138;151] mit der Frage, ob nun diese eingeschränkte IFN- γ Produktion der NBMC auch das Risiko einer allergischen Erkrankung erhöht und somit ursächlich durch eine positive Familienanamnese begründet ist. Tang et al. beobachteten eine geringere Mitogen stimulierte IFN- γ Synthese bei Neugeborenen, die mit 1 Jahr Symptome einer atopischen Dermatitis zeigten, im Vergleich zu Gesunden [138]. Martinez et al. hingegen fanden erst nach 9 Monaten und nicht bei der Geburt einen inversen Zusammenhang zwischen IFN- γ und einem positiven Prick-Test nach 6 Jahren [88]. Gleichzeitig fanden beide Studien aber denselben prozentualen Anteil an IFN- γ produzierenden Zellen in den Gruppen der gesunden und kranken Kinder. Dies legt nahe, dass bei Kindern mit einer Allergie die verminderten IFN- γ Werte nicht in einem Mangel an synthetisierenden Zellen, sondern wohl eher in einem Defekt in der Sekretion begründet sind. Warner et al. beschreiben ebenfalls eine gestörte IFN- γ Produktion, falls die Kinder im Laufe des 1. Jahres ein nahrungsmittelbedingtes Ekzem entwickelten [151]. Kondo et al. konnten dies für die Entstehung einer allergischen Erkrankung innerhalb von 6 Jahren bestätigen [66]. In beiden Studien zeigte sich diese verminderte IFN- γ Produktion nur bei Stimulation mit Nahrungsmittelallergenen, nicht

aber bei anderen Allergenen, wie z. B. von Katzenhaaren. In weiteren Studien ergab sich sogar ein direkter Zusammenhang zwischen einer allergischen Familienanamnese, einer verminderten IFN- γ Produktion von NBMC und späterer Allergieentstehung [105;107;144]. So stellten Prescott et al. eine erniedrigte IFN- γ Antwort bei Neugeborenen fest, die eine positive Allergie Familienanamnese hatten und gleichzeitig innerhalb von 2 Jahren eine Allergie entwickelten [107;139]. Bei Van der Velden et al. hingegen zeigte sich diese Korrelation nur nach Stimulation mit Allergenen. Nach polyklonaler Stimulation waren die IFN- γ Konzentrationen vergleichbar für Kinder mit und ohne einer Allergie nach 1 Jahr [144]. Die Ursache hierfür liegt möglicherweise wiederum in der Unreife der APC [139]. Weitere Ergebnisse von Prescott et al. beschreiben zwar einen Zusammenhang zwischen dem genetischen Risiko und einer schwächeren IFN- γ Antwort der NBMC. Als sensitiver Prädiktionsmarker für eine allergische Sensibilisierung mit 6 Jahren zeigt sich hier aber nur eine positive Familienanamnese, das neonatale IFN- γ hingegen tendierte lediglich zu einer geringeren Produktion bei einer allergischen Erkrankung [105;139].

Anhand der Ergebnisse dieser Arbeit lässt sich nun vermuten, dass es tatsächlich einen Zusammenhang zwischen einem erhöhten familiären Allergierisiko, einer verminderten IFN- γ Produktionskapazität der NBMC und der späteren Allergieentstehung bei Kindern gibt. Eine Weiterführung dieser Studie wird es ermöglichen die Entwicklung des Zytokinmusters und des Allergiestatus der Kinder zu beobachten, um dann die prädikative Aussagekraft der IFN- γ Produktion zu überprüfen.

Es darf jedoch nicht außer Acht gelassen werden, dass lediglich die Nicht-Bauernkinder, nicht jedoch die Bauernkinder, eine signifikant erniedrigte IFN- γ Produktion zeigten. Dies könnte eventuell darauf hinweisen, dass bei Müttern, die auf einem Bauernhof leben, der Allergiestatus einen geringeren Einfluss auf die IFN- γ Expression der Neugeborenen hat. Der negative Effekt einer mütterlichen Asthma Diagnose wird möglicherweise durch die allergieprotektiven Einflüsse des Bauernhofs vermindert, so dass die Bauernkinder tendenziell mehr IFN- γ produzieren im Vergleich zu Nicht-Bauernkindern. Dies ist jedoch die erste Studie, welche gleichzeitig die Auswirkungen des Bauern- und des Allergiestatus der Mutter auf die Zytokinexpression der Neugeborenen untersucht. Demzufolge sind weitere Studien nötig um diese These zu überprüfen.

IL-12

IL-12 zählt ebenfalls zu den Th1-Zytokinen. Seine Hauptaufgabe besteht in der Unterdrückung der überschießenden IgE-Produktion und der allergischen Entzündungsreaktion, indem es die Th1-Zelldifferenzierung und Th1-Zytokinproduktion induziert und die Th2-Zellen unterdrückt [85].

Demnach ergibt sich nun die Frage ob IL-12 ebenso wie IFN- γ bei Neugeborenen mit einem erhöhten Allergierisiko vermindert ist.

Die Ergebnisse zeigten in den Gruppen der Bauernkinder (1. Modell) und Nicht-Bauernkinder (2.Modell) eine geringere IL-12 Produktion (PI, 24 und 48 Std., LPS 48 Std.) bei Neugeborenen mit allergischen Müttern. Dies galt bei den Bauern für Mütter mit Asthma oder allergischem Schnupfen, bei den Nicht-Bauern für Mütter mit allergischem Schnupfen oder mindestens einer positiven Allergiediagnose. Die Daten legen nahe, dass es auch unabhängig vom Bauernstatus einen Zusammenhang zwischen einer verminderten IL-12 Produktionskapazität und einer positiven mütterlichen Allergiediagnose geben muss. Insgesamt lagen die Messwerte von IL-12 jedoch häufig unterhalb der Nachweisgrenze, so dass nur eine geringe Fallzahl an positiven IL-12 Werten verglichen werden konnte, was die Beurteilung der Ergebnisse erschwerte.

Gabrielsson et al. beschreiben ebenfalls eine negative Korrelation zwischen IL-12 und einer allergischen Vererbung. So zeigte sich auch bei ihm in der Gruppe mit mütterlicher Vererbung die geringste Anzahl an IL-12 produzierenden Zellen im Vergleich zu den Gruppen mit doppelter oder keiner Vererbung [36]. Hier konnten nach Mitogenstimulation deutlich weniger IL-12 produzierende Zellen nachgewiesen werden, wie nach Allergenstimulation. Die Begründung hierfür liegt wahrscheinlich in einer defekten Hochregulation von CD 154 auf neonatalen T-Zellen, wie bereits in anderen Studien beschrieben wurde [35;96]. Prescott et al. konnten zwar keinen Zusammenhang zwischen einer positiven Familienanamnese und der IL-12 Produktionskapazität der NBMC finden. Dafür zeigte sich ein Trend bezüglich einer verminderten IL-12 Expression nach Allergenstimulation in der Gruppe der Neugeborenen mit einem hohen Allergierisiko und einer Allergie im Alter von 6 Jahren [109]. Nilsson et al. beschreiben dieselbe negative Korrelation zwischen IL-12 und einer IgE-Sensibilisierung mit 2 Jahren [95]. Ferner korrelierte bei Prescott et al. die verminderte IL-12 Antwort mit einer schwächeren IFN- γ und einer stärkeren IL-13 Antwort [109]. Hier spiegelt sich die Komplexität des Zusammenspiels der einzelnen Zytokine wieder. So hemmen IL-4 und

IL-10 die Synthese von Th1-Zytokinen, IL-12, IL-18 und IFN- γ hingegen fördern die Produktion. Daher müssen bei der Beurteilung der Zytokinproduktion immer auch eventuelle Einflüsse anderer Zytokine berücksichtigt werden.

Die Daten dieser Arbeit legen nahe, dass eine verminderte IL-12 ebenso wie eine verminderte IFN- γ Produktion der NBMC im Zusammenhang mit dem Allergiestatus der Mutter steht. Diese führt zu einer schwächeren allergiehemmenden Th1-Antwort und stellt damit einen prädiktiven Marker für die spätere Entstehung einer Allergie dar

Des Weiteren ist zu beachten, dass hier sowohl bei den Bauern- als auch bei den Nicht-Bauernkindern eine signifikant erniedrigte IL-12 Produktion gefunden wurde. Es muss jedoch berücksichtigt werden, dass dies für teilweise unterschiedliche Allergiediagnosen der Mütter zutrifft. Daher scheint der Einfluss des Bauernstatus auf die IL-12 Expression zwar insgesamt vernachlässigbar zu sein. Dennoch sind weitere Studien nötig um dies zu bestätigen, da auf Grund der geringen Fallzahlen, die Beurteilung der Ergebnisse nur eingeschränkt möglich war.

TNF- α

TNF- α besitzt eine paradoxe Rolle bezüglich der Immunregulation. Es wirkt einerseits allergiehemmend, indem es die Produktion des Th1-Zytokins IL-12 fördert und die Phagozytose und die Zytotoxizität von Neutrophilen und Makrophagen steigert [123]. Andererseits verstärkt es auch chronische Entzündungsreaktionen wie sie zum Beispiel beim Asthma vorliegen [126].

Hieraus ergibt sich nun die Frage, welchen Einfluss TNF- α auf die Entwicklung des kindlichen Immunsystems hat und ob es in einem Zusammenhang mit dem Allergiestatus der Mutter steht.

Die Ergebnisse unserer Untersuchung zeigten für alle Kinder, unabhängig vom Bauernstatus, keinen signifikanten Zusammenhang zwischen der Allergiediagnose der Mutter und der TNF- α Produktion der NBMC. Es ergaben sich lediglich zwei nicht-signifikante Trends (LPS, 24 Std.) im 1. Modell. Neugeborene, deren Mütter Asthma hatten, zeigten erniedrigte TNF- α Spiegel, wohingegen die TNF- α Expression erhöht war, falls die Mütter mindestens unter einer allergischen Erkrankung litten. In den Subpopulationen wiesen, bei Müttern mit Neurodermitis, sowohl die Bauern- als auch die Nicht-Bauernkinder eine erhöhte TNF- α Produktion (LPS, 24 bzw. 48 Std.) auf.

Der Vergleich mit anderen Studien ist schwierig, da in den meisten die TNF- α Produktion nicht berücksichtigt wird. Dennoch sollte man die immunregulatorische Funktion von TNF- α nicht vernachlässigen. So fördert es die Th1-Antwort, indem es die IL-12 Produktion der Dendritischen Zellen stimuliert [123]. Darüber hinaus fungiert es in einem reinen Th1-Zytokinmilieu als Makrophagen aktivierender Faktor [46]. Dies spricht für die allergiehemmende Wirkung von TNF- α und steht im Einklang mit unserem Ergebnis bezüglich einer erniedrigten TNF- α Produktion bei einem erhöhten Allergierisiko. Übereinstimmend mit der allergieprotektiven Wirkung von TNF- α zeigten auch Macaubas et al. einen negativen Zusammenhang zwischen der TNF- α Expression von NBMC und einer Allergieentstehung im Alter von 6 Jahren [81].

Andererseits zeigten verschiedene Studien, dass TNF- α die Gewebeschäden durch chronische Entzündungen verstärken kann [46;126]. Dies wiederum würde für den zweiten beobachteten Trend, bezüglich einer erhöhten TNF- α Produktion bei einer allergischen Vorbelastung, sprechen. Dennoch darf auch die toxische Wirkung von TNF- α nicht außer Acht gelassen werden, die eine wichtige Ursache für Plazentaschäden ist [129].

Dies wiederum wirft die Frage auf, ob eine erniedrigte TNF- α Expression von NBMC überhaupt als prädiktiver Marker für eine spätere Allergieentstehung herangezogen werden darf, wie bei Macaubas et al. [81], und nicht nur eine Voraussetzung für eine erfolgreiche Schwangerschaft ist. Um dies zu überprüfen, müsste der Allergiestatus der Kinder aus unserer Studie weiter beobachtet werden.

Dennoch darf die Beobachtung, dass TNF- α sowohl bei Bauern- als auch bei Nicht-Bauernkindern mit Neurodermitis positiven Müttern erhöht war, nicht vernachlässigt werden. Dies spricht, ebenso wie bei IL-12, für einen geringeren Einfluss des Bauernstatus, im Vergleich zum Allergiestatus der Mutter, auf die TNF- α Produktion. Doch auch hier sind weitere Studien nötig um diesen Zusammenhang zu überprüfen.

IL-5

IL-5 ist ein Th2-spezifisches Zytokin. Als wichtigster Aktivator von Eosinophilen ist es für deren Differenzierung essentiell [18;79]. Weiterhin ist es Kostimulator für das Wachstum und die Differenzierung aktivierter B-Zellen. Es leistet somit einen entscheidenden Beitrag zur Th2-vermittelten allergischen Reaktion. In vielen Studien

konnte eine Assoziation mit allergischen Erkrankungen beschrieben werden, wobei ein besonderes Augenmerk auf die Pathogenese von Asthma gelegt wurde, da diese Erkrankung durch eine starke Eosinophilie der Atemwege charakterisiert ist [72;97;140].

Hieraus ergibt sich nun die Frage, ob es auch eine positive Korrelation zwischen einer allergischen Vorbelastung und der IL-5 Produktionskapazität der NBMC gibt.

Die Beurteilung von IL-5 erwies sich als besonders schwierig, da die Messwerte größtenteils unterhalb der Nachweisgrenze lagen. Es zeigten sich zwar zwei signifikante Ergebnisse (LPS, 24 Std.) im 1. Model. So war einerseits die IL-5 Produktion bei Bauernkindern deren Mütter Neurodermitis hatten erhöht, andererseits die IL-5 Expression bei Nicht-Bauernkindern deren Mütter unter Asthma litten vermindert. Aber auf Grund der geringen Fallzahl der positiven IL-5 Werte, die hier verglichen wurden, kann an Hand dieser Ergebnisse kaum eine Aussage getroffen werden.

Auch in anderen Studien stellt die Messung von IL-5 auf dem Protein-Niveau aus Überständen von NBMC teilweise ein Problem dar. So gelang es Van der Velden et al. weder nach Stimulation mit Allergenen noch mit Mitogenen IL-5 mit Hilfe von ELISA nachzuweisen [144]. Andere Untersuchungen hingegen zeigten sogar eine erhöhte IL-5 Produktion nach Stimulation der NBMC mit Mitogenen und mikrobiellen Antigenen [117;128]. Sowohl Sharp et al. als auch Rowe et al. fanden eine positive Korrelation zwischen der IL-5 Antwort von Neugeborenen mit einer positiven Familienanamnese und der Entwicklung einer atopischen Dermatitis. Dabei wurde die positive Familienanamnese an Hand der Allergiediagnose bzw. des Prick-Tests der Eltern bestimmt. In beiden Studien zeigte die Stimulation mit SEB einen besonders starken Zusammenhang [117;128]. Frühere Arbeiten berichteten bereits über eine starke SEB-induzierte Th2-Polarisation und eine verminderte IFN- γ Produktion bei Kindern mit einer aktiven atopischen Dermatitis [14]. Diese defekte IFN- γ Produktion ist eventuell die Ursache für die fehlende Eradikation des *Staphylococcus aureus* von der Haut und führt somit durch die ständige Freisetzung von proinflammatorischen Zytokinen zur atopischen Dermatitis. Die Untersuchungen an Neugeborenen, welche dieselbe erhöhte Th2-Reaktivität zeigten, deuten darauf hin, dass diese Verschiebung des Th1/Th2 Gleichgewichts durch Vererbung und nicht durch die Exposition gegenüber *Staphylococcus aureus* entstanden ist [101;128]. So fanden auch Piccinni et al. einen Zusammenhang zwischen allergischen Eltern, einer erhöhten Th2-Zytokinproduktion,

wie IL-4 oder IL-5, und einer späteren Allergieentstehung [101]. Hier wurden jedoch NBMC aus isolierten T-Zellklonen untersucht. Insgesamt bestätigen diese Ergebnisse die These, dass es eine positive Korrelation zwischen einer allergischen Familienanamnese, einer gesteigerten IL-5 Expression der NBMC und der Entwicklung einer allergischen Erkrankung gibt.

Dennoch gibt es auch Studien, die keinen Zusammenhang zwischen dem genetischen Allergie-Risiko und der Th2-Produktion fanden [106;108]. So zeigten Prescott et al. bei Neugeborenen mit und ohne einer positiven Familienanamnese eine Th2-polarisierte Zytokinproduktion der NBMC [106]. Ein Grund für diese Verschiebung des Th1/Th2 Gleichgewichts könnte das Zytokinmilieu an der Schnittstelle zwischen fetalem und mütterlichem Organismus sein. Im Mausmodell zeigten sich hier während der gesamten Schwangerschaft überwiegend Th2-Zytokine [76]. Diese Th2-Polarisierung schützt die fetoplazentare Einheit gegenüber der toxischen Wirkung von Th1-Zytokinen, wie zum Beispiel IFN- γ . Darüber hinaus kommt es möglicherweise durch Umweltantigene, welche die Plazentaschranke überqueren, zu einer Stimulation der Th2-Zellen. So fand man in NBMC eine erhöhte IgG-Antikörper Antwort gegen eine Vielzahl inhalativer Antigene [86]. Eine andere Studie von Prescott et al. hingegen beschreibt unabhängig vom familiären Risiko und einer Allergie im Alter von 2 Jahren eine niedrige Th2-Antwort bei der Geburt [108]. In beiden Studien fand die Messung von IL-4, IL-5, IL-9 auf mRNA-Ebene, die von IL-13 auf Protein-Niveau statt. Des Weiteren zeigte sich hier zum ersten Mal, dass bei Kindern mit einer späteren Allergie eine Hochregulation der Th2-Produktion innerhalb des ersten Jahres stattfand, wohingegen bei gesunden Kindern die Th2-Polarisation zurück ging [108]. Van der Velden et al. fanden ebenfalls bei Kindern mit einer positiven Familienanamnese und einer späteren Allergieentstehung eine Verschiebung des Zytokinprofils in Richtung Th2 innerhalb der ersten 6 Monate [144]. Diese Daten legen nahe, dass die ersten Lebensmonate ein kritisches Zeitfenster für die Entstehung einer allergischen Sensibilisierung darstellen. Außerdem wird die Aussagekraft der Zytokinproduktion zum Zeitpunkt der Geburt als prädikativer Marker für eine spätere Allergieentstehung in Frage gestellt. Weitaus wichtiger scheint die Effizienz des kindlichen Immunsystems innerhalb dieses Zeitraums zu sein, welches bei nicht allergischen Kindern die Immunantwort in Richtung Th1-Zytokine umlenkt. Um diese These nachzuprüfen, wäre eine Fortführung unserer Studie nötig, um das Zytokinprofil und den Allergiestatus der Kinder weiter zu verfolgen.

IL-10

Die Wirkungen von IL-10 gelten als sehr vielfältig. Bisher wurde es als Th2-typisches, allergieförderndes Zytokin angesehen. So besitzt es eine Th1-hemmende Wirkung und fördert die IgE-Produktion bereits umgewandelter B-Zellen [54]. Weitere Untersuchungen zeigten jedoch, dass es ebenso die Antigen-induzierte Proliferation wie auch die Zytokinproduktion von Makrophagen, Th1 und Th2 Zellen hemmt [28]. Somit wirkt IL-10 auch anti-inflammatorisch, indem es z.B. MHC-II Antigene auf Monozyten herunterreguliert und damit deren Fähigkeit zur Antigen-Präsentation inhibiert [26]. IL-10 spielt demnach eine wichtige Aufgabe in der Aufrechterhaltung des Gleichgewichtes zwischen der Th1 und Th2 Antwort. Durch die Beschreibung der sogenannten Th3 oder regulatorischen T-Zellen konnten neue Erkenntnisse über die Funktion von IL-10 gewonnen werden. Man fand heraus, dass die Tregs durch Zell-Zell-Kontakt und über die Freisetzung ihrer supprimierenden Zytokine, wie zum Beispiel IL-10, entscheidend zu Induktion von Toleranz gegenüber Selbst- und Fremd-Antigenen beitragen [154].

Es stellt sich nun die Frage welche Rolle IL-10 bei der Prägung des kindlichen Immunsystems spielt und ob ein erhöhtes Allergierisiko die IL-10 Produktion der NBMC beeinflusst.

In der vorliegenden Arbeit zeigte sich unabhängig vom Bauernstatus bei allen Neugeborenen, deren Mütter die Diagnose Neurodermitis hatten, eine erhöhte IL-10 (LPS, 48 Std.) Produktion (1.Modell). Im 2. Modell konnte lediglich ein Trend bezüglich einer erhöhten IL-10 Produktion für Mütter mit allergischem Schnupfen oder mindestens einer positiven Allergieanamnese gefunden werden.

Übereinstimmend mit unseren Ergebnissen beschreiben einige Studien ebenfalls eine gesteigerte IL-10 Antwort bei Neugeborenen mit einem erhöhten genetischen Risiko [117;128]. Gleichzeitig zeigte sich hier auch eine positive Korrelation zwischen IL-10 und einer späteren Allergie Entstehung. Rowe et al. fanden bei Kindern mit einer positiven Familienanamnese eine hohe SEB-induzierte IL-10 Produktion und gleichzeitig eine Sensibilisierung im Alter von 2 Jahren [117]. Sharp et al. beobachteten denselben Zusammenhang nach Mitogen- und Allergenstimulation für Kinder, die eine atopische Dermatitis entwickelten [128]. Diese Ergebnisse sprechen dafür, dass IL-10 die spätere Entwicklung einer allergischen Reaktionslage entscheidend beeinflusst und bei der Prägung des kindlichen Immunsystems eher als Th2-typisches Zytokin wirkt. Im Einklang hiermit konnte bei Atopikern mehrfach eine erhöhte IL-10 Expression gezeigt

werden [55;94]. Man darf jedoch nicht außer acht lassen, dass hier eine Altersklasse untersucht wurde bei der die Reifung des Immunsystems weitgehend abgeschlossen ist.

Allerdings gibt es auch Arbeiten die hierzu abweichende Befunde aufzeigten [10;56;68]. So fand sich bei Asthmatikern eine erniedrigte IL-10 Expression der PBMC und John et al. stellten fest, dass ein Therapieerfolg bei Asthmapatienten mit einer Erhöhung von IL-10 korreliert [56]. Prescott et al. bestätigten diesen Zusammenhang zwischen einer verminderten IL-10 Produktion von NBMC und einem positiven Prick Test im Alter von 6 Jahren. In der Verlaufsbeobachtung über 2 Jahre entwickelte sich dieser Unterschied jedoch wieder zurück, so dass IL-10 nur zum Zeitpunkt der Geburt zwischen Atopikern und Nicht-Atopikern variierte [105]. Diese Daten, welche hauptsächlich aus Asthmastudien stammen, sprechen nun wiederum für eine anti-inflammatorische Wirkung von IL-10. Hier wird beschrieben, dass es durch eine defekte IL-10 Produktion zu einer mangelnden Immunsuppression entzündlicher Prozesse und damit zur Entstehung von allergischen Krankheiten kommt. Dies würde mit der These übereinstimmen, dass IL-10 von Treg produziert wird und somit eine suppressive Wirkung auf allergische Erkrankungen hat [160].

Entsprechend dieser Annahme zeigte sich in der vorliegenden Arbeit eine nicht signifikant verminderte IL-10 (PI, 24 Std.) Produktionskapazität bei allen Neugeborenen, deren Mütter Asthma hatten (1. und 2. Modell). Bei den Bauernkindern konnte der gleiche Effekt beobachtet werden (signifikant im 2. Modell).

Da sich hier lediglich bei den Bauernkindern eine erniedrigte IL-10 Produktion der NBMC zeigte, lässt sich vermuten, dass der Einfluss einer positiven Asthma Diagnose den Effekt des Bauernstatus übertrifft. Weitere Untersuchungen sind jedoch nötig um das Zusammenspiel von Bauern- und Allergiestatus der Mutter auf die IL-10 Expression von Neugeborenen genauer zu beleuchten.

Des Weiteren ergaben sich bei der Darstellung der Zytokinwerte aller Kinder für IL-10 (LPS und SEB-Stimulation) relativ hohe Synthesewerte im Vergleich zu den anderen Zytokinen. Demnach stellt sich nun die Frage welche gesonderte Rolle IL-10 in der Schwangerschaft hat.

Verschiedene Untersuchungen beobachteten während der Schwangerschaft eine erhöhte Produktion von IL-10 der PBMC der Plazenta, Trophoblasten- und Deciduaellen. Außerdem fand sich in Fällen eines späteren Aborts eine verminderte IL-10 Produktion

der Deciduazellen [43;102]. Ebenso kam es zum Zeitpunkt der Geburt in der Plazenta zu einem lokalen Abfall von IL-10, wodurch es wahrscheinlich zur sogenannten „Abstoßungsreaktion der Geburt“ kommt. Diese Daten sprechen dafür, dass IL-10 eine wichtige schwangerschaftserhaltende Funktion hat. So hemmt IL-10 die Lyse von Trophoblastzellen durch mütterliche NK-Zellen, indem es die HLA-G Expression auf Trophoblasten und Monozyten erhöht und die MHC-I bzw.-II Moleküle auf den Trophoblastzellen herunterreguliert [92]. Gleichzeitig vermindert es das Trophoblastzellen Wachstum im Sinne einer autokrinen Hemmung [137]. IL-10 ist somit nicht nur für die Toleranz des mütterlichen Immunsystems gegenüber dem „Fremdkörper“ Kind verantwortlich, sondern schränkt auch die Reaktivität neonataler Zellen ein. Demnach wäre es durchaus möglich, dass die relativ hohen Expressionswerte von IL-10 z.B. durch Treg bei der Geburt noch auf seine Fähigkeit der Toleranzinduktion zurückzuführen sind und somit unabhängig sind vom Allergierisiko der Kinder, bzw. ihrem Risiko später eine allergische Erkrankung zu entwickeln.

Es bleibt also zu klären, von welcher Zellpopulation IL-10 stammt und in welchem Zusammenhang es mit der Allergieentwicklung steht. So herrscht, wie oben beschrieben, in der Literatur noch immer Uneinigkeit darüber, ob IL-10 bei Allergikern erhöht oder erniedrigt ist. Außerdem ist ein genaueres Verständnis der vielfältigen Wirkungsweise von IL-10 nötig.

Zusammenhang mit dem Sensibilisierungsstatus der Mutter

IFN- γ

Die vorher beschriebenen Ergebnisse legen die Vermutung nahe, dass das Defizit der IFN- γ Antwort der NBMC von „Risiko“ Kindern tatsächlich genetisch bedingt ist. Dabei ist das „Risiko“ entweder in einer allergischen Familienanamnese, der späteren Allergieentstehung oder beidem begründet. Nur wenige Studien betrachteten dabei den Sensibilisierungsstatus der Eltern zur Definition des Vererbungsrisikos.

Im Folgenden soll nun der Zusammenhang zwischen einer positiven Sensibilisierung der Eltern und der IFN- γ Produktionskapazität der NBMC untersucht werden.

Entgegen unserer Annahme zeigte sich in der vorliegenden Arbeit bei den Bauernkindern eine erhöhte IFN- γ Produktion (PI, 48 Std.) bei Neugeborenen mit sensibilisierten Müttern (1. und 2. Modell). Im 1. Modell ergab sich der gleiche Trend für alle Kinder, unabhängig vom Bauernstatus. Jedoch war hier die IFN- γ (SEB, 24

Std.) bei den Nicht-Bauernkindern, deren Mütter erhöhte spezifische IgE aufwiesen, signifikant erniedrigt.

Diese erhöhte IFN- γ Expression steht im Einklang mit den Ergebnissen von Hagendorens et al., die nach Mitogenstimulation ebenfalls mehr IFN-produzierende Zellen fanden, als ohne Stimulation. Hier zeigte sich jedoch kein Zusammenhang mit dem genetischen Risiko, welches als „mindestens ein Elternteil mit einer allergischen Erkrankung und gleichzeitig erhöhten spezifischen IgE-Werten“ definiert war [40]. Van der Velden et al. hingegen untersuchten nur Kinder, bei denen zumindest die Mutter allergische Symptome, einen positiven Prick-Test und/oder spezifische IgE gegen inhalative oder nutritive Allergene aufwies [144]. Sie beschreiben zwar auch eine höhere IFN- γ Produktion nach Stimulation mit Mitogenen im Gegensatz zu Allergenstimulation. Es besteht hier aber keine Vergleichsmöglichkeit mit nicht allergisch vorbelasteten Kindern. Beim Vergleich mit diesen Studien lässt sich jedoch erkennen, dass hier nie allein der Sensibilisierungsstatus als Marker für ein genetisches Risiko verwendet wurde. Dies wiederum stellt die Aussagekraft der Sensibilisierung der Eltern in Bezug auf das Vererbungsrisiko in Frage.

Außerdem darf nicht außer Acht gelassen werden, dass lediglich bei den Bauernkindern mit sensibilisierten Müttern eine erhöhte IFN- γ Produktion vorlag. Bei den Nicht-Bauernkindern hingegen war IFN- γ erniedrigt. So scheint hier der Einfluss des Bauernstatus auf die IFN- γ Expression wichtiger zu sein, als der Sensibilisierungsstatus der Mutter. Eine Ursache hierfür könnte natürlich der niedrige Cut-off-Wert von 0,2kU/ml sein, der lediglich als Marker für eine positive Sensibilisierung, nicht aber für eine allergische Erkrankung mit klinischen Symptomen eingesetzt werden kann. Dadurch überwiegt der positive Effekt des Bauernseins den negativen Einfluss der Sensibilisierung der Mütter. Folglich zeigen die Neugeborenen eine erhöhte allergieprotektive IFN- γ Produktion im Gegensatz zu den Nicht-Bauernkindern. Da es aber keine anderen Untersuchungen gibt, die sowohl den Einfluss des Bauern- als auch des Sensibilisierungsstatus der Mütter auf das Zytokinexpressionsmuster berücksichtigen, ist diese Aussage rein spekulativ. Weitere Studien wären nötig um diesen Zusammenhang zu überprüfen.

5.4 Ausblick

In den letzten Jahren hat das Interesse an den Zytokinsynthesemustern im Nabelschnurblut deutlich zugenommen, da sich hier besonders im Hinblick auf ein besseres Verständnis der Mechanismen der Allergieentstehung neue Möglichkeiten eröffneten. So zeigten die verschiedenen Studien, auch wenn ihre Ergebnisse nicht immer deckungsgleich waren, doch Zusammenhänge zwischen einer allergischen Disposition, dem Zytokinexpressionsmuster von Neugeborenen und einer späteren Allergieentstehung. Es ist jedoch sehr schwierig die einzelnen Studien zu vergleichen, da es noch keine standardisierte Methode der Zytokinmessung gibt. So variieren vor allem die Kulturbedingungen, wie die Art der Stimulantien und deren Konzentration, die Kulturmedien, die inkubierte Zellzahl und die Inkubationszeit. Aber auch für die Zytokinbestimmung selber werden verschiedene Messmethoden eingesetzt. Eine weitere Schwierigkeit besteht darin, dass es bisher keine validierten Normwerte für die *in vitro* Zytokinantwort von NBMC gibt. Es ist daher sinnvoll einheitliche Methoden mit standardisierten Vorgehensweisen zur Bestimmung der Zytokinsynthesemustern im Nabelschnurblut zu etablieren.

Darüber hinaus sind weitere Studien nötig um die Interaktion zwischen Umweltfaktoren und genetischen Faktoren und die daraus resultierenden immunologischen Effekte genauer zu untersuchen. So gibt es zum Beispiel noch keine anderen Arbeiten, welche gleichzeitig die unterschiedlichen Effekte des Bauern- und des Allergiestatus der Mutter auf die Zytokinexpression der NBMC beleuchten. Mit Hilfe derartiger Studien könnten die unterschiedlichen Risikogruppen genauer identifiziert werden und somit neue Interventions- und Präventionsmöglichkeiten bestimmt werden.

6 Zusammenfassung

Die hohe Prävalenz allergischer Erkrankungen im Kindesalter verdeutlicht die Notwendigkeit einer effektiven Prävention. Diese setzt jedoch eine genaue Kenntnis möglicher Risikofaktoren und Risikopopulationen voraus. Ziel der vorliegenden Arbeit war es deshalb, im Rahmen der PASTURE-Studie, einer prospektiven Geburtskohorten Studie in Deutschland, Österreich, Frankreich, Finnland und der Schweiz, die Zusammenhänge zwischen mütterlichem Allergiestatus und kindlichem Immunstatus bei den deutschen Studienteilnehmerinnen zu untersuchen. Dabei findet der Bauernstatus, d.h. die Unterteilung der Mütter in „Bäuerinnen und Nicht-Bäuerinnen“ besondere Berücksichtigung. Insbesondere sollte überprüft werden, ob sich die Zytokinproduktion bei Neugeborenen von Müttern mit positiver Allergianamnese gegenüber Neugeborenen mit einer negativen mütterlichen Allergianamnese unterscheidet. Der gleiche Zusammenhang wurde bei Müttern mit und ohne allergischer Sensibilisierung untersucht. Hierbei wurde der Einfluss des Bauernstatus auf die Zytokinproduktion besonders berücksichtigt.

In Deutschland wurden 254 schwangere Frauen in südbayerischen, ländlichen Gebieten rekrutiert. Von diesen Familien wurden in standardisierten Fragebögen die Lebensumstände und der Gesundheitszustand der Mutter bzw. des Vaters beantwortet. Bei der Geburt wurde plazentares Nabelschnurblut und venöses Blut der Mutter abgenommen. Für die Bestimmung der Zytokine wurde Nabelschnurvollblut mit den bakteriellen Stimuli Lipopolysaccharid (LPS) und Staphylokokken Enterotoxin B (SEB) sowie den Mitogenen Phorbol-12-Myristat-13-Acetat und Ionomycin (PI) stimuliert. Nach 24- und 48-stündiger Inkubationszeit wurden die Zytokine IL-5, IL-10, IL-12, IFN- γ und TNF- α quantitativ mittels ELISA gemessen. Die Analyse der spezifischen IgE-Werte gegen 20 verschiedene Inhalations- und Nahrungsmittelallergene erfolgte mit Hilfe des Allergie Screening Systems der Mediwiss Analytic GmbH. Nach der Auswertung standen von 147 Kindern Zytokindaten und von 243 Müttern spezifische IgE-Werte zur Verfügung. Für die weitere Untersuchung wurde die Subpopulation von 147 Familien, bestehend aus 66 Bauern- und 81 Nicht-Bauernfamilien, verwendet.

Die Darstellung der Zytokinwerte aller Kinder zeigte, dass alle Zytokine nach Stimulation mit PI, LPS und SEB nachweisbar waren. Für IFN- γ konnte in Abhängigkeit vom Asthma der Mutter eine verminderte Produktionskapazität bei allen Neugeborenen, unabhängig vom Bauernstatus, und bei den Nicht-Bauernkindern nachgewiesen werden. Die IL-12 Synthese war bei den Bauern- und Nicht-

Bauernkinder geringer. Dies konnte bei den Bauern für Mütter mit Asthma oder allergischem Schnupfen, bei den Nicht-Bauern für Mütter mit allergischem Schnupfen oder mindestens einer positiven Allergianamnese festgestellt werden. Hingegen wies TNF- α bei Bauern- und Nicht-Bauernkindern, deren Mütter unter Neurodermitis litten, eine erhöhte Produktion auf. IL-5 zeigte einerseits eine erhöhte Produktion bei Bauernkindern deren Mütter Neurodermitis hatten, andererseits eine verminderte Expression bei Nicht-Bauernkindern deren Mütter unter Asthma litten. Auf Grund der geringen Fallzahl der positiven IL-5 Werte, die hier verglichen werden konnten, ist die Aussagekraft dieser Ergebnisse jedoch deutlich eingeschränkt. Für IL-10 konnte unabhängig vom Bauernstatus bei Müttern mit Neurodermitis eine erhöhte Produktionskapazität gezeigt werden. Bei Müttern mit Asthma hingegen ergab sich für die Bauernkinder eine verminderte IL-10 Expression. In Abhängigkeit vom positiven Sensibilisierungsstatus der Mütter, zeigte sich bei Bauernkindern eine erhöhte IFN- γ Produktion und bei den Nicht-Bauernkindern eine erniedrigte Produktionskapazität.

Die Analyse der Daten zeigte zum Teil deutliche Unterschiede in der Produktionskapazität der Zytokine in Abhängigkeit vom Bauernstatus. So scheint der allergieprotektive Einfluss des Bauernhofs den negativen Effekt des mütterlichen Asthma zu vermindern, so dass Bauernkinder tendenziell mehr IFN- γ produzieren im Vergleich zu Nicht-Bauernkindern. Der gleiche Effekt zeigte sich in Abhängigkeit vom Sensibilisierungsstatus der Mutter. Auch hier überwiegt möglicherweise der Einfluss des Bauernstatus auf die IFN- γ Produktion eine vorhandene mütterliche Sensibilisierung. Andererseits zeigten IL-12 erhöhte und TNF- α erniedrigte Produktionskapazitäten sowohl bei Bauern- als auch bei Nicht-Bauernkindern. Dies würde wiederum für einen geringeren Einfluss des Bauernstatus, im Vergleich zum Allergiestatus der Mutter, auf die jeweilige Zytokinproduktion sprechen. Man muss jedoch berücksichtigen, dass auf Grund geringer Fallzahlen, die Beurteilung der Ergebnisse nur eingeschränkt möglich war.

Als Resümee bleibt festzustellen, dass der Einfluss des Bauernstatus auf die Produktionskapazität der Zytokine von plazentarem Nabelschnurblut nicht zu vernachlässigen ist. Diese Arbeit zeigt, dass bisherige Th1/Th2-Modellvorstellungen, welche nur bei Nicht-Bauernkindern erhoben wurden, somit nur eingeschränkt gültig sind. Weitere Studien sind daher nötig, um den Einfluss des Allergie- bzw. Sensibilisierungsstatus im Zusammenhang mit dem Bauernstatus der Mutter zu überprüfen.

7 Anhang

Tabelle 8: Populationsbeschreibung aller Studienteilnehmer für die Gruppe der Bauern und Nicht-Bauern (Gesamtpopulation).

Mütter	Nicht-Bauern		Bauern		P-Wert
	[N]	[%]	[N]	[%]	
Total	142	56	112	44	
Alter bei Studienbeginn					0,798
< 25 Jahre	19	13	12	11	
25 - 35	96	68	77	69	
> 35	27	19	23	21	
BMI					0,213
<18	0	0,0	0	0,0	
18-25	109	77	75	67	
25-30	24	17	28	25	
>30	9	6,3	9	8,0	
Schulabschluss					0,002
keiner	2	0,7	1	0,9	
Hauptschule	26	18	37	33	
Realschule	72	51	52	46	
Abitur	15	11	17	15	
Hochschule	27	19	5	4,5	
Sonstige	0	0,0	0	0,0	
Geschwisteranzahl der Mutter					0,002
0	17	12	5	4,5	
1	56	39	30	27	
2	39	28	31	28	
3 und mehr	30	21	46	41	
Frischmilch während SS					0,000
ja	29	20	87	78	
nein	113	80	25	22	
Frischmilch abgekocht	28		86		0,509
ja, nur im Sommer	0	0,0	2	2,3	
ja, immer	7	25	15	17	
nein	21	75	69	80	
Insgesamt > 5 Pack. Zigaretten im Leben					0,000
ja	62	44	23	20	
nein	80	56	89	80	
Rauchen während SS, momentan					0,027
ja	9	6,3	1	0,9	
nein	133	94	111	99	
Anzahl Zigaretten pro Tag, momentan					0,027
<=10/d	9	6,3	1	0,9	
keine	133	94	111	99	
Rauchen aufgehört	53		22		0,009
in der SS	24	45	3	14	
vor der SS	29	55	19	86	
Haustiere					0,001
ja	67	47	77	69	
nein	75	53	35	31	

Väter	Nicht-Bauer		Bauer		P-Wert
	[N]	[%]	[N]	[%]	
Total	130	54	109	46	
Alter					0,303
< 25 Jahre	6	4,6	2	1,8	
25 - 35	58	45	57	52	
> 35	66	51	50	46	
Schulabschluss			108		
keiner	1	0,8	1	0,9	0,000
Hauptschule	49	38	75	70	
Realschule	46	35	21	19	
Abitur	6	5,6	4	3,7	
Hochschule	28	22	7	6,5	
Sonstige	0	0,0	0	0,0	
Geschwisteranzahl des Vaters	129				
0	15	12	3	2,7	0,000
1	53	41	23	21	
2	34	26	34	31	
3 und mehr	27	21	49	45	
Insgesamt > 5 Pack. Zigaretten im Leben					0,114
ja	67	52	45	41	
nein	63	48	64	59	
Rauchen derzeit					0,230
ja	39	58	21	47	
nein	28	42	24	53	
Asthma					0,552
ja	11	8,5	7	6,4	
nein	119	92	102	94	
Diagnose Asthma					0,280
ja	10	91	5	71	
nein	1	9,1	2	29	
Allergischer Schnupfen					0,000
ja	56	43	20	18	
nein	74	57	89	82	
Diagnose allergischer Schnupfen					0,516
ja	40	73	13	65	
nein	15	27	7	35	
Neurodermitis					0,324
ja	10	7,7	5	4,6	
nein	120	92	104	95	
Diagnose Neurodermitis					0,171
ja	7	70	5	100	
nein	3	30	0	0,0	
Kinder					
Total	134	55	110	45	
Geschlecht					0,335
Junge	66	49	61	56	
Mädchen	68	51	49	44	

Gewicht in Perzentilen/Mädchen					0,088
2000 - 2500g (<3.Perz.)	0	0,0	1	2,0	
2501 - 3300 (3.-50. Perz.)	30	44	14	29	
3301 - 4000 (>50-97.Perz)	35	52	27	55	
4001 - 5000 (>97.Perz)	3	4,4	7	14	
Gewicht in Perzentilen/Jungen					0,843
2000 - 2300g (<3.Perz.)	1	1,5	1	1,6	
2301 - 3500 (3.-50. Perz.)	29	44	22	36	
3501 - 4300 (>50-97.Perz)	32	49	34	56	
4301 - 5000 (>97.Perz)	4	6,1	4	6,6	
Länge in Perzentilen/Mädchen					0,553
40-46cm (<3.Perz)	0	0,0	0	0,0	
47-50 (3.-50.Perz)	19	28	10	20	
51-54 (50-97.Perz)	45	66	37	76	
55-60 (>97.Perz)	4	5,9	2	4,1	
Länge in Perzentilen/Jungen					0,387
40-46cm (<3.Perz)	1	1,6	0	0,0	
47-50 (3.-50.Perz)	13	20	7	12	
51-56 (50-97.Perz)	50	76	53	87	
57-60 (>97.Perz)	2	3,0	1	1,6	
Geburtsmodus	133				0,443
spontan	88	66	81	74	
vaginale Operation	4	3,0	3	2,7	
Sectio	41	0,8	26	24	

Beschreibung der Studienpopulation in Anzahl [N] und Prozentwerten [%]. Der P-Wert wurde mit Hilfe des Chi²-Tests berechnet, als Signifikanzniveau wurde $p \leq 0,05$ gewählt. Insgesamt standen Angaben von 254 Müttern, 239 Vätern und 244 Kindern zur Verfügung. Bei folgenden Variablen fehlten Angaben: Frischmilch abgekocht (n=2), Schulabschluss und Anzahl der Geschwister (n=1), Geburtsmodus (n=1).

Tabelle 11: Allergische Erkrankungen der Mütter für die Gruppe der Bäuerinnen und Nicht-Bäuerinnen (Gesamtpopulation).

Mütter	Nicht-Bäuerinnen		Bäuerinnen		P-Wert
	[N]	[%]	[N]	[%]	
Total	142	56	112	44	
Asthma					0,021
ja	22	16	7	6,3	
nein	120	84	105	94	
Diagnose Asthma					0,408
ja	20	91	7	100	
nein	2	9,1	0	0,0	
Asthma in SS					0,593
ja	7	32	3	43	
nein	15	68	4	57	
Allergischer Schnupfen					0,295
ja	48	34	31	28	
nein	94	66	81	72	
Diagnose allergischer Schnupfen					0,062
ja	41	85	21	68	
nein	7	15	10	32	

Allergischer Schnupfen in SS					0,104
ja	26	54	11	36	
nein	22	46	20	64	
Hautausschlag > 6 Monate					0,373
ja	42	30	39	35	
nein	100	70	73	65	
Neurodermitis					0,230
ja	16	38	10	26	
nein	26	60	29	74	
Diagnose Neurodermitis					
ja	16	100	10	100	
nein	0	0,0	0	0,0	
Neurodermitis in SS					0,899
ja	6	38	4	40	
nein	10	62	6	60	

Beschreibung der allergischen Erkrankungen der Mütter in Anzahl [N] und Prozentwerten [%]. Der P-Wert wurde mit Hilfe des Chi²-Tests berechnet, als Signifikanzniveau wurde $p \leq 0,05$ gewählt. Insgesamt standen Angaben von 254 Müttern.

Tabelle 13: Darstellung der Allergen Kategorien für die Gruppe der Bäuerinnen und Nicht-Bäuerinnen (Gesamtpopulation).

Allergen	Kat.	Bäuerinnen		Nicht-Bäuerinnen		Gesamt		Chi ² -Test P-Wert
		[N]	[%]	[N]	[%]	[N]	[%]	
Hausstaubmilbe 1	1	89	80	99	76	188	77	0,072
	2	-	-	6	4,6	6	2,5	
	3	23	20	26	20	49	20	
Hausstaubmilbe 2	1	85	76	103	79	188	77	0,345
	2	1	0,9	4	3,1	5	2,1	
	3	26	23	24	18	50	21	
Erlenpollen	1	85	76	98	75	183	75	0,977
	2	6	5,4	7	5,3	13	5,3	
	3	21	19	26	20	47	19	
Birkenpollen	1	88	79	97	74	185	76	0,692
	2	3	2,7	5	3,8	8	3,3	
	3	21	19	29	22	50	21	
Haselnusspollen	1	77	69	96	73	173	71	0,329
	2	8	7,1	4	3,1	12	4,9	
	3	27	24	31	24	58	24	
Graspollen	1	80	71	89	68	169	70	0,840
	2	6	5,4	8	6,1	14	5,8	
	3	26	23	34	26	60	25	
Weidelgras	1	69	62	87	66	156	64	0,691
	2	6	5,4	5	3,8	11	4,5	
	3	37	33	39	30	76	31	

Beifuss	1	98	88	118	90	216	89	0,647
	2	1	0,9	2	1,5	3	1,2	
	3	13	12	11	8,4	24	9,9	
Spitzwegerich	1	100	89	127	97	227	93	0,054
	2	5	4,5	2	1,5	7	2,9	
	3	7	6,3	2	1,5	9	3,7	
Katzenhaare	1	93	83	112	85	205	84	0,681
	2	7	6,3	5	3,8	12	4,9	
	3	12	11	14	11	26	11	
Pferdehaare	1	103	92	127	97	230	95	0,023
	2	1	0,9	3	2,3	4	1,6	
	3	8	7,1	1	0,8	9	3,7	
Hundehaare	1	79	71	103	79	182	75	0,347
	2	9	8,0	8	6,1	17	7,0	
	3	24	21	20	15	44	18	
Schimmelpilz	1	111	99	129	99	240	99	0,656
	3	1	0,9	2	1,5	3	1,2	
Hühnereier	1	105	934	125	95	230	95	0,841
	2	1	0,9	1	0,8	2	0,8	
	3	6	5,4	5	3,8	11	4,5	
Kuhmilch	1	95	85	118	90	213	88	0,169
	2	11	9,8	5	3,8	16	6,6	
	3	6	5,4	8	6,1	14	5,8	
Erdnuss	1	96	86	118	90	214	88	0,437
	2	3	2,7	4	3,1	7	2,9	
	3	13	12	9	6,9	22	9,1	
Haselnuss	1	90	80	109	83	199	82	0,090
	2	8	7,1	15	12	23	9,5	
	3	14	13	7	5,3	21	8,6	
Karotte	1	86	77	116	89	202	83	0,050
	2	8	7,1	5	3,8	13	5,3	
	3	18	16	10	7,6	28	12	
Weizenmehl	1	97	87	120	92	217	89	0,179
	2	2	1,8	4	3,1	6	2,5	
	3	13	12	7	5,3	20	8,2	
Sojabohnen	1	98	88	116	89	214	88	0,421
	2	6	5,4	10	7,6	16	6,6	
	3	8	7,1	5	3,8	13	5,3	

Beschreibung der IgE-Kategorien für alle getesteten inhalativen Allergene und Nahrungsmittelallergene in Anzahl [N] und Prozentwerten [%]. Die Kategorien entsprechen folgenden IgE-Werten: **Kat.1:** 0,00 – 0,19 kU/l; **Kat.2:** 0,20 – 0,34 kU/l;

Kat.3: $\geq 0,35$ kU/l. Der P-Wert wurde mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests berechnet, als Signifikanzniveau wurde $p \leq 0,05$ gewählt. Insgesamt standen Angaben von 243 Müttern, 112 Bäuerinnen und 131 Nicht-Bäuerinnen zur Verfügung.

Tabelle 15: Darstellung des Sensibilisierungsstatus der Mütter gegen Allergen-Gruppen für die Gruppe der Bäuerinnen und Nicht-Bäuerinnen (Gesamtpopulation).

Allergen-Gruppen	Sensibilisiert	Bäuerinnen		Nicht-Bäuerinnen		Gesamt		Chi ² -Test
		[N]	[%]	[N]	[%]	[N]	[%]	P-Wert
Inhalative Allergene	Ja	73	65	82	63	155	64	0,676
	Nein	39	35	49	37	88	36	
Nahrungsmittel Allergene	Ja	51	46	51	39	102	42	0,298
	Nein	61	54	80	61	141	58	
Saisonale inhalative Allergene	Ja	51	46	58	44	109	45	0,844
	Nein	61	54	73	56	134	55	
Perenniale inhalative Allergene	Ja	51	46	63	48	114	47	0,691
	Nein	61	54	68	52	129	53	
Alle Allergene	Ja	80	71	99	76	179	74	0,465
	Nein	32	29	32	24	64	26	

Beschreibung des Sensibilisierungsstatus der Mütter gegen die Gruppe aller Allergene, der Nahrungsmittelallergene, der inhalativen Allergene und deren Untergruppen in Anzahl [N] und Prozentwerten [%]. Ein positiver Sensibilisierungsstatus bedeutet eine Sensibilisierung gegenüber mindestens einem Allergen der jeweiligen Gruppe ($IgE \geq 0,20$ kU/l). Der P-Wert wurde mit Hilfe des Chi²-Tests berechnet, als Signifikanzniveau wurde $p \leq 0,05$ gewählt. Insgesamt standen Angaben von 243 Müttern, 112 Bäuerinnen und 131 Nicht-Bäuerinnen zur Verfügung.

Tabelle 25: Störfaktoren für die signifikanten Zytokine der Kategorie (Kat. 0, 1).

IL-10 (PI 24h)		Kat. 0	Kat. 1	Gesamt	P-Wert
Mutter > 5 Pack. Zigaretten	nein	40	45	85	0,065
		74%	58%	65%	
	ja	14	32	46	
		26%	42%	35%	
Familie lebt auf Bauernhof	nein	24	52	76	0,008
		44%	68%	58%	
	ja	30	25	55	
		56%	32%	42%	
Mutter Erkältung in der SS	nein	20	16	36	0,040
		37%	21%	27%	
	ja	34	61	95	
		63%	79%	73%	

Mutter Kindheit auf dem Hof	nein	25 46%	48 62%	73 56%	0,069
	ja	29 54%	29 38%	58 44%	

IL-10 (PI 48h)		Kat. 0	Kat. 1	Gesamt	P-Wert
Mutter > 5 Pack. Zigaretten	nein	52 75%	32 52%	84 65%	0,006
	ja	17 25%	29 48%	46 35%	
Vater raucht derzeit	nein	19 56%	7 24%	26 41%	0,011
	ja	15 44%	22 76%	37 59%	

IL-10 (LPS 48h)		Kat. 0	Kat. 1	Gesamt	P-Wert
Mutter hat Rauchen aufgegeben	nein	2 40%	3 7,1%	5 11%	0,024
	ja	3 60%	39 93%	42 89%	
Geburtsgewicht Jungen	<3. Perz.	1 8,3%	0 0,0%	1 0,8%	0,015
	3.-50. Perz.	6 50%	61 52%	67 52%	
	50.-97. Perz.	5 42%	51 43%	56 43%	
	>97. Perz.	0 0,0%	6 5,1%	6 4,6%	
Schulabschluss des Vaters	keiner	1 8,3%	0 0,0%	1 0,8%	0,009
	Hauptschule	6 50%	61 53%	67 52%	
	Realschule	2 17%	36 31%	38 30%	
	Abitur	2 17%	5 4,3%	7 5,5%	
	Hochschule	1 8,3%	14 12%	15 12%	

IL-12 (PI 48h)		Kat. 0	Kat. 1	Gesamt	P-Wert
Geschwister der Mutter	Kat.	Mittlerer Rang	Rangsumme		0,051
	0	67,5	8506,0		
	1	90,4	1085,0		
Geburtslänge Mädchen	3.-50. Perz.	30 24%	0 0,0%	30 22%	0,066
	50.-97. Perz.	85 68%	12 100%	97 71%	
	>97. Perz	10 8,0%	0 0,0%	10 7,3%	

Vater > 5 Pack. Zigaretten	nein	67 54%	3 25%	70 51%	0,055
	ja	57 46%	9 75%	66 49%	

IL-12 (LPS 48h)		Kat. 0	Kat. 1	Gesamt	P-Wert
Familie lebt auf Bauernhof	nein	68 54%	11 79%	79 56%	0,078
	ja	58 46%	3 21%	61 44%	
Frischmilch abgekocht	ja	1 1,7%	0 0,0%	1 1,6%	0,064
	ja, immer	6 10%	2 50%	8 13%	
	Nein	53 88%	2 50%	55 86%	
Geburtslänge Jungen	3.-50. Perz.	28 22%	2 14%	30 22%	0,009
	50.-97. Perz.	97 77%	11 79%	108 78%	
	>97. Perz.	0 0,0%	1 7,1%	1 0,7%	
Geburtslänge Mädchen	3.-50. Perz.	28 22%	2 14%	30 22%	0,053
	50.-97. Perz.	91 73%	9 64%	100 72%	
	>97. Perz.	6 4,8%	3 21%	9 6,5%	
Alter des Vaters	< 25 Jahre	2 1,6%	2 14%	4 2,9%	0,021
	25-35	66 54%	8 57%	74 54%	
	> 35 Jahre	55 45%	4 29%	59 43%	
Vater Diagnose Asthma	nein	116 94%	11 79%	127 93%	0,032
	ja	7 5,7%	3 21%	10 7,3%	
Vater Diagnose allergischer Schnupfen	nein	98 80%	7 50%	105 77%	0,013
	ja	25 20%	7 50%	32 23%	
Vater Diagnose Neurodermitis	nein	120 98%	12 86%	132 96%	0,025
	ja	3 2,4%	2 14%	5 3,7%	

IFN-γ (LPS 24h)	Kat.	Mittlerer Rang	Rangsum.	P-Wert
Geschwister des Kindes	0	73,7	6996,5	0,055
	1	60,3	2594,5	

IFN-γ (SEB 24h)		Kat. 0	Kat. 1	Gesamt	P-Wert
Mutter > 5 Pack. Zigaretten	nein	64	28	92	0,000
		79%	50%	67%	
	ja	17	28	45	
		21%	50%	33%	
Familie lebt auf Bauernhof	nein	39	36	75	0,062
		48%	64%	55%	
	ja	42	20	62	
		52%	36%	45%	
Frischmilch vom Hof	nein	37	37	74	0,019
		46%	66%	54%	
	ja	44	19	63	
		54%	34%	46%	
Vater > 5 Pack. Zigaretten	nein	47	23	70	0,053
		59%	42%	52%	
	ja	33	32	65	
		41%	58%	48%	
Vater Diagnose Neurodermitis	nein	75	55	130	0,025
		94%	100%	96%	
	ja	5	0	5	
		6,3%	0,0%	3,7%	

IFN-γ (PI 48h)		Kat. 0	Kat. 1	Gesamt	P-Wert
Mutter Erkältung in SS	nein	16	20	36	0,012
		41%	20%	26%	
	ja	23	79	102	
		59%	80%	74%	
Vater raucht derzeit	nein	5	25	30	0,028
		25%	54%	45%	
	ja	15	21	36	
		75%	46%	55%	

IFN-γ (LPS 48h)		Kat. 0	Kat. 1	Gesamt	P-Wert
Frischmilch abgekocht	ja	0	1	1	0,061
		0,0%	5,0%	1,6%	
	ja, immer	7	0	7	
		16%	0,0%	11%	
	Nein	36	19	55	
84%		95%	87%		

Mutter Erkältung in SS	nein	29 33%	7 15%	36 26%	0,022
	ja	60 67%	41 85%	101 74%	

TNF-α (LPS 24h)		Kat. 0	Kat. 1	Gesamt	P-Wert
Vater Diagnose Asthma	nein	37 84%	88 97%	125 93%	0,009
	ja	7 16%	3 3,3%	10 7,4%	

TNF-α (LPS 48h)		Kat. 0	Kat. 1	Gesamt	P-Wert
Alter des Vaters	< 25 Jahre	4 5,2%	0 0,0%	4 2,9%	0,021
	25-35	46 60%	29 49%	75 55%	
	> 35 Jahre	27 35%	30 51%	57 42%	

Beschreibung der Störfaktoren für die signifikanten Zytokinkategorien (0,1). Der P-Wert von nominalskalierten Variablen wurde mit dem Chi²-Test, von verhältnisskalierten Variablen mit dem Mann-Whitney-U-Test berechnet. Als Signifikanzniveau wurde $p \leq 0,05$ gewählt. Untersuchte Störfaktoren: Alter, Schulabschluss und Nikotinabusus der Eltern, Geschwisterzahl der Eltern und des Kindes, Besitz von Haustieren, ob die Familie auf einem Bauernhof lebt bzw. die Mutter ihre Kindheit auf dem Bauernhof verbracht hat, Bewirtschaftung des Bauernhofes durch die Familie bzw. die Mutter selber und er Kontakt der Mutter zu Vieh, der Konsum von Frischmilch (Kuhmilch), Infekte oder Antibiotika Einnahme der Mutter während der Schwangerschaft, Geburtsmodus, Gewicht und Länge des Kindes, Allergiestatus des Vaters bezüglich Asthma, allergischem Schnupfen und Neurodermitis.

Tabelle 26: Störfaktoren für den Allergie- und Sensibilisierungsstatus der Mutter.

Diagnose Asthma	Diagnose	N	Mittl. Rang	Rangsumme	P-Wert
Geschwister der Mutter	nein	130	76,2	9.903,5	0,077
	ja	17	57,3	974,5	
Geschwister des Kindes	nein	130	76,9	10.002,0	0,014
	ja	17	51,5	876,0	
Diagnose Asthma	nein	Ja	Gesamt	P-Wert	
Frischmilch vom Hof	nein	66 51%	14 82%	80 54%	0,014
	ja	64 49%	3 18%	67 46%	
Mutter Kindheit auf Hof	nein	68 52%	13 76%	81 55%	0,060
	ja	62 48%	4 24%	66 45%	
Vater > 5 Pack. Zigaretten	nein	70 55%	5 29%	75 52%	0,046
	ja	57 45%	12 71%	69 48%	

Diagnose allergischer Schnupfen	Diagnose	N	Mittl. Rang	Rangsumme	P-Wert
Geschwister der Mutter	nein	103	81,9	8.440,0	0,000
	ja	44	55,4	2.438,0	
Geschwister des Kindes	nein	103	79,5	8.190,0	0,011
	ja	44	61,1	2.688,0	

Diagnose allergischer Schnupfen		nein	Ja	Gesamt	P-Wert
Familie lebt auf Bauernhof	nein	50	32	82	0,007
		49%	73%	56%	
	ja	53	12	65	0,011
		51%	27%	44%	
Frishmilch vom Hof	nein	49	31	80	0,011
		48%	70%	54%	
	ja	54	13	67	0,000
		52%	30%	46%	
Mutter Kindheit auf Hof	nein	47	34	81	0,000
		46%	77%	55%	
	ja	56	10	66	0,000
		54%	23%	45%	

Diagnose Neurodermitis		nein	ja	Gesamt	P-Wert
Schulabschluss der Mutter	keiner	1	0	1	0,076
		0,8%	0,0%	0,1%	
		35	2	37	
		27%	12%	25%	
		64	9	73	
		49%	53%	50%	
	Abitur	11	5	16	0,052
		8,5 %	29%	11%	
		19	1	20	
		15%	6,0%	14%	
		67	13	80	
		52%	77%	54%	
Frishmilch vom Hof	ja	63	4	67	0,060
		49%	24%	46%	
Mutter Kindheit auf Hof	nein	68	13	81	0,060
		52%	76%	55%	
	ja	62	4	66	0,060
		48%	24%	45%	

Diagnose „Allergie“	Diagnose	N	Mittl. Rang	Rangsumme	P-Wert
Geschwister der Mutter	nein	95	82,3	7.821,5	0,001
	ja	52	58,8	3.056,5	
Geschwister des Kindes	nein	95	81,5	7.742,0	0,002
	ja	52	60,3	3.136,0	
Diagnose „Allergie“		nein	Ja	Gesamt	P-Wert
Familie lebt auf Bauernhof	nein	45	37	82	0,005
		47%	71%	56%	
	ja	50	15	65	0,005
		53%	29%	44%	

Frishmilch vom Hof	nein	44 46%	36 69%	80 54%	0,008
	ja	51 54%	16 31%	67 46%	
Mutter Kindheit auf Hof	nein	40 42%	41 79%	81 55%	0,000
	ja	55 58%	11 21%	66 45%	

Sensibilisierung gegen Allergene		nein	ja	Gesamt	P-Wert
Alter der Mutter	< 25 Jahre	3 9,4%	12 10%	15 10%	0,035
	25 - 35	19 59%	89 77%	108 74%	
	> 35 Jahre	10 31%	14 12%	24 16%	
Mutter Kindheit auf Hof	nein	13 41%	68 59%	81 55%	0,063
	ja	19 59%	47 41%	66 45%	
Geburtslänge Mädchen	3.-50. Perz.	6 19%	24 21%	30 21%	0,025
	50.-97. Perz.	20 63%	85 75%	105 72%	
	>97. Perz.	6 19%	5 4,4%	11 7,5%	

Beschreibung der Störfaktoren für den Allergie- und Sensibilisierungsstatus der Mutter. Der P-Wert von nominalskalierten Variablen wurde mit dem Chi²-Test, von verhältnisskalierten Variablen mit dem Mann-Whitney-U-Test berechnet. Als Signifikanzniveau wurde $p \leq 0,05$ gewählt. Untersuchte Störfaktoren: Alter, Schulabschluss und Nikotinabusus der Eltern, Geschwisterzahl der Eltern und des Kindes, Besitz von Haustieren, ob die Familie auf einem Bauernhof lebt bzw. die Mutter ihre Kindheit auf dem Bauernhof verbracht hat, Bewirtschaftung des Bauernhofes durch die Familie bzw. die Mutter selber und der Kontakt der Mutter zu Vieh, der Konsum von Frishmilch (Kuhmilch), Infekte oder Antibiotika Einnahme der Mutter während der Schwangerschaft, Geburtsmodus, Gewicht und Länge des Kindes, Allergiestatus des Vaters bezüglich Asthma, allergischem Schnupfen und Neurodermitis.

7.1 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Chromosomale Regionen mit Hinweis auf Kopplung mit Atopie assoziierten Phänotypen in ≥ 3 unabhängigen Studienpopulationen

Tabelle 2: Partner und Studienzentren der PASTURE-Studie

Tabelle 3: Blutproben und Analyse Typ

Tabelle 4: Stimulationsschema

Tabelle 5: Geräte

Tabelle 6: Verbrauchsmaterialien

Tabelle 7: Reagenzien

Tabelle 8: Populationsbeschreibung aller Studienteilnehmer für die Gruppe der Bauern und Nicht-Bauern (Gesamtpopulation)

Tabelle 9: Populationsbeschreibung der Studienteilnehmer für die Gruppe der Bauern und Nicht-Bauern (Subpopulation mit Zytokindaten)

Tabelle 10: Allergische Erkrankungen der Mütter für die Gruppe der Bäuerinnen und Nicht-Bäuerinnen (Subpopulation mit Zytokindaten)

Tabelle 11: Allergische Erkrankungen der Mütter für die Gruppe der Bäuerinnen und Nicht-Bäuerinnen (Gesamtpopulation)

Tabelle 12: Darstellung der Allergene in Kategorien für die Gruppe der Bäuerinnen und Nicht-Bäuerinnen (Subpopulation mit Zytokindaten)

Tabelle 13: Darstellung der Allergen Kategorien für die Gruppe der Bäuerinnen und Nicht-Bäuerinnen (Gesamtpopulation)

Tabelle 14: Darstellung des Sensibilisierungsstatus der Mütter gegen Allergen-Gruppen für die Gruppe der Bäuerinnen und Nicht-Bäuerinnen (Subpopulation mit Zytokindaten)

Tabelle 15: Darstellung des Sensibilisierungsstatus der Mütter gegen Allergen-Gruppen für die Gruppe der Bäuerinnen und Nicht-Bäuerinnen (Gesamtpopulation)

Tabelle 16: Darstellung der Zytokinwerte der Subpopulation nach Stimulantien sortiert

Tabelle 17: Darstellung der Zytokinkategorien (Kat. 0, 1, 2) aller Kinder in Abhängigkeit vom mütterlichen Allergiestatus (nur signifikante bzw. grenzwertig signifikante Ergebnisse dargestellt)

Tabelle 18: Darstellung der Zytokinkategorien (0, 1, 2) der Bauernkinder in Abhängigkeit vom mütterlichen Allergiestatus (nur signifikante bzw. grenzwertig signifikante Ergebnisse dargestellt)

Tabelle 19: Darstellung der Zytokinkategorien (0, 1, 2) der Nicht-Bauernkinder in Abhängigkeit vom mütterlichen Allergiestatus (nur signifikante bzw. grenzwertig signifikante Ergebnisse dargestellt)

Tabelle 20: Darstellung der Zytokinkategorien (Kat. 0, 1) aller Kinder in Abhängigkeit vom mütterlichen Allergiestatus (nur signifikante bzw. grenzwertig signifikante Ergebnisse dargestellt)

Tabelle 21: Darstellung der Zytokinkategorien (Kat. 0, 1) der Bauernkinder in Abhängigkeit vom mütterlichen Allergiestatus (nur signifikante bzw. grenzwertig signifikante Ergebnisse dargestellt)

Tabelle 22: Darstellung der Zytokinkategorien (Kat. 0, 1) der Nicht-Bauernkinder in Abhängigkeit vom mütterlichen Allergiestatus (nur signifikante bzw. grenzwertig signifikante Ergebnisse dargestellt)

Tabelle 23: Darstellung der Zytokinkategorien (Kat. 0, 1, 2) in Abhängigkeit vom mütterlichen Sensibilisierungsstatus für alle Kinder, Bauern- und Nicht-Bauernkinder (nur signifikante bzw. grenzwertig signifikante Ergebnisse dargestellt)

Tabelle 24: Darstellung der Zytokinkategorien (Kat. 0, 1) der Bauernkinder in Abhängigkeit vom mütterlichen Sensibilisierungsstatus (nur signifikante bzw. grenzwertig signifikante Ergebnisse dargestellt)

Tabelle 25: Störfaktoren für die signifikanten Zytokine der Kategorie (Kat. 0, 1)

Tabelle 26: Störfaktoren für den Allergie- und Sensibilisierungsstatus der Mutter

Tabelle 27: Störfaktoren für den Allergie- und Sensibilisierungsstatus der Mutter

Tabelle 28: Störfaktoren für die signifikanten Zytokine der Kategorie (Kat. 0, 1)

Tabelle 29: Binäre logistische Regression: Abhängigkeit der dichotomen Zytokinkategorien vom Allergie- und Sensibilisierungsstatus der Mutter

7.2 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Zytokinabhängige T-Zelldifferenzierung

Abbildung 2: Isotypswitch der B-Lymphozyten

Abbildung 3: Zeitlicher Ablauf der Untersuchungen

Abbildung 4: Zusammensetzung der Studienpopulation und gewonnenes Material

Literatur

1. Worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and atopic eczema: ISAAC. The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Steering Committee. *Lancet* 1998;351:1225-1232.
2. NHLBI-Asthma. National Heart, Lung and Blood Institute 2006; Diseases and Conditions Index.
3. WHO-Asthma. World Health Organisation, Homepage, 2006; Fact sheet N307.
4. Abbas AK, Murphy KM, Sher A: Functional diversity of helper T lymphocytes. *Nature* 1996;383:787-793.
5. Aberg N, Hesselmar B, Aberg B, Eriksson B: Increase of asthma, allergic rhinitis and eczema in Swedish schoolchildren between 1979 and 1991. *Clin.Exp.Allergy* 1995;25:815-819.
6. Akdis M, Blaser K, Akdis CA: T regulatory cells in allergy: novel concepts in the pathogenesis, prevention, and treatment of allergic diseases. *J.Allergy.Clin.Immunol.* 2005;116:961-968.
7. Bachert C, Borchard U, Wedi B, Rasp G: Allergische Rhinokonjunktivitis - Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Allergologie und klinische Immunologie (DGAI). *J.Allergy.Clin.Immunol.* 2003;12:182-94.
8. Bachert C, Van Cauwenberge P: The WHO ARIA (allergic rhinitis and its impact on asthma) initiative. *Chem.Immunol.Allergy* 2003;82:119-126.
9. Bjorksten B: Risk factors in early childhood for the development of atopic diseases. *Allergy* 1994;49:400-407.
10. Borish L, Aarons A, Rumbyrt J, Cvietusa P, Negri J, Wenzel S: Interleukin-10 regulation in normal subjects and patients with asthma. *J.Allergy.Clin.Immunol.* 1996;97:1288-1296.
11. Braun-Fahrlander C, Gassner M, Grize L, Neu U, Sennhauser FH, Varonier HS, Vuille JC, Wuthrich B: 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;29:28-34.
12. Braun-Fahrlander C, Riedler J, Herz U, Eder W, Waser M, Grize L, Maisch S, Carr D, Gerlach F, Bufe A, Lauener RP, Schierl R, Renz H, Nowak D, von Mutius E: Environmental exposure to endotoxin and its relation to asthma in school-age children. *N.Engl.J.Med.* 2002;347:869-877.
13. Calder PC, Krauss-Etschmann S, de Jong EC, Dupont C, Frick JS, Frokiaer H, Heinrich J, Garn H, Koletzko S, Lack G, Mattelio G, Renz H, Sangild PT, Schrezenmeir J, Stulnig TM, Thymann T, Wold AE, Koletzko B: Early nutrition and immunity - progress and perspectives. *Br.J.Nutr.* 2006;96:774-790.

14. Campbell DE, Kemp AS: Proliferation and production of interferon-gamma (IFN-gamma) and IL-4 in response to Staphylococcus aureus and staphylococcal superantigen in childhood atopic dermatitis. *Clin.Exp.Immunol.* 1997;107:392-397.
15. Chatila TA: Role of regulatory T cells in human diseases. *J.Allergy.Clin.Immunol.* 2005;116:949-959.
16. Chomarar P, Risoan MC, Banchereau J, Miossec P: Interferon gamma inhibits interleukin 10 production by monocytes. *J.Exp.Med.* 1993;177:523-527.
17. Clarke JR, Salmon B, Silverman M: Bronchial responsiveness in the neonatal period as a risk factor for wheezing in infancy. *Am.J.Respir.Crit.Care Med.* 1995;151:1434-1440.
18. Clutterbuck EJ, Hirst EM, Sanderson CJ: Human interleukin-5 (IL-5) regulates the production of eosinophils in human bone marrow cultures: comparison and interaction with IL-1, IL-3, IL-6, and GM-CSF. *Blood* 1989;73:1504-1512.
19. Cohen S, Dworetzky M, Frick OL: Coca and Cooke on the classification of hypersensitiveness. *J.Allergy.Clin.Immunol.* 2003;111:205-210.
20. Costa JJ, Matossian K, Resnick MB, Beil WJ, Wong DT, Gordon JR, Dvorak AM, Weller PF, Galli SJ: Human eosinophils can express the cytokines tumor necrosis factor-alpha and macrophage inflammatory protein-1 alpha. *J.Clin.Invest.* 1993;91:2673-2684.
21. Couturier C, Haeffner-Cavaillon N, Caroff M, Kazatchkine MD: Binding sites for endotoxins (lipopolysaccharides) on human monocytes. *J.Immunol.* 1991;147:1899-1904.
22. Croner S, Kjellman NI, Eriksson B, Roth A: IgE screening in 1701 newborn infants and the development of atopic disease during infancy. *Arch.Dis.Child* 1982;57:364-368.
23. Dayton MA, Knobloch TJ, Benjamin D: Human B cell lines express the interferon gamma gene. *Cytokine* 1992;4:454-460.
24. De Groote D, Zangerle PF, Gevaert Y, Fassotte MF, Beguin Y, Noizat-Pirenne F, Pirenne J, Gathy R, Lopez M, Dehart I, .: 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* 1992;4:239-248.
25. De Maeyer E, Maeyer-Guignard J: Interferon-gamma. *Curr.Opin.Immunol.* 1992;4:321-326.
26. De Waal MR, Haanen J, Spits H, Roncarolo MG, te VA, Figdor C, Johnson K, Kastelein R, Yssel H, de Vries JE: Interleukin 10 (IL-10) and viral IL-10 strongly reduce antigen-specific human T cell proliferation by diminishing the antigen-presenting capacity of monocytes via downregulation of class II major histocompatibility complex expression. *J.Exp.Med.* 1991;174:915-924.
27. Del Prete G: The concept of type-1 and type-2 helper T cells and their cytokines in humans. *Int.Rev.Immunol.* 1998;16:427-455.

28. Del Prete G, De Carli M, Almerigogna F, Giudizi MG, Biagiotti R, Romagnani S: 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.* 1993;150:353-360.
29. Edenharter G, Bergmann RL, Bergmann KE, Wahn V, Forster J, Zepp F, Wahn U: Cord blood-IgE as risk factor and predictor for atopic diseases. *Clin. Exp.Allergy* 1998;28:671-678.
30. Ellert U, Wirz J, Ziese T: Telefonischer Gesundheitssurvey des Robert Koch-Instituts (2. Welle): Deskriptiver Ergebnisbericht. Robert Koch-Institut, Nordufer, Berlin, 2006.
31. Favre N, Bordmann G, Rudin W: Comparison of cytokine measurements using ELISA, ELISPOT and semi-quantitative RT-PCR. *J.Immunol.Methods* 1997;204:57-66.
32. Finkelman FD, Katona IM, Urban JF, Jr., Holmes J, Ohara J, Tung AS, Sample JV, Paul WE: IL-4 is required to generate and sustain in vivo IgE responses. *J.Immunol.* 1988;141:2335-2341.
33. Forster J, Koller U, Behrendt H, Schäfer T: Allergische Erkrankungen – Entstehung, Formen, Krankheitsbilder. FLUGS - Fachinformationsdienst für Lebenswissenschaften, Umwelt und Gesundheit 2003.
34. Forster J, Tacke U, Krebs H, Streckert HJ, Werchau H, Bergmann RL, Schulz J, Lau S, Wahn U: Respiratory syncytial virus infection: its role in aeroallergen sensitization during the first two years of life. *Pediatr.Allergy Immunol.* 1996;7:55-60.
35. Fuleihan R, Ahern D, Geha RS: Decreased expression of the ligand for CD40 in newborn lymphocytes. *Eur.J.Immunol.* 1994;24:1925-1928.
36. Gabrielsson S, Soderlund A, Nilsson C, Lilja G, Nordlund M, Troye-Blomberg M: 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.* 2001;126:390-396.
37. Gascan H, Gauchat JF, Roncarolo MG, Yssel H, Spits H, de Vries JE: Human B cell clones can be induced to proliferate and to switch to IgE and IgG4 synthesis by interleukin 4 and a signal provided by activated CD4+ T cell clones. *J.Exp.Med.* 1991;173:747-750.
38. Gereda JE, Leung DY, Thatayatikom A, Streib JE, Price MR, Klinnert MD, Liu AH: Relation between house-dust endotoxin exposure, type 1 T-cell development, and allergen sensitisation in infants at high risk of asthma. *Lancet* 2000;355:1680-1683.
39. Grewe SR, Chan SC, Hanifin JM: Elevated leukocyte cyclic AMP-phosphodiesterase in atopic disease: a possible mechanism for cyclic AMP-agonist hyporesponsiveness. *J.Allergy Clin. Immunol.* 1982;70:452-457.

40. Hagendorens MM, Van Bever HP, Schuerwegh AJ, De Clerck LS, Bridts CH, Stevens WJ: Determination of T-cell subpopulations and intracellular cytokine production (interleukin-2, interleukin-4, and interferon-gamma) by cord blood T-lymphocytes of neonates from atopic and non-atopic parents. *Pediatr.Allergy Immunol.* 2000;11:12-19.
41. Hamelmann E, Tateda K, Oshiba A, Gelfand EW: Role of IgE in the development of allergic airway inflammation and airway hyperresponsiveness-a murine model. *Allergy* 1999;54:297-305.
42. Hashimoto S, Takahashi Y, Tomita Y, Hayama T, Sawada S, Horie T, McCombs CC, Michalski JP: Mechanism of calcium ionophore and phorbol ester-induced T-cell activation. Accessory cell requirement for T-cell activation. *Scand.J.Immunol.* 1991;33:393-403.
43. Hata T, Kawamura T, Fujiwaki R, Aoki S, Hata K, Inada K: Interleukin-4, interleukin-10, and soluble tumor necrosis factor receptors in cord blood. *Gynecol.Obstet.Invest.* 1997;43:155-157.
44. Heinrich J, Popescu MA, Wjst M, Goldstein IF, Wichmann HE: Atopy in children and parental social class. *Am.J.Public Health* 1998;88:1319-1324.
45. Herbarth O, Fritz GJ, Rehwagen M, Richter M, Roder S, Schlink U: Association between indoor renovation activities and eczema in early childhood. *Int. J. Hyg.EnvIRON.Health* 2006;209:241-247.
46. Hernandez-Pando R, Rook GA: The role of TNF-alpha in T-cell-mediated inflammation depends on the Th1/Th2 cytokine balance. *Immunology* 1994;82:591-595.
47. Herzum I, Blumer N, Kersten W, Renz H: Diagnostic and analytical performance of a screening panel for allergy. *Clin.Chem.Lab.Med.* 2005;43:963-966.
48. Hirsch T, Weiland SK, von Mutius E, Safeca AF, Grafe H, Csaplovics E, Duhme H, Keil U, Leupold W: Inner city air pollution and respiratory health and atopy in children. *Eur.Respir.J.* 1999;14:669-677.
49. Hodge G, Hodge S, Han P: 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* 2000;12:1763-1768.
50. Holt PG: Postnatal maturation of immune competence during infancy and childhood. *Pediatr.Allergy Immunol.* 1995;6:59-70.
51. Holt PG, Clough JB, Holt BJ, Baron-Hay MJ, Rose AH, Robinson BW, Thomas WR: Genetic 'risk' for atopy is associated with delayed postnatal maturation of T-cell competence. *Clin.Exp.Allergy* 1992;22:1093-1099.
52. Hosken NA, Shibuya K, Heath AW, Murphy KM, O'Garra A: The effect of antigen dose on CD4+ T helper cell phenotype development in a T cell receptor-alpha beta-transgenic model. *J.Exp.Med.* 1995;182:1579-1584.

53. Janeway C, et al.: Immunologie.Vol.5. Heidelberg, Berlin: Spektrum Akademischer Verlag, 2002.
54. Jeannin P, Lecoanet S, Delneste Y, Gauchat JF, Bonnefoy JY: IgE versus IgG4 production can be differentially regulated by IL-10. *J.Immunol.* 1998;160:3555-3561.
55. Jenmalm MC, Bjorksten B, Macaubas C, Holt BJ, Smallacombe TB, Holt PG: Allergen-induced cytokine secretion in relation to atopic symptoms and immunoglobulin E and immunoglobulin G subclass antibody responses. *Pediatr.Allergy Immunol.* 1999;10:168-177.
56. John M, Lim S, Seybold J, Jose P, Robichaud A, O'Connor B, Barnes PJ, Chung KF: Inhaled corticosteroids increase interleukin-10 but reduce macrophage inflammatory protein-1alpha, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, and interferon-gamma release from alveolar macrophages in asthma. *Am.J.Respir.Crit.Care Med.* 1998;157:256-262.
57. Jones AC, Miles EA, Warner JO, Colwell BM, Bryant TN, Warner JA: Fetal peripheral blood mononuclear cell proliferative responses to mitogenic and allergenic stimuli during gestation. *Pediatr.Allergy Immunol.* 1996;7:109-116.
58. Jones PD, Gibson PG, Henry RL: The prevalence of asthma appears to be inversely related to the incidence of typhoid and tuberculosis: hypothesis to explain the variation in asthma prevalence around the world. *Med.Hypotheses* 2000;55:40-42.
59. Jujo K, Renz H, Abe J, Gelfand EW, Leung DY: Decreased interferon gamma and increased interleukin-4 production in atopic dermatitis promotes IgE synthesis. *J.Allergy Clin.Immunol.* 1992;90:323-331.
60. Kalliomaki M, Salminen S, Arvilommi H, Kero P, Koskinen P, Isolauri E: Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2001;357:1076-1079.
61. Kim KM, Inoue Y, Uenoyama Y, Mutoh K, Yodoi J, Kaneshima M, Mayumi M, Mikawa H: Prediction of the development of atopic symptoms in early childhood by cord IgE-binding factors (soluble Fc epsilon R2). *Immunol.Lett.* 1990;24:63-67.
62. Kjellman NI, Croner S: Cord blood IgE determination for allergy prediction--a follow-up to seven years of age in 1,651 children. *Ann.Allergy* 1984;53:167-171.
63. Knol EF: Requirements for effective IgE cross-linking on mast cells and basophils. *Mol.Nutr.Food Res.* 2006;50:620-624.
64. Komisar JL, Small-Harris S, Tseng J: Localization of binding sites of staphylococcal enterotoxin B (SEB), a superantigen, for HLA-DR by inhibition with synthetic peptides of SEB. *Infect.Immun.* 1994;62:4775-4780.

65. Kondo N, Kobayashi Y, Shinoda S, Kasahara K, Kameyama T, Iwasa S, Orii T: Cord blood lymphocyte responses to food antigens for the prediction of allergic disorders. *Arch.Dis.Child* 1992;67:1003-1007.
66. Kondo N, Kobayashi Y, Shinoda S, Takenaka R, Teramoto T, Kaneko H, Fukao T, Matsui E, Kasahara K, Yokoyama Y: 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* 1998;28:1340-1344.
67. Koning H, Baert MR, Oranje AP, Savelkoul HF, Neijens HJ: Development of immune functions related to allergic mechanisms in young children. *Pediatr.Res.* 1996;40:363-375.
68. Koning H, Neijens HJ, Baert MR, Oranje AP, Savelkoul HF: T cells subsets and cytokines in allergic and non-allergic children. II. Analysis and IL-5 and IL-10 mRNA expression and protein production. *Cytokine* 1997;9:427-436.
69. Kopf M, Brombacher F, Hodgkin PD, Ramsay AJ, Milbourne EA, Dai WJ, Ovington KS, Behm CA, Kohler G, Young IG, Matthaei KI: IL-5-deficient mice have a developmental defect in CD5+ B-1 cells and lack eosinophilia but have normal antibody and cytotoxic T cell responses. *Immunity.* 1996;4:15-24.
70. Kramer U, Heinrich J, Wjst M, Wichmann HE: Age of entry to day nursery and allergy in later childhood. *Lancet* 1999;353:450-454.
71. Kulig M, Luck W, Wahn U: The association between pre- and postnatal tobacco smoke exposure and allergic sensitization during early childhood. Multicentre Allergy Study Group, Germany. *Hum.Exp.Toxicol.* 1999;18:241-244.
72. Lagging E, Hage-Hamsten M, Gronneberg R, Elfman L, Harfast B: Cytokine production in PBMC from allergics and non-allergics following in vitro allergen stimulation. *Immunol.Lett.* 1998;60:45-49.
73. Lander ES, Schork NJ: Genetic dissection of complex traits. *Science* 1994;265:2037-2048.
74. Lehmann I, Thielke A, Weiss M, Schlink U, Schulz R, Diez U, Sierig G, Emmrich F, Jacob B, Belcredi P, Bolte G, Heinrich J, Herbarth O, Wichmann HE, Borte M: T cell reactivity in neonates from an East and a West German city--results of the LISA study. *Allergy* 2002;57:129-136.
75. Liao SY, Liao TN, Chiang BL, Huang MS, Chen CC, Chou CC, Hsieh KH: Decreased production of IFN gamma and increased production of IL-6 by cord blood mononuclear cells of newborns with a high risk of allergy. *Clin.Exp.Allergy* 1996;26:397-405.
76. Lin H, Mosmann TR, Guilbert L, Tuntipopipat S, Wegmann TG: Synthesis of T helper 2-type cytokines at the maternal-fetal interface. *J.Immunol.* 1993;151:4562-4573.
77. Lipozencic J: A hundred years of "Allergy" Clemens von Pirquet's essay "Allergie", published on July 24, 1906 in *Muenchener Medizinische Wochenschrift. Acta.Dermatovenerol.Croat.* 2006;14:206.

78. Liu CA, Wang CL, Chuang H, Ou CY, Hsu TY, Yang KD: Prenatal prediction of infant atopy by maternal but not paternal total IgE levels. *J.Allergy Clin. Immunol.* 2003;112:899-904.
79. Lopez AF, Sanderson CJ, Gamble JR, Campbell HD, Young IG, Vadas MA: Recombinant human interleukin 5 is a selective activator of human eosinophil function. *J.Exp.Med.* 1988;167:219-224.
80. Macatonia SE, Hosken NA, Litton M, Vieira P, Hsieh CS, Culpepper JA, Wyszocka M, Trinchieri G, Murphy KM, O'Garra A: Dendritic cells produce IL-12 and direct the development of Th1 cells from naive CD4+ T cells. *J.Immunol.* 1995;154:5071-5079.
81. Macaubas C, de Klerk NH, Holt BJ, Wee C, Kendall G, Firth M, Sly PD, Holt PG: Association between antenatal cytokine production and the development of atopy and asthma at age 6 years. *Lancet* 2003;362:1192-1197.
82. Macaubas C, Prescott SL, Venaille TJ, Holt BJ, Smallacombe TB, Sly PD, Holt PG: Primary sensitization to inhalant allergens. *Pediatr.Allergy Immunol.* 2000;11 Suppl. 13:9-11.
83. Maggi E, Del Prete GF, Tiri A, Macchia D, Parronchi P, Ricci M, Romagnani S: Role of interleukin-4 in the induction of human IgE synthesis and its suppression by interferon-gamma. *Ric.Clin.Lab.* 1987;17:363-367.
84. Magnusson CG, de Weck AL: Is thrombopenia in cord blood indicative of intra-uterine sensitization? *Allergy* 1989;44:143-151.
85. Manetti R, Parronchi P, Giudizi MG, Piccinni MP, Maggi E, Trinchieri G, Romagnani S: Natural killer cell stimulatory factor (interleukin 12 [IL-12]) induces T helper type 1 (Th1)-specific immune responses and inhibits the development of IL-4-producing Th cells. *J.Exp.Med.* 1993;177:1199-1204.
86. Mariani F, Price JF, Kemeny DM: The IgG subclass antibody response to an inhalant antigen (*Dermatophagoides pteronyssinus*) during the first year of life: evidence for early stimulation of the immune system following natural exposure. *Clin.Exp.Allergy* 1992;22:29-33.
87. Martinez FD: Complexities of the genetics of asthma. *Am.J.Respir.Crit.Care Med.* 1997;156:S117-S122.
88. Martinez FD, Stern DA, Wright AL, Holberg CJ, Taussig LM, Halonen M: Association of interleukin-2 and interferon-gamma production by blood mononuclear cells in infancy with parental allergy skin tests and with subsequent development of atopy. *J.Allergy Clin.Immunol.* 1995;96:652-660.
89. Matricardi PM, Bonini S: High microbial turnover rate preventing atopy: a solution to inconsistencies impinging on the Hygiene hypothesis? *Clin.Exp.Allergy* 2000;30:1506-1510.
90. Matricardi PM, Rosmini F, Ferrigno L, Nisini R, Rapicetta M, Chionne P, Stroffolini T, Pasquini P, D'Amelio R: Cross sectional retrospective study of

- prevalence of atopy among Italian military students with antibodies against hepatitis A virus. *BMJ* 1997;314:999-1003.
91. Miles EA, Bakewell L, Calder PC: Production of lymphocyte-derived cytokines by whole umbilical cord blood cultures stimulated with mitogens and allergens. *Cytokine* 2003;21:74-83.
 92. Moreau P, Adrian-Cabestre F, Menier C, Guiard V, Gourand L, Dausset J, Carosella ED, Paul P: IL-10 selectively induces HLA-G expression in human trophoblasts and monocytes. *Int.Immunol.* 1999;11:803-811.
 93. Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, Coffman RL: Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J.Immunol.* 1986;136:2348-2357.
 94. Moverare R, Elfman L, Stalenheim G, Bjornsson E: Study of the Th1/Th2 balance, including IL-10 production, in cultures of peripheral blood mononuclear cells from birch-pollen-allergic patients. *Allergy* 2000;55:171-175.
 95. Nilsson C, Larsson AK, Hoglind A, Gabrielsson S, Troye BM, Lilja G: Low numbers of interleukin-12-producing cord blood mononuclear cells and immunoglobulin E sensitization in early childhood. *Clin.Exp.Allergy* 2004;34:373-380.
 96. Nonoyama S, Penix LA, Edwards CP, Lewis DB, Ito S, Aruffo A, Wilson CB, Ochs HD: Diminished expression of CD40 ligand by activated neonatal T cells. *J.Clin.Invest.* 1995;95:66-75.
 97. Nurse B, Puterman AS, Haus M, Berman D, Weinberg EG, Potter PC: PBMCs from both atopic asthmatic and nonatopic children show a TH2 cytokine response to house dust mite allergen. *J.Allergy Clin.Immunol.* 2000;106:84-91.
 98. Parronchi P, Brugnolo F, Sampognaro S, Maggi E: Genetic and environmental factors contributing to the onset of allergic disorders. *Int.Arch.Allergy Immunol.* 2000;121:2-9.
 99. Pastorello EA, Incorvaia C, Ortolani C, Bonini S, Canonica GW, Romagnani S, Tursi A, Zanussi C: Studies on the relationship between the level of specific IgE antibodies and the clinical expression of allergy: I. Definition of levels distinguishing patients with symptomatic from patients with asymptomatic allergy to common aeroallergens. *J.Allergy Clin.Immunol.* 1995;96:580-587.
 100. Pene J, Rousset F, Briere F, Chretien I, Bonnefoy JY, Spits H, Yokota T, Arai N, Arai K, Banchereau J, .: IgE production by normal human lymphocytes is induced by interleukin 4 and suppressed by interferons gamma and alpha and prostaglandin E2. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 1988;85:6880-6884.
 101. Piccinni MP, Beloni L, Giannarini L, Livi C, Scarselli G, Romagnani S, Maggi E: Abnormal production of T helper 2 cytokines interleukin-4 and interleukin-5 by T cells from newborns with atopic parents. *Eur.J.Immunol.* 1996;26:2293-2298.

102. Piccinni MP, Scaletti C, Maggi E, Romagnani S: Role of hormone-controlled Th1- and Th2-type cytokines in successful pregnancy. *J.Neuroimmunol.* 2000;109:30-33.
103. Pohl D, Bockelmann C, Forster K, Rieger CH, Schauer U: Neonates at risk of atopy show impaired production of interferon-gamma after stimulation with bacterial products (LPS and SEE). *Allergy* 1997;52:732-738.
104. Prescott SL, Holt PG, Jenmalm M, Bjorksten B: Effects of maternal allergen-specific IgG in cord blood on early postnatal development of allergen-specific T-cell immunity. *Allergy* 2000;55:470-475.
105. Prescott SL, King B, Strong TL, Holt PG: The value of perinatal immune responses in predicting allergic disease at 6 years of age. *Allergy* 2003;58:1187-1194.
106. Prescott SL, Macaubas C, Holt BJ, Smallacombe TB, Loh R, Sly PD, Holt PG: Transplacental priming of the human immune system to environmental allergens: universal skewing of initial T cell responses toward the Th2 cytokine profile. *J.Immunol.* 1998;160:4730-4737.
107. Prescott SL, Macaubas C, Smallacombe T, Holt BJ, Sly PD, Holt PG: Development of allergen-specific T-cell memory in atopic and normal children. *Lancet* 1999;353:196-200.
108. Prescott SL, Macaubas C, Smallacombe T, Holt BJ, Sly PD, Loh R, Holt PG: Reciprocal age-related patterns of allergen-specific T-cell immunity in normal vs. atopic infants. *Clin.Exp.Allergy* 1998;28 Suppl 5:39-44.
109. Prescott SL, Taylor A, King B, Dunstan J, Upham JW, Thornton CA, Holt PG: Neonatal interleukin-12 capacity is associated with variations in allergen-specific immune responses in the neonatal and postnatal periods. *Clin. Exp.Allergy* 2003;33:566-572.
110. Purkerson JM, Isakson PC: Isotype switching in anti-immunoglobulin-activated B lymphoblasts: differential requirements for interleukin 4 and other lymphokines to elicit membrane vs. secreted IgG1. *Eur.J.Immunol.* 1991;21:707-714.
111. Renz H: The central role of T-cells in allergic sensitization and IgE regulation. *Exp.Dermatol.* 1995;4:173-182.
112. Renz H: Soluble interleukin-4 receptor (sIL-4R) in allergic diseases. *Inflamm.Res.* 1999;48:425-431.
113. Ridings J, Weedon H, Ioannou C, Flego L, Macardle PJ, Zola H: Purification of cord blood lymphocytes. *J.Immunol.Methods* 1996;195:43-48.
114. Rimpela AH, Savonius B, Rimpela MK, Haahtela T: Asthma and allergic rhinitis among Finnish adolescents in 1977-1991. *Scand.J.Soc.Med.* 1995;23:60-65.
115. Rinas U, Horneff G, Wahn V: Interferon-gamma production by cord-blood mononuclear cells is reduced in newborns with a family history of atopic disease

- and is independent from cord blood IgE-levels. *Pediatr.Allergy Immunol.* 1993;4:60-64.
116. Romagnani S: The Th1/Th2 paradigm. *Immunol.Today* 1997;18:263-266.
 117. Rowe J, Heaton T, Kusel M, Suriyaarachchi D, Serralha M, Holt BJ, de Klerk N, Sly PD, Holt PG: High IFN-gamma production by CD8+ T cells and early sensitization among infants at high risk of atopy. *J.Allergy Clin.Immunol.* 2004;113:710-716.
 118. Ruiz RG, Kemeny DM, Price JF: Higher risk of infantile atopic dermatitis from maternal atopy than from paternal atopy. *Clin.Exp.Allergy* 1992;22:762-766.
 119. Sampson HA: Utility of food-specific IgE concentrations in predicting symptomatic food allergy. *J.Allergy.Clin.Immunol.* 2001;107:891-896.
 120. Sandford A, Weir T, Pare P: The genetics of asthma. *Am.J.Respir.Crit.Care Med.* 1996;153:1749-1765.
 121. Schafer T, Heinrich J, Bohler E, Klemm E, Merkl J, Ruhdorfer S, Weigl L, Wessner D, Wichmann HE, Ring J: [Allergies in adults]. *Gesundheitswesen* 2005;67 Suppl. 1:S187-S192.
 122. Schandene L, Alonso-Vega C, Willems F, Gerard C, Delvaux A, Velu T, Devos R, de Boer M, Goldman M: B7/CD28-dependent IL-5 production by human resting T cells is inhibited by IL-10. *J.Immunol.* 1994;152:4368-4374.
 123. Schnurr M, Then F, Galambos P, Scholz C, Siegmund B, Endres S, Eigler A: Extracellular ATP and TNF-alpha synergize in the activation and maturation of human dendritic cells. *J.Immunol.* 2000;165:4704-4709.
 124. Schultz LF: Atopic dermatitis: a genetic-epidemiologic study in a population-based twin sample. *J.Am.Acad.Dermatol.* 1993;28:719-723.
 125. Sengler C, Lau S, Wahn U, Nickel R: Interactions between genes and environmental factors in asthma and atopy: new developments. *Respir.Res.* 2002;3:7.
 126. Shah A, Church MK, Holgate ST: Tumour necrosis factor alpha: a potential mediator of asthma. *Clin.Exp.Allergy* 1995;25:1038-1044.
 127. Shalit M, Sekhsaria S, Malech HL: Modulation of growth and differentiation of eosinophils from human peripheral blood CD34+ cells by IL5 and other growth factors. *Cell Immunol.* 1995;160:50-57.
 128. Sharp MJ, Rowe J, Kusel M, Sly PD, Holt PG: Specific patterns of responsiveness to microbial antigens staphylococcal enterotoxin B and purified protein derivative by cord blood mononuclear cells are predictive of risk for development of atopic dermatitis. *Clin.Exp.Allergy* 2003;33:435-441.
 129. Silver RM, Lohner WS, Daynes RA, Mitchell MD, Branch DW: Lipopolysaccharide-induced fetal death: the role of tumor-necrosis factor alpha. *Biol.Reprod.* 1994;50:1108-1112.

130. Skadhauge LR, Christensen K, Kyvik KO, Sigsgaard T: Genetic and environmental influence on asthma: a population-based study of 11,688 Danish twin pairs. *Eur.Respir.J.* 1999;13:8-14.
131. Sornasse T, Larenas PV, Davis KA, de Vries JE, Yssel H: Differentiation and stability of T helper 1 and 2 cells derived from naive human neonatal CD4+ T cells, analyzed at the single-cell level. *J.Exp.Med.* 1996;184:473-483.
132. Spits H, De Waal MR: Functional characterization of human IL-10. *Int.Arch.Allergy Immunol.* 1992;99:8-15.
133. Statistische Bundesamt: Spezialbericht Allergien, Teil 4 Epidemiologie (6). Gesundheitsberichterstattung des Bundes 2007.
134. Stein RT, Sherrill D, Morgan WJ, Holberg CJ, Halonen M, Taussig LM, Wright AL, Martinez FD: Respiratory syncytial virus in early life and risk of wheeze and allergy by age 13 years. *Lancet* 1999;354:541-545.
135. Strannegard IL, Svennerholm L, Strannegard O: Essential fatty acids in serum lecithin of children with atopic dermatitis and in umbilical cord serum of infants with high or low IgE levels. *Int.Arch.Allergy Appl.Immunol.* 1987;82:422-423.
136. Szepfalusi Z, Loibichler C, Pichler J, Reisenberger K, Ebner C, Urbanek R: Direct evidence for transplacental allergen transfer. *Pediatr.Res.* 2000;48:404-407.
137. Szony BJ, Bata-Csorgo Z, Bartfai G, Kemeny L, Dobozy A, Kovacs L: Interleukin-10 receptors are expressed by basement membrane anchored, alpha(6) integrin(+) cytotrophoblast cells in early human placenta. *Mol.Hum.Reprod.* 1999;5:1059-1065.
138. Tang ML, Kemp AS, Thorburn J, Hill DJ: Reduced interferon-gamma secretion in neonates and subsequent atopy. *Lancet* 1994;344:983-985.
139. Taylor S, Bryson YJ: Impaired production of gamma-interferon by newborn cells in vitro is due to a functionally immature macrophage. *J.Immunol.* 1985;134:1493-1497.
140. Till S, Dickason R, Huston D, Humbert M, Robinson D, Larche M, Durham S, Kay AB, Corrigan C: IL-5 secretion by allergen-stimulated CD4+ T cells in primary culture: relationship to expression of allergic disease. *J.Allergy Clin.Immunol.* 1997;99:563-569.
141. Tobias PS, Ulevitch RJ: Lipopolysaccharide binding protein and CD14 in LPS dependent macrophage activation. *Immunobiology* 1993;187:227-232.
142. Trinchieri G: Interleukin-12: a proinflammatory cytokine with immunoregulatory functions that bridge innate resistance and antigen-specific adaptive immunity. *Annu.Rev.Immunol.* 1995;13:251-276.
143. Umetsu DT, Akbari O, DeKruyff RH: Regulatory T cells control the development of allergic disease and asthma. *J.Allergy Clin.Immunol.* 2003;112:480-487.

144. van dV, V, Laan MP, Baert MR, de Waal MR, Neijens HJ, Savelkoul HF: Selective development of a strong Th2 cytokine profile in high-risk children who develop atopy: risk factors and regulatory role of IFN-gamma, IL-4 and IL-10. *Clin.Exp.Allergy* 2001;31:997-1006.
145. 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;30:187-193.
146. von Mutius E: The influence of birth order on the expression of atopy in families: a gene-environment interaction? *Clin.Exp.Allergy* 1998;28:1454-1456.
147. von Mutius E, Braun-Fahrlander C, Schierl R, Riedler J, Ehlermann S, Maisch S, Waser M, Nowak D: Exposure to endotoxin or other bacterial components might protect against the development of atopy. *Clin.Exp.Allergy* 2000;30:1230-1234.
148. von Mutius E, Illi S, Hirsch T, Leupold W, Keil U, Weiland SK: Frequency of infections and risk of asthma, atopy and airway hyperresponsiveness in children. *Eur.Respir.J.* 1999;14:4-11.
149. von Mutius E, Martinez FD, Fritsch C, Nicolai T, Reitmeir P, Thiemann HH: Skin test reactivity and number of siblings. *BMJ* 1994;308:692-695.
150. von Mutius E, Martinez FD, Fritsch C, Nicolai T, Roell G, Thiemann HH: Prevalence of asthma and atopy in two areas of West and East Germany. *Am.J.Respir.Crit.Care Med.* 1994;149:358-364.
151. Warner JA, Miles EA, Jones AC, Quint DJ, Colwell BM, Warner JO: Is deficiency of interferon gamma production by allergen triggered cord blood cells a predictor of atopic eczema? *Clin.Exp.Allergy* 1994;24:423-430.
152. Waser M, Schierl R, von Mutius E, Maisch S, Carr D, Riedler J, Eder W, Schreuer M, Nowak D, Braun-Fahrlander C: Determinants of endotoxin levels in living environments of farmers' children and their peers from rural areas. *Clin.Exp.Allergy* 2004;34:389-397.
153. Wegmann TG, Lin H, Guilbert L, Mosmann TR: Bidirectional cytokine interactions in the maternal-fetal relationship: is successful pregnancy a TH2 phenomenon? *Immunol.Today* 1993;14:353-356.
154. Weiner HL: Induction and mechanism of action of transforming growth factor-beta-secreting Th3 regulatory cells. *Immunol.Rev.* 2001;182:207-214.
155. Werfel T, Aberer W, Bieber T, Kapp A: Atopische Dermatitis - Leitlinien der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft (DDG) und des Berufsverbandes Deutscher Dermatologen (BVDD). AWMF online - Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften 2002.
156. West MA, Heagy W: Endotoxin tolerance: A review. *Crit.Care Med.* 2002;30:S64-S73.
157. Yamaguchi Y, Hayashi Y, Sugama Y, Miura Y, Kasahara T, Kitamura S, Torisu M, Mita S, Tominaga A, Takatsu K: Highly purified murine interleukin 5 (IL-5)

- stimulates eosinophil function and prolongs in vitro survival. IL-5 as an eosinophil chemotactic factor. *J.Exp.Med.* 1988;167:1737-1742.
158. Zutavern A, Hirsch T, Leupold W, Weiland S, Keil U, von Mutius E: Atopic dermatitis, extrinsic atopic dermatitis and the hygiene hypothesis: results from a cross-sectional study. *Clin.Exp.Allergy* 2005;35:1301-1308.
 159. Blettner M, Heuer C, Razum O: Critical reading of epidemiological papers. *Eur.J.Public Health* 2001;11:97-101
 160. Hartl D, Koller B, Mehlhorn A: Quantitative and functional impairment of pulmonary CD4⁺CD25^{hi} regulatory T cells in pediatric asthma. *J.Allergy Clin.Immunol.* 2007;119:1258-1266
 161. Nowak D, Suppli UC, von Mutius E: Asthma and atopy: has peak prevalence been reached? *Eur.Respir.J.* 2004;23:359-360.
 162. Pirron U, Schlunck T, Prinz JC, Rieber EP: IgE-dependent antigen focusing by human B lymphocytes is mediated by the low-affinity receptor for IgE. *Eur.J.Immunol.* 1990;20:1547-1551.

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die zum Gelingen dieser Promotionsarbeit beigetragen haben.

Insbesondere gilt mein Dank Frau Dr. Susanne Krauss-Etschmann für die Möglichkeit dieses vielseitige und außerordentlich interessante Thema in ihrer Arbeitsgruppe bearbeiten zu können. Ich danke ihr ganz besonders für die kompetente Einführung in das faszinierende Gebiet der Immunologie und für die intensive Betreuung.

Ebenso möchte ich mich bei Frau Prof. Dr. E. von Mutius bedanken, dass ich meine Dissertation im Rahmen dieses EU-Projekts im Labor für Molekulare Allergologie und Pädiatrische Immunologie des Dr. von Haunerschen Kinderspitals der Ludwig-Maximilians-Universität München anfertigen konnte und wissenschaftliche Erfahrung sammeln zu dürfte.

Frau Dr. Sabina Illi danke ich für ihre Unterstützung bei der statistischen Auswertung.

Bei meinen Kollegen aus der Forschungsgruppe Daniela Plabst, Sylvia Maier, Christine Adderson und Yumiko Matsuba möchte ich mich für die gegenseitige Unterstützung bei den Spät- und Wochenenddiensten im Labor bedanken.

Besonders bedanken möchte ich mich bei meinen Eltern, die mich während meines gesamten Studiums unterstützt und motiviert haben.

Mein größter Dank gilt meinem Freund, der in jede Gemütslage zu mir gehalten hat, mich immer wieder aufgebaut und motiviert hat. Ohne ihn wäre diese Arbeit nicht so erfolgreich zum Abschluss gekommen.

Lebenslauf

Eva-Christina Schnabel

Geburtsdatum: 9. Februar 1981

Vater: Dr. Dieter Schnabel, Physiker

Mutter: Dr. Ursula Mitzka-Schnabel, Biologin



Schulische Ausbildung

1988 – 1991	Grundschule in Eichenau
1991 – 2000	Mathematisch-naturwissenschaftliches Gymnasium Puchheim
Mai 2000	Abitur (Note 1,2)

Universitäre Ausbildung

2000 – 2007	Humanmedizin an der Ludwigs-Maximilians-Universität München
Sept. 2002	Ärztliche Vorprüfung (Note 3,0)
2003 - 2008	Promotion an der Hainerschen Kinderklinik der Ludwigs Maximilians Universität München Abteilung Pneumologie und Allergologie: Prof. Dr. Erika von Mutius Im Rahmen des EU-Projektes PASTURE
Okt. – Dez. 2007	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung (Note 2,5)

Berufliche Tätigkeit

Feb. 2008	Freelancer , Erstellung einer Studie für Glaxo Smith Kline
Seit April 2008	Wissenschaftliche Mitarbeiterin am Helmholtz Zentrum München Institut für Epidemiologie, Arbeitsgruppe Umweltepidemiologie

Berufliche Praxis

Aug. – Sep. 2000	Frauenklinik der LMU , gynäkologische Privatstation, Prof. Dr. Kindermann: Krankenpflegepraktikum
Feb. 2001	Allgemeinarztpraxis , Dr. Uhl, München: Hospitanz
März – April. 2001	Kinderklinik der LMU , chirurgische Ambulanz, Prof. Dr. Reinhardt: Krankenpflegepraktikum
Feb. – März 2003	Herzchirurgische Klinik der LMU , Prof. Dr. Reichart: Famulatur
Sept. – Okt. 2003	Hauersche Kinderklinik der LMU , Prof. Dr. Eife: Famulatur
Aug. – Sept. 2004	Orthopädische Klinik Seehospital Sahlenburg , Cuxhaven, Prof. Dr. Hertel: Famulatur
März – April 2005	Augenärztliche Praxis , München, Prof. Dr. Thomas Berninger: Famulatur
2005 – 2006	Referat für Forschungsförderung der LMU , Studentische Hilfskraft, Mitarbeit an FIT (Zeitschrift für Forschungsförderung), Projektassistenz
Feb. – Juni 2006	Chirurgische Klinik und Poliklinik der LMU , Prof. Dr. Hallfeldt: Praktisches Jahr
Juni – Okt. 2006	Klinik und Poliklinik für Gastroenterologie des Inselspital Universitätsspital Bern , Schweiz, Prof. Dr. med. Scheurer: Unterassistentenstelle
Okt. – Jan. 2007	Kinderspital Zürich, Pädiatrische Universitäts-Kinderklinik , Schweiz, Prof. Dr. med. Sennhauser: Unterassistentenstelle

Zusätzliche Ausbildung

Aug. 1995	LSI – Language Studies International, Brighton, England: Fortgeschritten Kurs Englisch
1996	Gymnasium, Puchheim: Anfänger Kurs Italienisch
Juni 2000	Instituts Francais, München: Anfänger Kurs Französisch
Juli 2000	IMEF - Espace Universitaire Albert Camus, Montpellier, Frankreich: Mittelstufen Kurs Französisch
Feb. 2002	Language Centre, Ludwig-Maximilians-University, München: Fortgeschrittenen Kurs Englisch (Universitätsniveau)

Praktika / Stipendien

1998 – 2000	Umweltprojekt Regenerative Energien, Gymnasium Puchheim
Mai 1999	TUMMS , TU München Mathematik-Stipendium für ausgewählte, mathematisch begabte Schüler Bayerns
Sept. 1999	Physik-Probekurs an der LMU
Okt. 1999	Praktikum in einer Tierarztpraxis
2000 - 2008	Stipendium der Hans-Rudolf-Stiftung