HELMHOLTZ
ZENTRUM FÜR
UMWELTFORSCHUNG
UFZ

Dissertation 07/2008

Einfluss von Stress und sozialen Faktoren auf die Immunreaktivität sechsjähriger Kinder

Annegret Weber

ISSN 1860-0387

EINFLUSS VON STRESS UND SOZIALEN FAKTOREN AUF DIE IMMUNREAKTIVITÄT SECHSJÄHRIGER KINDER

Dissertation
Zur Erlangung des akademischen Grades
Dr. med.

An der Medizinischen Fakultät der
Universität Leipzig

Eingereicht von Annegret Weber
geboren am 14. 10.1980

Angefertigt am Department für Umweltimmunologie des Umweltforschungszentrums Leipzig
und der Kinderklinik des Klinikums St. Georg, Leipzig

betreut von
Frau Dr. Gunda Herberth, Frau Dr. Irina Lehmann und Herrn Prof. Olf Herbarth

Beschluss über die Verleihung des Doktorgrades vom 20.05.2008

In Christus
liegen verborgen
alle Schätze der Weisheit
und der Erkenntnis
Kolosser 2, 3

Bibliographische Beschreibung

Weber, Annegret

Einfluss von Stress und sozialen Faktoren auf die Immunreaktivität sechsjähriger Kinder

Universität Leipzig, Dissertation

72 S. , 125 Lit. , 15 Abb. , 26 Tab. , 14 S. Anhang

Auf der Suche nach den Ursachen allergischer Erkrankungen wird neben Lebensbedingungen, Verhaltensweisen und Umweltfaktoren zunehmend auch der Einfluss psychischer Faktoren auf das Immunsystem diskutiert.

Führt Stress zu Veränderungen der Immunreaktivität? Welche Rolle spielen psychische Faktoren wie akuter oder chronischer Stress an der Auslösung einer Allergie? Verstärken Stressoren wie Schuleintritt oder Scheidung der Eltern die Neigung zu atopischen Reaktionen bei Kindern?

Im Rahmen der LISA-Studie, einer prospektiven Studie zur Aufklärung möglicher Risikofaktoren für die Entstehung allergischer Erkrankungen, wurden sechsjährige Kinder auf den Zusammenhang zwischen verschiedenen Stressoren bzw. sozialen Faktoren, humoralen Stressmediatoren (VIP, Somatostatin, Substanz P), T_H1/T_H2-Balance und dem Risiko einer allergischen Sensibilisierung untersucht.

Es wurde eine dosisabhängige Korrelation zwischen den Konzentrationen der Neuropeptide VIP und Somatostatin und dem Risiko einer allergischen Sensibilisierung gefunden. Ein Zusammenhang zwischen Stressor, einer Veränderung der Neuropeptidkonzentrationen und immunologischer Parameter fand sich bei einer Trennung der Eltern, Umzug, Erkrankung eines Angehörigen und Einschulung, wobei die Trennung der Eltern die stärksten Effekte zeigte.

INHALTSVERZEICHNIS

1 EINLEITUNG **1**

1.1 Immun- und Nervensystem: Das Bündnis **1**

1.2 Das Immunsystem: Die Akteure und ihre Interaktionen **3**

1.2.1 Die Entwicklung der T-Helferzellen (T_H-Zellen) 3
1.2.2 Regulatorische T-Zellen 5
1.2.3 Zytokine und Chemokine 5
1.2.3.1 T_H1: IFN-γ, TNF-α, IL-2 5
1.2.3.2 T_H2: IL-4, IL-5, IL-10, IL-13 5
1.2.3.3 Entzündungsmaker: TNF-α, IL-6, IL-8, MCP-1, Eotaxin, RANTES 6

1.3 Die Allergie: Abwehr auf Abwegen **7**

1.3.1 Epidemiologie 7
1.3.2 Die Phasen der allergischen Immunantwort 8

1.4 Das kindliche Immunsystem: Die Lehrzeit **9**

1.5 Einflussfaktoren: Freund und Feind **10**

1.5.1 Genetik 10
1.5.2 Umweltfaktoren 10
1.5.2.1 Exposition mit Allergenen 10
1.5.2.2 Adjuvante Faktoren 11
1.5.2.3 Protektive Lebensstilfaktoren 12
1.5.2.4 Stress 13

1.6 Die Neuropeptide: Botschafter zwischen den Systemen **15**

1.6.1 Substanz P (SP) 15
1.6.2 Somatostatin (SOM) 16
1.6.3 Vasoaktives Intestinales Polypeptid (VIP) 16

1.7 Zielstellung **18**

2 PROBANDEN, MATERIAL UND METHODEN **19**

2.1 Probanden: Die LISA-Studie **19**

2.2 Material **21**

2.2.1 Blutproben 21
2.2.2 Fragebögen und Telefoninterview 21

2.3 Methoden **24**

2.3.1 Nachweis intrazellulärer Zytokine 24
2.3.1.1 Stimulation der Zellen 24
2.3.1.2 Fixierung 24
2.3.1.3 Permeabilisierung und Färbung 25
2.3.1.4 Messung und Auswertung 26
2.3.2 Nachweis der Zytokine im Vollblutassay 27
2.3.3 Nachweis der Neuropeptide 28
2.3.4 Nachweis der allergischen Sensibilisierung 29
2.3.5 Statistische Auswertung und Abbildungen 29

3 ERGEBNISSE **30**

3.1 Immunologische Parameter und Neuropeptide **30**

3.1.1 Neuropeptide 30
3.1.2 Intrazelluläre Zytokinanalyse 30
3.1.3 Zytokine und Chemokine im Vollblutassay 30
3.1.4 Allergische Sensibilisierung 31

3.1.5 Korrelation der Immunparameter untereinander 32
3.1.5.1 Korrelation der intrazellulär gemessenen Zytokine untereinander 32
3.1.5.2 Korrelation intrazellulär und im Vollblutassay gemessener Zytokine 32
3.1.5.3 Allergische Sensibilisierung und Zytokine 33
3.1.6 Neuropeptide und Immunparameter 36
3.1.6.1 Korrelation der Neuropeptide untereinander 36
3.1.6.2 Korrelation der Neuropeptide mit Zytokinen 36
3.1.6.3 Neuropeptide und allergische Sensibilisierung 37

3.2 Einfluss stressender Lebensereignisse 40

3.2.1 Umzug 40
3.2.2 Bildschirmzeit 40
3.2.3 Trennung der Eltern 41
3.2.4 Erkrankung eines Angehörigen 43
3.2.5 Tod eines Angehörigen 44
3.2.6 Einschulung 46

3.3 Einfluss sozialer Faktoren 48

3.3.1 Geschlecht 48
3.3.2 Anzahl der Geschwister 48
3.3.3 Besuch einer Kindereinrichtung 49
3.3.3.1 Besuch der Kinderkrippe bis zum zweiten Lebensjahr 49
3.3.3.2 Kindergartenbesuch im sechsten Lebensjahr 50
3.3.4 Einkommen 51
3.3.5 Arbeitslosigkeit 52

4 DISKUSSION 54

4.1 Immunologische Parameter und Neuropeptide 54

4.1.1 Zytokinsynthese der T-Zellen und Zytokinkonzentration im Vollblutassay 54
4.1.2 Allergische Sensibilisierung und Zytokine 55
4.1.3 Neuropeptide und Zytokine im Vollblutassay 55
4.1.4 Neuropeptide und allergische Sensibilisierung 57

4.2 Einfluss von stressenden Lebensereignissen 58

4.2.1 Umzug 58
4.2.2 Bildschirmzeit 59
4.2.3 Trennung der Eltern 60
4.2.4 Erkrankung eines Angehörigen 62
4.2.5 Tod eines Angehörigen 63
4.2.6 Einschulung 63

4.3 Einfluss von sozialen Faktoren 66

4.3.1 Anzahl der Geschwister 66
4.3.2 Besuch einer Kindereinrichtung 67
4.3.3 Einkommen und Arbeitslosigkeit 68

5 ZUSAMMENFASSUNG 71

6 LITERATURVERZEICHNIS 73

7 TABELLEN 81

1 Einleitung

1.1 Immun- und Nervensystem: Das Bündnis

Die Psychoneuroimmunologie ist eine vergleichsweise junge Wissenschaft, die aber auf alten Wurzeln beruht. Die Vorstellung einer Einheit von Körper und Geist existierte bereits in der Antike. Die ersten wissenschaftlichen Abhandlungen zu einem Zusammenhang zwischen Stress und Immunsystem stammen aus dem 19. und frühen 20. Jahrhundert. Dennoch galt die Idee einer Beteiligung psychischer Faktoren an der Immunreaktion lange Zeit als „unwissenschaftlich". Dies mag daran gelegen haben, dass man sich auf die Erforschung der Mechanismen der autonomen Regulation des Immunsystems konzentrierte und auch daran, dass die frühen Forschungsergebnisse der Psychoneuroimmunologie widersprüchlich und schlecht reproduzierbar waren. Als erste wegweisende Arbeit in neuerer Zeit gilt eine Untersuchung von Robert Ader und Nicholas Cohen aus dem Jahre 1975. Ihnen gelang es, im Mausmodell zu zeigen, dass das Immunsuppressivum Cyclophosphamid, gelöst in Saccharinlösung, die erwartete Immunsuppression bewirkte. Im Sinne einer klassischen Konditionierung führte in der Folge auch die alleinige Saccharinlösung zu einer Immunsuppression. In den folgenden Jahren gelang es weitere, primär unerwartete, Zusammenhänge zwischen Nervensystem und Immunsystem nachzuweisen. So konnte gezeigt werden, dass beide Systeme über eine Vielzahl von Botenstoffen (Zytokinen, Neurotransmitter und Neuropeptide) miteinander kommunizieren und sich gegenseitig beeinflussen, d. h. dass einerseits neuroendokrine Signale die Aktivierung, Reifung und Funktion von Zellen des Immunsystems beeinflussen und andererseits das aktivierte Immunsystem Signale abgibt, die sich ihrerseits auf die Funktion des Neuroendokriniums auswirken.

Diese Verbindung zwischen Immun- und Nervensystem könnte die Zusammenhänge zwischen psychischen Faktoren, z. B. Stress, und Erkrankungen erklären. Stress ist in der heutigen, modernen Gesellschaft ein offenbar ubiquitäres Phänomen und wird als eine der wichtigsten Ursachen für chronische Erkrankungen diskutiert. Dabei ist er primär der Versuch des Körpers, sich auf potentiell schädliche Bedingungen einzustellen. Stressoren können äußere Reize, die Schmerz oder Unwohlsein hervorrufen, Störungen der inneren Homeostase, z.B. Hitze oder Infektionen, und psychologische Faktoren wie soziale Spannungen oder angstbesetzte, neue und nicht kontrollierbare Situationen sein (Van de Kar und Blair, 1999). Die Reaktionen des Körpers auf diese Reize sind nicht prinzipiell schädlich, sondern sichern das Überleben. Sie bewirken die erhöhte Bereitstellung von Energie für Muskeln und Gehirn, was mit gesteigertem Blutfluss in diesen Organen und vermehrter Atmung verbunden ist.

Außerdem führt sie zu einer Modulation der Immunfunktion, etwa einem Anstieg der natürlichen Killerzellen. Gleichzeitig werden momentan nicht benötigte Körperfunktionen, wie Appetit und Fortpflanzung, reduziert (Carrasco und Van de Kar, 2003).
Allerdings gilt es heute als erwiesen, dass nichtbewältigter, chronischer Stress das Wohlbefinden und die Gesundheit des Menschen negativ beeinflusst. Neben Umwelt- und soziökonomischen Faktoren werden insbesondere psychosoziale Faktoren, z.B. zwischenmenschliche Konflikte, Verlust von Angehörigen oder das Erleben von Ablehnung durch andere Menschen, als Ursache für stressbedingte Lebenssituationen thematisiert. Zahlreiche Beeinträchtigungen und Krankheiten wie Konzentrationsstörungen, Depressivität, Schlafstörungen, Gefäß- und gastrointestinale Erkrankungen und Suchtkrankheiten wurden mit Stress in Verbindung gebracht. Erkrankungen, die mit einer Fehlregulation des Immunsystems einhergehen, zeigen ebenfalls einen Zusammenhang zu Stresssituationen. Daher deutet das gehäufte Auftreten von Allergien, Infektionen und auch Tumorerkrankungen auf einen kausalen Zusammenhang zwischen Stress, Immunsystem und Erkrankung.

Aus dieser Zusammenarbeit von Immun- und Nervensystem ergeben sich zahlreiche Fragen, die Gegenstand weiterer Forschungen sein dürften: Welche Rolle spielen psychische Faktoren wie akuter oder chronischer Stress an der Auslösung einer Allergie? Verstärken Stressoren wie Schuleintritt oder Scheidung der Eltern die Neigung zu atopischen Reaktionen bei Kindern? Ist die stets geforderte Allergenkarenz nicht eher eine zwiespältige Maßnahme, da sie oft nur schwer zu realisieren ist, und so beispielsweise eine Pollenflugvorhersage zum Stressor für ängstliche Menschen wird und so die allergische Reaktion verstärkt? Welche Rolle spielt die Konditionierung auf Auslösereize? Kann schon die Angst vor der Allergie eine Reaktion auf vermeintliche (z. B. durch falsch-positive Prick-Test-Ergebnisse) Allergene hervorrufen? Das heißt, kann bei einem gesunden oder atopischen Menschen eine allergische Reaktion durch psychisch belastende Ereignisse ausgelöst werden?

1.2 Das Immunsystem: Die Akteure und ihre Interaktionen

Das Immunsystem verteidigt den Körper gegen äußere Einflüsse. Unterschiedliche Erkennungssysteme und ein breites Spektrum an Effektormechanismen ermöglichen die Abwehr der verschiedensten Krankheitserreger, die in großer Vielfalt im Körper und an dessen Oberfläche vorkommen. Das Spektrum der Abwehrmechanismen ist sehr komplex und lässt sich in zusammenwirkende Systeme wie die angeborene und die erworbene, adaptive Immunantwort einteilen. Dabei bestimmen die Art und die Lokalisation des auslösenden Antigens (d. h. Stoffe, die die Bildung von Antikörpern auslösen, z. B. artfremde Proteine) welcher der Abwehrmechanismen hauptsächlich zum Tragen kommt. Aber erst das Zusammenspiel dieser Systeme, das durch zelluläre, humorale und auch nervale Einflüsse gesteuert wird, ermöglicht die optimale Abwehr von mikrobiellen Erregern und sonstigen Noxen.

Somit dient das Immunsystem mit seinen Abwehrmechanismen primär der Erhaltung des Lebens. Auf der anderen Seite gibt es aber auch Immunreaktionen die den Körper schädigen können, beispielsweise die inadäquate Antwort des Immunsystems auf eigentlich harmlose Antigene, die als Überempfindlichkeit oder Allergie bezeichnet wird. Die klinisch bedeutsamsten allergischen Erkrankungen sind das allergische Asthma, die allergische Rhinokonjunktivitis und die auch als Neurodermitis bezeichnete atopische Dermatitis.

1.2.1 Die Entwicklung der T-Helferzellen (T_H-Zellen)

Besondere Bedeutung für das Verständnis der Pathogenese der allergischen Immunantwort hat die Entdeckung zweier sich in ihrem Zytokinsekretionsmuster unterscheidender Typen von T_H-Effektorzellen (T_H1 und T_H2) durch Mosmann 1986. Leitzytokine der T_H1-Zellen sind Interferon-γ (INF-γ), Interleukin-2 (IL-2), und die beiden Tumornekrosefaktoren TNF-α und TNF-β. T_H2-Zellen sind vor allem durch die Produktion der Interleukine-4 (IL-4), -5 (IL-5), -10 (IL-10) und -13 (IL-13) charakterisiert. Die Sekretion dieser Zytokine ist unter physiologischen Bedingungen ein dynamischer Prozess, der einer ständigen Regulation und Kontrolle unterliegt. Nur so erreicht der Körper eine Anpassung an die jeweiligen immunologischen Erfordernisse. So erfordern Infektionen mit intrazellulären Erregern wie Viren oder Mykobakterien, und auch die Bekämpfung von Tumorzellen vor allem zytotoxische Reaktionen. Diese werden durch eine T_H1-Antwort induziert. Infektionen mit Helminthen und anderen Parasiten dagegen werden vor allem auf humoralem Weg bekämpft, das heißt eine durch IgE, eosinophile Granulozyten und Mastzellen vermittelte Immunreaktion, die von T_H2-Zellen induziert wird.

Beide Formen entwickeln sich aus einer gemeinsamen Vorläuferzelle, der T_H0-Zelle (naive T-Zelle). Die Aktivierung und Differenzierung dieser Zelle erfolgt als Antwort auf in den

Körper eingedrungenes Antigen. Dieses wird von Antigenpräsentierenden Zellen (engl. APC), das sind dentritische Zellen, Makrophagen und B-Zellen, aufgenommen und an der Oberfläche in Verbindung mit dem MHC-II-Molekül präsentiert. So kann es von den T-Helferzellen über den entsprechenden T-Zell-Rezeptor erkannt werden. Allein schon Art und Menge der antigenen Peptide können die Differenzierung der T_H-Zelle beeinflussen. Erreichen große Peptidmengen auf der Oberfläche der APC eine hohe Dichte, lösen sie eher eine T_H1-Reaktion aus, während T_H2-Reaktionen von Peptidmengen in geringer Dichte ausgelöst werden. Darüber hinaus bewirken Peptide, die stark mit dem T-Zell-Rezeptor interagieren, eher T_H1-artige Antworten, schwache Interaktionen T_H2-artige Antworten (Pfeiffer et al. 1995). Dieser Unterschied ist durchaus von Bedeutung, denn Allergien werden meist von nur sehr geringen Antigendosen hervorgerufen.

Die Bindung zwischen Antigen-MHC-Komplex und T-Zell-Rezeptor führt aber nur dann zu einer Aktivierung der T-Zelle, wenn dieselbe Antigenpräsentierende Zelle gleichzeitig costimulierende Faktoren exprimiert. Dazu zählen neben löslichen Zytokinen auch direkte Rezeptor-Ligand-Beziehungen zwischen T-Zelle und APC. Beide sind wesentlich für die Entwicklung spezifischer T-Zell-Effektorpopulationen. So findet man auf der Oberfläche von APC zwei strukturell verwandte Glykoproteine, B7.1 (CD80) und B7.2 (CD86). Deren Rezeptor auf der T-Zelle ist CD 28, dessen Bindung mit B7.1 eine T_H1-Entwicklung fördert, während eine Bindung mit B7.2 zu einer T_H2-Differenzierung führt (Freeman et al. 1995).

Die entscheidenden Faktoren aber, die die Entwicklung der T_H-Zelle beeinflussen, sind die löslichen Zytokine. So entwickeln sich naive T-Zellen, erstmalig stimuliert, in Gegenwart von IL-12 und IFN-γ zu T_H1-Zellen. Da diese selbst diese Zytokine produzieren, verstärken sie ihre eigene Entwicklung und hemmen gleichzeitig die Entwicklung der T_H2-Zellen, deren Proliferation durch INF-γ gehemmt wird. Dagegen entwickeln sich T_H-Zellen in der Gegenwart von IL-4 und IL-6 zu T_H2-Zellen. Auch hier verstärkt sich diese Reaktion selbst und hemmt gleichzeitig die Entwicklung des Gegenspielers T_H1.

Daraus folgt, dass eine bestimmte Untergruppe, wird sie im Laufe der Immunantwort gebildet, die Entwicklung der jeweils anderen unterdrückt, so dass die Polarisierung der Immunantwort verstärkt wird. In vivo gibt es jedoch häufig Situationen, bei denen beide Abwehrformen nebeneinander auftreten (Agnello et al. 2003). Dieses T_H1/T_H2 System wurde ursprünglich nur für die CD3+CD4+ T-Helferzellen beschrieben. In späteren Publikationen konnte allerdings gezeigt werden, dass auch zytotoxische T-Zellen (CD3+CD8+) eine entsprechende funktionelle Dichotomie aufweisen und sich in Typ-1 und Typ-2-Zellen aufteilen lassen (Ochi et al. 2001).

1.2.2 Regulatorische T-Zellen

In den letzten Jahren wuchs das Wissen über eine weitere, an diesem Prozess beteiligte Zellpopulation: die regulatorischen T-Zellen (T_{reg}). Ihnen scheint eine Schlüsselrolle bei der Aufrechterhaltung der Immuntoleranz, sowohl gegen körpereigene als auch gegen körperfremde Allergene zuzukommen. Es werden zwei Typen unterschieden: die im Thymus reifenden natürlich vorkommenden T_{reg} und peripher induzierte, allergen-spezifische T_{reg} (Hawrylowicz, 2005). Marker von regulatorischen T-Zellen ist neben CD25, CD127 und FoxP3 (Sakaguchi, 2005) auch Neuropilin-1. Letzteres hatte man bislang nur auf Nervenzellen gefunden (Bruder et al. 2004).

Regulatorische T-Zellen sind in der Lage, auf direktem (über Zell-Zell-Interaktionen) oder indirektem (mittels Botenstoffen) Weg immunkompetente Zellen zu supprimieren. Dazu zählen auch die Zellen, die an der allergischen Reaktion beteiligt sind, wie Mastzellen oder Eosinophile. Inwieweit die Beeinflussung dieser Zellen, zusammen mit weiterem Wissen über ihre Entstehung und Funktionsweise, zur Entwicklung therapeutischer Konzepte beitragen kann, ist Gegenstand der aktuellen Forschung (Akdis et al. 2005).

1.2.3 Zytokine und Chemokine

Zytokine bzw. Chemokine sind Botenstoffe des Immunsystems, welche die Kommunikation der Zellen miteinander ermöglichen.

1.2.3.1 T_H1: IFN-γ, TNF-α, IL-2

Interferon-γ wird von T_H1 Zellen gebildet und fördert über einen positiven Rückkopplungsmechanismus deren Wachstum. Gleichzeitig hemmt es das Wachstum von T_H2-Zellen. Es spielt eine entscheidende Rolle bei der Abwehr von Vireninfektionen, indem es Makrophagen und zytotoxische T-Zellen stimuliert.

TNF-α wird hauptsächlich als Reaktion auf bakterielle Antigene ausgeschüttet, stimuliert die lokale Entzündungsreaktion und trägt so zur Eindämmung der Infektion bei. Es aktiviert das Gefäßendothel und erhöht dessen Permeabilität für IgG, Komplement und Entzündungszellen. Weiterhin aktiviert TNF-α Makrophagen, welche das eine breite antimikrobielle Aktivität besitzende NO ausschütten.

Interleukin-2 ist ein antigenunabhängiger Wachstumsfaktor für alle T-Zell-Populationen. Außerdem stimuliert es, zusammen mit weiteren Faktoren wie IL-4, das Wachstum aktivierter B-Zellen. IL-2 spielt somit eine wichtige Rolle bei der Auslösung erworbener Immunreaktionen.

1.2.3.2 T_H2: IL-4, IL-5, IL-10, IL-13

Interleukin-4 ist ein typisches T_H2-Zytokin, welches die Differenzierung naiver T_H-Zellen in diese Subpopulation fördert. Ferner hemmt es die Makrophagenaktivierung und stimuliert das

Wachstum der B-Lymphozyten und ihre Differenzierung zu IgG_4 und IgE produzierenden Plasmazellen. Dies führt zur Mastzelldegranulation und Histaminausschüttung. Dadurch spielt IL-4 vor allem bei der Abwehr von Parasiten und bei Allergien eine Rolle.

Interleukin-5 stimuliert stark Wachstum, Differenzierung und Aktivierung von Eosinophilen. Im Thymus fördert es die Erzeugung von zytotoxischen T-Zellen.

Interleukin-13 hemmt die Aktivität von Makrophagen und reduziert die Bildung proinflammatorischer Zytokine. IL-13 induziert ähnlich wie IL-4 das B-Zellwachstum und die IgE-Produktion.

Interleukin-10: Quellen dieses Zytokins bilden aktivierte Monozyten, B-und T-Zellen. Es wirkt hemmend auf die Synthese verschiedener Zytokine, wie IFN-γ und IL-2 der T_H1-Subpopulation der T-Zellen und wirkt somit regulatorisch auf die T-Zellproliferation. Außerdem hemmt es die Synthese von Entzündungsmakern wie IL-6 und IL-8.

1.2.3.3 Entzündungsmaker: TNF-α, IL-6, IL-8, MCP-1, Eotaxin, RANTES

Interleukin-6 wird von zahlreichen Zellen, z.B. Monozyten, Makrophagen, Mastzellen, T- und B-Zellen, aber auch Fibroblasten oder den Muskelzellen der Gefäße gebildet und als Reaktion auf bakterielle Endotoxine oder virale Infektionen ausgeschüttet. IL-6 ist wesentlich an der Akute-Phase-Reaktion beteiligt, es aktiviert T-Zellen und induziert mit IL-2 deren Differenzierung zu zytotxischen T-Zellen.

Interleukin-8: wirkt auf chemotaktisch auf alle bekannten Typen von Immunzellen, insbesondere auf neutrophile Granulozyten, bei denen es die Degranulierung auslöst. Außerdem antagonisiert es die IgE-Bildung der B-Zellen.

MCP-1 ist ein von Lungenepithelzellen, Endothelzellen und Monozyten produziertes Chemokin. Es wirkt chemotaktisch auf Monozyten.

Eotaxin zählt ebenfalls zu den Chemokinen und ist ein Aktivator eosinophiler Granulozyten.

RANTES wirkt chemotaktisch auf T-Zellen und induziert die Degranulation von Basophilen, führt also zur Freisetzung von Histamin. Es wird hauptsächlich von T-Zellen synthetisiert, aber auch von Atemwegsepithelzellen.

(Cytokine Oneline, 2003)

1.3 Die Allergie: Abwehr auf Abwegen

Allergische Reaktionen treten auf, wenn eine Person nach einem Kontakt mit einem eigentlich harmlosen Antigen IgE-Antikörper produziert hat. Wird sie erneut mit diesem Antigen, oder Allergen, konfrontiert, setzt es durch Aktivierung IgE-bindender Mastzellen die für Allergien typische Reaktionskette in Gang. Diese IgE vermittelte Überempfindlichkeitsreaktion vom Soforttyp entspricht dem Allergietyp I nach Coombs und Gell und wird häufig mit Allergie gleichgesetzt. Diese Definition soll auch im Folgenden benutzt werden.

IgE wirkt in bestimmten Fällen, insbesondere beim Befall mit Helminthen, wie sie in Entwicklungsländern sehr häufig ist, an der schützenden Immunität mit. In Industrienationen dagegen leiden große Teile der Bevölkerung unter IgE-vermittelten allergischen Symptomen. Erkrankungen, die zum Allergischen Formenkreis gehören sind beispielsweise allergische Rhinitis, allergisches Asthma und atopische Dermatitis. Diese sind zwar selten lebensbedrohlich, führen aber zu volkswirtschaftlichen Schäden. Zur Entwicklung einer Allergie tragen neben der genetischen Prädisposition (Atopie) auch Umweltfaktoren bei.

1.3.1 Epidemiologie

Die Prävalenz allergischer Erkrankungen wurde u. a. Ende der 90er Jahre in der ISAAC-Studie untersucht. Durch die Anwendung gleicher Befragungsmethoden in zahlreichen Ländern gelang es hierbei valide internationale Vergleiche anzustellen. Es konnte bei Sechsjährigen festgestellt werden, dass die Zentren mit den niedrigsten Prävalenzraten der atopischen Dermatitis gleich waren. Dagegen fanden sich die höchsten Häufigkeiten neben den Industrienationen auch in einigen südamerikanischen und afrikanischen Großstädten (Williams H et al. 1999).

In Deutschland war die Prävalenz allergischer Erkrankungen bei Personen, die vor 1960 geboren wurden im östlichen und westlichen Teil gleich (Heinrich et al. 1998). Danach nahm sie in Westdeutschland kontinuierlich zu und erreicht nun scheinbar ein Plateau (Zollner et al. 2005). In Ostdeutschland dagegen verzeichnet sich erst seit der deutschen Wiedervereinigung 1990 und dem damit verbundenen Angleich der Lebensstile ein stetiger Anstieg. Da die ost- und westdeutsche Bevölkerung genetisch relativ einheitlich ist, wird postuliert, dass die sich unterscheidenden Lebensstile zu diesem Unterschied in der Allergieprävalenz geführt haben. Es wird die Rolle zahlreicher Umweltfaktoren diskutiert: Veränderungen der Außenraumluft durch weniger Kohleheizungen, aber höherem Verkehrsaufkommen. Außerdem führte die verstärkte Isolation der Häuser und dichter schließende Fenster zu einer Ansammlung von Innenraumschadstoffen. Weiterhin bestehen Unterschiede bezüglich der frühkindlichen Exposition mit Keimen und Wurminfektionen (Heinrich et al. 2002).

1.3.2 Die Phasen der allergischen Immunantwort

Die allergische Immunantwort lässt sich in zwei Phasen untergliedern, die Sensibilisierungsphase und die Effektor- und Entzündungsphase.

In der ersten Phase lösen Allergene, die in den Körper eingedrungen sind eine T_H2-Antwort aus. Angeregt durch die Signale der Antigenpräsentierenden Zelle erkennen T_H2-Zellen das an der Oberfläche von B-Zellen präsentierte Antigen und induzieren in diesen mittels IL-4 und dem CD40-Liganden die Ausdifferenzierung zur Plasmazelle und die Produktion von antigenspezifischen IgG_4 und IgE. Letzteres zirkuliert im Körper und wird von hochaffinen Rezeptoren auf Mastzellen, basophilen Granulozyten und Eosinophilen gebunden, wodurch diese allergenspezifisch sensibilisiert werden und auch selbst IL-4 und den CD40-Liganden erzeugen und so die IgE-Produktion verstärken.

Zur Effektorphase kommt es bei einer erneuten Exposition mit dem Allergen. Dieses vernetzt das auf den Zellen gebundene IgE. Dadurch löst es eine Signalkaskade aus, an deren Ende die Freisetzung der in den zytoplasmatischen Granula der Mastzellen gespeicherten Mediatoren wie Histamin und die Bildung von Leukotrienen, Zytokinen und Chemokinen steht. Die klinische Manifestation der allergischen Reaktion wird von diesen Mediatoren geprägt: vorgefertigte oder schnell produzierte Botenstoffe wie Histamin und Prostaglandine lösen eine Sofortreaktion aus. Diese äußert sich z.B. in dem Anschwellen der Schleimhäute oder einem Bronchospasmus. Die Spätreaktion kann sich zu einer chronischen Entzündung, wie man sie beim Asthma bronchiale beobachten kann, entwickeln. Sie wird durch Leukotriene, Chemokine und Cytokine hervorgerufen, die weitere Zellen wie Eosinophile und T_H2-Zellen zum Entzündungsherd locken.

1.4 Das kindliche Immunsystem: Die Lehrzeit

Schwangerschaft ist, aus immunologischer Sicht, eine inkompatible Organtransplantation, bei der das kindliche Gewebe sowohl mütterliche als auch väterliche Merkmale aufweist. Daher ist es für den Erfolg der Schwangerschaft essentiell, dass der mütterliche Organismus zytolytische und zytotoxische Reaktionen, wie sie über T_H1-Zellen vermittelt werden, unterdrückt und sich im Uterus während der Schwangerschaft ein T_H2 geprägtes Milieu etabliert (Wegmann et al. 1993).

Aber auch die Entwicklung des kindlichen Immunsystems beginnt bereits in uteri. Dies erscheint wichtig und sinnvoll, denn das Kind muss unmittelbar nach seiner Geburt auf die verschiedensten, harmlosen oder gefährlichen, Umweltantigene mit Abwehr oder Toleranz reagieren können. Diese frühe Immunantwort ist T_H2-geprägt, möglicherweise aufgrund der T_H2-lastigen Umgebung in uteri. Spätestens in der 15. bis 20. Schwangerschaftswoche sind die zentralen Komponenten des adaptiven Immunsystems soweit ausgereift, dass sie in der Lage wären, auf Antigenreize spezifisch zu reagieren. Tatsächlich produzierten kultivierte Nabelschnurlymphozyten von Neugeborenen wurminfizierter, kenianischer Mütter - im Gegensatz zu Neugeborenen nordamerikanischer Mütter - spezifisches, gegen Wurmantigen gerichtetes IgE (King et al. 1998). Betrachtet man die Population industrialisierter Länder, konnte auch hier eine allergenspezifische Immunantwort der mononukleären Zellen im Nabelschnurblut nachgewiesen werden, und zwar sowohl für inhalative als auch für Nahrungsmittelallergene (Szepfalusi et al. 1997; Van Duren-Schmidt et al. 1997). In einer schwedischen Studie schließlich wurde an Kindern mit atopischer Familienanamnese nachgewiesen, dass eine Exposition der Mutter in der Schwangerschaft mit hohen Dosen an Birkenpollen mit einem gesteigerten Risiko der Sensibilisierung des Kindes einhergeht. Noch stärker aber waren die Kinder sensibilisiert, die nach ihrer Geburt den Pollen ausgesetzt waren (Kihlstrom et al. 2003).

Nach der Geburt nimmt die Fähigkeit zur T_H1-Immunantwort normalerweise zu, bis sich etwa im Alter von 4-5 Jahren ein ausgeglichenes T_H1/T_H2-Gleichgewicht eingestellt hat. Bei Kindern, die später unter Allergien leiden, entwickelt sich diese T_H1-Antwort zum einem langsamer und zum anderen auch von einem niedrigeren Niveau ausgehend, denn diese Kinder kommen beispielsweise mit einem erniedrigten IFN-γ-Spiegel zur Welt. Dieser Mangel an einem potenten T_H2-Inhibitor fördert die T_H2-Entwicklung, während die T_H1-Differenzierung unterdrückt wird (Prescott et al. 1999). Daher könnte eine T_H2-Dominanz bestehen bleiben.

1.5 Einflussfaktoren: Freund und Feind

1.5.1 Genetik

Es ist mittlerweile unstrittig, dass allergische Erkrankungen familiär gehäuft auftreten. So haben Kinder und Geschwister von Allergikern ein deutlich höheres Risiko, an Allergien zu erkranken als Kinder aus nicht allergischen Familien (Wahn, 2000). Monozygote Zwillinge haben, wenn ihr Zwilling bereits erkrankt ist, ein höheres Risiko, an einer Allergie zu erkranken als dizygote Zwillinge (Skadhauge et al. 1999). Die Multicenter Atopy Study (MAS) zeigte diesen Zusammenhang sehr eindrücklich auf: Kinder mit atopischer Familienanamnese wurden von ihren Eltern zur Vermeidung einer Sensibilisierung länger gestillt bzw. mit hypoallergener Nahrung gefüttert, es wurde weniger geraucht und weniger Haustiere gehalten, wenn eine Allergie gegen Tiere vorlag. Trotzdem war die Prävalenz allergischer Erkrankungen bei Kindern mit positiver gegenüber Kindern mit negativer Familienanamnese deutlich erhöht (Bergmann et al. 1994).

Obwohl der Zusammenhang zwischen Genetik und Allergie sehr eng ist, die genetische Prädisposition den bedeutendsten Risikofaktor einer allergischen Erkrankung darstellt, werden die meisten Kinder, die in ihren ersten Lebensjahren eine atopische Dermatitis oder Asthma entwickeln in Familien geboren in denen atopische Erkrankungen bis dato nicht aufgetreten sind (Wahn, 2000). Auch kann die Genetik allein die Zunahme allergischer Erkrankungen innerhalb der letzten Jahrzehnte nicht erklären, da das Genom sich in so kurzer Zeit nicht wesentlich verändert haben kann. Daraus folgt die Frage, welche weiteren -umweltbedingten- Faktoren die Manifestation einer atopischen Erkrankung beeinflussen.

1.5.2 Umweltfaktoren

Angesichts der sich in den letzten Jahrzehnten in der westlichen Welt rasant ändernden Lebensumstände liegt es nahe, diese auf ihre Wirkungen auf das Immunsystem zu prüfen. Es wurden zahlreiche Umweltfaktoren beschrieben, die einen Einfluss auf das Immunsystem haben. Dabei können Stoffe aus der Umwelt selbst als Allergene (z.B. Pollen) bzw. Haptene (d. h. niedermolekulare Stoffe, die an hochmolekulare Carrier gebunden werden und so die Antikörperbildung auslösen können) wirken, als adjuvante Faktoren die Manifestation einer allergischen Erkrankung fördern (z.B. Tabakrauch) oder als Triggerfaktoren die Reaktion des Körpers auf Allergene verändern (z.B. Infektionen).

1.5.2.1 Exposition mit Allergenen

Eine frühe Exposition mit möglichen Allergenen erhöht das Risiko einer Sensibilisierung. So schützt ausschließliches **Stillen** über vier bis sechs Monate, was die Exposition mit Fremdeiweißen vermeidet, vor allergischen Manifestationen, zumindest in der frühen Kindheit (Becker, 2005).

In einer finnischen Studie gelang es zu zeigen, dass Kinder, die im Winter (Dezember-Februar) geboren wurden in stärkerem Maß auf Gräserpollen sensibilisiert waren. Dagegen reagierten Kinder, die im Herbst (August-November) geboren wurden verstärkt auf Innenraumallergene wie Hausstaubmilben und Tierhaare. Dies wurde damit erklärt, dass in den ersten drei Lebensmonaten offenbar ein Zeitfenster besteht in dem die Kinder gegen die in dieser Zeit vorhandenen Allergene sensibilisiert werden (Koning et al. 1996). Daraus schlussfolgernd scheint der **Geburtsmonat** einen Einfluss auf die Sensibilisierung gegen verschiedenartige Allergene zu haben. Weiterhin konnte in der MAS-Studie ein dosisabhängiger Zusammenhang zwischen der Exposition mit Hausstaubmilben- und Katzenallergenen und dem Sensibilisierungsrisiko gezeigt werden.

Wenn man allerdings nicht die Sensibilisierung, sondern die Manifestation allergischer Erkrankungen betrachtet ist die Situation weniger klar und die Frage, ob Allergenexposition atopische Dermatitis oder Asthma induziert, ist umstritten. Aber auch wenn sich herausstellen sollte, dass Expositionsreduktion zur Primärprävention ungeeignet ist, wird die Vermeidung der Allergene wohl weiterhin ein wichtiges Mittel sein, um bei atopischen Personen Manifestationen zu verringern (Lau et al., 2000; Wahn, 2000).

1.5.2.2 Adjuvante Faktoren

Obwohl eine Person, um eine Allergie zu entwickeln mit einem Allergen exponiert sein muss und sich durch die Vermeidung bestimmter Allergene eine allergenspezifische Sensibilisierung vermeiden lässt, wird hierdurch meist nicht die langfristige T_H2-Polarisierung verhindert. Tatsächlich wirken auch die meisten Faktoren, die bekanntermaßen eine Sensibilisierung fördern oder eine Allergie triggern nicht selbst als Allergene, sondern vermitteln eher adjuvante Effekte. Bjorksen beschreibt als solche Trigger Luftschadstoffe wie SO_2, NO_x oder Ozon, Tabakrauch und flüchtige organische Verbindungen (engl. volatile organic compounds, VOC). Es ist unklar, wie diese Faktoren wirken. Vermutet wird, dass sie eine entzündliche Reaktion in den Atemwegen auslösen, die die Penetration von Allergenen erleichtert (Bjorksten, 1994).

Luftschadstoffe wie SO_2, NO_x, Benzol oder Ozon aus Verkehr und Industrie werden zwar für eine verstärkte Reizung der Atemwege und für ein erhöhtes Risiko an Bronchitis zu erkranken verantwortlich gemacht, allerdings scheint dies nicht mit einem erhöhten Risiko für allergische Erkrankungen verbunden zu sein (Ramadour et al. 2000).

Für die Exposition mit **Tabakrauch** dagegen konnte in der MAS-Studie gezeigt werden, dass dreijährige Kinder, deren Mütter in der Schwangerschaft und auch nach der Geburt geraucht hatten, vermehrt gegen Nahrungsmittelallergene sensibilisiert waren. Dies traf aber nicht für inhalative Allergene zu (Kulig et al. 1999). Weiterhin steigert vor allem mütterliches Rauchen

die Inzidenz und Anfallshäufigkeit von Wheezing (pfeifender Atmung) in der frühen Kindheit, wobei die Effekte auf viral bedingte Atemnotanfälle stärker sind als auf atopisch bedingte. Die Inzidenz von Asthma im Schulalter war weniger stark mit elterlichem Rauchen assoziiert. Dies mag daran liegen, dass die Kinder, wenn sie älter werden, weniger dem Tabakrauch zu Hause ausgesetzt sind, weil sie beispielsweise in der Schule sind. Allerdings hatten atopische Kinder häufigere und klinisch schwerere Asthmaanfälle, wenn die Eltern rauchten. Dieses scheinbare Paradox, das Rauchen der Eltern in der frühen Kindheit das nicht-atopische Wheezing steigert, in der späteren Kindheit aber die Schwere von (atopischen) Asthmaanfällen, lässt sich vielleicht dadurch erklären dass Rauchen, wie schon die Außenluftschadstoffe, auf die Atemwege eher als reizender denn als sensibilisierender Faktor wirkt (Strachan und Cook, 1998).

Als weiterer Faktor wird die Belastung mit **Schimmelpilzsporen**, wie sie in feuchten Wohnungen typisch sind, angegeben. Dies führt zu einer verstärkten Sensibilisierung gegenüber Katzen, Hausstaubmilben und Beifußpollen. (Schafer et al. 1999). Bei Allergierisikokindern war eine Belastung mit Schimmelpilzen mit einem in Richtung T_H2 verschobenen Zytokinpofil, d.h. einer verminderten T_H1-Reaktivität verbunden (Muller et al. 2002).

Auch die Belastung mit **flüchtigen organischen Verbindungen** (VOC), eine inhomogene Gruppe von Verbindungen, die von Baumaterialien wie Dämmmaterial, Farben, Lacken, Teppichen und Klebern, aber auch Waschmitteln und Kosmetika freigesetzt werden, konnte als Risikofaktor identifiziert werden. Eine Exposition der Mutter mit diesen Verbindungen in der Schwangerschaft, wie es beim Renovieren geschieht, führte zu einem veränderten Zytokinmuster der T-Lymphozyten im Nabelschnurblut. (Lehmann et al. 2001; Lehmann et al. 2002).

1.5.2.3 Protektive Lebensstilfaktoren

Eine zweite Strategie der Allergieprävention besteht – im Gegensatz zur Vermeidung potentieller Allergieauslöser – darin, die Kinder unter Bedingungen aufwachsen zu lassen, die das Risiko einer Allergieentwicklung verringern.

In diesem Zusammenhang ist die Hygienehypothese wichtig. Strachan postulierte 1989, dass eine verminderte Stimulation des Immunsystems durch **Infektionen** durch größere Hygiene prädisponierend für Allergien wirkt. Ältere **Geschwister**, die mit im Haushalt leben, wirken dagegen stark protektiv (Strachan, 1989). Kinder, die keine älteren Geschwister haben, aber in einer Kindereinrichtung, beispielsweise einem **Kinderkrippe** waren, zeigten eine geringere Reaktivität im Prick-Test, wobei die Allergieprävalenz bei Kindern, die in sehr jungen Alter (6-11 Monate) mit dem Kindergartenbesuch begannen, gegenüber Kindern deren Eintritt in

die Kinderkrippe zu einem späteren Zeitpunkt erfolgt war, vermindert war (Kramer et al. 1999). Beides, sowohl das Vorhandensein von älteren Geschwistern als auch der Kontakt zu anderen Kindern in der Kinderkrippe ist mit einer höheren Übertragungsrate von Infektionserregern und anderen Keimen verbunden (Marbury et al., 1997). Um einen protektiven Effekt zu gewährleisen, muss es aber offenbar nicht zu einer manifesten Infektionserkrankung kommen, allein der Kontakt zu bakteriellen Bestandteilen wie **Endotoxin** scheint ausreichend zu sein. So war bei gesunden zweijährigen Kindern, die einer hohen Endotoxinkonzentration ausgesetzt waren, der Anteil an T_H1-Zellen erhöht. Die Endotoxinkonzentration ist erhöht in Haushalten, in denen Katzen, Hunde oder landwirtschaftliche Nutztiere gehalten werden (Bolte et al. 2002). Dementsprechend konnte auch gezeigt werden, dass Studenten, die in ihren ersten Lebensjahren auf einem **Bauernhof** gelebt hatten, ein sehr viel geringeres Risiko für Asthma und Sensibilisierung gegen verschiedene Allergene hatten (Kilpelainen et al. 2002). Dabei hat ein möglichst früher Aufenthalt in Ställen, d. h. im ersten Lebensjahr, den größten protektiven Effekt. Das Trinken nicht-pasteurisierter Milch spielt ebenfalls eine Rolle (Riedler et al. 2001).

In vielen Fällen ist **Frühgeburtlichkeit** eine Folge intrauteriner bakterieller Infektionen. Dies könnte in diesem Konzept erklären, dass Frühgeborene mit sehr geringem Geburtsgewicht (<1500g) eine niedrigere Prävalenz des atopischen Ekzems hatten als Reifgeborene (Buhrer et al. 1999).

Ein weiterer, quantitativ wichtiger Stimulator des kindlichen Immunsystems ist die intestinale Mikroflora. So konnten in epidemiologischen Studien charakteristische Unterschiede in der Darmflora bezüglich Lactobacillus Spezies und Anaerobiern von Kindern mit und ohne Allergie gefunden werden. Bei dem Vergleich schwedischer mit estnischen Kindern zeigte sich, dass die **Darmflora** letzterer vermehrt Lactobacillen und weniger Clostridien beinhaltet, was mit weniger atopischen Erkrankungen assoziiert war (Sepp et al. 1997). In einer finnischen Studie hatten Kinder mit Milchallergie und atopischer Dermatitis mildere Symptome, wenn ihre Säuglingsmilch mit Lactobacillen angereichert wurde (Majamaa und Isolauri, 1997).

1.5.2.4 Stress

Wie bereits eingangs beschrieben gilt auch Stress als Risikofaktor für die Entwicklung einer Allergie. Er kann das Immunsystem auf verschiedenen Wegen beeinflussen. Die Aktivierung des Sympathikus führt zu einer Ausschüttung von Katecholaminen (Adrenalin, Noradrenalin), die Aktivierung der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrindenachse zu einer Freisetzung von Clucocorticoiden (z.B. Cortisol). Für beide Mediatoren konnte nachgewiesen werden, dass sie durch Hemmung der T_H1-Zytokinproduktion die zelluläre Immunantwort

supprimieren und durch einen Shift zu T_H2-Zytokinen allergische Reaktionen unterstützen (Malarkey et al. 2002).

So konnte gezeigt werden, dass Medizinstudenten unter Examensstress weniger IFN-γ und vermehrt IL-10 produzierten. Dies begünstigt eine allergische Reaktionslage (Marshall, Jr. et al. 1998). Der Anteil der einzelnen Subpopulationen immunkompetenter Zellen und deren Zytokinproduktion unterschieden sich vor und unmittelbar (innerhalb von 24-48h) nach dem Examen (Uchakin et al. 2001). Außerdem zeigten examensgestresste Studenten eine verminderte Antikörperantwort nach Hepatitis-B-Impfungen. Allerdings war die Impfreaktion sozial gut integrierter Studenten stärker als die ihrer unter Einsamkeit leidender Kommilitonen (Glaser et al. 1992). In einer weiteren Studie konnte an Kindern gezeigt werden, dass positive Lebensereignisse dem durch negative Ereignisse hervorgerufenen Anstieg von Asthmaanfällen entgegenwirkten, allerdings nur solange sie keinem zu hohen Maß an chronischen Stress ausgesetzt waren (Sandberg et al. 2002).

Zusammenhänge zwischen Stress und Immunreaktivität bzw. allergischer Erkrankungen wurde für verschiedene stressende Erlebnisse (*engl. stressful life events*) untersucht. So konnte für Kinder ein Zusammenhang zwischen Migration bzw. Scheidung der Eltern und dem vermehrten Auftreten allergischer Erkrankungen festgestellt werden (Anderzen et al. 1997; Bockelbrink et al. 2006). Die Beschäftigung mit Videospielen war mit höheren Neuropeptidspiegeln und einem T_H2-Profil assoziiert (Kimata, 2003b). Weitere in der Literatur beschriebene Stressoren stellen Erkrankung und Tod eines Angehörigen, Arbeitslosigkeit der Eltern und die damit verbundene relative Armut sowie innerfamiliäre Konfliktsituationen dar (Bockelbrink et al. 2006; Gustafsson et al. 2002).

1.6 Die Neuropeptide: Botschafter zwischen den Systemen

Neben den klassischen neuronalen Mediatoren wie Katecholaminen und Glucocortikoiden gibt es eine Reihe peptiderger Botenstoffe, die Neuropeptide. Sie haben ausgeprägte Effekte auf die verschiedensten Zellen, z.B. Drüsenzellen, Gefäßmuskelzellen oder Zellen des Immunsystems. Da sie die Wirkung anderer Neurotransmitter graduell unterstützen oder hemmen können, das heißt neuromodulatorisch wirken, nehmen sie eine Zwischenstellung zwischen Hormonen und reinen Neurotransmittern ein. Zusammengefasst werden sie als **N**icht-**A**drenerges, **N**icht-**C**holinerges (NANC) System bezeichnet. Dies unterteilt sich in zwei, in Bezug auf ihrer Wirkung auf die Bronchialmuskulatur, divergente Gruppen, das exzitatorische NANC-System (e-NANC) und das inhibitorische NANC-System (i-NANC) (Widdicombe, 1998).

Unsere Untersuchungen beschränken sich auf die Neuropeptide Substanz P, Somatostatin und Vasoaktives intestinales Peptid.

1.6.1 Substanz P (SP)

Substanz P ist ein aus 11 Aminosäuren bestehendes Peptid und gehört zur Familie der Tachykinine (oder Neurokinine), welche den pro-inflammatorischen e-NANC Mediatoren zugeordnet werden. Zu dieser Gruppe wird auch Neurokinin A gezählt. Zunächst wurde SP als Neurotransmitter von Schmerzrezeptoren und schmerzleitender C-Fasern angesehen (daher der Buchstabe P für *pain* (engl.) „Schmerz"). SP konnte auch in atemwegs-projizierenden Neuronen nachgewiesen werden, welche Blutgefäße, Bronchialmuskulatur und Epithel inervieren. Aber nicht nur Nervenzellen, sondern auch Zellen des Immunsystems wie Lymphozyten, Makrophagen, dentritische Zellen und Eosinophile können Tachykinine produzieren. Das bedeutet, dass nicht nur nervale Reize, sondern auch Immunstimuli die Freisetzung von Substanz P steigern können (Joos et al. 2000).

Es wurden drei Tachykininrezeptoren (Neurokininrezeptoren NK_1-NK_3) beschrieben, an die alle Tachykinine binden können, wenn auch mit unterschiedlicher Präferenz. Diese Rezeptoren finden sich außer auf Epithelzellen, Drüsen, Gefäß- und Bronchialmuskulatur auch auf Zellen des Immunsystems wie T-Lymphozyten und Makrophagen (Maggi, 1997). Substanz P bindet bevorzugt an NK_1 (Joos et al. 2000).

Wird Substanz P freigesetzt, bewirkt es eine Vasodilatation und die Permeabilität der Gefäße wird gesteigert (Verleden, 1996). Ferner induziert SP die Schleimsekretion der Becherzellen und erhöht den Tonus der Bronchialmuskulatur, wenn auch weniger stark als Histamin oder Acetylcholin. Neben diesen Effekten potenziert sie auch die zielgerichtete Einwanderung von Leukozyten, Neutrophilen und Eosinophilen in entzündetes Gebiet.

Tachykinine haben vielfältige immunmodulatorische Effekte. So kann SP die Degranulation von Mastzellen durch die Freisetzung von Histamin und TNF-α auslösen. Ferner steigert es die antikörperabhängige Zytotoxizität und die Freisetzung von Superoxiden und IL-8 durch Makrophagen (Maggi, 1997) und hemmt die Freisetzung von Somatostatin (Blum et al. 1998). Bei T_H-Lymphozyten bewirkt Substanz P eine Steigerung der IL-2- und IFN-γ-Produktion, inhibiert also die T_H-2 Entwicklung (Lambrecht, 2001).

1.6.2 Somatostatin (SOM)

Somatostatin ist ein weit verbreitetes Neuropeptid, dessen aktive Formen aus 14 bzw. 28 Aminosäuren bestehen. Beide Formen werden von den verschiedenen Geweben in unterschiedlichen Anteilen exprimiert, wirken aber ähnlich. Ganz allgemein betrachtet hat SOM einen hemmenden Effekt auf eine Vielzahl physiologischer Funktionen. Beispielsweise inhibiert es die Freisetzung des Wachstumshormons in der Hypophyse oder von Insulin und Glucagon aus dem Pankreas. Im ZNS wirkt es als Neurotransmitter und auch neuromodulatorisch.

Es wurden fünf Rezeptoren für Somatostatin beschrieben, die sich sowohl im Gehirn, auf endokrinen und exokrinen Drüsenzellen als auch auf allen Zellen des Immunsystems finden.

Betrachtet man den immunologischen Aspekt der Somatostatinwirkungen, so hemmt es die Freisetzung von Immunglobulinen durch B-Zellen, von inflammatorischen Mediatoren durch Basophile und Monozyten. Außerdem reduziert es die Aktivität von Natürlichen Killerzellen und Makrophagen. Weiterhin ist Somatostatin in die Entwicklung der T_H-Zellen involviert indem es die Sekretion von IL-4 und IL-10 fördert und von INF-γ hemmt, also die T_H-2 Entwicklung fördert (Krantic, 2000; Levite, 1998).

1.6.3 Vasoaktives Intestinales Polypeptid (VIP)

VIP ist ein aus 28 Aminosäuren bestehendes Peptid, das zunächst im Gastrointestinaltrakt aufgrund seiner vasodilatierenden Effekte gefunden wurde. Es wird, wie auch Neuropeptid Y, NO oder auch endogene Opioide, zum inhibitorischen Teil des NANC-Systems gerechnet. VIP-haltige Nervenfasern finden sich außer im Gastrointestinaltrakt auch in der Haut und in den Atemwegen. Dort innervieren sie die glatte Muskulatur der Gefäße und Luftwege und Drüsenzellen. Es wird durch die Neutrale Endopeptidase rasch inaktiviert (Verleden, 1996).

VIP ist der stärkste endogene Bronchodilatator, wobei diese Wirkung unabhängig von adrenergen oder cholinergen Cyclooxigenasen ist und mit der Größe der Atemwege abnimmt. Ebenso nimmt auch der vasodilatierende Effekt ab. Dies ist konsistent mit der Verteilung der VIP-positiven-Nervenfasern.

Die immunmodulierenden Effekte von VIP sind im Wesentlichen antiinflammatorischer, inhibierender Natur. So inhibiert es die Mediatorfreisetzung von Mastzellen und

Makrophagen und die entzündungsfördernden Effekte von T_H-Lymphozyten wenn es an deren VIP-Rezeptoren (VPAC1 oder VPAC2) bindet (Groneberg et al. 2004; Verleden, 1996). VIP wird auch von Immunzellen selbst produziert, nämlich von T_H2-Lymphozyten (Delgado und Ganea, 2001) und fördert deren Differenzierung an vielfältigen Stellen indem es die Differenzierung der T_H-Zellen beeinflusst. Beispielsweise induziert es die Expression des B7.2 Moleküls auf der Oberfläche von Makrophagen und dentritischen Zellen. Weiterhin hemmt es die Produktion von IL-12 durch aktivierte Makrophagen, welches die T_H1-Entwicklung fördert (Pozo und Delgado, 2004).

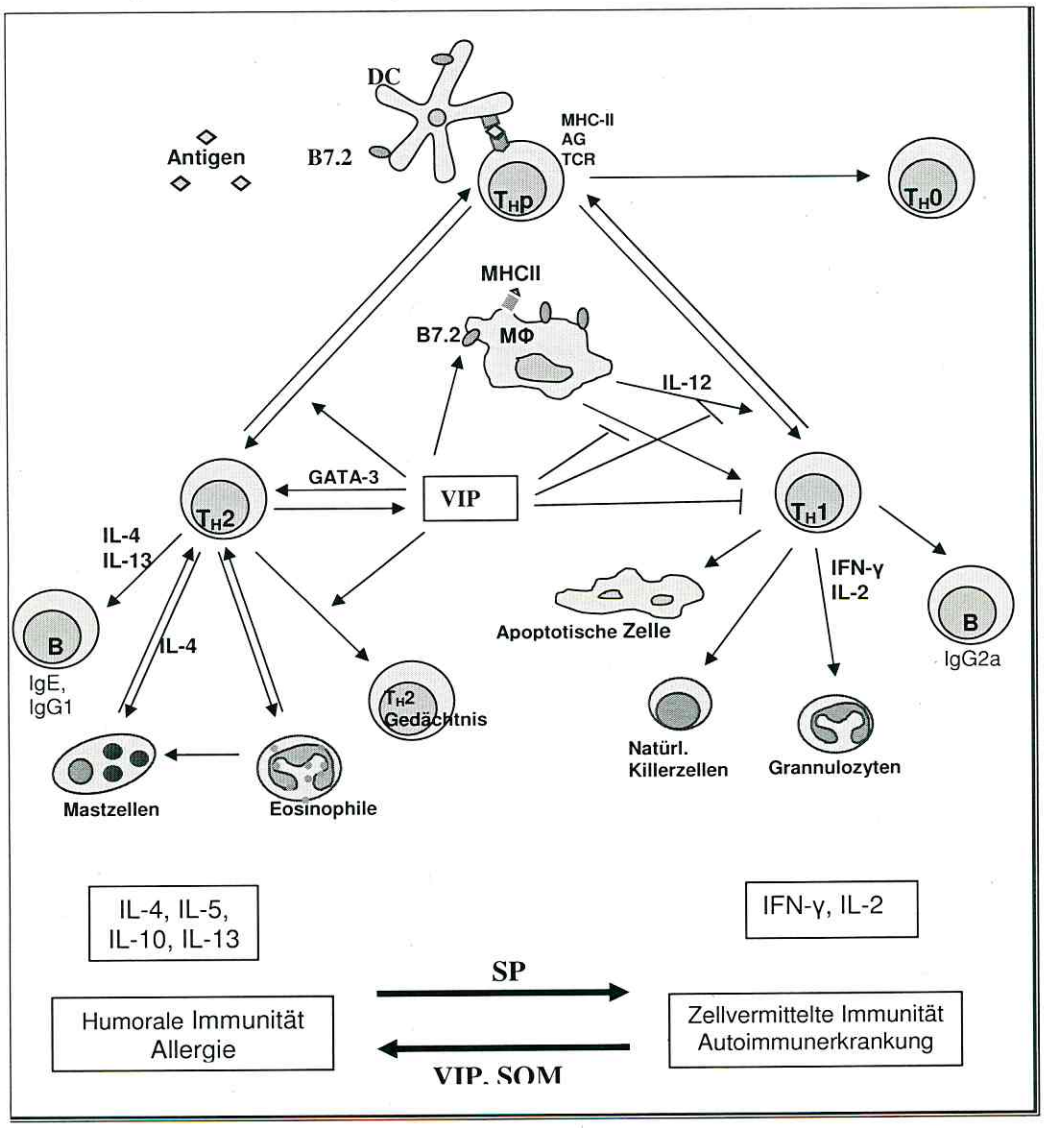


Abbildung 1: Effekte der Neuropeptide auf die Aktivierung und Differenzierung von T_H-Zellen am Beispiel von VIP. Modifiziert nach (Delgado, 2003)

1.7 Zielstellung

Ziel dieser Arbeit ist die Analyse des Zusammenhangs zwischen psychsozialen Stessfaktoren, humoralen Stressmediatoren und Immunsystem im Kindesalter. Als Stressmediatoren sollen die Neuropeptide VIP, Somatostatin und Substanz P untersucht werden. Marker für die Immunreaktivität der Kinder sind die Konzentration verschiedener Zytokine und Chemokine (IFN-γ, TNF-α, Il-2, IL-4, IL-5, IL-10, IL-13, IL-6, IL-8, MCP-1, Eotaxin und RANTES) im Vollblutassay, der Anteil zytokinproduzierender T-Zellen (CD3+, CD4+, CD8+) und die allergische Sensibilisierung. Es soll der Zusammenhang zwischen diesen Parametern und der Neuropeptidkonzentration untersucht werden. Weiterhin soll der Zusammenhang zwischen stressenden Lebensereignissen, lebensstilabhängigen und sozioökonomischer Faktoren einerseits und Neuropeptidkonzentration, T_H1/T_H2-Balance und dem Risiko einer allergischen Sensibilisierung andererseits betrachtet werden. Neben den aus der Literatur bekannten stressenden Lebensereignissen wie Scheidung der Eltern, Umzug, Bildschirmzeit und Erkrankung bzw. Tod eines Angehörigen soll in dieser Arbeit auch ein möglicher Effekt der Einschulung untersucht werden. Als soziale Faktoren wurden die Anzahl der Geschwister, der Besuch einer Kindereinrichtung, Einkommen und Arbeitslosigleit gewählt.

Diese Arbeit soll dazu beitragen, durch die Aufdeckung immunologisch sensibler Lebensphasen bzw. –Situationen, die Entwicklung und Modifikation von Präventionsstrategien und Therapiekonzepten zu ermöglichen.

2 Probanden, Material und Methoden

2.1 Probanden: Die LISA-Studie

Bei den untersuchten Kindern handelt es sich um Probanden einer bestehenden Geburtskohorte, die zwischen Dezember 1997 und Januar 1999 im Rahmen der LISA-Studie rekrutiert wurden. Diese Studie wurde ins Leben gerufen, um Unterschiede bezüglich des Auftretens von atopischen Erkrankungen zwischen Ost- und Westdeutschland, die sich in zahlreichen Studien gezeigt hatten, näher zu beleuchten. Weiterhin sollte geklärt werden, welche der Faktoren, welche die Entwicklung des frühkindlichen Immunsystems prägen, Einfluss auf die Entstehung atopischer Erkrankungen haben. Für diese Kinder liegen bereits Untersuchungsergebnisse und Beobachtungen zwischen Geburt und sechstem Lebensjahr vor, vor allem Messungen zellulärer und humoraler Immunparameter, aber auch Fragebogenerhebungen. Gefragt wurde nach kindlichen Expositionen wie z.B. Geschwisterzahl, Wohnungsausstattung, Renovierungsarbeiten, Passivrauchen, Kinderkrippenbesuch oder Haustierhaltung, sozialem Status der Eltern und nach dem Auftreten von Symptomen atopischer Erkrankungen. Außerdem wurden in den Wohnungen der Kinder flüchtige organische Verbindungen (VOC), und Schimmelpilz-, Katzen- und Milbenallergenbelastung gemessen. Im sechsten Lebensjahr der Kinder wurde diese Studie erweitert: „LISAplus - Einfluss von Lebensbedingungen und Verhaltensweisen auf die Entwicklung von Immunsystem und Allergien im Ost-West-Vergleich plus Einfluss von Luftverunreinigungen und Genetik“. Es sollte zusätzlich untersucht werden, welche genetische Prädispositionen für Asthma und atopisches Ekzem nachgewiesen werden können und ob diese Schadstoff- und Allergeneffekte modifizieren. Außerdem sollte der Einfluss sozialer Faktoren und der Schadstoffexposition in der Innen- und Außenraumluft auf zelluläre Immunparameter und Entzündungsparameter untersucht werden. Diese Studie, die vom Bundesministerium für Umwelt gefördert wurde, fand in Zusammenarbeit folgender Studienzentren statt:

- Leipzig: UFZ-Umweltforschungszentrum Leipzig-Halle,
    - Department Umweltimmunulogie, Leiterin: Dr. Irina Lehmann
    - Department Expositionsforschung und Epidemiologie, Leiter: Prof. Dr. Olf Herbarth
- München: GSF-Forschungszentrum für Umwelt und Gesundheit, Institut für Epidemiologie, Leiter: Prof. Dr. Dr. H.-Erich Wichmann
- Düsseldorf: IUF-Institut für Umweltmedizinische Forschung, Arbeitsbereiche Epidemiologie und Partikelforschung, Leiter: PD Dr. Ursula Krämer

Eine Kooperation findet mit folgenden Zentren statt:

Kooperationszentren für die Untersuchung der Kohorte:

- Leipzig: Klinik für Kinder und Jugendmedizin, Städtisches Klinikum „St. Georg" Leipzig, Akademisches Lehrkrankenhaus der Universität Leipzig, Leiter: PD Dr. Michael Borte
- München: Arbeitsgruppe Allergologie, Kinderklinik und Poliklinik der TU München und der LVA Oberbayern, Leiter: Prof. Dr. C. P. Bauer
- Wesel: Forschungsinstitut zur Prävention von Allergien und Atemwegserkrankungen der Abteilung für Kinder- und Jugendmedizin am Marienhospital Wesel, Leiter: Dr. A. v. Berg
- Bad Honnef: Praxis für Kinder- und Jugendmedizin, Leiterin: Dr. Beate Schaaf

Kooperationszentren für die Untersuchung bestimmter Expositions- und Wirkungsmaße:

- TMU Derma: Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie - am Biederstein - der Technischen Universität München, Leiter: Prof. Dr. DR. Johannes Ring
- ZAUM: Zentrum für Allergie und Umwelt an der Klinik für Dermatologie und Allergologie der Technischen Universität München, Leiterin: Prof. Heidrun Behrendt
- LMU Immunologie: AG „Pädiatrische Immunologie", Forschungszentrum Kubus der Kinderklinik und Kinderpoliklinik am Dr. v. Haunerschen Kinderspital der LMU München, Leiterin: Dr. Susanne Krauss-Etschmann
- Sozialmedizin Lübeck: Institut für Sozialmedizin, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Lübeck, Leiter: Prof. Dr. Torsten Schäfer

Die zuständigen Ethikkommisionen und Datenschutzbeauftragten stimmten dem Studienprotokoll zu.

Um eine möglichst homogene Studienpopulation zu erhalten, wurden Frühgeborene, Kinder mit postnatalen Erkrankungen, angeborenen Fehlbildungen oder chronischen Erkrankungen der Mutter und auch Kinder nichtdeutscher Abstammung ausgeschlossen. Die vorliegende Arbeit bezieht sich auf 321 Leipziger Kinder, bei denen im sechsten Lebensjahr Blutproben gewonnen wurden. Außerdem erhielten die Eltern zwei Fragebögen in denen allgemeine bzw. soziale Lebensumstände erfragt wurden und Passivraumluftsammler zur Messung flüchtiger organischer Verbindungen im Wohn- und Kinderzimmer. In der Sprechstunde wurde zusätzlich die Haut der Kinder untersucht und bei Anzeichen atopischer Dermatitis ein Prick-Test durchgeführt. Die Teilnahme an der Studie war freiwillig. 567 Eltern waren zum Ausfüllen des Fragebogens zum allgemeinen Lebensstil bereit, 490 beantworteten den Sozialfragebogen. 324 Eltern bewilligten die Blutabnahme bei ihrem Kind. Allerdings konnte in einigen Fällen kein bzw. nicht genug Blut gewonnen werden. So erklären sich unterschiedliche Fallzahlen für einige Parameter.

2.2 Material

2.2.1 Blutproben

Die Kinder wurden in ihrem 6. Lebensjahr zu einem Untersuchungstermin in die Studienambulanz im Klinikum St. Georg, Leipzig, eingeladen. Im Anschluss an eine klinische Untersuchung, bei der insbesondere auf Anzeichen atopischer Dermatitis geachtet wurde, erfolgte nach Zustimmung der Eltern die venöse Blutabnahme. Da nicht immer genügend Blut für alle Untersuchungen gewonnen werden konnte, wurden in festgelegter Reihenfolge 4 ml Blut zur Gewinnung von Serum für die IgE Analyse, 6,5 ml Blut in heparinisierte Röhrchen für die intrazelluläre Zytokinfärbung, die Bestimmung der Neuropeptide und den Vollblutassay und 2 x 1,2 ml Blut in EDTA-Röhrchen für eine spätere genetische Untersuchung entnommen. Das Blut für die Zytokinbestimmungen und den Vollblutassay wurde nach maximal vierstündiger Lagerung bei Zimmertemperatur weiterverarbeitet, das abzentrifugierte Serum und das EDTA-Blut bei -20 °C bis zur weiteren Analyse gelagert.

2.2.2 Fragebögen und Telefoninterview

Die zur Adjustierung verwendeten Informationen über Sozialstatus (berechnet aus dem Bildungsstand der Eltern), atopische Familienanamnese, Haustierhaltung (d. h. Katzenhaltung), Rauchen in der Schwangerschaft, Stillen über min. 4 Monate) und Jahreszeit der Geburt stammen aus früheren Fragebogenerhebungen.

Im sechsten Lebensjahr erhielten die Eltern jeweils einen Fragebogen zu den allgemeinen (6-Jahresfragebogen) und einen weiteren Fragebogen zu den sozialen Lebensumständen. Aus dem 6-Jahresfragebogen stammten die Angaben zu der Anzahl der Geschwister, der Bildschirmzeit, Lärmbelastung und zum Umzug. Die Eltern beantworteten folgende Fragen:

4. Sind sie im vergangenen Jahr umgezogen?	ja ☐	nein ☐
Wenn „Ja“, geben sie bitte das Datum des Umzugs an.	Tag Monat Jahr |_|_|.|_|_|.|_|_|	
27. Während einer normalen Woche: wie viele Stunden pro Tag (24 Stunden) verbringt Ihr Kind vor einem Bildschirm (Fernseher, Computer, Gameboy)?	weniger als eine Stunde pro Tag 1 bis 2 Stunden pro Tag 3 bis 4 Stunden pro Tag 5 Stunden oder mehr	☐ ☐ ☐ ☐
58. Wie viele Geschwister hat ihr Kind?	|_|_| Anzahl	
59. Wie viele leibliche Geschwister (keine Halbgeschwister) hat ihr Kind?	|_|_| Anzahl	

61. Wie viele Personen leben ständig in Ihrem Haushalt, Sie selbst mitgerechnet? *Zählen Sie bitte alle Kinder mit, auch die Halbgeschwister und das LISA-Studienkind*	Insgesamt |_|_| Personen	
	davon:	
	unter 6 Jahre alt	|_|_|
	6 bis unter 15 Jahre alt	|_|_|
	15 bis unter 18 Jahre alt	|_|_|
	18 Jahre bis unter 25 Jahre	|_|_|
	25 Jahre bis unter 60 Jahre	|_|_|
	60 Jahre und älter	|_|_|

Der „Fragebogen zu sozialen Lebensumständen" enthielt die Fragen nach Partnerschaft, Erwerbstätigkeit, Einkommen, Sozialhilfe, Arbeitslosigkeit und Scheidung der Eltern sowie Krankheit und Tod naher Angehöriger.

3.	Leben Sie zur Zeit mit einem Partner/einer Partnerin zusammen (Ehe- oder Lebenspartner im gemeinsamen Haushalt)?		ja ☐ nein ☐
4.1.	Ist Ihr Partner/Ihre Partnerin zur Zeit erwerbstätig? *Wenn ja, bitte weiter mit Frage 5.1.*		ja ☐ nein ☐
5.1.	Sind sie selbst zur Zeit erwerbstätig? *Wenn ja, bitte weiter mit Frage 6.*		ja ☐ nein ☐
7.	Wie hoch ist das monatliche Haushaltseinkommen, d.h. das Nettoeinkommen, das alle im Haushalt lebenden Personen zusammen nach Abzug der Steuern und Sozialabgaben haben?		Unter 500 Euro ☐ 500 bis unter 750 Euro ☐ 750 bis unter 1000 Euro ☐ 1000 bis unter 1500 Euro ☐ 1500 bis unter 2000Euro ☐ 2000 bis unter 2500 Euro ☐ 2500 bis unter 3000 Euro ☐ 3000 bis unter 3500 Euro ☐ 3500 Euro und mehr ☐

	Im Alltagsleben gibt es gelegentlich Ereignisse, die einen seelisch stark belasten. Bitte geben Sie bei folgenden Fragen an, ob die Ereignisse bei Ihnen selbst oder bei Ihren Angehörigen wäh rend der letzten 6 Jahre eingetreten sind. Mit „Angehörigen" sind Ihr Ehe- oder Lebenspartner, Ihre eigenen Eltern und Schwiegereltern, Ihre Geschwister und Ihre Kinder gemeint.	
11.1.	Ist bei Ihnen oder Ihren Angehörigen eine schwere körperliche Krankheit aufgetreten, so dass der Betreffende ins Krankenhaus musste oder länger als 10 Tage an das Bett gebunden war? *Wenn ja:* Bei wem und wann ist die Krankheit aufgetreten?	ja ☐ nein ☐ in welchem Jahr/welchen Jahren? bei mir selbst _____ (Ehe-) Partner _____ Eltern/Schwiegereltern _____ Geschwister _____ Kind _____

11.2.	Ist einer Ihrer Angehörigen verstorben? *Wenn ja:* Wer ist verstorben, in welchem Jahr?	ja ☐ nein ☐ In welchem Jahr? (Ehe-) Partner _____ Eltern/Schwieger-eltern _____ Geschwister _____ Kind _____
11.3	Sind sie oder Ihr Partner für mehr als 3 Monate arbeitslos gewesen? *Wenn ja:* Wer war arbeitslos, über welchen Zeitraum?	ja ☐ nein ☐ von Monat/Jahr bis Monat/Jahr ich selbst ___/___ ___/___ (Ehe-) Partner ___/___ ___/___
11.4	Hat es bei Ihnen selbst eine Trennung oder Scheidung vom Partner gegeben? *Wenn ja:* Wann war das?	ja ☐ nein ☐ in welchem Jahr/welchen Jahren? Trennung _____ Scheidung _____

In einem Telefoninterview wurden die Eltern nach Einschulungstermin und Kindergartenbesuch ihrer Kinder gefragt. Die Fragen lauteten wie folgt:

1. Wann wurde ihr Kind eingeschult?
2. Hat ihr Kind im 6. Lebensjahr (bis zur Einschulung) eine Kindereinrichtung besucht?

2.3 Methoden

2.3.1 Nachweis intrazellulärer Zytokine

Die Zytokine wurden intrazellulär mit fluoreszierenden monoklonalen Antikörpern gefärbt und anschließend mittels Durchflusszytometrie detektiert. Die Zuordnung zu einer bestimmten Lymphozytensubpopulation erreichte man durch gleichzeitige Markierung zellspezifischer, membranständiger Antigene.

Da die natürlicherweise produzierten Zytokinmengen zu gering sind, um mittels Durchflusszytometrie gemessen zu werden, müssen die Zellen in vitro stimuliert werden. Hierfür wurde PMA (Phorbol-12-Myristat-13-Acetat) eingesetzt. Dies ist ein Aktivator der Proteinkinase C und führt zu einer antigenunabhängigen Steigerung der Synthese jener Zytokine, auf die die Zelle in vivo geprägt wurde. Zur Erhöhung der intrazellulären Ca^{2+} - Konzentration wurde der Calcium-Ionophor Ionomycin benutzt. Damit die Zytokine in der Zelle akkumulieren, wurde außerdem Monensin zugegeben, das den Transport der Pro-Zytokine im Golgi-Apparat hemmt.

Nachdem die Zellen mit Paraformaldehyd fixiert wurden, wurde deren Zellmembran mit Saponin permeabilisiert. Dadurch wurden sie für die fluorochrom-markierten Antikörper durchlässig, die an die intrazellulär fixierten Zytokine binden. Gleichzeitig wurden membranständige Antigene (T-Zell-Marker) mit entsprechenden Antikörpern angefärbt. Die Messung der Fluoreszenzsignale erfolgte am Durchflusszytometer. Die detaillierte Durchführung ist im Folgenden dargestellt.

2.3.1.1 Stimulation der Zellen

Es wurden je 100 µl Vollblut in einem 12x75 Falcon-Röhrchen vorlegt (2 Röhrchen pro Probant). Nach Zugabe von 900µl Kulturmedium (RPMI 1640 Biochrom KG, mit 5% fetalem Kälberserum (FKS) von Sigma-Aldrich) erfolgte die Stimulation mit 10µl PMA (Phorbol-12-Myristat-13-Acetat, Stammlösung: 0,1mg/ml Ethanol, Endkonzentration: 10ng/ml von Sigma-Aldrich), 7,5µl Ionomycin (Stammlösung: 7,158mg/ml Ethanol, Endkonzentration: 1µM von Sigma-Aldrich) und 10µl Monensin (Stammlösung: 7,158mg/ml Ethanol, Endkonzentration: 2,5µM von Calbiochem). Anschließend wurde der Ansatz gut durchmischt und 5h bei 37 °C inkubiert.

2.3.1.2 Fixierung

Nach Ablauf der Inkubationszeit wurden die Proben zwei Mal gewaschen (je 3ml Waschpuffer, PBS Dulbecco (Ca^{2+}-, Mg^{2+}-frei, ph=7,2) mit 1 % FKS von Biochrom KG zugeben, mischen und 5min zentrifugieren bei 1200 U/min und 4 °C, Überstand dekantieren).

Danach erfolgte die die Fixierung durch Zugabe von 500µl kalten ICS-Fixierpuffer (4% Paraformaldehyd in PBS/1 % FKS von Serva). Die Ansätze wurden exakt 10min bei 4 °C im Dunkeln inkubiert und im Anschluss wieder zwei Mal gewaschen.

Die Zellen wurden so über Nacht bei +4 °C gelagert und am nächsten Morgen in das Umweltforschungszentrum transportiert, wo die weitere Verarbeitung durch Frau Silke Drubig erfolgte.

2.3.1.3 Permeabilisierung und Färbung

Die Zellen wurden in 2ml Permeabilisierungspuffer (50g Saponin von Serva, 119g HEPES-Puffer von FERAC Laborat, in 500ml Aqua dest. Endkonzentration: 0,1% Saponin) von aufgenommen und, nach zehnminütiger Inkubation bei Raumtemperatur, zentrifugiert (1200 U/min, 5min, 4°C). Anschließend wurden sie in 600µl Permeabilisierungspuffer resuspensiert. Je 100 µl wurden in FACS-Röhrchen überführt in denen zuvor die Antikörper nach folgendem Pipettierschema vorgelegt worden waren.

Tabelle 1: Pipettierschema für Antikörper (IL-4-PE 20µl, alle anderen AK je 2,5µl)

1	2	3	4	5	6
CD3 Fitc CD4 PECy5 IgG2a PE	CD3 Fitc CD4 PECy5 IFN-γ PE	CD3 Fitc CD4 PECy5 TNF-α PE	CD3 Fitc CD4 PECy5 IL-2 PE	CD3 Fitc CD4 PECy5 IL-4 PE	CD3 Fitc CD4 PECy5 Il-13 PE
7	8	9	10	11	12
CD3 Fitc CD8 PECy5 IgG2a PE	CD3 Fitc CD8 PECy5 IFN-γ PE	CD3 Fitc CD8 PECy5 TNF-α PE	CD3 Fitc CD8 PECy5 IL-2 PE	CD3 Fitc CD8 PECy5 IL-4 PE	CD3 Fitc CD8 PECy5 IL-13 PE
13	14	15			
CD3 Fitc	CD3 PE	CD3 ECy5			

Nach 30 Minuten Inkubation erfolgten zwei weitere Waschvorgänge mit 3ml Permeabilisierungspuffer, die Überstände wurden dekantiert und die Zellen mit 250µl PBS/ 1% Formol (von Merck) fixiert. Die Messung erfolgte innerhalb von 24 h.

Die zytokinspezifischen Antikörper wurden von den Firmen Coulter Immunotech und Pharmingen bezogen. Sie waren an folgende Fluoreszensfarbstoffe gekoppelt (Die Emissionswellenlängen beziehen sich auf Anregung mit einem 488-nm Argonlaser.):

Fluoresceinisocyanat (FiTC):	Emission: 520 nm
R-Phycoerythrin (PE):	Emission: 578 nm
R-Phycoerythrin-Cyanin 5 (PE-CY 5):	Emission: 668 nm

Als Isotypenkontrolle wurde ein Maus IgG2a-Antikörper, ebenfall von Coulter-Immunotech verwandt.

2.3.1.4 Messung und Auswertung

Die Messung und Auswertung der Fluoreszenssignale erfolgte mit einem FACS Calibur-Durchflusszytometer von Becton Dickinson und der Software CellQuestTM im Umweltforschungszentrum Leipzig. Pro Probe wurden 10000 Zellen gemessen.

Im ersten Schritt wurden die T-Zellen (CD3+) anhand ihrer FiTC-Markierung und Granularität von allen übrigen Zellpopulationen abgegrenzt (Abb. 3). Alle weiteren Untersuchungen beziehen sich nur noch auf diese Zellpopulation.

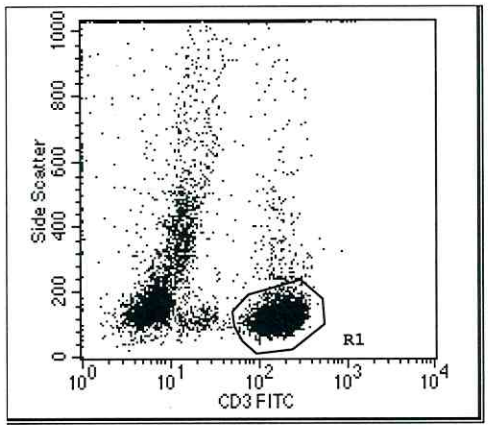


Abbildung 3: Identifikation der T-Zellen

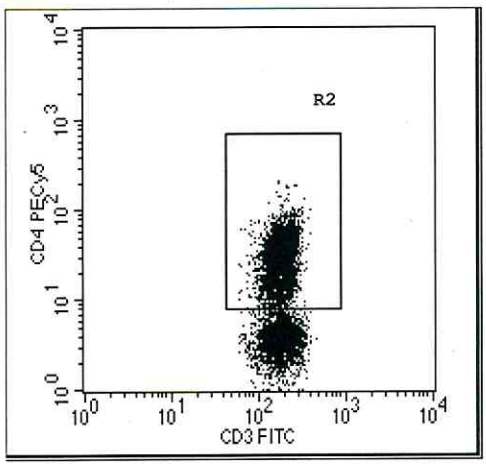


Abbildung 2: Identifikation der CD4+ Zellen

In weiteren Schritten wurden in geeigneten Diagrammen nach dem gleichen Prinzip die Untergruppen der T-Zellen, die T-Helferzellen (CD3+CD4+) und die zytotoxischen T-Zellen (CD3+CD8+) eingegrenzt (Abb. 2)

Im folgenden Analysefenster (Abb. 4) wurden durch ein manuell eingesetztes Achsenkreuz Signal-positive von Signal-negativen Bereichen getrennt. Nach Abzug eventuell unspezifischer Markierungen aus den Isotypenkontrollen ergibt sich der Anteil zytokinproduzierender Zellen aus dem Verhältnis positiver Signale zur Gesamtzellzahl.

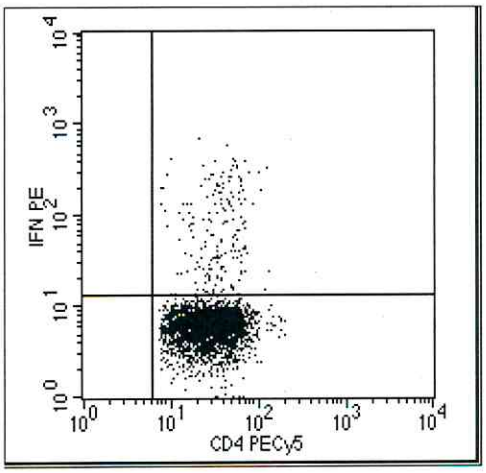


Abbildung 4: Identifikation der IFN-γ produzierenden Zellen

2.3.2 Nachweis der Zytokine im Vollblutassay

Die Zytokine wurden zusätzlich in heparinisiertem Vollblut nachgewiesen. Dazu wurde dieses maximal vier Stunden nach Blutabnahme in verschiedenen Ansätzen stimuliert und vier Stunden inkubiert. Die Kulturüberstände wurden mittels Cytometric Bead Array Assay (CBA) auf ihre Konzentration an Zytokinen und Chemokinen untersucht.

Die Stimulation erfolgte pro Kind in jeweils zwei Ansätzen von in RPMI gelösten Endotoxin (LPS: Lipopolysacharide von E.coli, Serotyp 026:B3 von Sigma-Aldrich, Endkonzentration 1µg/ml) zur Stimulation der Blutmonozyten und Phytohämagglutinin (PHA: von Sigma-Aldrich, Endkonzentration 50µg/ml) zur Stimulation der T-Zellen. Neben diesen Ansätzen wurden auch zwei unstimulierte Ansätze (PM) geführt. Es waren jeweils 50µl der Stimulanzien bzw. der Kontrolle in sterilen, endotoxinfreien Reaktionsgefäßen (1,5ml BIO-Cert) vorgelegt und bei -20°C eingefroren. Sie wurden erst unmittelbar vor der Verwendung aufgetaut und mit 500µl Heparinblut versetzt. Nach vorsichtigem Schwenken folgte eine vierstündige Inkubationszeit bei 37°C. Anschließend wurden den Ansätzen 500µl RPMI zugegeben und sie wurden für fünf Minuten bei 800g zentrifugiert. Die Überstände wurden in drei Portionen von 150µl bei -20°C bis zur weiteren Verwendung gelagert.

Der Cytometric Bead Array ist eine Methode, die es ermöglicht bei geringen Probenmengen eine Vielzahl von verschiedenen Zytokinen zu bestimmen. Das Prinzip beruht auf einer Kombination aus ELISA und Durchflusszytometrie. Dabei werden fluoreszierende Kügelchen (beads) benutzt an deren antikörperbeschichteter Oberfläche die Analysate spezifisch binden können. Ein zweiter fluoreszenzmarkierter, spezifischer Antikörper ermöglicht die Quantifizierung des jeweiligen Parameters bei der Messung am Durchflußzytometer. Da gleichzeitig in einer Probe unterschiedlich beschichtete beads mit unterschiedlicher Fluoreszenz benutzt werden, ist es möglich, in einem Messvorgang verschiedene Parameter zu bestimmen.

Tabelle 2: bestimmte Parameter in den einzelnen Ansätzen des Vollblutessays

	Zytokin/Chemokin									
PM	IL-4	IL-5	IL-6	IL-8	IL-10	IFN-γ	TNF-α	MCP-1	Eotaxin	RANTES
LPS			IL-6	IL-8	IL-10	IFN-γ	TNF-α	MCP-1		
PHA	IL-4	IL-5			IL-10	IFN-γ			Eotaxin	RANTES

Es wurde das CBA Human SOLUble Protein Flex Set™ von BD Biosiences benutzt. Dieses Set enthält neben den beschichteten beads alle weiteren benötigten Lösungen und die mit Flurochrom R-Phycoerythrin (PE) markierten Detektionsantikörper. Im Folgenden ist die Durchführung zusammengefasst:

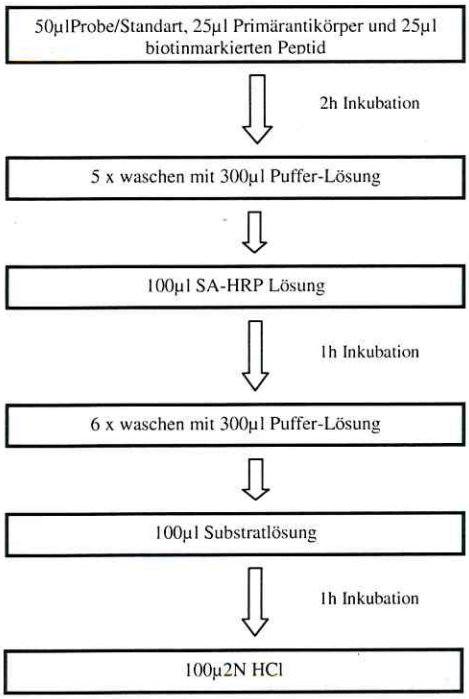
Je 25µl Bead-Suspension wurden in 12x75 Falcon®-Röhrchen vorgelegt und je 25µl Kulturüberstand zugeben. Nach einstündiger Inkubation bei Raumtemperatur und Dunkelheit wurden 25µl der Detektionsantikörperlösung zugefügt und für weitere zwei Stunden inkubiert. Anschließend wurden die Proben mit 500µl Waschpuffer gewaschen, 5min bei 200g zentrifugiert und die Überstände dekantiert. Das Pellet wurde in 150µl Waschpuffer resuspensiert.

Die Messung der Proben erfolgte am FACS Calibur-Durchflußzytometer unter Verwendung der Software CellQuest, BD Biosciences. Die Konzentration der Zytokine in der Probe wurde anhand einer Eichkurve aus einer Standartreihe bestimmt. Von den mit LPS stimulierten und den unstimulierten Proben wurden 1800, von den PHA stimulierten 1500 beads aquiriert.

2.3.3 Nachweis der Neuropeptide

Die Neuropeptide (Somatostatin, Substanz P und VIP) wurden mittels ELISA nachgewiesen. Dazu wurde 1 ml Heparinblut verwendet, welches spätestens vier Stunden nach Blutabnahme 1:1 mit RPMI verdünnt und sofort zentrifugiert wurde. Der Überstand wurde bei -20°C gelagert.

Den ELISA führte Frau Dr. Gunda Herberth, UFZ Leipzig, unter Verwendung der entsprechenden EIA Kits von Phoenix Pharmaceuticals durch. In diesem Kit sind die 96-Kavitätenplatten bereits mit einem Fangantikörper, der gegen die Fc-Fragmente des Primärantikörpers gerichtet ist, beschichtet. Sämtliche anderen Bindungsstellen sind geblockt. Das Fab-Fragment des Primärantikörpers bindet das nachzuweisende Peptid oder kompetitiv ein biotinmarkiertes Peptid. An Biotin bindet die im Folgeschritt zugegebene Meerrettich-Streptavidin-Peroxidase (SA-HRP), welche die Umsetzung von 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin (TMB) und Wasserstoffperoxid zu einem blauen Farbstoff katalysiert. Diese Reaktion wird nach einer Stunde durch Salzsäure, die einen Farbumschlag in gelb bewirkt, beendet.



Da nachzuweisendes und biotinmarkiertes Peptid um die Bindungsstelle am Primärantikörper konkurrieren, ist die Intensität der Gelbfärbung umgekehrt proportional zu der

Peptidkonzentration der Probe. Zu deren Bestimmung wurde parallel zu den Proben eine Reihe standardisierter Peptidlösungen mit bekannter Konzentration aufgetragen, aus denen eine Eichkurve erstellt wurde. Obenstehende Abbildung zeigt schematisch den Versuchsablauf. Die Mengenangaben beziehen sich auf das pro Kavität vorgelegte Volumen, die Inkubation erfolgte bei Raumtemperatur.

Da das eingesetzte Serum in der Probe 1:1 verdünnt war, entspricht die Serumkonzentration der doppelten Probenkonzentration. Nachweisgrenze waren 7,5 pg/ml.

2.3.4 Nachweis der allergischen Sensibilisierung

Die Sensibilisierung der Kinder wurde mittels Nachweis von spezifischem IgE überprüft. Die Messung erfolgte in der Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie – am Biederstein – bzw. am Zentrum für Allergie und Umwelt dieser Klinik der Technischen Universität München unter Leitung von Prof. Dr. Dr. Johannes Ring und Prof. Heidrun Behrendt unter Verwendung des ImmunoCap Systems von Pharmacia Diagnostics. Es wurde Gesamt-IgE und spezifisches IgE gegen inhalative Allergene (Mischung sx1) und gegen Nahrungsmittelallergene (Mischung fx5) gemessen. Erstere Mischung testete auf IgE gegen Allergene von Dermatophagoides pteronyssinus, Katzen- und Hundeschuppen und von Pollen von Lieschgras, Roggen, Birke, Beifuss und Cladosporium herbarum. Die Untersuchung auf spezifisches IgE gegen Nahrungsmittelallergene beinhaltete Allergene von Hühnereiweiß (Eiklar), Kuhmilcheiweiß, Dorsch, Weizenmehl, Erdnuss und Sojabohne.

2.3.5 Statistische Auswertung und Abbildungen

Die erhobenen Daten wurden mit Hilfe von Statistika7 für Windows (StatSoft Inc., Tulsa, Oklahoma) ausgewertet. Zur Untersuchung auf Differenzen zwischen zwei metrisch skalierten, nicht normalverteilten Gruppen wurde der U-Test nach Mann-Whitney verwendet, bei nominal skalierten Merkmalen der X^2-Test. Die Korrelationsanalyse metrisch skalierter, nicht normalverteilter Daten wurde mittels Rangkorrelation nach Spearman durchgeführt. Zur Trendberechnung (Zusammenhang zwischen Neuropeptiden und allergischer Sensibilisierung) wurde der Cochran-Armitage-Test verwendet.

Da die erhobenen Daten nicht normalverteilt waren, wurden als statistische Lagemaße Median, und Perzentil angegeben. Box-Whisker-Plots zeigen Median, 25. und 75. Perzentile (Box). Die Whisker geben die 10. und 90. Perzentile an.

3 Ergebnisse

3.1 Immunologische Parameter und Neuropeptide

3.1.1 Neuropeptide

Es wurden von 321 Kindern die Blutkonzentration der Neuropeptide Substanz P (SP), Vasoaktives Intestinales Peptid (VIP) und Somatostatin (SOM) mittels ELISA bestimmt. Detektionslimit war 7,5pg/ml. Tabelle 3 zeigt eine Übersicht über die Verteilung der ermittelten Werte.

Tabelle 3: Mediane und Quartile der Neuropeptide im Serum sechsjähriger Kinder, Werte in pg/ml

Neuropeptid	Median	25. Perzentil	75. Perzentil
VIP	197,10	141,22	249,44
SOM	30,30	21,77	43,57
SP	193,25	128,45	254,74

3.1.2 Intrazelluläre Zytokinanalyse

Mittels Intrazellulärer Zytokinfärbung und Durchflusszytometrie wurden die T_H-Zellen von 312 Kindern auf die Fähigkeit zur Produktion bestimmter Zytokine (IFN-γ, TNF-α, IL-2, IL-4 und IL-13) untersucht. Tabelle 4 zeigt die Mediane und Quartile der ermittelten Anteile zytokinproduzierender Zellen an der entsprechenden T_H -Zell-Subpopulation.

Tabelle 4: Anteile zytokinproduzierender Zellen in % der jeweiligen Zellpopulation

Zytokin	Zellpopulation	Median	25. Perzentil	75. Perzentil
IFN-γ	$CD3^+$	15,06	11,00	20,53
	$CD3^+CD4^+$	5,36	3,80	7,36
	$CD3^+CD8^+$	24,29	18,26	32,35
TNF-α	$CD3^+$	16,13	11,51	21,77
	$CD3^+CD4^+$	13,45	9,63	18,47
	$CD3^+CD8^+$	14,72	10,10	20,65
IL-2	$CD3^+$	14,32	9,58	18,47
	$CD3^+CD4^+$	21,54	14,57	27,91
	$CD3^+CD8^+$	4,81	2,73	6,99
IL-4	$CD3^+$	0,72	0,45	1,14
	$CD3^+CD4^+$	1,24	0,75	1,95
	$CD3^+CD8^+$	0,30	0,03	0,69
IL-13	$CD3^+$	1,11	0,79	1,61
	$CD3^+CD4^+$	1,88	1,15	2,76
	$CD3^+CD8^+$	0,71	0,26	1,48

3.1.3 Zytokine und Chemokine im Vollblutassay

Das Vollblut von 320 Kindern wurde in drei Ansätzen (unstimuliert und mit Endotoxin bzw. PHA stimuliert) auf die Konzentration verschiedener Zytokine und Chemokine untersucht. (Bei einem Kind hatten die Eltern selbst die Blutentnahme durchgeführt, so dass zwischen der Punktion und Ankunft der Proben ein zu langer Zeitraum verstrichen war.) In den mit LPS stimulierten Ansätzen fand die Untersuchung auf inflammatorische Zytokine (IL-6, IL-8, IL-

10, IFN-γ, TNF-α, und MCP-1) statt, während in T_H1/T_H2-Zytokine (IL-4, IL-5, IL-10, IFN-γ, Eotaxin und RANTES) in den PHA-stimulierten Ansätzen gemessen wurden. Die unstimulierten Ansätze wurden auf alle Zytokine und Chemokine untersucht. Tabelle 5 zeigt eine Übersicht über die ermittelten Werte.

Tabelle 5: Konzentrationen und Detektionsgrenzen der Zytokine im Vollblut [pg/ml] im unstimulierten (PM), endotoxinstimulierten (LPS) und T-Zell-stimulierten Ansatz (PHA)

	Detektions-grenze		Median	25. Perzentil	75. Perzentil
IL-4	3,0	PM	5,940	0,000	9,40
		PHA	45,017	27,593	72,23
IL-5	3,0	PM	0,250	0,000	2,34
		PHA	3,740	2,203	6,39
IL-6	3,0	PM	6,980	4,870	10,930
		LPS	8571,430	7556,460	9555,220
IL-8	3,0	PM	48,165	27,995	93,450
		LPS	3910,360	3044,390	5294,278
IL-10	3,0	PM	1,500	1,500	3,115
		LPS	6,390	4,520	9,360
		PHA	42,983	29,923	55,96
IFN-γ	4,0	PM	7,240	0,000	13,693
		LPS	50,920	28,615	103,840
		PHA	1630,817	909,427	2823,41
TNF-α	3,0	PM	6,480	4,540	10,340
		LPS	3084,430	2361,340	3790,420
MCP-1	7,0	PM	86,580	63,390	128,770
		LPS	748,490	509,630	1018,697
Eotaxin	30,0	PM	399,100	315,380	519,94
		PHA	369,147	273,730	472,67
RANTES	4,0	PM	7198,940	5325,680	9135,86
		PHA	8016,080	6028,427	11204,85

3.1.4 Allergische Sensibilisierung

Tabelle 6: Anzahl sensibilisierter Kinder

	n/N (%)		n/N (%)
Gesamt-IgE <180kU/l	44/324 (13,6)	spez. IgE	105/324 (32,4)
Nahrungsallergene	42/324 (13,0)	Inhalationsallergene	93/324 (28,7)
Eiklar	12/224 (3,7)	Roggen	39/323 (12,0)
Erdnuss	12/323 (3,7)	Lieschgras	46/323 (14,2)
Soja	9/323 (2,8)	Cladosporium herb.	6/323 (1,9)
Kuhmilch	20/324 (6,2)	Birke	35/323 (10,8)
Dorsch	5/324 (1,5)	Beifuss	21/323 (6,5)
Weizen	10/324 (3,1)	Hausstaubmilbe	53/323 (16,4)
Nahrungsallergene	42/324 (13,0)	Katze	20/323 (6,2)
Eiklar	12/224 (3,7)	Hund	13/323 (4,0)
Erdnuss	12/323 (3,7)		

Eine Untersuchung auf spezifisches IgE konnte bei 324 Kindern durchgeführt werden. Es wurde die Sensibilisierung gegen inhalative Allergene und Nahrungsmittelallergene untersucht. 105 Kinder (32,4%) waren gegen mindestens eines der untersuchten Allergene sensibilisiert. Ein Gesamt- IgE über 180kU/l wiesen 44 Kinder (13,6) auf.

3.1.5 Korrelation der Immunparameter untereinander

3.1.5.1 Korrelation der intrazellulär gemessenen Zytokine untereinander

Die Messwerte der Zytokinproduktion korrelierten miteinander unterschiedlich stark. Dabei wurde nicht nur eine Korrelation zwischen den IFN-γ, TNF-α und IL-2 produzierenden T_H1-Zellen und zwischen den IL-4 und IL-13 produzierenden T_H2-Zellen beobachtet, sondern auch zwischen T_H1 undT_H2-Zellen.

Tabelle 7: Korrelation der Intrazellulären Zytokinproduktion im sechsten Lebensjahr, angegeben sind die r-Werte der Rangkorrelation nach Spearman, bei signifikantem p-Wert (<0,05) sind die Werte fett gedruckt

		IFN-γ			TNF-α			IL-2			IL-4			IL1-3		
		CD3+	CD3+ CD4+	CD3+ CD8+	CD3+	CD3+ CD4+	CD3+ CD8+	CD3+	CD3+ CD4+	CD3+ CD8+	CD3+	CD3+ CD4+	CD3+ CD8+	CD3+	CD3+ CD4+	CD3+ CD8+
IFN-γ	CD3+	1,00	**0,66**	**0,84**	**0,81**	**0,55**	**0,78**	**0,30**	**0,42**	**0,17**	**0,43**	**0,47**	0,05	**0,33**	**0,39**	0,02
	CD3+CD4+	**0,66**	1,00	**0,54**	**0,58**	**0,61**	**0,49**	**0,47**	**0,56**	**0,20**	**0,53**	**0,54**	0,04	**0,41**	**0,44**	0,09
	CD3+CD8+	**0,84**	**0,54**	1,00	**0,70**	**0,51**	**0,80**	**0,33**	**0,37**	**0,25**	**0,42**	**0,44**	**0,14**	**0,33**	**0,33**	0,10
TNF-α	CD3+	**0,81**	**0,58**	**0,70**	1,00	**0,81**	**0,81**	**0,51**	**0,57**	**0,39**	**0,51**	**0,50**	**0,18**	**0,38**	**0,37**	0,11
	CD3+CD4+	**0,55**	**0,61**	**0,51**	**0,81**	1,00	**0,54**	**0,67**	**0,71**	**0,48**	**0,59**	**0,55**	**0,19**	**0,42**	**0,42**	0,09
	CD3+CD8+	**0,78**	**0,49**	**0,80**	**0,81**	**0,54**	1,00	**0,34**	**0,38**	**0,33**	**0,34**	**0,34**	**0,20**	**0,24**	**0,23**	**0,13**
IL-2	CD3+	**0,30**	**0,47**	**0,33**	**0,51**	**0,67**	**0,34**	1,00	**0,94**	**0,76**	**0,58**	**0,48**	**0,17**	**0,38**	**0,28**	0,01
	CD3+CD4+	**0,42**	**0,56**	**0,37**	**0,57**	**0,71**	**0,38**	**0,94**	1,00	**0,65**	**0,60**	**0,54**	**0,16**	**0,39**	**0,36**	0,01
	CD3+CD8+	**0,17**	**0,20**	**0,25**	**0,39**	**0,48**	**0,33**	**0,76**	**0,65**	1,00	**0,37**	**0,28**	**0,30**	**0,25**	**0,14**	**0,20**
IL-4	CD3+	**0,43**	**0,53**	**0,42**	**0,51**	**0,59**	**0,34**	**0,58**	**0,60**	**0,37**	1,00	**0,84**	**0,32**	**0,72**	**0,62**	**0,13**
	CD3+CD4+	**0,47**	**0,54**	**0,44**	**0,50**	**0,55**	**0,34**	**0,48**	**0,54**	**0,28**	**0,84**	1,00	**0,19**	**0,66**	**0,70**	0,10
	CD3+CD8+	0,05	0,04	**0,14**	**0,18**	**0,19**	**0,20**	**0,17**	**0,16**	**0,30**	**0,32**	**0,19**	1,00	**0,21**	**0,17**	**0,50**
IL-13	CD3+	**0,33**	**0,41**	**0,33**	**0,38**	**0,42**	**0,24**	**0,38**	**0,39**	**0,25**	**0,72**	**0,66**	**0,21**	1,00	**0,80**	**0,28**
	CD3+CD4+	**0,39**	**0,44**	**0,33**	**0,37**	**0,42**	**0,23**	**0,28**	**0,36**	**0,14**	**0,62**	**0,70**	**0,17**	**0,80**	1,00	**0,12**
	CD3+CD8+	0,02	0,09	0,10	0,11	0,09	**0,13**	0,01	0,01	**0,20**	**0,13**	0,10	**0,50**	**0,28**	**0,12**	1,00

3.1.5.2 Korrelation intrazellulär und im Vollblutassay gemessener Zytokine

Bei den Zytokinen, die sowohl im Vollblutassay als auch mittels der intrazellulären Zytokinfärbung gemessen wurden (IFN-γ, TNF-α und IL-4) zeigte sich mittels Rangkorrelation nach Spearman ein Zusammenhang zwischen dem Anteil IFN-γ bzw. IL-4 produzierender T-Zellen und der Konzentration dieser Zytokine im PHA stimuliertem Vollblut. Dies war bis auf IL-4 produzierende CD3+CD8+ Zellen für alle Subpopulationen nachweisbar. Für TNF-α ließ sich kein Zusammenhang nachweisen (Abb. 5).

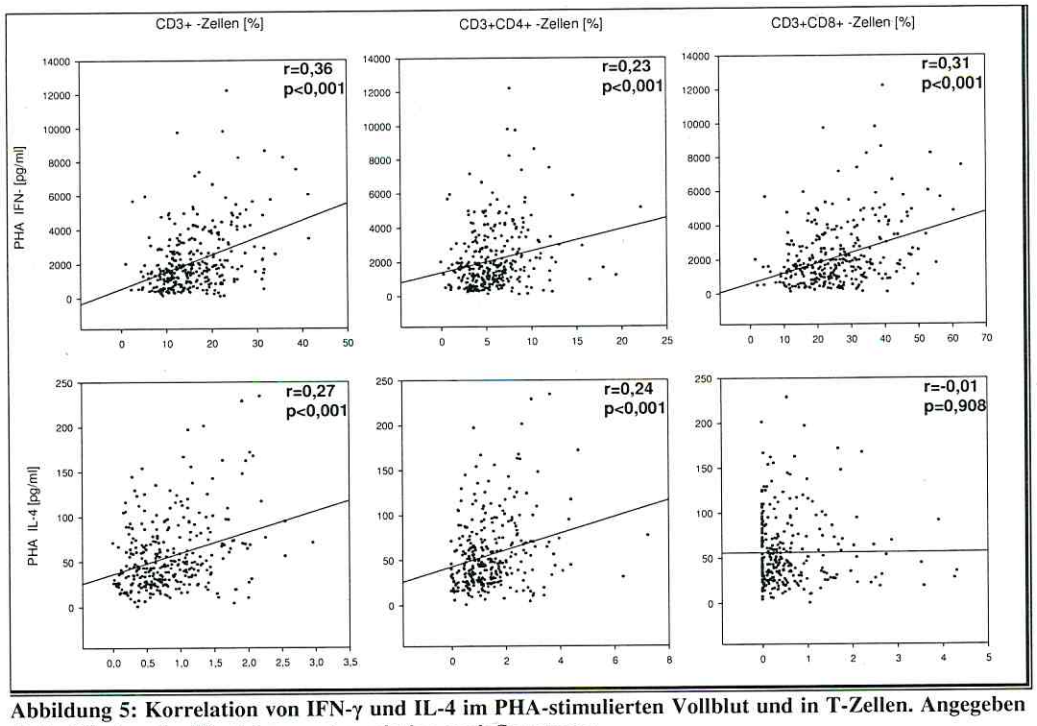


Abbildung 5: Korrelation von IFN-γ und IL-4 im PHA-stimulierten Vollblut und in T-Zellen. Angegeben sind r-Wert und p-Wert der rangkorrelation nach Spearman

3.1.5.3 Allergische Sensibilisierung und Zytokine

Zytokine im Vollblutassay

Der Zusammenhang der Zytokinkonzentration im Vollblutassay und allergischer Sensibilisierung wurde mittels Mann-Whitney-U-Test untersucht. **Gesamt-IgE-Konzentration** von mehr als 180kU/l war mit erhöhten Konzentrationen von IL-4 (PHA), IL-5 (PHA), IL-8 (PM, LPS), IL-10 (LPS) und MCP-1 (PM und LPS) und einem vermindertem Anteil IL-2-produzierender CD3+CD4+ und IL-4 produzierender CD3+CD8+ Zellen assoziiert. Das Vorhandensein **spezifischer Einzelallergene** war mit erhöhten IL-4 und IL-5 im PHA-stimulierten Ansatz verbunden. Der Anteil IL-13-sezernierender CD3+CD8+ Zellen war erhöht. Außerdem war IL-6 (PM) erniedrigt.

T_H1-Zytokine

Bei erniedrigtem **IFN-γ** im unstimulierten Ansatz zeigte sich eine Sensibilisierung gegen die Kindernahrungsmischung und gegen Beifusspollen. Eine verminderte IFN-γ-Produktion der CD3+CD4+ Zellen war mit einer Sensibilisierung gegen Cladosporium herbarum verbunden. Dagegen zeigte sich bei verstärkter IFN-γ-Produktion der CD3+CD8+ Zellen eine Sensibilisierung gegen Sojabohnen und Erdnüsse.

Erniedrigtes **TNF-α** in unstimulierten Proben war mit positiven Tests auf spezifisches IgE gegen Soja-, Hühner- und Milcheiweiß und gegen Weizenmehl verbunden. Erniedrigte

Produktion von TNF-α durch CD3+CD4+ Zellen war mit einer Sensibilisierung gegen Katzenschuppen assoziiert.

Bei einer verminderten **IL-2**-Synthese durch CD3+ Zellen und der CD4+ Subpopulation zeigte sich eine Sensibilisierung gegen Hundeschuppen.

T_H2-Zytokine

Hohe Konzentrationen von **IL-4** im PHA-stimulierten Ansatz konnten mit Sensibilisierungen gegen die Mischung von inhalativen Allergenen, und den Einzelallergenen Katzenschuppen, Hausstaubmilben und Erdnüsse in Verbindung gebracht werden. Eine Sensibilisierung gegen die Kindernahrungsmischung zeigte sich bei einem erhöhten Anteil IL-4-produzierender CD3+ Zellen. Bei einem erhöhtem Anteil IL-4 produzierender CD3+CD4+ Zellen ließ sich eine Sensibilisierung gegen Hühnereiweiß nachweisen.

Erhöhtes **IL-5** im PHA-stimuliertem Ansatz war mit einer Sensibilisierung gegen fast alle inhalativen Allergene (Birken- und Beifußpollen) sowie gegen die Nahrungsmischung und gegen Erdnüsse assoziiert.

Bei erhöhtem **IL-10** (LPS) lag eine Sensibilisierung gegen Katzenschuppen vor.

Bei gesteigerter **IL-13**-Produktion der CD3+CD8+ Zellen lag eine Sensibilisierung gegen Beifusspollen und die Kindernahrungsmischung vor. Letzteres zeigte sich auch bei einer gesteigerten IL-13-Synthese der T-Zellen. Bei einer vermehrten IL-13 Sythese durch CD3+CD4+ Zellen war der Test auf spezifisches IgE gegen Hühnereiweiß positiv.

Entzündungsmarker

Mit einer verminderten Konzentration von **IL-6** im unstimulierten Ansatz war mit einer Sensibilisierung gegen die Nahrungsmischung und gegen Kuhmilch assoziiert.

Bei erhöhtem **IL-8** (PM und LPS) lag eine Sensibilisierung gegen Katzenschuppen und im endotoxinstimulierten Ansatz gegen Hundeschuppen und Cladosporium herbarum vor.

Mit einer erhöhten Konzentration von **MCP-1** im endotoxinstimulierten Ansatz zeigte sich ein Zusammenhang zu einer Sensibilisierung gegen die Mischung inhalativer Allergene, gegen Hundeschuppen und Cladosporium herbarum.

Erhöhtes **RANTES** war mit positivem IgE gegen Birkenpollen und Erdnuss verbunden.

Zusammenhänge zwischen TNF-α und allergischer Sensibilisierung wurden bereits erwähnt.

Für Eotaxin ließ sich keine Assoziation nachweisen.

Tabellen 8 und 9 zeigen einen Überblick über die genannten Veränderungen. Eine genaue Auflistung findet sich im Anhang.

Tabelle 8: Überblick über den Zusammenhang zwischen allergischer Sensibilisierung und der Zytokinkonzentration im Vollblut. Eotaxin wies keine signifikanten Veränderungen auf.
▲=erhöhte Werte; ▼=erniedrigte Werte

	IFN-γ			TNF-α		IL-4		IL-5		IL-6		IL-8		IL-10			MCP-1		RANTES	
	PM	LPS	PHA	PM	LPS	PM	PHA	PM	PHA	PM	LPS	PM	LPS	PM	LPS	PHA	PM	LPS	PM	PHA
Gesamt-IgE							▲		▲			▲	▲		▲		▲	▲		
Spez. IgE							▲		▲	▼										
Inhalationsallergene							▲		▲									▲		
Roggen									▲											
Lieschgras									▲											
Cladosporium herb.									▲				▲					▲		
Birke																				▲
Beifuss	▼																			
Hausstaubmilbe							▲		▲											
Katze							▲		▲			▲	▲		▲					
Hund									▲				▲					▲		
Nahrungsallergene	▼								▲	▼										
Eiklar				▼																
Erdnuss							▲		▲											▲
Soja				▼																
Kuhmilch				▼						▼										
Dorsch																				
Weizen				▼																

Tabelle 9: Überblick über den Zusammenhang zwischen allergischer Sensibilisierung und dem Anteil zytokinproduzierender T_H-Zellen.
▲=erhöhte Werte; ▼=erniedrigte Werte

	IFN-γ			TNF-α			IL-2			IL-4			IL-13		
	CD3+	CD3+ CD4+	CD3+ CD8+	CD3+	CD3+ CD4+	CD3+ CD8+	CD3+	CD3+ CD4+	CD3+ CD8+	CD3+	CD3+ CD4+	CD3+ CD8+	CD3+	CD3+ CD4+	CD3+ CD8+
Gesamt-IgE>180kU/l								▼				▼			
spez. Einzelallergene															▲
Inhalationsallergene															
Roggen															
Lieschgras															
Cladosporium herb.		▼													
Birke															
Beifuss															▲
Hausstaubmilbe															
Katze					▼										
Hund							▼	▼							
Nahrungsmischung										▲			▲		▲
Eiklar											▲			▲	
Erdnuss			▲												
Soja			▲												
Kuhmilch															
Dorsch															
Weizen															

3.1.6 Neuropeptide und Immunparameter

3.1.6.1 Korrelation der Neuropeptide untereinander

Die Korrelation der Neuropeptide untereinander wurde mittels Rangkorrelation nach Spearman untersucht. Dabei zeigte sich ein positiver Zusammenhang zwischen VIP und Somatostatin bzw. Substanz P. Zwischen SP und SOM lag keine Korrelation vor (Abb 6).

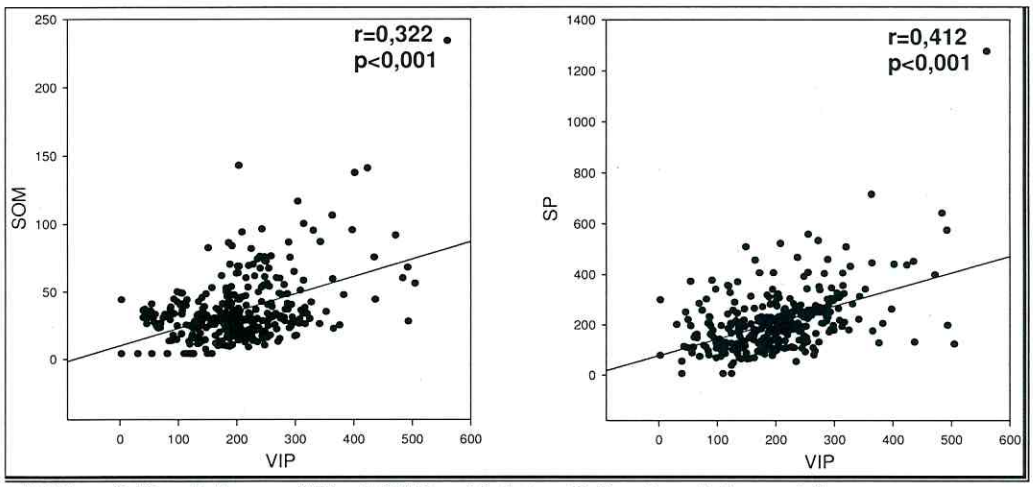


Abbildung 6: Korrelation von VIP mit SOM und Substanz P. Rangkorrelation nach Spearman

3.1.6.2 Korrelation der Neuropeptide mit Zytokinen

Die Assoziation der Neuropeptide mit den im Vollblutassay gemessenen Zytokinen wurde mittels Rangkorrelation nach Spearman untersucht (Tab 10).

Tabelle 10: Korrelation der Neuropeptide mit den im Vollblut gemessenen Zytokinen, angegeben ist der Korrelationskoeffizient r und der p-Wert, signifikante Werte sind fett gedruckt (Korrelationsanalyse nach Spearman)

		VIP		SOM		SP				VIP		SOM		SP	
		r-Wert	p-Wert	r-Wert	p-Wert	r-Wert	p-Wert			r-Wert	p-Wert	r-Wert	p-Wert	r-Wert	p-Wert
IL-4	PM	-0,019	0,735	**0,168**	**0,002**	0,002	0,975	IFN-γ	PM	0,007	0,895	**-0,163**	**0,004**	**0,184**	**0,001**
	PHA	0,040	0,475	0,071	0,203	-0,039	0,483		LPS	-0,044	0,437	-0,004	0,946	-0,016	0,777
IL-5	PM	0,021	0,702	0,095	0,090	-0,061	0,274		PHA	0,023	0,681	0,045	0,419	0,004	0,940
	PHA	0,076	0,175	-0,010	0,862	0,062	0,272	TNF-α	PM	-0,019	0,734	-0,048	0,395	0,034	0,543
IL-6	PM	-0,072	0,197	-0,043	0,440	-0,053	0,345		LPS	0,054	0,331	-0,060	0,282	0,069	0,217
	LPS	-0,009	0,879	0,001	0,982	0,010	0,863	MCP-1	PM	0,030	0,596	-0,015	0,788	0,024	0,663
IL-8	PM	-0,060	0,285	-0,003	0,955	**-0,162**	**0,004**		LPS	0,079	0,158	-0,050	0,368	**0,122**	**0,029**
	LPS	-0,017	0,767	**-0,142**	**0,011**	0,024	0,675	Eotaxin	PM	-0,060	0,281	0,065	0,244	**-0,115**	**0,039**
IL-10	PM	0,051	0,360	**-0,325**	**<0,001**	**0,257**	**<0,001**		PHA	-0,011	0,847	0,084	0,134	**-0,112**	**0,045**
	LPS	-0,006	0,912	**-0,165**	**0,003**	0,034	0,543	RANTES	PM	-0,097	0,083	0,056	0,320	-0,089	0,112
	PHA	0,019	0,733	0,039	0,486	-0,088	0,115		PHA	-0,067	0,235	0,034	0,545	**-0,138**	**0,013**

Für Somatostatin ergab sich eine negative Korrelation für IFN-γ, IL-8 und IL-10, die allerdings nicht in allen Ansätzen signifikant war. Außerdem war Somatostatin positiv mit IL-4 im unstimulierten Ansatz korreliert. Substanz P zeigte mit den unstimulierten Ansätzen von IFN-γ und IL-10 eine positive, von IL-8 eine negative Korrelation. Außerdem waren Eotaxin

(in beiden Ansätzen) und RANTES (in PHA) mit SP negativ assoziiert. VIP zeigte keine Korrelation mit einem der Zytokine.

3.1.6.3 Neuropeptide und allergische Sensibilisierung

Von den 321 Kindern, bei denen eine IgE-Messung und eine Bestimmung der Neuropeptide durchgeführt wurden, reagierten 41 (12,8%) auf Nahrungsmittelallergene und 92 (28,7%) positiv auf Inhalationsallergene.

Im Mann–Whitney-U-Test war spezifisches IgE gegen verschiedene Nahrungsmittelallergene mit signifikant erhöhtem SOM und VIP verbunden. SP zeigte keinen Zusammenhang.

Mittels Cochran-Armitage-Trend Tests konnten dosisabhängige Zusammenhänge zwischen den Konzentrationen von Somatostatin bzw. VIP und dem Risiko einer allergischen Sensibilisierung festgestellt werden. Die Ergebnisse werden in Tabelle 11 und 12 gezeigt.

Tabelle 11: Häufigkeit [%(n)]und Risiko (OR* mit 95%CI) einer allergischen Sensibilisierung in Bezug auf die Konzentration von Somatostatin. p-Werte des Cochran-Armitage-Trend Tests.

	SOM				
	1. Quartile (3,5-21,5 pg/ml)	2. Quartile (21,5-30,3 pg/ml)	3. Quartile (30,3-42,8 pg/ml)	4. Quartile (42,8-141,2 pg/ml)	p-Wert (Trend)
Nahrungsmittel-allergene	6.25 % (5) 1.00	7.40 % (6) 1.45 (0.39-5.41)	16.45 % (13) 4.71(1.39-15.91)	20.98 % (17) 4.93 (1.57-15.47)	**0.001**
Eiklar	2.50 % (2) 1.00	1.23 % (1) 0.57 (0.04-8.08)	6.23% (5) 4.28 (0.67-27.40)	4.39 % (4) 2.74 (0.43-17.34)	0.191
Kuhmilch	1.25 % (1) 1.00	2.46 % (2) 2.39 (0.18-30.78)	10.12 % (8) 11.0 (1.25-97.44)	11.11 % (9) 8.81 (1.01-76.72)	**0.002**
Erdnuss	1.25 % (1) 1.00	1.23 % (1) 1.54 (0.07-34.21)	3.79 % (3) 6.28 (0.54-72.01)	8.64 % (7) 16 (1.67-154.5)	**0.008**
Inhalative Allergene	22.5 % (18) 1.00	25.9 % (2) 1.30 (0.56-3.00)	35.4 % (28) 2.48 (1.10-5.59)	30.9 % (25) 1.99 (0.90-4.39)	0.127
Hausstaubmilbe	13.75 % (11) 1.00	16.04 % (13) 1.27 (0.47-3.44)	18.98 % (15) 2.02 (0.77-5.29)	17.28 % (14) 1.48 (0.58-3.75)	0.467
Katze	1.25 % (1) 1.00	7.40 % (6) 7.29 (0.79-66.62)	7.59 % (6) 6.75 (0.67-67.56)	8.64 % (7) 8.49 (0.93-77.24)	0.064
Hund	1.25 % (1) 1.00	4.93 % (4) 3.04 (0.29-31.50)	3.79 % (3) 4.91 (0.41-58.35)	6,17 % (5) 5.53 (0.59-51.29)	0.166
Lieschgras	6.25 % (5) 1.00	11.11 % (9) 1.73 (0.50-6.11)	21.51 % (17) 4.58 (1.47-14.28)	18.51 % (15) 4.13 (1.33-12.85)	**0.007**
Roggen	6.25 % (5) 1.00	9.87 % (8) 1.68 (0.47-6.03)	13.92 % (11) 3.34 (1.01-11.09)	18.51 % (15) 4.17 (1.35-12.87)	**0.012**
Birke	5.00 % (4) 1.00	11.11 % (9) 2.59 (0.71-9.46)	15.18 % (12) 3.85 (1.07-13.82)	12.34 % (10) 3.25 (0.90-11.69)	0.095
Beifuss	6.25 % (5) 1.00	3.70 % (3) 0.58 (0.12-2.73)	5.06 % (4) 1.04 (0.24-4.40)	11.11 % (9) 2.52 (0.75-8.49)	0.192

* adjustiert für atopische Familienanamnese, Geschlecht, Sozialstatus, Haustierhaltung, Rauchen in der Schwangerschaft, Stillen und Jahreszeit zur Geburt, Signifikante Ergebnisse sind fett gedruckt.

Tabelle 12: Häufigkeit [%(n)]und Risiko (OR* mit 95%CI) einer allergischen Sensibilisierung in Bezug auf die Konzentration von VIP. p-Werte des Cochran-Armitage-Trend Tests.

	VIP				
	1. Quartile (3,5-141,2 pg/ml)	2. Quartile (141,2-196,7 pg/ml)	3. Quartile (197,7-242,2 pg/ml)	4. Quartile (249,2-561,2 pg/ml)	p-Wert (Trend)
Nahrungsmittel-allergene	7.40 % (6) 1.00	8.86 % (7) 1.34 (0.40-4.48)	12.5 % (10) 1.48 (0.48-4.55)	22.22 % (18) 3.50 (1.25-9.82)	**0.004**
Eiklar	3.70 % (3) 1.00	2.53 % (2) 0.62 (0.09-4.30)	1.25 % (1) 0.15 (0.01-2.03)	7.40 % (6) 2.17 (0.46-10.25)	0.297
Kuhmilch	3.70 % (3) 1.00	3.79 % (3) 1.19 (0.21-6.60)	3.75 % (3) 0.88 (0.16-4.90)	13.58 % (11) 4.00 (1.02-15.67)	**0.014**
Erdnuss	1.23 % (1) 1.00	3.79 % (3) 3.11 (0.29-32.74)	6.25 % (5) 4.67 (0.48-45.11)	3.70 % (3) 2.94 (0.28-31.01)	0.297
Inhalative Allergene	30.86 % (25) 1.00	20.25 % (16) 0.61 (0.27-1.35)	30.00 % (24) 0.91 (0.42-1.97)	33.33 % (27) 1.07 (0.52-2.21)	0.451
Hausstaubmilbe	18.51 % (15) 1.00	13.92 % (11) 0.81 (0.32-2.05)	16.25 % (13) 0.81 (0.33-1.98)	17.28 % (14) 0.84 (0.36-1.96)	0.937
Katze	8.64 % (7) 1.00	2.53 % (2) 0.37 (0.06-2.01)	5.00 % (4) 0.75 (0.19-2.94)	8.64 % (7) 1.09 (0.33-3.53)	0.842
Hund	4.93 % (4) 1.00	2.53 % (2) 0.65 (0.10-4.15)	3.75 % (3) 1.16 (0.21-6.16)	4.93 % (4) 0.92 (0.20-4.03)	0.903
Lieschgras	12.34 % (10) 1.00	8.86 % (7) 0.82 (0.28-2.42)	13.75 % (11) 1.41 (0.52-3.83)	22.22 % (18) 2.32 (0.92-5.85)	**0.048**
Roggen	7.40 % (6) 1.00	7.59 % (6) 1.12 (0.33-3.81)	13.75 % (11) 2.23 (0.73-6.85)	19.75 % (16) 3.22 (1.12-9.29)	**0.008**
Birke	7.40 % (6) 1.00	8.86 % (7) 1.14 (0.35-3.73)	13.75 % (11) 1.62 (0.53-4.95)	13.58 % (11) 1.95 (0.63-5.98)	0.132
Beifuss	6.17 % (5) 1.00	7.59 % (6) 1.38 (0.38-4.96)	3.75 % (3) 0.57 (0.12-2.72)	8.64 % (7) 1.44 (0.41-5.05)	0.768

* adjustiert für atopische Familienanamnese, Geschlecht, Sozialstatus, Haustierhaltung, Rauchen in der Schwangerschaft, Stillen und Jahreszeit zur Geburt, Signifikante Ergebnisse sind fett gedruckt.

Mit steigenden Konzentrationen von Somatostatin stieg das Risiko einer allergischen Sensibilisierung gegen die Mischung von Nahrungsmittelallergenen und auch gegen einzelne Nahrungsmittelallergene (Kuhmilcheiweiß und Erdnüsse). Außerdem korrelierten einige inhalative Einzelallergene (Lieschgras und Roggen) mit der Konzentration von SOM, nicht aber die Mischung von Aeroallergenen. Ein ähnlicher Zusammenhang zeigte sich auch für VIP für das ebenfalls ein dosisabhängiger Zusammenhang zu dem Risiko einer Sensibilisierung gegen die Nahrungsmittelallergenmischung und gegen Kuhmilcheiweiß, nicht aber zu der Sensibilisierung gegen Erdnüsse und Hühnereiweiß bestand. Die Sensibilisierung gegen Lieschgras- und Roggenpollen korrelierte gleichfalls mit hohen Konzentrationen von VIP. Substanz P zeigte keinerlei Zusammenhang mit einem positiven Test gegen inhalative oder Nahrungsmittelallergene.

Adjustierung für atopische Familienanamnese, Geschlecht, Sozialstatus, Haustierhaltung, Rauchen in der Schwangerschaft, Stillen und Jahreszeit der Geburt führte gegenüber den Rohdaten nur zu einer geringfügigen Änderung der Odds Ratios.

Auf Grund der geringen Zahl positiver Fälle konnte der Zusammenhang zwischen der Neuropeptidkonzentration und einer Sensibilisierung gegen die Nahrungsallergene Dorsch, Weizenmehl, Sojaeiweiß und gegen Cladosporium herb. nicht berechnet werden. Daher sind diese Allergene nicht mit dargestellt.

3.2 Einfluss stressender Lebensereignisse

3.2.1 Umzug

Im Zeitraum der letzten 12 Monate vor Datenerhebung sind 22 Kinder umgezogen, größtenteils innerhalb bzw. in die nähere Umgebung von Leipzig. 13 Eltern hatten zwar angegeben, im letzten Jahr umgezogen zu sein, aber zum Zeitpunkt des Ausfüllens des Fragebogens waren seit dem Umzug mehr als 12 Monate vergangen. Die Werte dieser Kinder wurden ausgeschlossen.

Bei den Probanden mit validierten Umzugsdatum wurden signifikant erhöhte Konzentrationen von VIP festgestellt (Abb. 7).

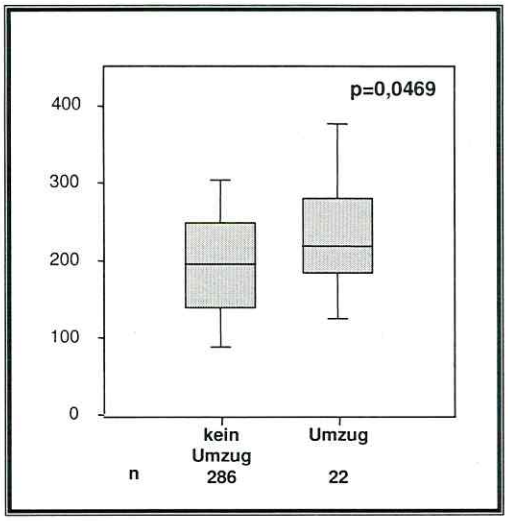


Abbildung 7: VIP in Abhängigkeit vom Umzug in den letzten 12 Monaten

Dies war auch nach Adjustierung auf atopische Familienanamnese, Anzahl der Geschwister, Geschlecht, Sozialstatus und Haustierhaltung signifikant und war mit ebenfalls erhöhten Konzentrationen von MCP-1, IL-6 und IL-8 in den unstimulierten Ansätzen verbunden. Ferner war im LPS-stimulierten Ansatz IL-6 erniedrigt (Abb. 8). Hinsichtlich der Zytokinproduktion der T-Zellen zeigte sich kein signifikanter Unterschied (<0,05).

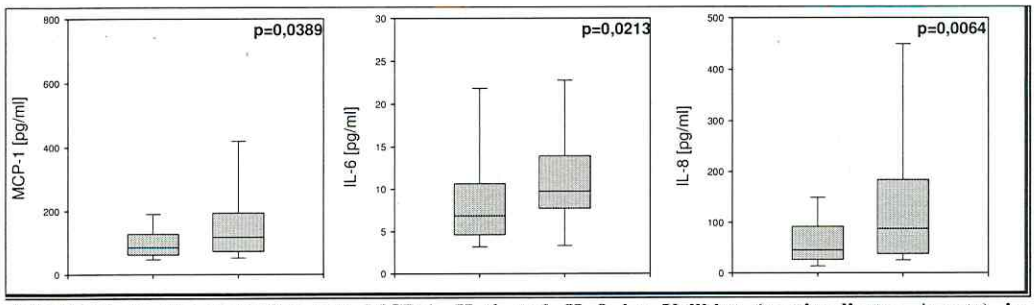


Abbildung 8: Konzentration von MCP-1, IL-6 und IL-8 im Vollblut (unstimulierter Ansatz) in Abhängigkeit vom Umzug in den letzten 12 Monaten

Das Risiko einer allergischen Sensibilisierung war bei Kindern, die umgezogen waren tendenziell erhöht, erreichte aber nicht Signifikanzniveau.

3.2.2 Bildschirmzeit

Es wurden Daten erhoben, wie viele Stunden die Kinder normalerweise täglich vor einem Bildschirm verbringen. Damit waren sowohl Fernseher, als auch Computer und Spielgeräte gemeint. 167 Eltern gaben an, das ihr Kind dies bis zu einer Stunde tut, 154 Eltern gaben ein bis zwei Stunden an. Drei bis vier Stunden verbrachten 13 Kinder vor einem Bildschirm und ein Kind mehr als fünf Stunden.

Es ließen sich zwischen diesen Kindern keinerlei Unterschiede bezüglich der Neuropeptide und Zytokine feststellen.

3.2.3 Trennung der Eltern

Die Frage, ob sie zurzeit mit einem Partner zusammenleben, beantworteten 256 Eltern mit ja und 35 Eltern mit nein. Diese Kinder divergierten bezüglich ihrer Neuropeptide nicht. Es zeigte sich aber, dass Kinder allein lebender Eltern eine erhöhte Konzentration von IL-8 im unstimulierten Ansatz und von IL-10 im LPS-stimulierten Ansatz aufwiesen.

Tabelle 13: Konzentration von IL-8 und IL-10 in Abhängigkeit vom Familienstand der Eltern. Werte in pg/ml

	mit Partner	ohne Partner	p-Wert
IL-8 (PM)	44,5 (27,2; 85,0)	72,8 (26,0; 175,5)	**0,043**
IL-10 (LPS)	13,7 (9,2; 19,7)	21,2 (10,6; 28,4)	**0,004**

Weiterhin wurden die Eltern gefragt, ob und wann sie sich von ihrem Partner getrennt haben. 43 Eltern berichteten über ein Trennungserlebnis. Sieben Eltern hatten sich im 6. Lebensjahr der Kinder getrennt und 29 Eltern zwischen dem ersten und fünften Lebensjahr. 249 Kinder lebten mit beiden leiblichen Eltern. Sieben Kinder, deren Eltern ein Trennungsereignis vor der Geburt des Probanden bzw. keinen Zeitpunkt angegeben hatten, wurden ausgeschlossen. Ebenso wurden die Kinder ausgeschlossen, von denen nicht alle Blutwerte vorlagen.

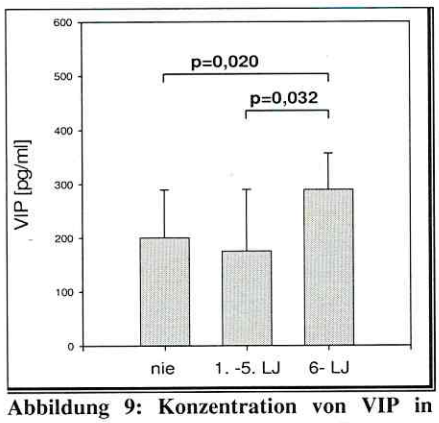


Abbildung 9: Konzentration von VIP in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Trennung der Eltern

Bei einer Trennung der Eltern im 6. Lebensjahr der Kinder ließen sich sowohl im Vergleich mit den Kindern, bei denen die Trennung länger zurück lag, als auch mit den denjenigen Kindern, deren Eltern sich nicht getrennt hatten deutlich erhöhte Konzentrationen von VIP feststellen. Dagegen war bei Kindern, deren Eltern sich vor längerer Zeit getrennt hatten, kein Unterschied festzustellen (Abb. 9). Substanz P und Somatostatin zeigten keine Unterschiede. Im unstimulierten Ansatz des Vollblutessays waren die Konzentrationen von IL-4 und IL-5 der Probanden, deren Eltern sich innerhalb der letzten zwölf Monate getrennt hatten im Vergleich mit Kindern zusammenlebender Eltern erhöht. Die Unterschiede zu den Kindern, bei denen die Trennung der Eltern länger zurück lag, erwiesen sich nicht als signifikant (Abb. 10).

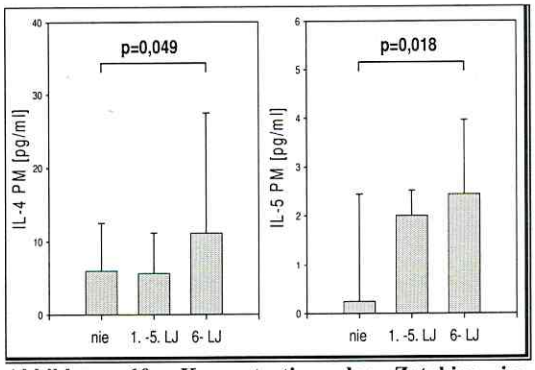


Abbildung 10: Konzentration der Zytokine im Vollblutassay in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Trennung der Eltern

Außerdem war die Fähigkeit zur IL-2 Synthese der CD3+ und CD3+CD4+ Zellen der Kinder, deren Eltern sich im sechsten Lebensjahr der Kinder getrennt hatten vermindert (Abb. 11).

Bei Kindern geschiedener Eltern wurde weiterhin ein deutlicher Trend zu vermehrter Sensibilisierung beobachtet.

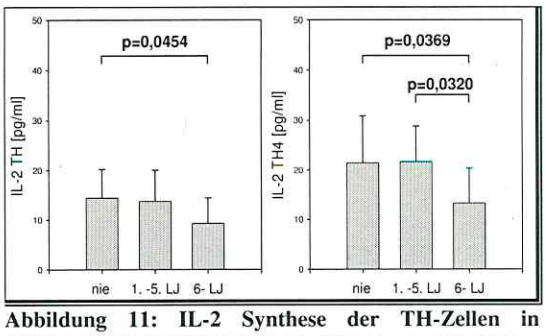


Abbildung 11: IL-2 Synthese der TH-Zellen in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Trennung der Eltern

Tabelle 14: Anzahl sensibilisierter Kinder und Risiko der allergischen Sensibilisierung in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Trennung der Eltern, OR und aOR (adjustiert für atopische Familienanamnese, Geschlecht, Sozialstatus, Haustierhaltung, Rauchen in der Schwangerschaft, Stillen und Jahreszeit zur Geburt). Signifikante Werte (p<0.05) sind fett gedruckt.
**** Fallzahl zu gering**

	nie	1.-5. LJ			6. LJ		
Allergene	n/N (%)	n/N (%)	OR (95%CI)	aOR (95%CI)	n/N (%)	OR (95%CI)	aOR (95%CI)
Gesamt-IgE	31/249 (12,4)	5/29 (17,2)	1,12 (0,53; 2,37)	1,3; 0,8; 2,3)	3/7 (42,9)	**5,3 (1,1; 24,9)**	2,9 (0,5; 19,1)
spez. IgE	77/249 (30,9)	10/29(37,9)	1,50 (0,81; 2,79)	1,2 (0,8; 1,99	4/7 (57,1)	3,0 (0,7; 13,8)	3,0 (0,4; 20,5)
Inhalation	68/249 (27,3)	9/29 (34,5)	1,55 (0,83; 2,89)	1,2 (0,7; 1,9)	3/7 (42,9)	2,0 (0,4; 9,2)	1,6 (0,2; 10,9)
Roggen	27/249 (10,8)	6/29 (20,7)	1,35 (0,69; 2,65)	1,5 (0,9; 2,6)	3/7 (42,9)	**6,2 (1,3; 29,3)**	**7,1 (1,1; 44,2)**
Lieschgras	31/249 (12,4)	6/29 (20,7)	1,26 (0,64; 2,48)	**	3/7 (42,9)	**5,3 (1,1, 24,9)**	**6,3 (1,0; 41,6)**
Clad. herb.	4/249 (1,6)	1/29 (3,4)	1,34 0,34; 5,23)	1,4 (0,4; 4,2)	1/7 (14,3)	10,2 (1,0; 106,8)	**
Birke	24/249 (9,6)	5/29 (17,2)	1,29 (0,63; 2,64)	1,5 (0,8; 2,7)	1/7 (14,3)	1,6 (0,2; 13,7)	**
Beifuss	18/249 (7,2)	1/29 (6,9)	1,80 (0,9; 3,61)	0,6 (0,2; 2,5)	0/7 (0,0)	**	**
Hausstaub	40/249 (16,0)	7/29 (24,1)	1,19 (0,62; 2,30)	1,2 (0,7; 2,1)	2/7 (28,6)	2,1 (0,4; 11,2)	1,4 (0,2; 9,9)
Katze	12/249 (4,8)	5/29 (17,2)	1,73 (0,85; 3,51)	1,3 (0,7; 2,7)	1/7 (14,3)	3,3 (0,4; 29,9)	2,0 (0,2; 24,7)
Hund	10/249 (4,0)	2/29 (6,9)	1,24 (0,44; 3,51)	0,8 (0,3; 2,7)	0/7 (0,0)	**	**
Nahrung	30/249(12,0)	5/29 (17,2)	1,15 (0,55; 2,41)	1,2 (0,7; 2,1)	2/7 (28,6)	2,9 (0,5; 15,9)	3,1 (0,5; 20,4)
Eiklar	8/249 (3,2)	2/29 (6,9)	1,36 (0,50; 3,67)	1,4 (0,6; 3,1)	0/7 (0,0)	**	**
Erdnuss	10/249 (4,0)	1/29 (3,4)	0,81 (0,13; 5,02)	**	0/7 (0,0)	**	**
Soja	8/249 (3,2)	0/29 (0,0)	**	**	0/7 (0,0)	**	**
Milch	13/249 (5,2)	3/29 (10,3)	1,33 (0,57; 3,12)	1,6 (0,9; 3,0)	2/7 (28,6)	**7,3 (1,3; 41,4)**	**7,7 (1,0; 57,8)**
Dorsch	2/249 (1,6)	0/29 (0,0)	**	**	0/7 (0,0)	**	**
Weizen	9/249 (3,6)	0/29 (0,0)	**	**	0/7 (0,0)	**	**

Mittels logistischer Regression konnte gezeigt werden, dass bei einer Trennung der Eltern im sechsten Lebensjahr der Kinder das Risiko für erhöhtes Gesamt-IgE stieg. Bei der Risikoanalyse für die Mischungen inhalativer Allergene bzw. Nahrungsmittelallerge wurde kein Signifikanzniveau erreicht. Allerdings war das Risiko einer Sensibilisierung gegen verschiedene inhalative Einzelallergene (Roggen- und Lieschgraspollen) und gegen Kuhmilcheiweiß erhöht. Letzteres war auch nach Adjustierung signifikant.

3.2.4 Erkrankung eines Angehörigen

Die Eltern wurden bezüglich schwerer Erkrankungen von Familienangehörigen in den letzten sechs Jahren befragt, bei denen die Betroffenen stationär behandelt wurden oder für mehr als zehn Tage Bettruhe halten mussten. Zu den Familienangehörigen wurden die Eltern, Geschwister und Großeltern des Indexkindes und Geschwister der Eltern gezählt. 36 Eltern gaben eine Erkrankung im 6. Lebensjahr und 97 in den ersten fünf Lebensjahren an. In 144 Familien hatte es keine Erkrankung gegeben. 15 Eltern hatten eine Erkrankung angegeben, aber keinen Zeitpunkt oder einen Zeitpunkt vor der Geburt des Probanden. Die Werte dieser Kinder wurden ausgeschlossen.

Kinder, die eine Erkrankung in der Familie unmittelbar im sechsten Lebensjahr erlebt hatten wiesen eine signifikant verminderte Konzentration von Substanz P auf. Dagegen waren VIP und Somatostatin unverändert.

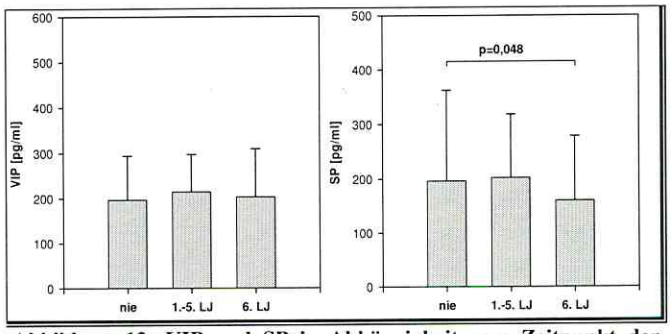


Abbildung 12: VIP und SP in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Erkrankung eines Familienangehörigen

Bei einer Erkrankung eines Familienmitgliedes im sechsten Lebensjahr des Probanden wiesen diese beim Vergleich mit Probanden aus Familien ohne Erkrankungen einen erhöhten Anteil

Tabelle 15: Anteile zytokinproduzierender T_H-Zellen in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Erkrankung eines Familienangehörigen, Angaben in %, signifikante p-Werte (<0,05) sind fett gedruckt.

		Erkrankung eines Angehörigen			p-Werte		
		nie	1.-5.-LJ	6. LJ	6.LJ vs. nie	6. LJ vs. 1.-5.LJ	1.-5.LJ vs. nie
IFN-γ	CD3+	13,81 (10,90; 20,95)	14,21 (10,74; 19,52)	17,20 (12,97; 20,69)	0,072	0,074	0,989
	CD3+CD4+	5,24 (3,60; 7,16)	5,41 (3,82; 7,89)	6,09 (4,22; 6,83)	0,639	0,800	0,313
	CD3+CD8+	23,32 (16,98; 32,29)	22,31 (16,62; 32,01)	26,71 (22,50; 33,86)	**0,020**	**0,027**	0,797
TNF-α	CD3+	14,57 (10,91; 21,09)	16,03 (11,74; 20,85)	17,06 (13,00; 23,50)	0,092	0,310	0,368
	CD3+CD4+	12,50 (8,61; 16,44)	13,67 (9,31; 19,33)	12,85 (9,84; 20,63)	0,173	0,732	0,108
	CD3+CD8+	13,74 (9,84; 21,28)	13,84 (10,01; 21,11)	16,35 (13,69; 19,96)	0,075	0,090	0,855
IL-2	CD3+	12,97 (8,54; 16,99)	15,32 (11,17; 18,96)	15,77 (10,73; 18,49)	0,084	0,987	**0,015**
	CD3+CD4+	19,55 (13,24; 26,24)	23,73 (16,55; 28,35)	22,98 (17,47; 29,30)	0,117	0,957	**0,020**
	CD3+CD8+	4,34 (2,5; 6,60)	4,91 (3,13; 7,53)	5,55 (3,38; 8,85)	**0,026**	0,357	0,053

IFN-γ und IL-2 produzierender CD3+CD8+ Zellen auf. Für den Anteil IFN-γ produzierender CD3+ Zellen und der CD8+ Subpopulation wurden auch beim Vergleich mit Kindern, die eine Erkrankung eines Angehörigen im 1.-5. Lebensjahr erlebt hatten, signifikante Unterschiede erhoben. Lag die Erkrankung länger zurück, war im Vergleich mit Kindern, die

nie eine Erkrankung eines Angehörigen erlebt hatten, der Anteil IL-2 produzierender CD3+ und CD3+CD4+ Zellen gesteigert. Im Vollblutassay zeigte sich eine erhöhte Konzentration von IL-8 im unstimulierten Ansatz (6. LJ: 56,5pg/ml (38,2; 110,7); nie: 39,8pg/ml (23,2; 92,7) p=0,026).

Tabelle 16: Anzahl sensibilisierter Kinder und Risiko der allergischen Sensibilisierung von Kindern mit einem Erkrankungsfall in der Familie. OR und aOR (adjustiert für atopische Familienanamnese, Geschlecht, Sozialstatus, Haustierhaltung, Rauchen in der Schwangerschaft, Stillen und Jahreszeit zur Geburt) ** Fallzahl zu gering

	nie	1.-5. LJ			6. LJ		
Allergene	n/N (%)	n/N (%)	OR (95%CI)	aOR (95%CI)	n/N (%)	OR (95%CI)	aOR (95%CI)
Gesamt-IgE	23/144 (16,0)	15/97 (15,5)	0,96 (0,47; 1,96)	1,14 (0,54; 2,40)	2/36 (5,6)	0,31 (0,07; 1,39)	0,38 (0,08; 1,75)
spez. IgE	52/144 (36,1)	28/97 (28,9)	0,72 (0,41; 1,25)	0,81 (0,45; 1,47)	12/36 (33,3)	0,88 (0,41; 1,92)	1,13 (0,35; 3,62)
Inhalation	50/144 (34,7)	21/97 (21,6)	**0,52 (0,29; 0,94)**	0,59;(0,31; 1,11)	11/36 (30,6)	0,83 (0,37; 1,83)	0,90 (0,39; 2,08)
Roggen	23/144 (16,7)	10/97 (10,3)	0,67 (0,31; 1,45)	0,78 (0,35; 1,74)	4/36 (11,1)	0,66 (0,21; 2,05)	0,76 (0,23; 2,48)
Lieschgras	26/144 (18,1)	10/97 (10,3)	0,58 (0,27; 1,24)	0,68 (0,31; 1,50)	5/36 (13,9)	0,73 (0,26; 2,08)	0,80 (0,27; 2,39)
Clad. herb.	2/144 (1,4)	1/97 (1,0)	0,74 (0,07; 8,35)	**	2/36 (5,6)	4,18 (0,56; 31,14)	**
Birke	20/144 (13,9)	6/97 (6,2)	0,41 (0,16; 1,06)	0,48 (0,18; 2,30)	5/36 (13,9)	1,00 (0,35; 2,90)	1,27 (0,41; 3,96)
Beifuss	13/144 (9,0)	3/97 83,1)	0,32 (0,09; 1,17)	**	4/36 (11,1)	1,26 80,38; 4,15)	**
Hausstaub	28/144 (19,4)	16/97 (16,5)	0,82 (0,41; 1,61)	0,94 (0,47; 1,91)	5/36 (13,9)	0,67 80,24; 1,89)	0,63 (0,21; 1,88)
Katze	11/144 (7,6)	3/97 (3,1)	0,39 (0,10; 1,43)	0,39 (0,10; 1,49)	3/36 (8,3)	1,10 (0,29; 4,21)	1,14 (0,26; 4,97)
Hund	6/144 (4,2)	4/97 (4,1)	0,99 (0,24; 4,11)	0,99 (0,25; 3,89)	1/36 (2,8)	0,66 (0,08; 5,72)	0,55 (0,06; 5,38)
Nahrung	177144 (11,8)	15/97 (15,5)	1,37 (0,64; 2,90)	1,48 (0,67; 3,27)	5/36 (13,9)	1,20 (0,41, 3,54)	1,13 (0,35; 3,62)
Eiklar	5/144 (3,5)	4/97 (4,1)	1,19 (0,31; 4,58)	**	2/36 (5,6)	1,64 (0,30; 8,90)	**
Erdnuss	7/144 (4,9)	3/97 (3,1)	0,62 (0,16; 2,49)	**	1/36 (2,8)	0,56 (0,07; 4,76)	0,98 (0,09; 10,77)
Soja	5/144 (3,5)	2/97 (2,1)	0,58 (1,11; 3,10)	**	1/36 (2,8)	0,79 (0,09; 7,12)	**
Milch	10/144 (6,9)	5/97 (5,2)	0,73 (0,24; 2,20)	0,61 (0,81; 2,00)	3/36 (8,3)	1,22 (0,31; 4,72)	0,93 (0,21; 4,20)
Dorsch	2/144 (1,4)	1/97 (1,0)	0,74 (0,07; 8,30)	**	1/36 (2,8)	2,03 (0,18; 23,40)	**
Weizen	5/144 (3,5)	2/97 (2,1)	0,58 (0,11; 3,09)	**	2/36 (5,6)	1,64 (0,30; 8,89)	2,59 (0,37; 18,39)

Auf Rohdatenebene zeigte sich, dass Kinder, die in ihrem ersten bis fünften Lebensjahr einen Erkrankungsfall in der Familie erlebt hatten, ein vermindertes Risiko einer allergischen Sensibilisierung gegen inhalative Allergene aufwiesen. Nach Adjustierung war dies nicht mehr signifikant.

3.2.5 Tod eines Angehörigen

Weiterhin wurden die Eltern nach dem Tod eines Angehörigen befragt. In sieben Familien hatte es einen Todesfall im sechsten Lebensjahr des Probanden gegeben. Dabei handelte es sich ausschließlich um Großeltern des Kindes. In vier Familien war im gleichen Jahr auch ein Erkrankungsfall zu verzeichnen. Zwischen ersten und fünften Lebensjahr der Kinder verstarben 42 Verwandte. In 234 Familien hatte sich kein Todesfall ereignet. Ausgeschlossen wurden neun Kinder, bei denen der angegebene Todeszeitpunkt des Angehörigen vor der Geburt des Kindes lag oder kein Datum angegeben war.

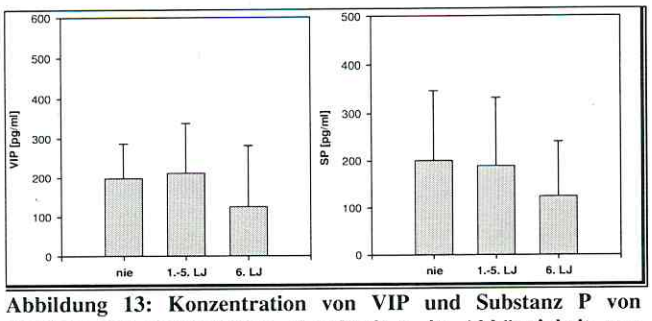


Abbildung 13: Konzentration von VIP und Substanz P von Kindern mit verstorbenen Angehörigen in Abhängigkeit von Todeszeitpunkt

Der Tod eines Verwandten war mit tendenziell verminderten Konzentrationen von VIP und SP im Todesjahr verbunden, es wurde aber kein Signifikanzniveu erreicht. Somatostatin war unverändert.

Kinder in deren Familien im sechsten Lebensjahr des Kindes ein Familienmitglied verstorben war, zeigten im Vergleich zu Kindern ohne Todesfall in der Familie erhöhte Konzentrationen von IL-8 im unstimulierten Ansatz des Vollblutassays. Weiterhin wiesen Kinder, die im 1.-5. Lebensjahr einen Todesfall erlebt hatten, im PHA-stimulierten Ansatz erhöhte Konzentrationen von IL-4 und IL-5 auf. Dieser Unterschied war sowohl im Vergleich mit Kindern ohne Todesfälle in der Familie als auch im Vergleich mit Kindern, deren Verwandte im sechsten Lebensjahr verstorben waren signifikant (Tab 17). Diese wiesen ferner bei der Gegenüberstellung mit Kindern, die im 1.-5. Lebensjahr einen Todesfall in der Familie beklagen mussten einen erhöhten Anteil IFN-γ produzierender CD3+CD8+ Zellen auf (6. LJ: 29,3%; 1.-5.LJ. 22,3%; p-Wert 0,023).

Tabelle 17: Konzentration von IL-4, IL-5 und IL-8 im unstimulierten und PHA bzw. LPS-stimulierten Ansatz des Vollblutessays in Abhängigkeit von Zeitpunkt des Todes eines Angehörigen. Gezeigt sind Median und Perzentile, signifikante p-Werte sind fett gedruckt

		Tod eines Angehörigen			p-Wert		
		nie	1.-5.LJ	6.LJ	6. LJ vs. nie	1.-5. LJ vs. nie	6. LJ vs. 1.-5. LJ
IL-4	PM	5,9 (0,0; 9,8)	5,9 (0,0; 7,9)	5,8 (0,0; 7,7)	0,616	0,793	0,630
	PHA	42,3 (27,4; 70,4)	60,0 (35,5; 94,4)	43,1 (21,8; 46,1)	0,427	**0,021**	**0,041**
IL-5	PM	0,3 (0,0; 2,3)	0,3 (0,3; 2,3)	0,3 (0,0; 2,2)	0,383	0,729	0,251
	PHA	3,5 (2,2; 6,3)	4,9 (3,0; 9,4)	0,3 (0,3; 4,7)	0,149	**0,049**	**0,045**
IL-8	PM	43,9 (25,5; 89,5)	50,5 (29,8; 88,4)	119,1 (37,2; 156,1)	**0,049**	0,562	0,063
	LPS	3812,7 (2921,0; 5185,8)	4502,3 (3080,9; 6109,2)	4953,2 (3321,0; 5452,9)	0,297	0,149	0,764

Unter den sieben Kindern, die in ihrem sechsten Lebensjahr einen Todesfall erlebt hatten, wies keines eine allergische Sensibilisierung auf. Eine Risikoberechnung war daher nicht möglich. Für die Kinder, die im ersten bis fünften Lebensjahr ein Familienmitglied verloren hatten, ließen sich keine Risikounterschiede erheben.

3.2.6 Einschulung

In einem Telefoninterview wurden die Eltern nach dem Einschulungstermin ihrer Kinder gefragt. Es konnten 290 Eltern (90,3%) erreicht werden. 15 Eltern (4,7%) hatten eine Telefonnummer angegeben, die nicht (mehr) gültig war und 16 Eltern (5%) waren unter der angegebenen Nummer nicht zu erreichen. Tabelle 21 zeigt die Aufteilung der Kinder anhand von Geburtsdatum und Datum der Blutentnahme.

Tabelle 18: Aufteilung der Kinder anhand Einschulung, Geburtsdatum und Datum der Blutentnahme. Kinder, die nach dem 30.6.98 geboren und 2004 eingeschult wurden, wurden als vorgezogen eingeschult gezählt. Schulbeginn war der 23. 8.2004.

Einschulung	Blutentnahme vor Schulbeginn	Blutentnahme nach Schulbeginn	Summe
regulär	125	14	139
vorgezogen	3	15	18
nicht			133
Summe	128	29	

Kinder, die im Untersuchungsjahr eingeschult wurden und bei denen die Blutabnahme vor Schulbeginn erfolgt war, (Vorschulkinder) zeigten im Vergleich mit Kindern, bei denen die Blutabnahme nach Schulbeginn erfolgt war (Schulkinder), und im Vergleich mit Kindern, die nicht eingeschult wurden (Kindergartenkinder), deutlich verminderte Konzentrationen von Somatostatin und erhöhte Konzentrationen von Substanz P. Zwischen Kindergarten- und Schulkindern bestanden keine signifikanten Unterschiede. VIP zeigte keine Divergenz.

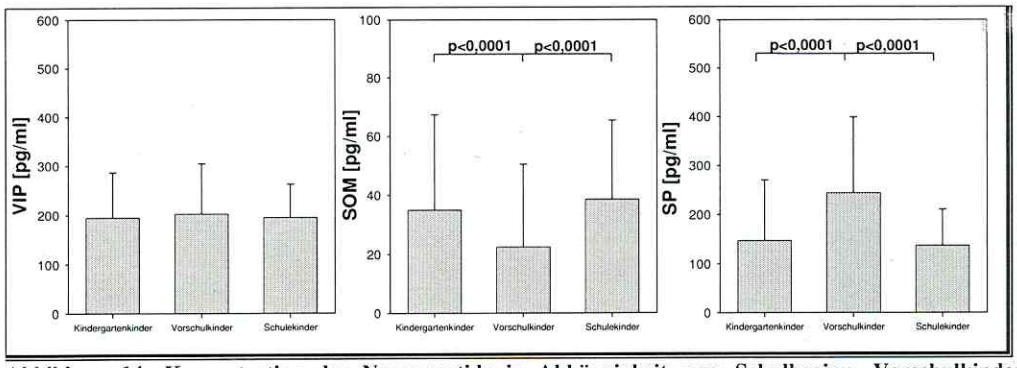


Abbildung 14: Konzentration der Neuropeptide in Abhängigkeit vom Schulbeginn. Vorschulkinder (n=128) sind Kinder, bei denen die Blutentnahme vor Schulbeginn erfolgte. Bei Schulkindern (N=29) fand die Blutentnahme nach Schulbeginn statt. Kindergartenkinder (N=132) sind Kinder, die erst im folgenden Jahr eingeschult wurden.

Bezüglich der Zytokin- und Chemokinkonzentrationen im Vollblutassay ließen sich im unstimulierten Ansatz bei Vorschulkindern erhöhte Konzentrationen von IFN-γ und IL-10 beobachten. Im Vergleich zu den Kindergartenkindern waren auch im LPS-stimulierten Ansatz erhöhte Konzentrationen von IL-10 nachweisbar. Außerdem zeigten sich im LPS-stimulierten Ansatz erhöhte Spiegel von TNF-α. Die Konzentrationen von IL-4 und IL-5, IL-8, Eotaxin und RANTES waren im unstimulierten Ansatz der Vorschulkinder im Vergleich mit den Kindergartenkindern vermindert. Dagegen war die Konzentration von IL-5 im PHA-stimulierten Ansatz erhöht. RANTES allerdings zeigte auch in diesem Ansatz eine

Verminderung. Im unstimulierten Ansatz war die Abnahme der RANTES-Konzentration auch im Vergleich zu den Schulkindern signifikant.

Beim Vergleich der Schulkinder mit den Kindergartenkindern zeigten diese in den unstimulierten Ansätzen verminderte Konzentrationen von IFN-γ und IL-10 (Tab. 19).

Tabelle 19: Konzentration der Zytokine in Abhängigkeit vom Schulbeginn. Die Angaben sind in pg/ml, signifikante Werte (p<0,05) sind fett gedruckt.

		Median (25. und 75. Perzentile)			p-Werte		
		Kindergarten-kinder (N=132)	Vorschulkinder (N=128)	Schulkinder (N=29)	Kindergarten- vs. Vorschulkinder	Vorschul- vs Schulkinder	Kindergarten- vs. Schulkinder
IFN-γ	PM	2,0 (0,0; 12,6)	10,9 (3,0; 16,3)	0,0 (0,0; 2,4)	**<0,001**	**<0,001**	**0,007**
	LPS	47,0 (27,3; 114,2)	51,4 (28,9; 86,6)	42,5 (23,8; 125,5)	0,791	0,709	0,627
	PHA	1710,5 (924,3; 2600,6)	1427,3 (754,7; 2708,6)	1531,2 (912,5; 2589,0)	0,370	0,995	0,542
TNF-α	PM	6,6 (4,5; 9,3)	6,5 (4,9; 12,1)	5,8 (3,0; 9,8)	0,232	0,156	0,728
	LPS	2788,8 (2095,8; 3419,1)	3370,5 (2587,5; 4191,3)	2739,4 (2388,2; 3795,8)	**<0,001**	0,131	0,542
Eotaxin	PM	421,2 (331,6; 532,4)	365,8 (301,4; 496,7)	401,3 (245,6; 502,8)	**0,023**	0,924	0,240
	PHA	374,6 (274,1; 497,0)	356,7 (273,3; 446,4)	367,9 (260,0; 429,7)	0,256	0,589	0,262
RANTES	PM	7714,8 (6031,7; 9582,7)	6141,0 (4414,9; 8570,4)	7503,5 (6141,0; 8963,9)	**<0,001**	**0,035**	0,600
	PHA	8691,3 (6946,0; 11743,7)	7316,4 (5513,9; 9363,1)	7816,4 (5561,3; 12542,2)	**<0,001**	0,175	0,448
MCP-1	PM	85,1 (64,4; 128,3)	88,2 (63,4; 129,5)	82,2 (48,1; 96,8)	0,755	0,065	0,091
	LPS	725,8 (493,8; 967,1)	771,4 (519,0; 1037,8)	694,2 (435,9; 886,0)	0,351	0,291	0,572
IL-4	PM	7,2 (0,0; 11,5)	2,2 (0,0; 7,4)	5,2 (0,0; 8,4)	**<0,001**	0,398	0,123
	PHA	44,6 (27,3; 68,0)	41,1 (26,6; 71,6)	59,6 (32,2; 80,3)	0,998	0,181	0,125
IL-5	PM	2,1 (0,3; 2,5)	0,3 (0,0; 2,1)	0,3 (2,9; 6,6)	**<0,001**	0,204	0,277
	PHA	3,2 (0,9; 5,1)	4,0 (2,1; 7,4)	4,1 (3,1; 9,6)	**0,030**	0,583	0,067
IL-6	PM	7,2 (4,2; 11,1)	7,1 (5,1; 10,8)	6,6 (3,1; 9,6)	0,775	0,173	0,162
	LPS	8296,4 (7236,5; 9409,8)	8815,6 (7603,9; 9572,2)	8093,1 (83,6; 9469,4)	0,126	0,367	0,921
IL-8	PM	58,5 (30,3; 105,0)	43,4 (28,1; 71,3)	43,6 (21,2; 75,0)	**0,037**	0,849	0,094
	LPS	3761,2 (2814,3; 5123,3)	4074,6 (3237,6; 5342,5)	3620,7 (2699,3; 4508,4)	0,122	0,077	0,430
IL-10	PM	1,5 (0,0; 1,5)	2,9 (1,9; 3,6)	0,0 (0,0; 1,5)	**<0,001**	**<0,001**	**0,015**
	LPS	11,5 (8,1; 18,9)	14,9 (10,6; 21,2)	14,2 (8,5; 18,6)	**0,007**	0,147	0,812
	PHA	42,3 (30,5; 55,1)	43,3 (28,2; 58,3)	40,9 (33,0; 54,3)	0,657	0,654	0,864

3.3 Einfluss sozialer Faktoren

3.3.1 Geschlecht

Die untersuchte Kohorte bestand aus 167 Jungen und 153 Mädchen. Hinsichtlich der Zytokinproduktion der T-Zellen und der Neuropeptidkonzentration ließen sich mittels Mann-Whitney U-Test keine Geschlechtsunterschiede feststellen. Auch die im Vollblutassay gemessenen Zytokine unterschieden sich auf Rohdatenebene nicht, lediglich Eotaxin bildete eine Ausnahme. Jungen wiesen signifikant höhere Konzentrationen auf (PM: Median 430,2 vs. 367,9, p=0,0015 bzw. PHA: Median 393,2 vs. 328,9; p=0,0009).

3.3.2 Anzahl der Geschwister

Die Gruppe der Kinder, bei denen Blutuntersuchungen durchgeführt wurden (n=321) hatten bis zu vier Geschwister. Als Geschwister wurden Kinder gezählt, die mit dem Probanden in einem Haushalt leben, d.h. sowohl leibliche als auch Halbgeschwister und Kinder die mit dem Probanden in keinem Verwandschaftsverhältniss standen. 194 Kinder hatten ein Geschwisterkind, 45 zwei, sechs drei und zwei Kinder vier Geschwister. 70 Kinder waren Einzelkinder.

Jüngere Geschwister hatten 110 Kinder. Davon hatten 99 ein, zehn Kinder zwei und ein Kind drei jüngere Geschwister. 137 Kinder hatten ältere Geschwister. Davon waren 117 Kinder das zweite Kind, 18 Kinder das dritte und zwei das vierte Kind. Bei dem Vergleich von Kindern mit bis zu einem Geschwisterkind mit Kindern mit mehreren Geschwistern wiesen letztere im Vollblutassay signifikant höhere Spiegel an IL-8 in dem unstimulierten und im endotoxinstimulierten Ansatz auf. Weiterhin wurden bei diesen Kindern größere Anteile IFN-γ und TNF-α produzierender CD3+ Zellen beobachtet (Tabb. 20 und 21).

Tabelle 20: Zytokinkonzentration [pg/ml]im Vollblutassay in Abhängigkeit von der Anzahl der Geschwister, dargestellt sind Median, in Klammern 25. und 75. Perzentile

		alle Geschwister			jüngere Geschwister		
		≤1	>1	p-Wert	≤1	>1	p-Wert
IFN-γ	PM	7,2 (0,0; 13,7)	8,0 (0,0; 13,8)	0,958	7,4 (0,0; 14,0)	8,8 (2,6; 12,1)	0,849
	LPS	52,8 (29,1; 112,8)	43,8 (27,3; 77,5)	0,158	49,3 (28,5; 99,6)	37,0 23,6; 67,4)	0,171
IL-8	PM	45,4 26,1; 91,2)	70,6 (32,3; 127,8)	**0,009**	45,4 27,6; 93,5)	86,9 (48,9; 234,4)	**0,047**
	LPS	3812,7 (2968,2; 5264,0)	4751,6 (3420,3; 6152,2)	**0,022**	3974,1 (3048,1; 5346,1)	4878,9 (3531;0 6308,6)	0,222

Wurden nur die Kinder mit mehr als einem jüngeren Geschwisterkind betrachtet, zeigten diese signifikant erhöhte Konzentrationen von IL-8 (PM). Ebenfalls waren die Anteile IFN-γ und TNF-α produzierender CD3+ Zellen erhöht, erreichten aber nur für IFN-γ in der CD4+ Subpopulation Signifikanzniveau.

Außerdem wurden Kinder mit bis zu einem älterem Geschwisterkind und Kinder mit mehreren älteren Geschwistern miteinander verglichen. Hier wurden bei letzteren erniedrigte IL-10-Konzentrationen gemessen (in PHA, nicht dargestellt). Weitere Unterschiede waren im Vollblutassay nicht festzustellen. Die CD3+ Zellen der Kinder mit mehreren älteren Geschwistern produzierten zu einem größeren Anteil IFN-γ und TNF-α. Dieser Unterschied war für TNF-α nur in der CD3+CD8+ Population signifikant.

Tabelle 21: Anteile zytokinproduzierender T-Zellen in Abhängigkeit von der Anzahl der Anzahl der Geschwister. Signifikante p-Werte sind fett gedruckt

		alle Geschwister			jüngere Geschwister			ältere Geschwister		
		≤1	>1	p-Wert	≤1	>1	p-Wert	≤1	>1	p-Wert
IFN-γ	CD3+	14,6 (10,8; 19,6)	18,6 (12,7; 23,7)	**0,006**	15,1 (10,9; 20,6)	18,0 (12,7; 19,6)	0,506	14,7 (10,9; 19,9)	20,7 (13,4; 26,0)	**0,005**
	CD3+CD4+	5,2 (3,6; 7,0)	6,7 (4,8; 8,4)	**0,008**	5,3 (3,6; 7,3)	7,9 (6,1; 9,0)	**0,023**	5,3 (3,7; 7,2)	6,7 (4,9; 8,6)	0,101
	CD3+CD8+	24,3 (17,7; 32,1)	25,7 (19,8; 37,2)	0,1342	24,2 (18,4; 32,5)	25,7 (22,1; 29,8)	0,912	24,2 (17,7; 32,1)	30,2 (22,1; 44,1)	**0,022**
TNF-α	CD3+	15,7 (11,4; 21,4)	18,7 (13,23,8)	**0,032**	16,0 (11,4; 21,7)	17,4 (13,8; 23,8)	0,470	16,0 (11,4; 21,6)	20,7 (13,5; 25,1)	0,081
	CD3+CD4+	13,0 (9,4; 17,7)	15,6 (10,5; 19,9)	0,105	13,1 (9,5; 18,1)	17,6 (11,5; 21,3)	0,119	13,2 (9,5; 18,4)	15,6 (10,7; 19,7)	0,292
	CD3+CD8+	14,0 (9,9; 20,2)	15,7 (13,2; 24,9)	**0,009**	14,7 (10,1; 20,8)	15,5 (12,7; 18,3)	0,672	14,2 (10,0; 20,2)	19,6 (14,1; 25,7)	**0,015**

3.3.3 Besuch einer Kindereinrichtung

3.3.3.1 Besuch der Kinderkrippe bis zum zweiten Lebensjahr

Tabelle 22: Zytokinsynthese peripherer T-Zellen sechsjähriger Kinder in Abhängigkeit vom Zeitraum der Betreuung in einer Kinderkrippe im ersten und zweiten Lebensjahr (Median, 25. und 75. Perzentile in Klammern)

		Kinderkrippenbesuch			
		Nie N=100	19. -24. LM N=34	13. -24. LM N=95	7. -24. LM N=35
IFN-γ	CD3+	14,74 (11,60; 20,13)	14,67 (11,22; 19,58)	14,95 (10,90; 20,44)	15,27 (10,82; 19,01)
	CD3+CD4+	5,26 (3,64; 7,54)	5,26 (3,79; 7,16)	5,26 (3,72; 7,47)	5,26 (3,96; 6,86)
	CD3+CD8+	24,28 (18,83;32,21	24,19 (18,71; 32,06)	24,51 (18,26; 32,53)	24,2 (16,98; 32,53)
TNF-α	CD3+	16,42 (12,28; 21,06)	16,16 (11,52; 21,43)	16,03 (11,63; 21,09)	14,2 (9,29; 19,96)
	CD3+CD4+	14,08 (9,53;18,47)	13,68 (9,56; 18,42)	12,95 (9,43; 17,34)	11,14 (9,31; 16,49)
	CD3+CD8+	14,65 (11,29;20,27	14,10 (10,76; 20,19)	14,91 (10,0; 21,22)	14,81 (8,9; 21,15)
IL-2	CD3+	13,58 (9,34; 17,75	14,31 (9,75; 18,13)	14,29 (9,84; 18,53)	14,26 (9,15; 18,29)
	CD3+CD4+	21,96 (14,07; 27,84)	21,67 (14,42; 27,88)	22,27 (14,58; 27,83)	21,22 (15,07; 27,88)
	CD3+CD8+	4,69 (2,97; 6,57)	4,75 (2,87; 6,98)	4,81 (2,99; 6,96)	4,16 (2,26; 6,98)
IL-4	CD3+	0,78 (0,46; 1,21)	0,74 (0,46; 1,18)	0,74 (0,43; 1,14)	0,61 (0,43; 0,94)
	CD3+CD4+	1,35 (0,7; 1,91)	1,25 (0,70; 1,95)	1,27 (0,76; 1,84)	1,16 (0,48; 1,65)
	CD3+CD8+	0,34 (0,04;1,00)	0,33 (0,04; 0,74)	0,28 (0,03; 0,73)	0,22 (0,01; 0,49)
IL-13	CD3+	1,18 (0,75; 1,62)	1,12 (0,79; 1,61)	1,15 (0,78; 1,61)	1,08 (0,67; 1,53)
	CD3+CD4+	1,93 (1,08; 2,76)	1,89 (1,15; 2,76)	1,96 (1,08; 2,76)	2,28 (1,06; 2,82)
	CD3+CD8+	0,86 (0,36; 1,31)	0,77 (0,29; 1,49)	0,76 (0,33; 1,5)	0,71 (0,45;1,49)

Bei der Untersuchung der Kinder im zweiten Lebensjahr wurden die Eltern bezüglich des Kinderkrippenbesuchs und des -eintrittsalters ihres Kindes befragt. Im sechsten Lebensjahr

ließen sich keinerlei Zusammenhänge zwischen dem Eintrittsalter in die Kinderkrippe und der Zytokinsynthese der T-Zellen feststellen (Tab. 22).

Allerdings zeigte sich, dass Kinder, die eine Kinderkrippe besucht hatten, ein etwa um die Hälfte verringertes Risiko einer allergischen Sensibilisierung, insbesondere gegen die Mischung inhalativer Allergene und gegen Hausstaubmilben aufwiesen (Tab. 23).

Tabelle 23: Risiko einer allergischen Sensibilisierung in Abhängigkeit vom Kinderkrippenbesuch. Angegeben sind OR (95%CI) und aOR (95%CI) Die Adjustierung erfolgte für atopische Familienanamnese, Sozialstatus, Geschlecht, ältere Geschwister, Renovieren in der Schwangerschaft und Stillen. ** Fallzahl zu gering

Allergene	nie n/N (%)	Kinderkrippenbesuch irgendwann im 6.-24 Lebensmonat n/N (%)	OR (95%CI)	aOR (95%CI)
Gesamt-IgE	19/100 (19,0)	18/175 (10,3)	0,51 (0,26; 1,01)	0,49 (0,22; 1,07)
spez. IgE	41/100 (41,0)	52 /123 (29,7)	0,62 (0,37; 1,03)	**0,49 (0,27, 0,89)**
Inhalationsallergene	37/100 (37,0)	45/175 (25,7)	0,60 (0,35; 1,01)	**0,48 (0,26; 0,90)**
Roggen	15/100 (15,0)	22/175 (12,6)	0,81 (0,40; 1,65)	0,72 (0,32; 1,60)
Lieschgras	16/100 (16,0)	25/175 (14,3)	0,87 (0,44; 1,72)	0,68 (0,31; 1,48)
Cladosporium herb.	1/100 (1,0)	3/175 (1,7)	1,72 (0,17; 16,90)	**
Birke	10/100 (10,0)	23/175 (13,1)	0,60 (0,35; 1,01)	1,36 (0,57; 3,27)
Beifuss	5/100 (5,0)	11/175 (6,3)	1,27 (0,42; 3,78)	1,25 (0,39; 3,98)
Hausstaubmilbe	22/100 (22,0)	25/175 (14,3)	0,58 (0,31; 1,11)	**0,48 (0,23; 0,98)**
Katze	4/100 (4,0)	11/175 (6,3)	1,60 (0,49; 5,19)	1,31 (0,38; 4,61)
Hund	5/100 (5,0)	7/175 (4,0)	0,79 (0,24; 2,56)	0,62 (0,17; 2,31)
Nahrungsmittelallergene	16/100 (16,0)	22/152/ (12,6)	0,78 (0,39; 1,57)	0,70 (0,33; 1,52)
Eiklar	5/100 (5,0)	6/175 (3,4)	0,67 (0,20; 2,25)	0,51 (0,14; 1,88)
Erdnuss	4/100 (4,0)	8/175 (4,6)	1,14 (0,33; 3,90)	2,08 (0,50; 8,63)
Soja	1/100 (1,0)	8/175 (4,6)	4,70 (0,58; 38,61)	7,47 (0,79; 71,12)
Milch	6/100 (6,0)	12/175 (6,8)	1,14 (0,41; 3,15)	0,80 (0,27; 2,40)
Dorsch	2/100 (2,0)	1 /175 (0,6)	0,56 (0,57; 4,07)	**
Weizen	1/100 (1,0)	8/175 (12,6)	4,69 (0,57; 38,38)	7,47 (0,79; 71,12)

3.3.3.2 Kindergartenbesuch im sechsten Lebensjahr

In einem Telefoninterview wurden die Eltern nach dem Besuch einer Kindereinrichtung ihres Kindes im sechsten Lebensjahr befragt. Es konnten 290 Familien erreicht werden. Alle Kinder dieser Kohorte besuchten vor der Einschulung den Kindergarten oder eine Vorschule. Daher war es nicht möglich, eventuelle mögliche Einflüsse dieses Faktors auf das Immunsystem zu beobachten.

3.3.4 Einkommen

Die Eltern wurden nach dem durchschnittlichen Nettoeinkommen ihres Haushaltes befragt. Anhand dieser Angaben und der Angaben bezüglich der im Haushalt lebenden Personen wurde das bedarfsgewichtete Nettoäquivalenzeinkommen berechnet. Hierzu werden den im Haushalt lebenden Personen bedarfsabhängige Faktoren zugeordnet. Entsprechend der OECD-Scala erhielten der Haushaltsvorstand den Faktor 1,0, jede weitere Person über 14 Jahren den Faktor 0,5 und Kinder bis 14 Jahre 0,3. Anschließend wurde das Nettoeinkommen durch die Summe der Faktoren geteilt.

264 Eltern, von deren Kindern die Blutuntersuchung durchgeführt wurde, hatten Angaben zu ihrem Einkommen gemacht. Von diesen lagen 50 Haushalte unter der Armutsrisikogrenze (weniger als 60% des landesweiten Medians) von € 938,00. Kinder, die aus diesen Familien stammten, hatten erhöhte Anteile IFN-γ produzierender CD3+ und CD3 +CD8+ Zellen und TNF-α produzierender CD3+ Zellen (Tab. 24)

Tabelle 24: Anteile zytokinproduzierender Zellen in Abhängigkeit vom bedarfsgewichteten Haushaltseinkommen. Angegeben sind Median und in Klammern 25. bzw. 75. Perzentile in [%], signifikante Ergebnissse (p<0,05) sind fett gedruckt.

		Einkommen		
		< € 938,00	> € 938,00	p-Wert
IFN-γ	CD3+	17,8 (13,8; 24,5)	14,1 (10,7; 19,6)	**0,004**
	CD3+CD4+	6,0 (3,8; 7,9)	5,4 (3,8; 7,5)	0,881
	CD3+CD8+	28,3 (19,9; 36,7)	24,1 17,0; 31,9)	**0,040**
TNF-α	CD3+	18,4 (13,8; 24,4)	15,6 (11,1; 21,2)	**0,008**
	CD3+CD4+	15,7 (10,5; 19,3)	12,8 (9,3; 17,7)	0,109
	CD3+CD8+	15,2 (11,8; 23,2)	14,1 (9,6; 20,6)	0,061
IL-2	CD3+	14,3 (9,2; 17,9)	13,8 (9,3; 18,0)	0,659
	CD3+CD4+	23,0 (16,6; 27,9)	20,4 (13,9; 27,4)	0,237
	CD3+CD8+	4,8 (3,0; 6,9)	4,6 (2,5; 6,9)	0,735
IL-4	CD3+	0,8 (0,5; 1,1)	0,7 (0,4; 1,2)	0,465
	CD3+CD4+	1,2 (0,8; 1,8)	1,2 (0,7; 2,0)	0,697
	CD3+CD8+	0,3 (0,1; 0,6)	0,3 (0,0; 0,8)	0,921
IL-13	CD3+	1,0 (0,8; 1,6)	1,1 (0,8; 1,6)	0,884
	CD3+CD4+	1,9 (1,2; 2,5)	1,8 (1,1; 2,8)	0,760
	CD3+CD8+	0,7 (0,3; 1,3)	0,8 (0,3; 1,6)	0,630

Im Vollblutassay wurden zwischen den T_H1/T_H2-Zytokinen diesbezüglich keine Konzentrationsunterschiede festgestellt. Dagegen waren die Konzentrationen der Entzündungsmaker IL-6, IL-8, IL-10, TNF-α und MCP-1 erhöht (Tab. 25). In Hinsicht auf die Neuropeptide zeigten sich keine Unterschiede.

Differenzen bezüglich einer allergischen Sensibilisierung wurden nur auf Rohdatenebene für die Sensibilisierung gegen Hausstaubmilben mit Signifikanzniveau gefunden (OR (95% CI): 2,15 (1,02; 4,53)).

Tabelle 25: Zytokinkonzentration im Vollbluessay in Abhängigkeit vom bedarfsgewichteten Haushaltseinkommen. Angegeben sind Median und in Klammern 25. bzw. 75. Perzentile in [pg/ml], signifikante Ergebnissse (p<0,05) sind fett gedruckt.

		Bedarfsgewichtetes Nettoäquivalenzeinkommen		
		< € 938,00	> € 938,00	p-Wert
IFN-γ	PM	9,1 (0,0;14,7)	7,0 (0,0; 13,2)	0,379
	LPS	47,5 (28,5; 88,7)	50,6 (27,5; 100,4)	0,802
	PHA	1856,9 (1233,4; 3765,8)	1614,7 (922,0; 2641,8)	0,118
IL-4	PM	5,9 (0,0; 9,4)	6,3 (0,0; 9,6)	0,717
	PHA	45,0 (29,3; 81,3)	45,0 (27,5; 72,3)	0,661
IL-5	PM	1,1 (0,0; 2,3)	0,3 (0,0; 2,3)	0,604
	PHA	3,5 (1,5; 6,,3)	3,7 (2,3; 6,8)	0,686
IL-6	PM	9,0 (5,4; 16,5)	6,7 (4,2; 9,6)	**0,002**
	LPS	8491,7 (7307,1; 9129,3)	8587,3 (7556,5; 9550,3)	0,383
IL-8	PM	68,8 (30,4; 175,5)	43,0 (25,5; 76,7)	**0,002**
	LPS	4787,1 (3048,1; 5264,6)	3798,1 (3009,3; 5264,6)	0,121
IL-10	PM	2,8 (1,5; 3,4)	1,5 (1,5; 3,1)	**0,039**
	LPS	15,5 (9,9; 24,4)	14,0 (9,4; 20,1)	0,218
	PHA	42,6 (34,5; 54,3)	43,3 (28,2; 56,0)	0,638
TNF-α	PM	8,7 (5,3; 15,2)	6,1 (4,3; 9,3)	**0,003**
	LPS	2781,7 (2270,7; 3435,5)	3140,8 (2437,0; 3795,8)	0,174
MCP-1	PM	102,9 (74,5; 198,4)	82,9 (61,7; 121,0)	**0,007**
	LPS	721,4 (511,7; 1072,5)	760,8 (497,3; 1005,1)	0,685
Eotaxin	PM	403,5 (315,4; 498,0)	399,1 (323,4; 524,9)	0,690
	PHA	386,5 (270,5; 489,4)	368,5 (276,1; 456,7)	0,813
RANTES	PM	7265,4 (5325,7; 9311,6)	7215,5 (5420,6; 9311,6)	0,727
	PHA	8072,2 (6294,1; 11490,6)	7979,3 (5915,1; 11270,9)	0,631

3.3.5 Arbeitslosigkeit

Weiterhin wurden die Eltern befragt, ob sie in den letzten sechs Jahren arbeitslos gewesen waren. 17 Elternpaare gaben an, dass zumindest ein Elternteil innerhalb von sechs Monaten vor Datenerhebung für min. drei Monate keine Arbeitsstelle hatte. Bei 65 Elternpaaren traf dies irgendwann im Verlauf des ersten bis fünften Lebensjahr des Kindes zu. 189 Elternpaare hatten stets Arbeit.

Es waren zwischen den Kindern erwerbstätiger bzw. arbeitsloser Eltern kaum Unterschiede bezüglich Neuropeptid- und Zytokinkonzentrationen sowie dem Risiko einer allergischen Sensibilisierung festzustellen. Lediglich die Konzentration von IL-5 war im unstimulierten Ansatz des Vollblutessays bei Arbeitslosigkeit der Eltern im sechsten Lebensjahr im Vergleich mit Kindern, deren Eltern stets erwerbstätig waren, erhöht (Tab. 26).

Tabelle 26: Anteil IL-4 produzierender CD3+ Zellen [%] und Konzentration von MCP-1 [pg/ml] in Abhängigkeit von der Erwerbstätigkeit der Eltern

		Arbeitslosigkeit			p-Wert		
		nie	1.-5. LJ	6. LJ	nie vs. 6. LJ	6. LJ vs 1.-5. LJ	1.-5. LJ vs. nie
IL-4	CD3+	0,7 (0,4; 1,2)	0,7 (0,4; 1,0)	0,7 (0,5; 1,1)	0,388	0,665	**0,038**
	CD3+CD4+	1,2 (0,7; 2,0)	1,2 (0,7; 1,7)	1,2 (0,8; 1,4)	0,585	0,937	0,433
	CD3+CD8+	0,3 (0,0; 0,8)	0,3 (0,0; 0,7)	0,3 (0,0; 0,6)	0,591	0,802	0,608
IL-5	PM	0,3 (0,3; 2,3)	1,5 (1,5; 2,3)	2,3 (1,5; 2,8)	**0,020**	0,081	0,404
	PHA	4,0 (2,3; 6,6)	3,4 (1,8; 6,8)	4,0 (2,4; 6,5)	0,924	0,791	0,416

4 Diskussion

4.1 Immunologische Parameter und Neuropeptide

Um den immunologischen Hintergrund der Kinder zu untersuchen wurde die Fähigkeit der T-Lymphozyten zur Produktion verschiedener, bei der Entstehung allergischer Erkrankungen relevanter Zytokine bestimmt. Außerdem wurde die Konzentration von teilweise diesen und weiteren Zytokinen und von verschiedenen Chemokinen im Vollblutassay untersucht, um so nicht nur die T-Zellen, sondern die Zytokinproduktion aller im Blut vorkommender Zytokine zu erfassen.

4.1.1 Zytokinsynthese der T-Zellen und Zytokinkonzentration im Vollblutassay

Im Blut messbare Zytokine stammen außer aus T-Zellen auch aus anderen Quellen. Daher wurde mittels Spearman Rangkorrelation der Zusammenhang zwischen T-Zell-Zytokinproduktion und Konzentration der Zytokine im Vollblutassay derjenigen Zytokine, die mit beiden Methoden gemessen wurden, untersucht. Dies war für IFN-γ, IL-4 und TNF-α der Fall. Allerdings wurden für die Stimulation der T-Zellen im Vollblutessay PHA eingesetzt während bei der bei der Intrazellulären Zytokinfärbung mit PMA und Ionomycin stimuliert wurde. Daher sind die Ergebnisse nur bedingt vergleichbar.

IFN-γ wird hauptsächlich von aktivierten Natürlichen Killerzellen, CD4+ T_H1-Zellen und CD8+ T-Zellen gebildet. Weitere IFN-γ bildende Zellen sind Makrophagen, dentritische Zellen, naive CD4+ T-Zellen und B-Zellen (Teixeira et al. 2005). Wie erwartet korrelierte die Konzentration von IFN-γ im PHA-stimulierten Vollblut mit der Anzahl IFN-γ produzierender T-Zellen. Dies spricht dafür, dass stimulierte T-Zellen eine bedeutende Quelle für IFN-γ darstellen. Dass sich in den anderen Ansätzen des Vollblutessays (PM und LPS) kein Zusammenhang zur T-Zell-Produktion von IFN-γ nachweisen ließ, weist auf weitere Ursprungsorte hin.

Ähnliches ließ sich auch für IL-4 nachweisen. Dieses Zytokin wird außer von aktivierten T_H-Zellen auch von Mastzellen, eosinophilen und basophilen Zellen produziert. Letztere stellen eine quantitativ bedeutendere Quelle dar als T_H-Zellen (Gessner et al. 2005). Der Anteil IL-4 produzierender CD3+ und CD3+CD4+ T-Zellen korrelierte mit der Konzentration von IL-4 im PHA stimulierten Vollblut. Dies weißt auf stimulierte T_H-Zellen als Quelle für IL-4 hin. Für weitere Quellen von IL-4 spricht, dass sich zwischen Zytokinkonzentration im unstimulierten Ansatz des Vollblutassays und T-Zellproduktion kein Zusammenhang zeigte. CD3+CD8+ T-Zellen produzieren kein IL-4. Daher konnte kein Zusammenhang beobachtet werden.

TNF-α wird von einer Vielzahl von Zellen gebildet, hauptsächlich von Makrophagen aber auch Natürlichen Killerzellen und Monozyten und T_H-Zellen (Smyth und Johnstone, 2000). Aufgrund des quantitativ geringen Anteils aus T-Zellen stammendens TNF-α und da kein T-Zellen stimulierender Ansatz untersucht wurde, war kein Zusammenhang zu erwarten.

4.1.2 Allergische Sensibilisierung und Zytokine

Es ist seit längerer Zeit bekannt, dass, obwohl eine allergische Sensibilisierung nicht mit einer allergischen Erkrankung gleichzusetzen ist, sie einen bedeutenden Risikofaktor für die Manifestation dieser darstellt. So wurde z. B. in der MAS-Studie belegt, dass Kinder, die in ihrer frühen Kindheit gegen Nahrungsmittel sensibilisiert waren, später sehr viel häufiger an allergischen Erkrankungen der Atemwege litten. Daher wurde insbesondere eine länger nachweisbare Sensibilisierung als ein starker prognostischer Faktor für die spätere Entwicklung einer atopischen Erkrankung beschrieben (Kulig et al. 1998).

Es wurde ein Zusammenhang zwischen dem Risiko einer allergischen Sensibilisierung gegen verschiedene inhalative und Nahrungsmittelallergene und dem Anteil zytokinproduzierender CD3+ Zellen bzw. der Zytokinkonzentration im Vollblutassay untersucht. Wie zu erwarten war wurde ein Zusammenhang zwischen dem Risiko einer allergischen Sensibilisierung und einen T_H2-gerichteten Zytokinprofil gefunden. Aufgrund der teilweise nur geringen Zahl der gegen die verschiedenen Einzelallergene sensibilisierten Kinder erscheint zunächst die Betrachtung der Allergenmischungen sinnvoll. Eine Sensibilisierung gegen inhalative Allergene war mit einer erhöhten Konzentration von IL-4, IL-5 (PHA) und MCP-1 (LPS) verbunden. Kinder, die gegen Nahrungsmittelallergene sensibilisiert waren, wiesen verminderte Konzentrationen von IFN-γ und IL-6 (PM) und eine erhöhte Konzentration von IL-5 (PHA) und IL-4 bzw. IL-13 produzierender CD3+ sowie IL-13 produzierender CD3+CD8+ Zellen auf. Die Betrachtung der verschiedenen Einzelallergene zeigt gleichsinnige Veränderungen. Insbesondere die IL-5-Konzentration im PHA-stimulierten Ansatz des Vollblutassays war mit einer Sensibilisierung gegen fast alle untersuchten inhalativen Allergene verbunden.

4.1.3 Neuropeptide und Zytokine im Vollblutassay

In zahlreichen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass Neuropeptide die Zytokinsynthese verschiedener Zellen beeinflussen. So induzierte SP in aktivierten Lymphozyten und Makrophagen von Ratten *in vivo* die Sekretion von IL-6 und TNF-α während Somatostatin dies hemmte (Ryu et al. 2000). SP steigerte auch die Produktion von IL-6 und TNF-α durch Mastzellen (Azzolina et al. 2003) und die IFN-γ-Produktion muriner T-Zellen (Blum et al. 1998). Betrachtet man die Studien, in denen menschliche Zellen

untersucht wurden, so wurde beobachtet, dass SP in physiologischen Konzentrationen die Freisetzung von TNF-α und IL-10 durch periphere Mononukleare Zellen steigert. Dagegen war der induzierende Effekt auf die Sekretion von IFN-γ und IL-4, der in einer früheren Studie gefunden worden war, nicht nachweisbar (Gordon et al. 1997; Kim et al. 2003). Im Vollblut von Patienten mit rheumatoider Arthritis stimulierte Substanz P die Produktion von IL-1β, TNF-α und IL-6, allerdings nicht in LPS-stimulierten Ansätzen. Das Gleiche war auch in geringerem Ausmaß im Blut von Patienten mit Osteoarthritis feststellbar (Hernanz et al. 2003). Menschliche Zahnpulpazellen produzierten als Reaktion auf SP vermehrt IL-8 und auch geringfügig mehr MCP-1 (Park et al. 2004). In Übereinstimmung mit diesen Daten zeigten die untersuchten LISA-Kinder einen positiven Zusammenhang zwischen der Konzentration von Substanz P und der Konzentration inflammatorischer Marker wie IL-10 und IFN-γ. Dagegen waren IL-8, Eotaxin und RANTES negativ mit SP korreliert.

Im Gegensatz zu SP wurde für Somatostatin eine antiinflammatorische Wirkung nachgewiesen. Es inhibiert in physiologischen Konzentrationen die Freisetzung von IL-8 (Komorowski et al. 2000) und die Sekretion von IL-6, IL-1β und TNF-α aus LPS stimulierten PBMC (Peluso et al. 1996). Auch in anderen Zellen wurden hemmende Effekte von Somatostatin nachgewiesen. Beispielsweise inhibiert es die Freisetzung von IL- 8 und IL-1β von aktivierten und nichtaktivierten intestinalen Epithelzellen und von IL-6 aus menschlichen Fibroblasten (Andoh et al. 2002; Chowers et al. 2000). Dagegen stimuliert es die Freisetzung von IL-4 und IL-10 aus murinen T-Zellen (Krantic, 2000). Im Rahmen der LISA-Studie wurde ein positiver Zusammenhang zwischen Somatostatin und GATA3, einem Transkriptionsfaktor, der die T_H2-Antwort markiert und zwischen Somatostatin und SOCS1, einem Transkriptionsfaktor, der T_H1-Zellen hemmt, gefunden (Herberth et al. 2006). Im Einklang mit diesen Literaturdaten zeigte sich in den hier untersuchten Kindern ebenfalls eine negative Korrelation zwischen Somatostatin und den inflammatorischen Zytokinen IL-8, IL-10, IFN-γ. Eine positive Korrelation bestand mit dem T_H2-Zytokin IL-4. Zusammengefasst sprechen diese Daten dafür, dass Somatostatin das T_H1/T_H2-Gleichgewicht in Richtung T_H2 verschieben könnte und so ein Risikofaktor für eine allergische Sensibilisierung bzw. atopische Erkrankung darstellen könnte.

VIP wirkt ebenfalls antiinflammatorisch. Es ist ein wichtiger endogener Faktor, der die T_H2-Differenzierung fördert und T_H1-Zellen hemmt. Dies geschieht in durch verschiedene Mechanismen. So konnte gezeigt werden, dass es die Expression von B7-2 in unstimulierten Makrophagen und dentritischen Zellen induziert (Delgado et al. 1999). Makrophagen, die in vitro mit VIP behandelt wurden, induzierten in antigenstimulierten CD4+ Zellen die T_H2-Zytokineproduktion und hemmten T_H1 Zytokine (Delgado, 2003). In einer weiteren Studie

konnte gezeigt werden, dass es die Freisetzung von IFN-γ, aber auch IL-4 aus peripheren mononucleären Zellen von Patienten mit atopischer Dermatitis senkt (Gordon et al. 1997). In den hier untersuchten Kindern ließ sich allerdings kein Zusammenhang zwischen VIP- und Zytokinkonzentration feststellen.

4.1.4 Neuropeptide und allergische Sensibilisierung

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass Kinder mit den höchsten Konzentrationen von Somatostatin ein gesteigertes Risiko einer Sensibilisierung gegen Nahrungsmittelallergene und einzelne inhalative Allergene haben. Ähnliche Ergebnisse wurden auch bei VIP beobachtet.

Im Gegensatz zu diesen Ergebnissen wurde in älteren Studien auf zellulärer Ebene (in vitro) festgestellt, dass sowohl SOM als auch VIP inhibierend auf die IgE-Produktion von B-Zellen (aber nur in Gegenwart von T-Zellen und Monozyten) atopischer und nicht atopischer Spender wirken. Weiterhin zeigte Substanz P in diesen Studien keinen Einfluss auf die IgE-Synthese (Kimata et al. 1992; Kimata, 1996). Dieselbe Forschergruppe konnte aber allerdings in späteren *in vivo* Untersuchungen an Patienten mit atopischer Dermatitis nachweisen, dass erhöhte Konzentrationen von SP und VIP mit erhöhten IgE-Spiegeln korrelierte (Kimata, 2003b). Innerhalb der LISA-Studie konnte gezeigt werden, dass SOM die T_H2-Entwicklung beeinflusst und mit erhöhten T_H2-Zytokinkonzentrationen assoziiert ist (Herberth et al. 2006). Diese Daten, zusammen mit den hier gefundenen Ergebnissen legen nahe, dass SOM bzw. VIP einen modulierenden Effekt auf die Immunreaktion haben könnten und so zu einem gesteigerten Risiko einer allergischen Sensibilisierung führen.

4.2 Einfluss von stressenden Lebensereignissen

Der Einfluss von Stress auf die Gesundheit wird viel diskutiert. In einigen Studien wurde auch der Einfluss von Stress auf die Entwicklung von allergischen Erkrankungen einerseits und die Ausprägung der Symptome andererseits untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass einschneidende Ereignisse im Leben, wie ein Umzug, Veränderungen in der Familie, Krankenhausaufenthalt oder Verkehrsunfälle die Inzidenz von Asthmanfällen steigern. Dieser Anstieg wurde unmittelbar nach dem Ereignis und nach einer etwa vierwöchigen Latenz beobachtet (Sandberg et al. 2004). Langfristig gesehen konnten Erlebnisse wie Emigration oder Scheidung der Eltern, mit einem gesteigertem Risiko für allergische Sensibilisierung, Asthma und atopischer Dermatitis in Verbindung gebracht werden (Anderzen et al. 1997; Bockelbrink et al. 2006). Kürzlich konnte außerdem gezeigt werden, dass Stress den Erfolg einer sublingualen Desensibilisierung asthmatischer Kinder mindert (Ippoliti et al. 2006). Es wurden allerdings nur wenige dieser Untersuchungen an jüngeren Kindern durchgeführt. Es wurde aber ein Zusammenhang zwischen der Stressbelastung der Eltern und kindlichem Wheezing beobachtet (Wright et al. 2002). Ebenfalls gibt es nur wenige Studien, die den Einfluss von Stress auf die Zytokinproduktion untersuchten. Es konnte allerdings gezeigt werden, dass Stress das Zytokingleichgewicht in Richtung T_H2-Typ verlagert, die IgE-Produktion steigert und die Mastzelldegranulation triggert. Diese Reaktion war auch mit erhöhten Blutkonzentrationen von Substanz P und VIP assoziiert (Kimata, 2003b).

Da beides, sowohl allergische Erkrankungen als auch Stress im Kindesalter gestiegen sind, war es ein Ziel dieser Arbeit den Einfluss von stressenden Lebensereignissen und Lebensumständen auf Neuropeptidkonzentrationen und die Immunreaktivität sechsjähriger Kinder zu untersuchen.

4.2.1 Umzug

Obwohl Umzug in unserer Gesellschaft ein häufiges Phänomen ist, gibt es nur wenige Studien, die sich mit dessen Einfluss auf die Entwicklung des Kindes beschäftigen. Da allerdings in der bisherigen Literatur meist negative gesundheitliche Effekte mit einem Umzug assoziiert wurden, ist er als Stressfaktor zu betrachten (Kelly und Lamb, 2003). Bei einem Umzug ändern sich nicht nur Wohnung und Wohnumfeld, er ist möglicherweise auch mit dem Verlust von Bezugspersonen wie Nachbarn und Spielkameraden verbunden. Zusätzlich könnten die Umstände, die zu dem Umzug führten das Kind stressen, etwa eine Scheidung oder neue Partnerschaft der Eltern, die Geburt eines weiteren Geschwisterkindes oder der Verlust der Arbeitsstelle. Auch haben Kinder bei einem Umzug normalerweise keine Wahl. Diese Faktoren könnten zu Stress führen, der auch die Immunreaktivität der Kinder beeinflusst.

In einer prospektiven Studie wurden zwölfjährige, schwedische Kinder, die ihr Heimatland verlassen mussten, vor und ein Jahr nach der Emigration untersucht. Vor dem Umzug waren keine Unterschiede zwischen diesen Kindern und einer Kontrollgruppe aus Kindern, die in Schweden blieben, festzustellen. In der zweiten Untersuchung war der Anteil von Kindern, die eine Sensibilisierung zeigten, in der Emigrationsgruppe gegenüber der Vergleichsgruppe signifikant erhöht. Außerdem berichteten die Eltern häufiger über Symptome allergischer Hauterkrankungen ihrer Kinder im vergangenen Jahr. Diese Modifikationen waren mit Klimaveränderungen nicht zu erklären. Als mögliche Ursache wurde der mit dem Verlust des sozialen Umfeldes und dem Einleben in der fremden Kultur verbundene Stress angeführt (Anderzen et al. 1997).

In der vorliegenden Arbeit erfolgte der Umzug der meisten Kinder innerhalb von Leipzig. Zwei Kinder zogen in die nähere Umgebung von Leipzig und zwei Kinder in einen anderen Teil Deutschlands. Zwischen diesen Subgruppen zeigten sich keine Unterschiede. Beim Vergleich der Kinder, die in den letzten 12 Monaten vor Blutabnahme umgezogen waren mit den Kindern, die nicht umgezogen waren, ließen sich erhöhte Konzentrationen von VIP und die Tendenz einer häufigeren Sensibilisierung feststellen. Dies deutet darauf hin, dass bereits ein Umzug innerhalb des Heimatlandes ein Stressfaktor darstellen könnte, der auch Sensibilisierung der die Kinder beeinflusst. Möglicherweise sind hiervon insbesondere jüngere Kinder betroffen, da diese enger mit ihrem soziokulturellen Umfeld verbunden sind. Gleichzeitig zeigten diese Kinder erhöhte Konzentrationen inflammatorischer Marker (IL-6, IL-8 und MCP-1). Da VIP antiinflammatorisch wirkt, überrascht dieses Ergebnis. Möglicherweise lässt sich die Zytokinerhöhung aber auf die mit einem Umzug oftmals verbundene Renovierungstätigkeit zurückführen. Die klinische Relevanz der beobachteten Veränderungen sollte an einer größeren Studienpopulation geprüft werden. Die LISA-Gesamtkohorte würde hierzu die Möglichkeit bieten. Ein Vergleich mit Kindern, bei denen der Umzug länger zurück lag war nicht möglich, da die Fragestellung dies nicht erfasste.

4.2.2 Bildschirmzeit

Exzessivem Fernseh- und Videospielkonsum im Kindesalter werden zahlreiche Folgen zugeschrieben, wie z. B. Neigung zu Adipositas, Verhaltensstörungen und erhöhte Gewaltbereitschaft (Songul et al. 2002). Insbesondere Beschäftigung mit Videospielen mit Musik führte zu zahlreichen stressassoziierten Veränderungen wie einer Steigerung der kardiovaskulären Aktivität und der Cortisolausschüttung (Hebert et al. 2005). Kürzlich gelang es zu zeigen, dass Patienten mit atopischer Dermatitis unmittelbar nach zweistündiger Beschäftigung mit einem Videospiel höhere Spiegel an Substanz P, VIP und Nerve Growth Factor aufwiesen als zu Beginn des Spiels. Dies war mit ebenfalls erhöhten Konzentrationen

von IL-4, IL-10 und IL-13 und der gesteigerten Fähigkeit zur in vitro IgE-Synthese verbunden. IFN-γ und IL-12 waren dagegen erniedrigt. Daraus wurde geschlussfolgert, dass das Spielen von Videospielen Stress verursacht, der das T_H1/T_H2 Gleichgewicht zugunsten des T_H2-Typs verschiebt und die Symptome von Patienten mit atopischer Dermatitis verschlimmern könnte. Bei gesunden Patienten und bei Patienten mit allergischer Rhinitis ließen sich dagegen keine Unterschiede feststellen. (Kimata, 2003b).

Bei der Untersuchung der Kinder in der LISA Studie ließ sich keine Abhängigkeit der Neuropeptidkonzentration von der Zeit, die die Kinder gewöhnlich vor einem Bildschirm verbringen, nachweisen. Dies könnte daran liegen, dass eventuell auftretende Effekte nur kurzfristig sind und daher nur unmittelbar nach dem Fernsehen nachzuweisen wären. Eine weitere Ursache könnte sein, dass sechsjährige Kinder, die ihre Zeit vor einem Bildschirm verbringen, meist fernsehen, während Computerspiele erst bei älteren Kindern an Bedeutung gewinnen (Feierabend und Klinger, 2003). Fernsehen könnte für die Kinder vergleichsweise weniger belastend sein als Videospiele.

4.2.3 Trennung der Eltern

Eine Trennung der Eltern ist für Kinder ein emotionales Trauma und kann bis ins Erwachsenenalter zu Problemen führen. Zu dem Verlust eines Elternteils treten oftmals noch weitere Veränderungen, etwa auch der Verlust eines Großelternpaares, eine Verminderung des Einkommens oder der Umzug in eine kleinere Wohnung (Huurre et al. 2006; Schor, 2003).

Der Trennung selbst geht oftmals eine längere Phase von Konflikten zwischen den Eltern voraus. Außerdem wurde eine Erosion der Eltern – Kind – Beziehung bereits acht bis zwölf Jahre vor einer Scheidung nachgewiesen (Amato und Booth, 1996). Vorschulkinder reagieren auf diese Situation entsprechend ihres egozentrischen Weltbildes mit Schuldgefühlen, Loyalitätskonflickten und Verlassensangst (Bryner, Jr., 2001; Cohen, 2002).

In der vorliegenden Arbeit wurde nicht nach dem mit der Trennung der Eltern verbundenem, subjektiv empfundenem Stress der Kinder gefragt. Aber es liegt nahe, dass diese Situation die Kinder emotional belastet. Diese Belastung könnte sich auch auf das Immunsystems auswirken. In der LISA-Studie selbst wurde bei Kindern, die in ihren ersten beiden Lebensjahren eine Trennung der Eltern erleben mussten, eine erhöhte Inzidenz für ein atopisches Ekzem im Alter von zwei und drei Jahren beobachtet (Bockelbrink et al. 2006). In einer schwedischen Studie wurden Kinder mit atopischer Familienanamnese im 18. Lebensmonat und mit drei Jahren auf Symptome allergischer Erkrankungen untersucht. Außerdem wurde die emotionale Verbundenheit der Familienmitglieder einem

standardisiertem Test unterzogen. Kinder aus Familien mit gestörten zwischenmenschlichen Beziehungen zeigten ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung einer atopischen Erkrankung. Dagegen war für Kinder aus intakten Familien die Rekonvaleszenzrate atopischer Symptome zwischen 18. und 36. Lebensmonat erhöht (Gustafsson et al. 2002). In einer weiteren Studie konnte ein Zusammenhang zwischen kindlichen Trennungsängsten und atopischen Erkrankungen gezeigt werden (Slattery et al. 2002).

Die hier untersuchten Kinder, deren Eltern sich innerhalb von zwölf Monaten vor der Blutentnahme hatten wiesen deutlich erhöhte Konzentrationen von VIP auf. Ebenfalls erhöht waren die Konzentrationen der T_H2-Zytokine IL-4 und IL-5. Dies weist auf eine Verlagerung des Zytokingleichgewichts in Richtung T_H2 hin, was möglicherweise durch VIP begünstigt wurde. Tatsächlich konnte *in vitro* gezeigt werden, dass mit VIP stimulierte Makrophagen und Dentritische Zellen vermehrt T_H2-Zytokine (IL-4, IL-5) produzierten, während dieProduktion von T_H1-Zytokinen vermindert war (Delgado, 2003). Außerdem unterstützt es das Überleben von T_H2-Gedächtniszellen (Delgado et al. 2002).

Der Zusammenhang zwischen akutem Stress und dem Anstieg von VIP ist sowohl im Tiermodell als auch im Menschen vielfach belegt. Schon vor längerer Zeit konnte gezeigt werden, dass beim Menschen der VIP-Spiegel mit der Konzentration der typischen Stressmarker (Cortisol und Katecholamine) assoziiert war (Crozier et al. 1988). Ratten zeigten bei Exposition mit Lärm eine mit der Lautstärke steigende Plasmakonzentration von VIP, SOM und SP (Mu et al. 2006). Bei Menschen mit atopischer Dermatitis waren Stressoren wie klingelnde Handys und die Beschäftigung mit Bildschirmgeräten mit gesteigerten VIP-Konzentrationen verbunden (Kimata, 2003a; Kimata, 2003b).

Es wurde bereits vorn ausgeführt, dass ein dosisabhängiger Zusammenhang zwischen der Konzentration von VIP und dem Risiko einer allergischen Sensibilisierung bestand. Der Anteil allergisch sensibilisierter Kinder war unter den Scheidungskindern mit deutlicher Tendenz erhöht. Auch wenn dies aufgrund der geringen Fallzahl nur vereinzelt Signifikantniveau erreichte, steht diese Tendenz im Einklang mit den oben genannten Studien, die für Kinder geschiedener Eltern, bzw. für Kinder aus Familien mit gestörten innerfamiliären Beziehungen ein erhöhtes Risiko einer atopischen Erkrankung feststellten.

Zusammengefasst unterstützen diese Ergebnisse, die mit einer Trennung der Eltern verbundene Erhöhung der VIP-Konzentration, die Verschiebung des Zytokinprofils und das gesteigerte Risiko einer allergischen Sensibilisierung, die These, dass VIP ein Verbindungsglied zwischen Stressor und klinischer Manifestation einer allergischen Erkrankung einer stressexponierten Person darstellt.

Andererseits waren bei Kindern, bei denen die Trennung der Eltern bereits länger zurück lag, das heißt bis zum fünften Lebensjahr, keine Unterschiede bezüglich der Neuropeptid- und Zytokinkonzentrationen mehr festzustellen. Wie bereits erwähnt konnte allerdings innerhalb der LISA-Studie gezeigt werden, dass Kinder, deren Eltern sich in den ersten beiden Lebensjahren getrennt hatten, später häufiger an einem atopischen Ekzem erkrankten als Kinder aus ungestörten Familienverhältnissen (Bockelbrink et al. 2006). Dies deutet darauf hin, dass die mit der Scheidung der Eltern verbundene veränderte Immunreaktion der „Wegbereiter" für eine spätere Entwicklung einer allergischen Erkrankung sein könnte.

4.2.4 Erkrankung eines Angehörigen

Eine schwere Erkrankung ist eine emotionale und physische Stresssituation für die gesamte Familie des Kranken, die mit Sorge und Angst verbunden ist. Die Kinder erleben die Belastung ihrer Eltern mit. Neben der emotionalen Situation bleibt für sie durch die häusliche Pflege oder den Besuch des Erkrankten weniger Zeit mit ihren Eltern. Der hierdurch entstehende Stress könnte auch die Entwicklung atopischer Erkrankungen begünstigen.

Überraschenderweise zeigte sich aber ein protektiver Effekt dieses Stressors. Kinder, die in ihrem sechsten Lebensjahr eine Erkrankung eines Familienmitgliedes erlebt hatten, wiesen eine verminderte Konzentration von Substanz P und einen höheren Anteil IFN-γ- und IL-2 produzierender CD3+CD8+ Zellen auf. Die Konzentration der Zytokine im Vollblutassay zeigten dagegen keine Unterschiede. Außerdem war, zumindest auf Rohdatenebene, das Risiko einer allergischen Sensibilisierung gegen inhalative Allergene vermindert. Es ist bekannt, dass SP die Sekretion proinflammatorischer Zytokine wie IL-1, IL-6 und TNF-α in PBMC fördert (Cuesta et al. 2002)

Inwieweit eine erniedrigte Konzentration von Substanz P relevant ist für die Entwicklung einer allergischen Erkrankung ist unbekannt. Interessanterweise konnte anhand der LISA-Studienpopulation gezeigt werden, dass Kinder, die bis zu ihrem zweiten Lebensjahr eine Erkrankung eines Familienangehörigen erlebt hatten, seltener an einer atopischen Dermatitis erkrankten. Auch hier war dieses Ergebnis unerwartet. Möglicherweise, so wurde argumentiert, berichteten Eltern mit engen interfamiliären Beziehungen häufiger über die Erkrankung eines Angehörigen als Eltern, die nur einen losen oder gar keinen Kontakt zu ihren Verwandten haben (Bockelbrink et al. 2006). Daher dürfte die Frage nach einem Erkrankungsfall in der Familie möglicherweise mehr über die Qualität der Familienbeziehung aussagen, als über den Fakt einer Erkrankung an sich. Der hierdurch entstehende Bias könnte diesen unerwarteten Effekt erklären. Diese Erklärung bleibt allerdings spekulativ, da weder nach der Qualität der innerfamiliären Beziehungen noch dem mit der Erkrankung verbundenen Stressausmaß gefragt wurde.

4.2.5 Tod eines Angehörigen

Der Tod eines Elternteils gehört zu den traumatischsten Ereignissen in der Kindheit, ist aber in unserer Gesellschaft selten.

Für Kinder, die in ihrem sechsten Lebensjahr den Tod eines Großelternteils, erlebt hatten, ließen sich lediglich tendenzielle Unterschiede bezüglich der Neuropeptidkonzentration feststellen. Andere Familienmitglieder waren nicht verstorben. Allerdings wurde nicht erhoben, wie eng die Beziehung des Kindes zu seinen Großeltern war und inwieweit der Todesfall für das jeweilige Kind belastend war. Einerseits könnte der Tod der geliebten Oma für das Kind einen starken Stressor darstellen, der aber auch durch die Qualität der Eltern-Kind-Beziehungen beeinflusst werden kann (Kwok et al. 2005). Andererseits könnte, bei einer nur losen Beziehung zu den Großeltern, deren Tod das Kind nur wenig berühren, zumal Sechsjährige den Tod oftmals noch als ein endliches Ereignis betrachten. Die Vorstellung, dass mit dem Tod ein unwiederbringlicher Verlust der Person verbunden ist, reift meist erst im Grundschulalter (Fleck-Bohaumilitzky, 2003). In einer möglicherweise folgenden Untersuchung sollte daher nicht nur nach dem Verwandtschaftsverhältnis, sondern auch nach der tatsächlichen Enge der Beziehung des Kindes zu dem Verstorbenen gefragt werden.

Bei dem Tod eines Verwandten im Untersuchungsjahr war im unstimulierten Ansatz des Vollblutassays die Konzentration von IL-8 erhöht. Lag der Verlust eines Familienmitglieds länger zurück, zeigten sich erhöhte Konzentrationen von IL-4 und IL-5 im PHA-stimulierten Ansatz. Diese Zytokinveränderungen deuten einen möglicherweise allergiefördernden Effekt des Stresses durch den Tod eines Verwandten an. Das Risiko einer allergischen Sensibilisierung ließ sich aber aufgrund der geringen Fallzahl nicht berechnen. Um mögliche Effekte einer Trauerreaktion auf das Immunsystem festzustellen, wäre die Untersuchung einer größeren Kohorte notwendig. Eine weitere Möglichkeit wäre es, den Tod von Haustieren zu untersuchen. Dies tritt häufiger auf als der Tod eines Verwandten und Kinder haben zu ihren Tieren gewöhnlich eine enge Beziehung. Daher kann Tod eines Haustieres Trauerreaktionen hervorrufen, die mit denen, die mit dem Verlust eines engen Familienmitglieds verbunden sind, durchaus vergleichbar sind (Clements et al. 2003).

4.2.6 Einschulung

Der Übergang von einer vorschulischen Einrichtung in das schulische Bildungssystem ist ein Interessenschwerpunkt frühpädagogischer Forschung. Auf Grund der Unterschiedlichkeit der institutionellen Organisation von Kindergarten und Schule ist für das einzelne Kind der Schuleintritt ein bedeutender Entwicklungsabschnitt und ist in verschiedensten Bereichen stressbelastet. Auf individueller Ebene müssen starke Emotionen wie Vorfreude, Neugier und Stolz, aber auch Unsicherheit und Angst verarbeitet werden. Auch das Selbstbild des Kindes

ändert sich. Es fühlt sich älter, selbstständiger, „größer" und erschließt sich neue Bereiche selbstständigen Handelns. In der Familie und der Gesellschaft ist die neue Rolle des Schulkindes mit veränderten Erwartungen und Sanktionen verbunden. Weiterhin steht dem Verlust bestehender Beziehungen im Kindergarten die Aufnahme neuer Beziehungen in der Schule gegenüber und auch Bildungsinhalte und Methoden differieren zwischen Kindergarten und Schule (Griebel und Niesel, 2002).

Trotz der Bedeutung dieses biographischen Ereignisses sind in der bisherigen Literatur keine Studien bekannt, die mögliche Einflüsse des Stresses durch den Schuleintritt auf die Immunsystemreaktivität der Kinder untersuchten. Allerdings wurden Jurastudenten zu Beginn ihres Studiums untersucht. Dabei wurde festgestellt, dass eine in Bezug auf das Jurastudium optimistische Haltung mit einer höheren Zahl von T_H-Zellen einherging und mit einer gesteigerten Aktivität der Natürlichen Killerzellen verbunden war (Segerstrom et al. 1998). Die positive Einstellung der Studenten sank allerdings innerhalb der ersten acht Wochen nach Studienbeginn. Dies und die Intensität sozialer Bindungen am Studienort beeinflusste die Zahl der CD4+ T-Zellen und die Reaktion auf Antigene (Segerstrom, 2001).

Die meisten Kinder äußern sich im Hinblick auf den baldigen Schulanfang freudig, zuversichtlich und erwartungsvoll (Griebel und Niesel, 2002). Die in dieser Arbeit untersuchten Kinder, deren Schuleintritt im Untersuchungsjahr war und bei denen die Blutentnahme vor Beginn des Schuljahres erfolgte (Vorschulkinder) zeigten deutlich erhöhte Konzentrationen von Substanz P und erniedrigte Konzentrationen von Somatostatin. Gleichzeitig waren die Zytokinkonzentrationen im Vollblut T_H1-lastig. Es ließen sich im Vergleich zu Kindern, die nicht eingeschult wurden (Kindergartenkinder) erhöhte Konzentrationen von IFN-γ, TNF-α, IL-6 und IL-10 in unterschiedlichen Ansätzen feststellen. Dagegen waren im unstimulierten Ansatz die Spiegel der T_H2-Zytokine IL-4, IL-5 erniedrigt, ebenso Eotaxin und RANTES. Dies spricht für einen protektiven Effekt des positiv erlebten Vorschulstresses. Allerdings divergieren kindliche Vorstellungen von der Schule und Schulalltag. Erst mit Schulbeginn fängt für das Kind die reale Auseinandersetzung mit der neuen Rolle und dem damit verbundenen Stress an. Jetzt könnte sich die Vorfreude auf die Schule sogar negativ auswirken, denn enttäuschte Erwartungen in Form von komplexen, unkontrollierbaren oder lang anhaltendem Stress führten zu einer erhöhten Anfälligkeit gegenüber Stressoren, der sich auch in sinkenden T-Zell-Zahlen wiederspiegelte (Cohen et al. 1999; Segerstrom, 2005). Entsprechend zeigten die Kinder, bei denen die Blutabnahme erst nach Schulbeginn erfolgt war im Vergleich zu den Vorschulkindern eine erniedrigte Konzentration von Substanz P und eine erhöhte Konzentration von Somatostatin. Im Vollblutessay waren die Konzentrationen von IFN-γ und IL-10 vermindert (PM und SP). Im

unstimulierten Ansatz war RANTES erhöht. Dies spricht für eine vermehrte T_H2-Reaktivität nach Schulbeginn. Beim Vergleich mit den Kindergartenkindern ließen sich keine Veränderungen der Neuropeptide feststellen. Allerdings zeigten die Schulkinder verminderte Spiegel von IFN-γ und IL-10 im unstimulierten Ansatz. Daraus folgt auch eine im Vergleich zu den Kindergartenkindern verminderte T_H1-Aktivität.

Zusammenfassend zeigte sich also, ausgehend von den Kindergartenkindern, vor Schulbeginn eine Verlagerung des Zytokingleichgewichts in Richtung T_H1. Nach Schulbeginn deutet sich eine Verlagerung in Richtung T_H2 an. Diese Veränderungen waren von entsprechenden Konzentrationsunterschieden von Substanz P und Somatostatin begleitet. Möglicherweise werden die beobachteten Zytokinverschiebungen durch Eu- bzw. Distress ausgelöst und durch Neuropeptide vermittelt. Diese Hypothese wird gestützt durch die Feststellung, dass Neuropeptide nach Stresssignalen ausgeschüttet werden können und modulierende Effekte auf die T_H1/T_H2-Balance haben (Herberth et al. 2006; Kimata, 2003b). Es lassen sich allerdings keine Aussagen bezüglich langfristiger Effekte der beobachteten Zytokinveränderungen treffen. Möglicherweise wird mit steigender Adaptation an das Schulumfeld wieder ein Zytokinniveau erreicht, der dem der Kindergartenkinder entspricht. Die klinische Relevanz der beobachteten Zytokinveränderungen wäre in weiteren Untersuchungen zu prüfen. Dies war in dieser Arbeit nicht möglich, da die Fragestellung keinen zeitlichen Bezug aufgetretener Erkrankungen zum Schulanfang ermöglichte.

Gegenstand weiterer Untersuchungen könnte ferner sein, inwieweit die individuelle Erwartungshaltung der Kinder an die Schule und der erlebte Schulstress die Immunreaktivität vor bzw. nach Schulbeginn beeinflusst. Diese Untersuchung war in der vorliegenden Arbeit nicht möglich, da zum einen nicht nach subjektiv empfundenem Stress gefragt wurde und zum anderen die Blutabnahme nur zu einem Zeitpunkt erfolgte. Möglicherweise bestehen auch Unterschiede zwischen Kindern, die vor der Schule im Kindergarten waren und Kindern, die ausschließlich im häuslichen Umfeld betreut wurden. Erstere haben mit dem Eintritt in den Kindergarten bereits eine ähnliche Umbruchssituation erlebt. Möglicherweise ist daher der Schulbeginn für Kinder, die nicht im Kindergarten waren, stärker stressbehaftet. Auch dies könnte in weiteren Untersuchungen geprüft werden. Es war in der vorliegenden Arbeit nicht möglich, da alle Kinder der untersuchten Kohorte eine vorschulische Einrichtung besucht hatten.

4.3 Einfluss von sozialen Faktoren

4.3.1 Anzahl der Geschwister

In den meisten diesbezüglichen Studien wurde beschrieben, dass das Risiko einer allergischen Sensibilisierung und Erkrankung mit steigender Geschwisterzahl sinkt. Dieser Effekt weist für Heuschnupfen und die allergische Sensibilisierung eine größere Konsistenz auf als für atopisches Ekzem oder Asthma (Karmaus und Botezan, 2002). Für letzteres wurde sogar eine bei mehr als zwei Geschwistern gesteigerte Häufigkeit gezeigt (Svanes et al. 2002). Kürzlich wurde auch für Personen, die in der ersten Hälfte des 20. Jahrhunderts geboren wurden, ein inverser Zusammenhang zwischen Geschwisteranzahl und der Manifestation allergischer Erkrankungen nachgewiesen. Das heißt, dass dieser Effekt unabhängig von neuen Umweltfaktoren zu sein scheint (Kinra et al. 2006). Die gängigste Erklärung für diese Schutzwirkung der Geschwister ist die stärkere mikrobielle Stimulation des Immunsystems durch den engen Kontakt mit anderen Kindern. Daneben könnten aber auch intrauterine und endokrine Faktoren eine Rolle spielen. So haben Kinder mit älteren Geschwistern bereits zur Geburt niedrigere IgE-Spiegel im Nabelschnurblut (Karmaus et al. 2001a). Eine Ursache könnte die sinkende Belastung der Mutter mit Organochlorpestiziden wie DDT und polychlorierten Biphenylen mit Schwangerschaft und Stillen eines jeden weiteren Kindes sein (Schade und Heinzow, 1998). Diese Verbindungen werden als Risikofaktor für erhöhte IgE-Konzentrationen und Asthma angesehen (Karmaus et al. 2001b). In einer kürzlich in Dänemark durchgeführten Studie wurden mehr als 31 000 schwangere Frauen bezüglich Alter und Anzahl ihrer Geschwister und ihrer Erkrankung an allergischer Rhinitis und Asthma befragt. Hierbei zeigte sich, dass eine gesteigerte Geschwisterzahl das Risiko für allergische Rhinitis senkt, nicht aber für Asthma. Auch das Risiko für allergische Rhinitis mit Asthma war verringert, konnte aber allein mit dem geringeren Risiko für eine allergische Rhinitis erklärt werden. Weiterhin wurde festgestellt, dass das Risiko für die Erkrankung an Asthma erhöht war, wenn zwischen der Indexperson und ihrem ältern Geschwisterkind ein Intervall von mehr als zwei Jahren lag, verglichen mit den Kindern, die in kürzerem Zeitabstand geboren wurden. Dagegen zeigte sich kein Zusammenhang zwischen der Erkrankung an allergischer Rhinitis und dem Abstand zu Geschwistern, weder älteren noch jüngeren. Diese Daten weisen darauf hin, dass, bezogen auf die Anzahl der Geschwister, unterschiedliche ätiologische Mechanismen für die Entwicklung von Asthma bzw. allergischer Rhinitis bestehen könnten. Ferner legt die Feststellung, dass das Risiko für allergische Rhinitis zwar mit der Anzahl der jüngeren Geschwister, nicht aber mit dem Intervall zwischen den Kinder assoziiert war, die Vermutung nahe, dass postnatale Einflüsse nicht nur im frühen Kindesalter eine Rolle spielen könnten (Westergaard et al. 2005).

Bei der Untersuchung der LISA-Kinder zeigte sich, dass die T_H-Zellen von Kindern mit mehr als einem Geschwisterkind verstärkt IFN-γ und TNF-α produzierten. Außerdem hatten diese Kinder niedrigere Konzentrationen von IL-8 im unstimulierten und LPS-stimulierten Ansatz des Vollblutassays. Dies weißt einerseits auf einen größeren Anteil von T_H-1-Zellen hin. Andererseits zeigt dies aber auch entzündliche Reaktionen auf. Betrachtet man nun die Kinder mit älteren Geschwistern, so zeigt sich, dass diese keinerlei veränderte Parameter im Vollblutassay zeigten, während der Anteil IFN-γ bzw. TNF-α T_H-Zellen je nach Subpopulation um bis zu sechs Prozentpunkte größer war. Jüngere Geschwister bewirkten ebenfalls einen Anstieg der IFN-γ und TNF-α produzierenden T_H-Zellen, aber in geringerem Ausmaß. Dagegen war IL-8 als entzündlicher Parameter im unstimulierten Ansatz des Vollblutassays erhöht. Diese Ergebnisse zeigen einerseits, dass der Kontakt mit Geschwistern das Zytokingleichgewicht in Richtung T_H1-Typ verschiebt und entsprechen somit der aktuellen Literatur. Andererseits bewirken jüngere bzw. ältere Geschwister unterschiedliche Effekte auf die entzündlichen Parameter. Dies könnte sich darin begründen, dass insbesondere kleine Kinder häufig unter Infektionen leiden und diese dann an ihre älteren Geschwister übertragen. Kinder mit jüngeren Geschwistern hätten somit ein erhöhtes Infektionsrisiko.

4.3.2 Besuch einer Kindereinrichtung

Werden Kinder außer Haus betreut, sei es in einer Kindereinrichtung, bei einer Tagesmutter oder bei Freunden oder Verwandten, die selbst Kinder haben, ist dies für gewöhnlich mit dem Kontakt zu anderen Kindern verbunden. Dies dürfte, ebenso wie der Kontakt zu älteren Geschwistern, das Risiko der Übertragung von Infekten erhöhen, was bereits einigen Studien untersucht wurde (Marbury et al. 1997). Dieses Risiko steigt noch für Kinder mit einer atopischen Familienanamnese (Koopman et al. 2001).

Bei der Untersuchung der Kinder im zweiten Lebensjahr konnte gezeigt werden, dass vor allem ein früher Eintritt in eine Kinderkrippe das Immunsystem stimuliert. (In Leipzig wurde kaum ein Kind von einer Tagesmutter betreut, während ein großer Teil der Kinder in einer Kinderkrippe untergebracht war. Aus diesem Grund wurde nur die Zytokinsynthese der Kinderkrippenkinder untersucht.) Dazu wurden die Kinder anhand der Daten, die mit Fragebögen am Ende des ersten Jahres, mit eineinhalb Jahren und mit zwei Jahren erhoben wurden in drei Gruppen eingeteilt: Beginn der Krippenbetreuung zwischen 7. und 12., zwischen 13. und 18. und zwischen 19. und 24. Lebensmonat. In die Berechnung wurden alle Kinder einbezogen, die von diesem Zeitpunkt an bis zum Ende des zweiten Lebensjahrs eine Krippe besuchten. Außerdem wurden alle Kinder, die im letzten halben Jahr in einer Kindereinrichtung betreut wurden, unabhängig vom Beginn dieses Besuchs untersucht, um

den unmittelbaren Einfluss, den die Betreuung außer Haus auf die Zytokinsynthese ausübt zu messen.

Dabei zeigten Kinder, die nicht zu Hause betreut wurden, tendenziell höhere Anteile zytokinproduzierender T_H-Zellen, was auf eine Stimulation des Immunsystems hinweist. Insbesondere waren die Anteile IFN-γ produzierender $CD3^+CD4^+$ Zellen signifikant erhöht. Auch die IFN-γ Synthese der anderen T_H-Zellsubpopulationen war gesteigert, erreichte aber nicht Signifikanzniveau. Nach Aufteilung der Kinder nach ihrem Eintrittsalter in die Krippe erwies sich, dass insbesondere ein früher Besuch einen stärkeren stimulierenden Effekt hat. Der Beginn der Kinderkrippenbetreuung erst im 19. Lebensmonat führte zu keiner Veränderung der Zytokinproduktion. Möglicherweise, so war die Schlussfolgerung, befindet sich das kindliche Immunsystem bis etwa zur Mitte des zweiten Lebensjahres in einer vulnerablen Phase, so dass äußere Einflusse sich in besonders starkem Maße auf das Immunsystem auswirken (Spiegel, 2003).

Bei der Untersuchung der Kinder im sechsten Lebensjahr, konnten diese Unterschiede in der Zytokinproduktion der T_H-Zellen nicht mehr gezeigt werden. Dies mag daran liegen, dass sich der Aktionsradius der Kinder mittlerweile erheblich erweitert hat, so dass andere Effekte überwiegen und den Einfluss des Kinderkippenbesuchs überdecken. Allerdings hatten Kinder, die bis zum zweiten Lebensjahr eine Kinderkrippe besuchten, ein etwa halbiertes Risiko einer allergischen Sensibilisierung, insbesondere gegen inhalative Allergene. Dies spricht für eine auch langfristige, protektive Wirkung des Kinderkrippenbesuchs.

Da im sechsten Lebensjahr alle Kinder der Kohorte eine Kindereinrichtung, Kindergarten oder Vorschule, besuchten war es nicht möglich, eventuelle Effekte dieses Besuchs auf das Immunsystem zu untersuchen.

4.3.3 Einkommen und Arbeitslosigkeit

In Gesellschaften wie der unseren ist ein relativer Armutsbegriff sinnvoll, da das durchschnittliche Wohlstandniveau deutlich über dem physischen Existenzminimum liegt. Deshalb wird in dieser Arbeit die zwischen den EU-Mitgliedsstaaten vereinbarte Definition einer „Armutsrisikoquote" verwendet. Hierbei gelten Personen als arm, die in Haushalten leben, deren bedarfsgewichtetes Nettoäquivalenzeinkommen weniger als 60% des Landesdurchschnitts (Median) beträgt. In Deutschland war 2003 die so errechnete Armutsrisikogrenze € 938,00, neuere Daten liegen nicht vor (BMAS, 2005).

Im Einklang mit der Hygienehypothese zeigte sich, dass Kinder, die aus Haushalten stammten, deren Einkommen unterhalb dieser Grenze lag, einen höheren Anteil IFN-γ und

TNF-α produzierender T_H-Zellen hatten. Der Anteil IFN-γ-produzierender CD3+CD8+ Zellen war ebenfalls erhöht. Dies spricht für eine vermehrte T_H1-Reaktivität dieser Kinder.

Außerdem war die Konzentration der Entzündungsmaker (IL-6, IL-8, IL-10, TNF-α und MCP-1) in den unstimulierten Ansätzen des Vollblutessays erhöht. Offenbar gehen mit den mit niedrigem Einkommen assoziierten Lebensumständen Faktoren einher, die „proinflammatorisch" wirken. Dies könnten beengte Wohnverhältnisse und der damit verbundene enge Kontakt zu anderen Personen, oder auch die Exposition mit Schimmelpilzen, vor allem aber mit Zigarettenrauch sein. Angehörige sozial benachteiligter Bevölkerungsgruppen rauchen nicht nur häufiger (Burr et al. 1997), Tabakkonsum ist auch, wie aus bisher noch nicht veröffentlichten Daten der LISA-Studie hervorgeht, mit einem Anstieg der oben genannten Zytokine verbunden.

Als eine Ursache für Kinderarmut gilt die Arbeitslosigkeit der Eltern. Der Verlust der Arbeit ist für Erwachsene ein starker Stressor, der möglicherweise auch deren Kinder belastet. Hinsichtlich der Neuropeptide konnten allerdings keine Unterschiede zwischen Kindern arbeitender und arbeitsloser Eltern gefunden werden. Allerdings fanden sich Differenzen immunologischer Merkmale, die mit einer eher atopischen Reaktionslage des Immunsystems vereinbar sind. So wurden bei Kindern, deren Eltern kürzlich ihre Arbeit verloren hatten, verminderte Konzentrationen von IFN-γ im LPS-stimulierten Ansatz des Vollblutessays aber auch erhöhte Konzentrationen von IL-5 im unstimulierten Ansatz gemessen. Dieser Stressor ist also nur in geringem Ausmaß mit Variationen hinsichtlich der Immunreaktivität assoziiert. Dies bestätigten auch Schäfer et al, die für dieses *life event* keinen Effekt auf die Prävalenz oder Inzidenz des atopischen Ekzems feststellen konnten(Bockelbrink et al. 2006).

Zusammenfassung

Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades Dr. med.

Eingereicht von Annegret Weber

Geboren am 14. 10. 1980 in Lichtenstein

Angefertigt am Department Umweltimmunologie des Umweltforschungszentrum Leipzig und im Klinikum St. Georg, Leipzig

Betreut von Frau Dr. G. Herberth, Frau Dr. I. Lehmann und Herrn Prof. Dr. O. Herbarth.

Auf der Suche nach den Ursachen allergischer Erkrankungen wird neben Lebensbedingungen, Verhaltensweisen und Umweltfaktoren zunehmend auch der Einfluss psychischer Faktoren auf das Immunsystem diskutiert. Verschiedene Forschergruppen konnten zeigen, dass psychisch belastende Ereignisse und Stress mit den Manifestationen bzw. Exarbationen atopischer Erkrankungen im Zusammenhang stehen. Daher wurden im Rahmen der LISA-Studie, einer prospektiven Studie zur Aufklärung möglicher Risikofaktoren für die Entstehung allergischer Erkrankungen, 321 sechsjährige Kinder aus der Leipziger Kohorte auf mögliche Zusammenhänge zwischen stressenden Ereignissen im Leben der Kinder (z. B. Scheidung der Eltern, Schuleintritt), Neuropeptiden (Substanz P, Somatostatin und VIP) als Stressmarkern und humoralen Immunparameten (Zytokine, IgE) als Marker für die Immunreaktivität untersucht. Diese Neuropeptide wurden gewählt, da gezeigt werden konnte, dass sie an der T_H1/T_H2-Regulation beteiligt sind.

Es konnte gezeigt werden, dass das Risiko einer allergischen Sensibilisierung gegen Nahrungsmittelallergene und einzelner inhalativer Allergene in einem dosisabhängigen Zusammenhang mit der Konzentration von VIP und Somatostatin stand.

Bei Kindern, deren Eltern sich innerhalb des letzten Jahres getrennt hatten, fiel eine deutlich erhöhte Konzentration von VIP auf. Gleichzeitig war die Konzentration der T_H2-Zytokine IL-4 und IL-5 erhöht sowie die Fähigkeit zur *ex vivo* Synthese von IL-2 der CD3+ und CD3+CD4+ Zellen vermindert. Das Risiko einer allergischen Sensibilisierung dieser Kinder war ebenfalls deutlich erhöht.

Als ein weiteres stressendes Ereignis für Kinder wurdeder Umzug der Familie untersucht. Kinder, die dies innerhalb der letzten zwölf Monate erlebt hatten, wiesen ebenfalls erhöhte VIP-Konzentrationen auf. Ferner ließen sich erhöhte Konzentrationen von MCP-1, IL-6 und IL-8 sowie ein tendenziell erhöhtes Risiko einer allergischen Sensibilisierung feststellen.

Die Einschulung ist für sechsjährige Kinder wohl das bedeutendste Ereignis, welches von den meisten Kindern stark positiv erlebt wird. Es zeigte sich, dass, Kindergartenkinder und

Schulkinder bezüglich ihrer Neuropeptidkonzentration nur geringfügig differierten (Letztere hatten verminderte Konzentrationen von IFN-γ und IL-10). Dagegen wiesen Kinder, bei denen die Blutentnahme vor Schulbeginn erfolgt war, eine deutliche erniedrigte Konzentration von Somatostatin und eine erhöhte Konzentration von Substanz P auf. Auch das Zytokinmuster dieser Kinder spricht für einen protektiven Effekt der Phase vor Schulbeginn (erhöhte Spiegel der T_H1-Zytokine IFN-γ, TNF-α und IL-10 sowie verminderte Konzentrationen der T_H2-Zytokine IL-4, IL-5, IL-8 und der Chemokine Eotaxin und RANTES).

Überraschenderweise zeigten auch die Erkrankung bzw. der Tod eines Angehörigen eher schützende Effekte auf die Immunreaktivität der Kinder. Dies wurde mit einer möglicherweise durch die retrospektive Erhebung der Daten entstandene Bias erklärt.

Kinder aus Familien, deren bedarfsgewichtetes Haushaltseinkommen unterhalb der Armutsgrenze lag, wiesen erhöhte Anteile IFN-γ- bzw. TNF-α- produzierender CD3+ Zellen, also ein T_H1-Profil, auf. Gleichzeitig war die Konzentration IL-6, IL-8, IL-10, TNF-α und MCP-1 erhöht, was sich möglicherweise auf eine erhöhte Belastung mit Zigarettenrauch zurückführen lässt. Arbeitslosigkeit ist Risikofaktor für Armut und für Erwachsene ein starker Stressor. Obwohl zwischen Kindern arbeitender und arbeitsloser Eltern keine Unterschiede hinsichtlich der Neuropeptide gefunden werden konnten, fanden sich Differenzen hinsichtlich immunologischer Merkmale, die mit einer eher atopischen Reaktionslage des Immunsystems vereinbar sind (verminderte Spiegel von IFN-γ und erhöhte Konzentrationen von MCP-1 bei Kindern mit arbeitslosen Eltern).

Da in früheren Untersuchungen der LISA-Kohorte gezeigt werden konnte, dass ein Kinderkrippenbesuch vor Beginn des dritten Lebensjahres zu Ausprägung eines T_H1-Zytokinprofils beiträgt, wurde untersucht, ob dies auch im sechsten Lebensjahr noch zu Differenzen immunologischer Parameter führt. Obwohl sich hinsichtlich der Zytokinprofile keine Unterschiede nachweisen ließen, zeigten Kinder, die eine Kinderkrippe besucht hatten, ein um die Hälfte vermindertes Risiko einer allergischen Sensibilisierung gegen inhalative Allergene und für das Vorhandensein von spez. IgE. Dies würde dafür sprechen, dass ein Kinderkrippenbesuch in der frühen Kindheit das Immunsystem nachhaltig prägt.

Zusammenfassend wurde eine dosisabhängige Korrelation zwischen den Konzentrationen der Neuropeptide VIP und Somatostatin und dem Risiko einer allergischen Sensibilisierung gefunden. Ein Zusammenhang zwischen Stressor, einer Veränderung der Neuropeptidkonzentrationen und immunologischer Parameter fand sich bei einer Trennung der Eltern, Umzug, Erkrankung eines Angehörigen und Einschulung, wobei die Trennung der Eltern die stärksten Effekte zeigte.

Literaturverzeichnis

1. Beiträge in Zeitschriften

Agnello D, Lankford CS, Bream J, Morinobu A, Gadina M, O'Shea JJ, Frucht DM, 2003: Cytokines and transcription factors that regulate T helper cell differentiation: new players and new insights. J.Clin.Immunol. 23, 147-161.

Akdis M, Blaser K, Akdis CA, 2005: T regulatory cells in allergy: novel concepts in the pathogenesis, prevention, and treatment of allergic diseases. J.Allergy Clin.Immunol. 116, 961-968.

Amato P, Booth A, 1996: A prospective study of divorce and parent-child-relationship. J of Marriage and family 58, 356-365.

Anderzen I, Arnetz BB, Soderstrom T, Soderman E, 1997: Stress and sensitization in children: a controlled prospective psychophysiological study of children exposed to international relocation. J.Psychosom.Res. 43, 259-269.

Andoh A, Hata K, Shimada M, Fujino S, Tasaki K, Bamba S, Araki Y, Fujiyama Y, Bamba T, 2002: Inhibitory effects of somatostatin on tumor necrosis factor-alpha-induced interleukin-6 secretion in human pancreatic periacinar myofibroblasts. Int.J.Mol.Med. 10, 89-93.

Azzolina A, Bongiovanni A, Lampiasi N, 2003: Substance P induces TNF-alpha and IL-6 production through NF kappa B in peritoneal mast cells. Biochim.Biophys.Acta 1643, 75-83.

Becker A, 2005: Prevention strategies for asthma-primary prevention. JAMC 173.

Bergmann RL, Bergmann KE, Lau-Schadensdorf S, Luck W, Dannemann A, Bauer CP, Dorsch W, Forster J, Schmidt E, Schulz J, ., 1994: Atopic diseases in infancy. The German multicenter atopy study (MAS-90). Pediatr.Allergy Immunol. 5, 19-25.

Bjorksten B, 1994: Risk factors in early childhood for the development of atopic diseases. Allergy 49, 400-407.

Blum AM, Elliott DE, Metwali A, Li J, Qadir K, Weinstock JV, 1998: Substance P regulates somatostatin expression in inflammation. J.Immunol. 161, 6316-6322.

Bockelbrink A, Heinrich J, Schafer I, Zutavern A, Borte M, Herbarth O, Schaaf B, von BA, Schafer T, 2006: Atopic eczema in children: another harmful sequel of divorce. Allergy 61, 1397-1402.

Bolte G, Krauss-Etschmann S, Konstantopoulos N, Bischof W, Fahlbusch B, Schendel DJ, Wichmann HE, Heinrich J, 2002: Different effects of endotoxin versus mite and cat allergen exposure on T-cell differentiation in infants. J.Allergy Clin.Immunol. 110, 634-640.

Bruder D, Probst-Kepper M, Westendorf AM, Geffers R, Beissert S, Loser K, von BH, Buer J, Hansen W, 2004: Neuropilin-1: a surface marker of regulatory T cells. Eur.J.Immunol. 34, 623-630.

Bryner CL, Jr., 2001: Children of divorce. J.Am.Board Fam.Pract. 14, 201-210.

Buhrer C, Grimmer I, Niggemann B, Obladen M, 1999: Low 1-year prevalence of atopic eczema in very low birthweight infants. Lancet 353, 1674.

Burr ML, Verrall C, Kaur B, 1997: Social deprivation and asthma. Respir.Med. 91, 603-608.

Carrasco GA, Van de Kar LD, 2003: Neuroendocrine pharmacology of stress. Eur.J.Pharmacol. 463, 235-272.

Chowers Y, Cahalon L, Lahav M, Schor H, Tal R, Bar-Meir S, Levite M, 2000: Somatostatin through its specific receptor inhibits spontaneous and TNF-alpha- and bacteria-induced IL-8 and IL-1 beta secretion from intestinal epithelial cells. J.Immunol. 165, 2955-2961.

Clements PT, Benasutti KM, Carmone A, 2003: Support for bereaved owners of pets. Perspect.Psychiatr.Care 39, 49-54.

Cohen F, Kearney KA, Zegans LS, Kemeny ME, Neuhaus JM, Stites DP, 1999: Differential immune system changes with acute and persistent stress for optimists vs pessimists. Brain Behav.Immun. 13, 155-174.

Cohen GJ, 2002: Helping children and families deal with divorce and separation. Pediatrics 110, 1019-1023.

Crozier TA, Drobnik L, Stafforst D, Kettler D, 1988: Opiate modulation of the stress-induced increase of vasoactive intestinal peptide (VIP) in plasma. Horm.Metab Res. 20, 352-356.

Cuesta MC, Quintero L, Pons H, Suarez-Roca H, 2002: Substance P and calcitonin gene-related peptide increase IL-1 beta, IL-6 and TNF alpha secretion from human peripheral blood mononuclear cells. Neurochem.Int. 40, 301-306.

Delgado M, 2003: VIP: a very important peptide in T helper differentiation. Trends Immunol. 24, 221-224.

Delgado M, Ganea D, 2001: Cutting edge: is vasoactive intestinal peptide a type 2 cytokine? J.Immunol. 166, 2907-2912.

Delgado M, Leceta J, Ganea D, 2002: Vasoactive intestinal peptide and pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide promote in vivo generation of memory Th2 cells. FASEB J. 16, 1844-1846.

Delgado M, Sun W, Leceta J, Ganea D, 1999: VIP and PACAP differentially regulate the costimulatory activity of resting and activated macrophages through the modulation of B7.1 and B7.2 expression. J.Immunol. 163, 4213-4223.

Feierabend S, Klinger W, 2003: Kinder und Medien 2002. Media Perspktiven 2003, 278-289.

Freeman GJ, Boussiotis VA, Anumanthan A, Bernstein GM, Ke XY, Rennert PD, Gray GS, Gribben JG, Nadler LM, 1995: B7-1 and B7-2 do not deliver identical costimulatory signals, since B7-2 but not B7-1 preferentially costimulates the initial production of IL-4. Immunity. 2, 523-532.

Gessner A, Mohrs K, Mohrs M, 2005: Mast cells, basophils, and eosinophils acquire constitutive IL-4 and IL-13 transcripts during lineage differentiation that are sufficient for rapid cytokine production. J.Immunol. 174, 1063-1072.

Glaser R, Kiecolt-Glaser JK, Bonneau RH, Malarkey W, Kennedy S, Hughes J, 1992: Stress-induced modulation of the immune response to recombinant hepatitis B vaccine. Psychosom.Med. 54, 22-29.

Gordon DJ, Ostlere LS, Holden CA, 1997: Neuropeptide modulation of Th1 and Th2 cytokines in peripheral blood mononuclear leucocytes in atopic dermatitis and non-atopic controls. Br.J.Dermatol. 137, 921-927.

Groneberg DA, Rabe KF, Wagner U, Fischer A, 2004: Vasoactive intestinal polypeptide in the respiratory tract: physiology and pathophysiology. Pneumologie 58, 330-338.

Gustafsson PA, Kjellman NI, Bjorksten B, 2002: Family interaction and a supportive social network as salutogenic factors in childhood atopic illness. Pediatr.Allergy Immunol. 13, 51-57.

Hawrylowicz CM, 2005: Regulatory T cells and IL-10 in allergic inflammation. J.Exp.Med. 202, 1459-1463.

Hebert S, Beland R, onne-Fournelle O, Crete M, Lupien SJ, 2005: Physiological stress response to video-game playing: the contribution of built-in music. Life Sci. 76, 2371-2380.

Heinrich J, Hoelscher B, Frye C, Meyer I, Wjst M, Wichmann HE, 2002: Trends in prevalence of atopic diseases and allergic sensitization in children in Eastern Germany. Eur.Respir.J. 19, 1040-1046.

Heinrich J, Nowak D, Wassmer G, Jorres R, Wjst M, Berger J, Magnussen H, Wichmann HE, 1998: Age-dependent differences in the prevalence of allergic rhinitis and atopic sensitization between an eastern and a western German city. Allergy 53, 89-93.

Herberth G, Daegelmann C, Weber A, Roder S, Giese T, Kramer U, Schins RP, Behrendt H, Borte M, Lehmann I, 2006: Association of neuropeptides with Th1/Th2 balance and allergic sensitization in children. Clin.Exp.Allergy 36, 1408-1416.

Hernanz A, Medina S, de ME, Martin-Mola E, 2003: Effect of calcitonin gene-related peptide, neuropeptide Y, substance P, and vasoactive intestinal peptide on interleukin-1beta, interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha production by peripheral whole blood cells from rheumatoid arthritis and osteoarthritis patients. Regul.Pept. 115, 19-24.

Huurre T, Junkkari H, Aro H, 2006: Long-term Psychosocial effects of parental divorce A follow-up study from adolescence to adulthood. Eur.Arch.Psychiatry Clin.Neurosci .

Ippoliti F, De SW, Volterrani A, Canitano N, Frattolillo D, Lucarelli S, Frediani S, Frediani T, 2006: Psychological stress affects response to sublingual immunotherapy in asthmatic children allergic to house dust mite. Pediatr.Allergy Immunol. 17, 337-345.

Joos GF, Germonpre PR, Pauwels RA, 2000: Role of tachykinins in asthma. Allergy 55, 321-337.

Karmaus W, Arshad H, Mattes J, 2001a: Does the sibling effect have its origin in utero? Investigating birth order, cord blood immunoglobulin E concentration, and allergic sensitization at age 4 years. Am.J.Epidemiol. 154, 909-915.

Karmaus W, Botezan C, 2002: Does a higher number of siblings protect against the development of allergy and asthma? A review. J.Epidemiol.Community Health 56, 209-217.

Karmaus W, Kuehr J, Kruse H, 2001b: Infections and atopic disorders in childhood and organochlorine exposure. Arch.Environ.Health 56, 485-492.

Kelly JB, Lamb ME, 2003: Developmental issues in relocation cases involving young children: when, whether, and how? J.Fam.Psychol. 17, 193-205.

Kihlstrom A, Lilja G, Pershagen G, Hedlin G, 2003: Exposure to high doses of birch pollen during pregnancy, and risk of sensitization and atopic disease in the child. Allergy 58, 871-877.

Kilpelainen M, Terho EO, Helenius H, Koskenvuo M, 2002: Childhood farm environment and asthma and sensitization in young adulthood. Allergy 57, 1130-1135.

Kim KH, Park KC, Chung JH, Choi HR, 2003: The effect of substance P on peripheral blood mononuclear cells in patients with atopic dermatitis. J.Dermatol.Sci. 32, 115-124.

Kimata H, 2003b: Enhancement of allergic skin wheal responses in patients with atopic eczema/dermatitis syndrome by playing video games or by a frequently ringing mobile phone. Eur.J.Clin.Invest 33, 513-517.

Kimata H, 1996: Vasoactive intestinal peptide differentially modulates human immunoglobulin production. Adv.Neuroimmunol. 6, 107-115.

Kimata H, 2003a: Enhancement of allergic skin wheal responses and in vitro allergen-specific IgE production by computer-induced stress in patients with atopic dermatitis. Brain Behav.Immun. 17, 134-138.

Kimata H, Yoshida A, Ishioka C, Mikawa H, 1992: Differential effect of vasoactive intestinal peptide, somatostatin, and substance P on human IgE and IgG subclass production. Cell Immunol. 144, 429-442.

King CL, Malhotra I, Mungai P, Wamachi A, Kioko J, Ouma JH, Kazura JW, 1998: B cell sensitization to helminthic infection develops in utero in humans. J.Immunol. 160, 3578-3584.

Kinra S, Davey SG, Jeffreys M, Gunnell D, Galobardes B, McCarron P, 2006: Association between sibship size and allergic diseases in the Glasgow Alumni Study. Thorax 61, 48-53.

Komorowski J, Jankiewicz-Wika J, Stepien H, 2000: Somatostatin (SOM) and octreotide (OCT) inhibit the secretion of interleukin-8 (IL-8) from human peripheral blood mononuclear cells (PBMC) in vitro. Horm.Metab Res. 32, 337-338.

Koning H, Baert MR, Oranje AP, Savelkoul HF, Neijens HJ, 1996: Development of immune functions related to allergic mechanisms in young children. Pediatr.Res. 40, 363-375.

Koopman LP, Smit HA, Heijnen ML, Wijga A, van Strien RT, Kerkhof M, Gerritsen J, Brunekreef B, de Jongste JC, Neijens HJ, 2001: Respiratory infections in infants: interaction of parental allergy, child care, and siblings-- The PIAMA study. Pediatrics 108, 943-948.

Kramer U, Heinrich J, Wjst M, Wichmann HE, 1999: Age of entry to day nursery and allergy in later childhood. Lancet 353, 450-454.

Krantic S, 2000: Peptides as regulators of the immune system: emphasis on somatostatin. Peptides 21, 1941-1964.

Kulig M, Bergmann R, Tacke U, Wahn U, Guggenmoos-Holzmann I, 1998: Long-lasting sensitization to food during the first two years precedes allergic airway disease. The MAS Study Group, Germany. Pediatr.Allergy Immunol. 9, 61-67.

Kulig M, Luck W, Lau S, Niggemann B, Bergmann R, Klettke U, Guggenmoos-Holzmann I, Wahn U, 1999: Effect of pre- and postnatal tobacco smoke exposure on specific sensitization to food and inhalant allergens during the first 3 years of life. Multicenter Allergy Study Group, Germany [In Process Citation]. Allergy 54, 220-228.

Kwok OM, Haine RA, Sandler IN, Ayers TS, Wolchik SA, Tein JY, 2005: Positive parenting as a mediator of the relations between parental psychological distress and mental health problems of parentally bereaved children. J.Clin.Child Adolesc.Psychol. 34, 260-271.

Lambrecht BN, 2001: Immunologists getting nervous: neuropeptides, dendritic cells and T cell activation. Respir.Res. 2, 133-138.

Lau S, Illi S, Sommerfeld C, Niggemann B, Bergmann R, von ME, Wahn U, 2000: Early exposure to house-dust mite and cat allergens and development of childhood asthma: a cohort study. Multicentre Allergy Study Group. Lancet 356, 1392-1397.

Lehmann I, Rehwagen M, Diez U, Seiffart A, Rolle-Kampczyk U, Richter M, Wetzig H, Borte M, Herbarth O, 2001: Enhanced in vivo IgE production and T cell polarization toward the type 2 phenotype in association with indoor exposure to VOC: results of the LARS study. Int.J.Hyg.Environ.Health 204, 211-221.

Lehmann I, Thoelke A, Rehwagen M, Rolle-Kampczyk U, Schlink U, Schulz R, Borte M, Diez U, Herbarth O, 2002: The influence of maternal exposure to volatile organic compounds on the cytokine secretion profile of neonatal T cells. Environ.Toxicol. 17, 203-210.

Levite M, 1998: Neuropeptides, by direct interaction with T cells, induce cytokine secretion and break the commitment to a distinct T helper phenotype. Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A 95, 12544-12549.

Maggi CA, 1997: The effects of tachykinins on inflammatory and immune cells. Regul.Pept. 70, 75-90.

Majamaa H, Isolauri E, 1997: Probiotics: a novel approach in the management of food allergy. J.Allergy Clin.Immunol. 99, 179-185.

Malarkey WB, Wang J, Cheney C, Glaser R, Nagaraja H, 2002: Human lymphocyte growth hormone stimulates interferon gamma production and is inhibited by cortisol and norepinephrine. J.Neuroimmunol. 123, 180-187.

Marbury MC, Maldonado G, Waller L, 1997: Lower respiratory illness, recurrent wheezing, and day care attendance. Am.J.Respir.Crit Care Med. 155, 156-161.

Marshall GD, Jr., Agarwal SK, Lloyd C, Cohen L, Henninger EM, Morris GJ, 1998: Cytokine dysregulation associated with exam stress in healthy medical students. Brain Behav.Immun. 12, 297-307.

Mu ZB, Huang YX, Zhao BM, Liu ZX, Zhang BH, Wang QL, 2006: Effect of explosive noise on gastrointestinal transit and plasma levels of polypeptide hormones. World J.Gastroenterol. 12, 2284-2287.

Muller A, Lehmann I, Seiffart A, Diez U, Wetzig H, Borte M, Herbarth O, 2002: Increased incidence of allergic sensitisation and respiratory diseases due to mould exposure: results of the Leipzig Allergy Risk children Study (LARS). Int.J.Hyg.Environ.Health 204, 363-365.

Ochi H, Wu XM, Osoegawa M, Horiuchi I, Minohara M, Murai H, Ohyagi Y, Furuya H, Kira J, 2001: Tc1/Tc2 and Th1/Th2 balance in Asian and Western types of multiple sclerosis, HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis and hyperIgEaemic myelitis. J.Neuroimmunol. 119, 297-305.

Park SH, Hsiao GY, Huang GT, 2004: Role of substance P and calcitonin gene-related peptide in the regulation of interleukin-8 and monocyte chemotactic protein-1 expression in human dental pulp. Int.Endod.J. 37, 185-192.

Peluso G, Petillo O, Melone MA, Mazzarella G, Ranieri M, Tajana GF, 1996: Modulation of cytokine production in activated human monocytes by somatostatin. Neuropeptides 30, 443-451.

Pfeiffer C, Stein J, Southwood S, Ketelaar H, Sette A, Bottomly K, 1995: Altered peptide ligands can control CD4 T lymphocyte differentiation in vivo. J.Exp.Med. 181, 1569-1574.

Pozo D, Delgado M, 2004: The many faces of VIP in neuroimmunology: a cytokine rather a neuropeptide? FASEB J. 18, 1325-1334.

Prescott SL, Macaubas C, Smallacombe T, Holt BJ, Sly PD, Holt PG, 1999: Development of allergen-specific T-cell memory in atopic and normal children. Lancet 353, 196-200.

Ramadour M, Burel C, Lanteaume A, Vervloet D, Charpin D, Brisse F, Dutau H, Charpin D, 2000: Prevalence of asthma and rhinitis in relation to long-term exposure to gaseous air pollutants. Allergy 55, 1163-1169.

Riedler J, Braun-Fahrlander C, Eder W, Schreuer M, Waser M, Maisch S, Carr D, Schierl R, Nowak D, von ME, 2001: Exposure to farming in early life and development of asthma and allergy: a cross-sectional survey. Lancet 358, 1129-1133.

Ryu SY, Jeong KS, Yoon WK, Park SJ, Kang BN, Kim SH, Park BK, Cho SW, 2000: Somatostatin and substance P induced in vivo by lipopolysaccharide and in peritoneal macrophages stimulated with lipopolysaccharide or interferon-gamma have differential effects on murine cytokine production. Neuroimmunomodulation. 8, 25-30.

Sakaguchi S, 2005: Naturally arising Foxp3-expressing CD25+CD4+ regulatory T cells in immunological tolerance to self and non-self. Nat.Immunol. 6, 345-352.

Sandberg S, Jarvenpaa S, Penttinen A, Paton JY, McCann DC, 2004: Asthma exacerbations in children immediately following stressful life events: a Cox's hierarchical regression. Thorax 59, 1046-1051.

Sandberg S, McCann DC, Ahola S, Oja H, Paton JY, McGuinness D, 2002: Positive experiences and the relationship between stress and asthma in children. Acta Paediatr. 91, 152-158.

Schade G, Heinzow B, 1998: Organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in human milk of mothers living in northern Germany: current extent of contamination, time trend from 1986 to 1997 and factors that influence the levels of contamination. Sci.Total Environ. 215, 31-39.

Schafer T, Kramer U, Dockery D, Vieluf D, Behrendt H, Ring J, 1999: What makes a child allergic? Analysis of risk factors for allergic sensitization in preschool children from East and West Germany. Allergy Asthma Proc. 20, 23-27.

Schor EL, 2003: Family pediatrics: report of the Task Force on the Family. Pediatrics 111, 1541-1571.

Segerstrom SC, 2001: Optimism, goal conflict, and stressor-related immune change. J.Behav.Med. 24, 441-467.

Segerstrom SC, 2005: Optimism and immunity: do positive thoughts always lead to positive effects? Brain Behav.Immun. 19, 195-200.

Segerstrom SC, Taylor SE, Kemeny ME, Fahey JL, 1998: Optimism is associated with mood, coping, and immune change in response to stress. J.Pers.Soc.Psychol. 74, 1646-1655.

Sepp E, Julge K, Vasar M, Naaber P, Bjorksten B, Mikelsaar M, 1997: Intestinal microflora of Estonian and Swedish infants. Acta Paediatr. 86, 956-961.

Skadhauge LR, Christensen K, Kyvik KO, Sigsgaard T, 1999: Genetic and environmental influence on asthma: a population-based study of 11,688 Danish twin pairs. Eur.Respir.J. 13, 8-14.

Slattery MJ, Klein DF, Mannuzza S, Moulton JL, III, Pine DS, Klein RG, 2002: Relationship between separation anxiety disorder, parental panic disorder, and atopic disorders in children: a controlled high-risk study. J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry 41, 947-954.

Smyth MJ, Johnstone RW, 2000: Role of TNF in lymphocyte-mediated cytotoxicity. Microsc.Res.Tech. 50, 196-208.

Songul YS, Tugrul B, Nacar N, Tuncer M, Yurdakok K, 2002: Factors that affect television viewing time in preschool and primary schoolchildren. Pediatr.Int. 44, 622-627.

Strachan DP, 1989: Hay fever, hygiene, and household size. BMJ 299, 1259-1260.

Strachan DP, Cook DG, 1998: Health effects of passive smoking. 6. Parental smoking and childhood asthma: longitudinal and case-control studies. Thorax 53, 204-212.

Svanes C, Jarvis D, Chinn S, Omenaas E, Gulsvik A, Burney P, 2002: Early exposure to children in family and day care as related to adult asthma and hay fever: results from the European Community Respiratory Health Survey. Thorax 57, 945-950.

Szepfalusi Z, Nentwich I, Gerstmayr M, Jost E, Todoran L, Gratzl R, Herkner K, Urbanek R, 1997: Prenatal allergen contact with milk proteins. Clin.Exp.Allergy 27, 28-35.

Teixeira LK, Fonseca BP, Barboza BA, Viola JP, 2005: The role of interferon-gamma on immune and allergic responses. Mem.Inst.Oswaldo Cruz 100 Suppl 1, 137-144.

Uchakin PN, Tobin B, Cubbage M, Marshall G, Jr., Sams C, 2001: Immune responsiveness following academic stress in first-year medical students. J.Interferon Cytokine Res. 21, 687-694.

Van de Kar LD, Blair ML, 1999: Forebrain pathways mediating stress-induced hormone secretion. Front Neuroendocrinol. 20, 1-48.

Van Duren-Schmidt K, Pichler J, Ebner C, Bartmann P, Forster E, Urbanek R, Szepfalusi Z, 1997: Prenatal contact with inhalant allergens. Pediatr.Res. 41, 128-131.

Verleden GM, 1996: Neural mechanisms and axon reflexes in asthma. Where are we? Biochem.Pharmacol. 51, 1247-1257.

Wahn U, 2000: What drives the allergic march? Allergy 55, 591-599.

Wegmann TG, Lin H, Guilbert L, Mosmann TR, 1993: Bidirectional cytokine interactions in the maternal-fetal relationship: is successful pregnancy a TH2 phenomenon? Immunol.Today 14, 353-356.

Westergaard T, Rostgaard K, Wohlfahrt J, Andersen PK, Aaby P, Melbye M, 2005: Sibship characteristics and risk of allergic rhinitis and asthma. Am.J.Epidemiol. 162, 125-132.

Widdicombe JG, 1998: Autonomic regulation. i-NANC/e-NANC. Am.J.Respir.Crit Care Med. 158, 171-S175.

Williams H, Robertson C, Stewart A, et.al., 1999: Worldwide variations in the prevalence of symptoms of atopic eczema in the International Study of Asthma and Allergies in Childhood. J.Allergy Clin.Immunol. 103, 125-138.

Wright RJ, Cohen S, Carey V, Weiss ST, Gold DR, 2002: Parental stress as a predictor of wheezing in infancy: a prospective birth-cohort study. Am.J.Respir.Crit Care Med. 165, 358-365.

Zollner IK, Weiland SK, Piechotowski I, Gabrio T, von ME, Link B, Pfaff G, Kouros B, Wuthe J, 2005: No increase in the prevalence of asthma, allergies, and atopic sensitisation among children in Germany: 1992-2001. Thorax 60, 545-548.

2. Selbstständig erschienene Quellen und Dissertationen

BMAS. Lebenslagen in Deutschland, 2. Armuts- und Reichtumsbericht der Bundesregierung. Bundesministerium für Arbeit und soziale Sicherung, 2005

Fleck-Bohaumilitzky C, 2003: Wenn Kinder trauern. München: Südwest-Verlag, 2003

Griebel, W. und Niesel, R. Abschied vom Kindergarten-Start in die Schule. Grundlagen und Praxishilfen für Erzieherinnen, Lehrkräfte und Eltern. München: Don Bosco Verlag, 2002

Spiegel, U. (2003): Einfluss von Sozial- und Lebensstilfaktoren auf die kindliche T-Zellfunktion im zweiten Lebensjahr. Universität Leipzig. Dissertation

Tabellen

Tabelle 27: Anteil zytokinproduzierender Zellen in Abhängigkeit von der allergischen Sensibilisierung (Median, in Klammern 25. und 75. Perzentil, Angaben in [%], Signifikante Werte (p<0,05)sind fett gedruckt.)

		Gesamt-IgE>180kU/l			Spezifisches IgE		
		positiv	negativ	p-Wert	positiv	negativ	p-Wert
IFN-γ	CD3+	14,85 (11,4; 18,6)	15,14 (10,9; 20,6)	0,785	13,92 (10,7; 20,4)	15,29 (11,3; 20,7)	0,351
	CD3+CD4+	4,82 (3,4; 7,5)	5,39 (3,8; 7,3)	0,392	4,97 (3,2; 7,2)	5,55 (4,0; 7,4)	0,109
	CD3+CD8+	25,33 (17,9; 32,4)	24,18 (18,4; 32,4)	0,884	22,45 (16,4; 32,3)	25,01 (18,8; 32,6)	0,237
TNF-α	CD3+	15,64 (11,5; 20,6)	16,17 (11,5; 22,1)	0,437	15,76 (11,1; 21,7)	16,17 (11,7; 21,8)	0,694
	CD3+CD4+	12,45 (9,1; 17,2)	13,61 (9,7; 18,5)	0,282	12,36 (8,9; 18,6)	13,99 (10,3; 18,1)	0,270
	CD3+CD8+	12,67 (9,8; 21,3)	14,98 (10,2; 20,6)	0,367	13,90 (9,8; 19,8)	15,01 (10,7; 20,8)	0,351
IL-2	CD3+	12,46 (5,7; 16,6)	14,47 (10,3;18,5)	0,065	14,32 (8,5; 18,3)	14,34 (10,2; 18,5)	0,781
	CD3+CD4+	16,64 (11,0; 24,4)	22,32 (15,4; 28,0)	**0,035**	21,4 (12,5; 27,8)	21,59 (15,4; 28,4)	0,609
	CD3+CD8+	4,57 (1,9; 6,5)	4,89 (2,9; 7,0)	0,123	4,82 (2,7; 7,1)	4,81 (2,7; 7,0)	0,620
IL-4	CD3+	0,64 (0,4; 1,36)	0,74 (0,5; 1,1)	0,681	0,73 (0,4;1,2)	0,71 (0,5; 1,1)	0,401
	CD3+CD4+	1,24 (0,75; 2,5)	1,24 (0,8; 1,9)	0,729	1,24 (0,8; 2,1)	1,24 (0,7; 1,9)	0,364
	CD3+CD8+	0,15 (0,0; 0,6)	0,32 (0,0; 0,8)	**0,042**	0,39 (0,0; 0,8)	0,27 (0,0; 0,7)	0,225
IL-13	CD3+	1,08 (0,8; 1,4)	1,12 (0,8; 1,6)	0,790	1,16 (0,8; 1,7)	1,08 (0,8; 1,6)	0,101
	CD3+CD4+	1,69 (1,1; 3,2)	1,89 (1,2; 2,7)	0,888	1,88 (1,2; 2,7)	1,88 (1,1; 2,8)	0,553
	CD3+CD8+	0,78 (0,3;1,3)	0,70 (0,3; 1,5)	0,977	0,95 (0,4; 1,7)	0,59 (0,2; 1,3)	**0,011**
		Nahrungsmittelallergene			Inhalative Allergene		
		positiv	negativ	p-Wert	positiv	negativ	p-Wert
IFN-γ	CD3+	15,51 (11,9; 20,4)	14,87 (10,9; 20,6)	0,366	13,86 (10,7; 20,4)	15,36 (11,3; 20,6)	0,380
	CD3+CD4+	5,41 (3,6; 7,5)	5,35 (3,8; 7,3)	0,707	5,04 (3,2; 7,2)	5,41 (3,9; 7,4)	0,213
	CD3+CD8+	27,42 (19,4; 33,2)	24,13 (17,8; 32,0)	0,164	22,31 (16,4; 32,5)	24,87 (18,8; 32,4)	0,272
TNF-α	CD3+	17,49 (13,8; 22,7)	15,98 (11,4; 21,6)	0,217	15,76 (11,1; 21,1)	16,17 (11,6; 22,1)	0,630
	CD3+CD4+	12,38 (11,0; 19,2)	13,53 (9,5; 18,2)	0,824	12,66 (8,9; 18,6)	13,60 (10,3; 18,1)	0,427
	CD3+CD8+	15,46 (11,0; 22,3)	14,54 (10,0; 20,6)	0,587	13,90 (9,8; 20,5)	15,01 (10,7; 20,7)	0,445
IL-2	CD3+	14,31 (8,5; 19,4)	14,32 (9,6; 18,3)	0,406	14,39 (7,6; 19,0)	14,28 (10,2; 18,3)	0,892
	CD3+CD4+	22,97 (15,0; 28,0)	21,47 (14,5; 27,9)	0,617	21,60 (7,6; 19,0)	21,49 (15,2; 27,9)	0,843
	CD3+CD8+	5,52 (2,9; 6,7)	4,80 (2,7; 7,0)	0,629	4,77 (2,7; 7,5)	4,89 (2,7; 7,0)	0,624
IL-4	CD3+	0,82 (0,5; 1,7)	0,71 (0,4; 1,1)	**0,041**	0,76 (0,4; 1,2)	0,71 (0,5; 1,1)	0,383
	CD3+CD4+	1,51 (0,9; 2,6)	1,20 (0,7; 1,9)	0,056	1,34 (0,8; 2,1)	1,23 (0,7; 1,9)	0,315
	CD3+CD8+	0,52 (0,1; 1,1)	0,29 (0,0; 0,7)	0,076	0,39 (0,0; 0,8)	0,27 (0,0; 0,7)	0,341
IL-13	CD3+	1,36 (0,8; 2,0)	1,09 (0,8; 1,6)	**0,042**	1,15 (0,8; 1,7)	1,09 (0,8; 1,6)	0,189
	CD3+CD4+	2,08 (1,2; 3,0)	1,88 (1,1; 2,7)	0,170	1,88 (1,2; 2,8)	1,88 (1,1; 2,8)	0,394
	CD3+CD8+	1,18 (0,5; 1,7)	0,65 (0,3; 1,4)	**0,040**	0,91 (0,3; 1,8)	0,60 (0,2; 1,4)	0,055

Tabelle 28: Zytokinkonzentration in Abhängigkeit von der allergischen Sensibilisierung (Median; in Klammern 25. und 75. Perzentil, Angaben in pg/ml, Signifikante Werte (p<0,05)sind fett gedruckt.)

		Gesamt-IgE>180kU/l			Spezifisches IgE		
		positiv	negativ	p-Wert	negativ	positiv	p-Wert
IL-4	PM	5,38 (0,0; 7,9)	5,94 (0,0; 9,6)	0,536	5,66 (0,0; 9,3)	5,94 (0,0; 9,6)	0,652
	PHA	63,12 (38,9; 101,4)	42.92 (26,9; 70,4)	**0,006**	52,33 (31,3; 94,2)	42,77 (27,1; 66,0)	**0,020**
IL-5	PM	2,08 (0,0; 2,5)	0,25 (0,0; 2,3)	0,193	2,05 (0,0; 2,4)	0,25 (0,0; 2,3)	0,478
	PHA	6,09 (3,6; 13,5)	3,38 (2,0; 5,7)	**<0,001**	4,47 (2,9; 8,3)	3,33 (1,7; 5,6)	**0,002**
Eotaxin	PM	381,78 (279,9; 460,0)	400,20 (319,4; 524,9)	0,155	381,78 (312,4; 502,8)	405,68 (315,4; 524,9)	0,308
	PHA	371,72 (268,6; 456,7)	367,9 (276,1; 476,8)	0,497	381,57 (27,3; 458,0)	366,52 (274,6; 480,6)	0,785
RANTES	PM	6971,66 (4793,9; 9356,3)	7232,02 (5372,9; 9049,4)	0,923	6691,54 (5210,2; 8963,9)	7926,18 (6054,9; 10967;9)	0,398
	PHA	8034,32 (5771,2; 13747,0)	7997,84 (6081,3; 10845,9)	0,268	8610,15 (6024,6; 12144,3)	7,66 (0,0; 13,7)	0,290
IFN-γ	PM	9,04 (0,0; 16,1)	7,24 (0,0; 13,5)	0,694	5,69 (0,0; 14,0)	48,98 (28,9 95,1)	0,147
	LPS	41,92 (26,6, 90,0)	52,28 (29,1, 108,9)	0,250	54,49 (28,5; 114,8)	1655,82 (917,2; 2921,9)	0,708
	PHA	1697,60 (802,7; 2589,1)	1629,45 (912,5; 2863,0)	0,986	1578,88 (761,9; 2509,2)	7,33 (5,1; 12,6)	0,370
IL-6	PM	8,20 (4,2; 11,0)	6,91 (4,9; 10,9)	0,553	6,60 (4,1; 9,8)	8454,76 (7556,5; 9478,6)	**0,049**
	LPS	8845,89 (7580,7; 9769,5)	8547,82 (7556,5; 9550,3)	0,549	8845,89 (7556,5; 9752,5)	50,63 (29,2; 92,1)	0,271
IL-8	PM	67,04 (29,3; 128,7)	45,75 (27,5; 90,4)	**0,050**	43,99 (24,6; 110,7)	3782,08 (3028,2; 5254,0)	0,611
	LPS	5072,52 (3056,5; 7064,3)	3823,,08 (3040,6; 5243,5)	**0,010**	4389,49 (3052,33; 5784,1)	1,5 (1,5; 3,1)	0,129
IL-10	PM	1,50 (1,5; 3,3)	1,50 (1,5; 3,1)	0.313	1,5 (1,5; 3,4)	6,32 (4,6; 9,2)	0,387
	LPS	7,44 (5,1; 10,6)	6,34 (4,5; 9,2)	0,151	6,67 (4,4; 9,5)	42,16 (29,9; 56,1)	0,905
	PHA	49,67 (28,7; 74,1)	42,28 (30,0; 55,4)	0,313	44,21 (29,4; 54,8)	6,75 (4,6; 10,5)	0,691
TNF-α	PM	6,56 (3,8; 11,2)	6,48 (4,6; 10,3)	0,653	5,97 (4,3; 9,8)	6,75 (4,6; 10,5)	0,350
	LPS	3164,94 (2412,4; 4213,6)	3076,16 (2334,5; 3711,5)	0,533	3233,82 (2506,2; 3960,6)	2924,87 (2263,1; 3659,7)	0,094
MCP-1	PM	100,14 (78,5; 150,2)	83,58 (61,7; 127,0)	**0,018**	91,88 (62,7; 132,9)	84,51 (63,5; 126,7)	0,437
	LPS	993,56 (696,9; 1260,7)	725,82 (506,9; 945,5)	**0,010**	846,74 (5226; 1041,8)	702,39 (4991,1; 998,5)	0,102

		Nahrungsmittelallergene			Inhalative Allergene		
		positiv	negativ	p-Wert	negativ	positiv	p-Wert
IL-4	PM	5,76 (0,0; 8,5)	5,94 (0,0; 9,7)	0,600	5,47 (0,0; 9,3)	5,94 (0,0; 9,6)	0,442
	PHA	55,58 (32,2; 100,6)	43,80 (27,4; 69,4)	0,098	53,90 (33,6;94,9)	42,49 (26,8; 68,0)	**0,010**
IL-5	PM	2,08 (0,0; 2,3)	0,25 (0,0; 2,3)	0,711	2,05 (0,0; 2,4)	0,25 (0,0; 2,3)	0,569
	PHA	4,68 (3,0; 8,9)	3,48 (2,1; 6,0)	**0,007**	4,57 (3,0; 8,3)	3,33 (1,7; 5,7)	**0,001**
Eotaxin	PM	375,36 (295,5; 505,2)	400,20 (319,9; 519,9)	0,273	381,78 (321,4; 499,1)	405,68 (307,4; 524,9)	0,356
	PHA	352,61 (268,6; 450,7)	369,80 (276,6; 479,0)	0,280	383,87 (274,5; 458,0)	364,08 (273,7; 479,5)	0,919
RANTES	PM	6908,26 (5616,2; 8963,9)	7198,94 (5141,6 9267,4)	0,786	6556,38 (5118,9; 8963,9)	7332,56 (5396,7; 9311,6)	0,240
	PHA	7447,47 (5561,3; 12603,9)	8034,32 (6081,3; 11090,0)	0,744	8749,00 (6078,4; 12233,6)	7798,56 (5976,3; 10951,0)	0,171
IFN-γ	PM	2,00 (0,0; 9,9)	7,92 (0,0; 13,9)	0,013	6,72 (0,0; 14,5)	7,3 (0,0; 13,4)	0,598
	LPS	44,90 (25,6; 91,2)	51,3 (29,1; 108,4)	0,378	62,03 (28,5; 114,8)	48,76 (28,9; 95,1)	0,473
	PHA	1625,22 (772,3; 2722,2)	1632,18 (912,5; 2827,0)	0,793	1591,36 (772,9; 2589,4)	1638,25 (912,5; 2877,6)	0,551
IL-6	PM	5,60 (3,5; 9,1)	7,30 (5,0; 11,2)	**0,031**	6,61 (4,1; 10,2)	7,10 (5,0; 12,2)	0,145
	LPS	8845,89 (7307,1; 9435,5)	8560,30 (7556,5; 9560,1)	0,918	8845,89 (7603,9; 9752,5)	8454,76 (7556,5; 9499,3)	0,165
IL-8	PM	42,92 (23,7; 109,0)	49,64 (28,4; 92,4)	0,769	44,04 (24,6; 113,4)	50,18 (29,2; 91,2)	0,749
	LPS	4520,89 (3080,9; 5514,9)	3828,30 (3009,3; 5264,6)	0,198	4421,89 (3065,7; 6079,9)	3782,08 (3028,2; 5245,3)	0,073
IL-10	PM	1,5 (1,5; 2,9)	1,50 (1,5; 3,1)	0,439	1,50 (1,5; 3,4)	1,5 (1,5; 3,1)	0,251
	LPS	6,82 (4,3; 9,5)	6,36 (4,6; 9,2)	0,707	6,70 (4,6; 9,5)	6,28 (4,5; 9,2)	0,601
	PHA	40,83 (27,4; 50,8)	43,64 (30,0; 57,1)	0,233	45,92 (32,6; 57,2)	40,88 (29,3; 55,7)	0,130
TNF-α	PM	5,60 (3,5; 8,8)	6,74 (4,6; 10,5)	0,070	5,92 (4,4; 9,8)	6,75 (4,6; 10,5)	0,295
	LPS	3076,44 (2437,0; 3830,6)	3092,42 (2334,5; 3784,8)	0,865	3257,27 (2522,0; 3960,6)	2938,25 (2270,7; 3678,3)	0,105
MCP-1	PM	89,50 (64,4; 123,3)	85,85 (63,4; 127,9)	0,714	93,70 (62,7; 133,8)	84,54 (63,5; 127,9)	0,412
	LPS	862,38 (518,9; 1148,8)	730,10 (506,9; 995,2)	0,265	851,66 (574,8; 1050,8)	701,39 (491,3; 998,5)	0,032

Tabelle 29: Intrazelluläre Zytokinproduktion in Abhängigkeit von der Sensibilisierung gegen einzelne Nahrungsmittelallergene (Median, in Klammern 25. u. 75. Perzentil, Angaben in [%]

		Eiklar			Erdnuss		
		positiv	negativ	p-Wert	positiv	negativ	p-Wert
IFN-γ	CD3+	15,51 (13,3; 20,4)	15,01 (10,9; 20,6)	0,380	19,67 (15,0; 22,8)	14,86 (10,9; 20,4)	0,070
	CD3+CD4+	5,51 (3,0; 7,9)	5,35 (3,8; 7,3)	0,999	6,45 (5,0; 7,5)	5,35 (3,8; 7,3)	0,229
	CD3+CD8+	28,87 (24,8; 32,5)	24,15 (18,0; 32,4)	0,194	32,41 (30,3; 38,5)	24,16 (17,9; 32,1)	**0,028**
TNF-α	CD3+	19,80 (14,2; 24,1)	16,03 (11,5; 21,7)	0,305	18,71 (16,4; 23,9)	16,02 (11,5; 21,7)	0,140
	CD3+CD4+	17,60 (9,6; 25,0)	13,3 (9,7; 18,2)	0,224	16,85 (11,8; 19,6)	13,25 (9,6; 18,2)	0,288
	CD3+CD8+	18,34 (11,8; 21,3)	14,65 (10,0; 20,7)	0,379	19,47 (12,2; 24,5)	14,62 (10,1; 20,4)	0,216
IL-2	CD3+	17,94 (5,5; 25,2)	14,29 (9,6; 18,3)	0,194	17,095 (13,5; 19,0)	14,28 (9,4; 18,5)	0,192
	CD3+CD4+	27,37 (15,1; 33,0)	21,45 (14,4; 27,9)	0,231	24,86 (20.4; 28,0)	21,48 (14,4; 27,9)	0,286
	CD3+CD8+	4,49 (1,0; 10,5)	4,82 (2,7; 7,0)	0,969	6,19 (5,9; 9,0)	4,69 (2,7; 7,0)	0,110
IL-4	CD3+	0,99 (0,5; 2,0)	0,71 (0,4; 1,13)	0,077	0,78 (0,6, 1,7)	0,71 (0,4; 1,13)	0,203
	CD3+CD4+	1,7 (1,5; 2,8)	1,23 (0,7; 1,9)	**0,044**	1,60 (1,2; 3,2)	1,24 (0,72; 1,9)	0,091
	CD3+CD8+	0,58 (0,2; 1,3)	0,3 (0,02; 0,69)	0,171	0,14 (0,03; 0,64)	0,31 (0,03; 0,7)	0,728
IL-13	CD3+	1,84 (1,0; 2,3)	1,1 (0,79; 1,58)	0,051	1,24 (0,7; 2,2)	1,11 (0,8; 1,59)	0,652
	CD3+CD4+	3,02 (2,0; 4,1)	1,86 (1,1; 2,67)	**0,008**	2,31 (1,2; 4,4)	1,88 (1,1; 2,7)	0,292
	CD3+CD8+	1,15 (0,6; 1,3)	0,69 (0,25; 1,5)	0,200	0,72 (0,2; 1,9)	0,69 (0,3; 1,5)	0,899
		Sojabohne			**Milcheiweiß**		
		positiv	negativ	p-Wert	positiv	negativ	p-Wert
IFN-γ	CD3+	21,84 (16,5; 22,8)	14,87 (10,9; 20,38)	0,076	15,51 (12,6; 19,0)	15,01 (10,9; 20,6)	0,570
	CD3+CD4+	5,28 (4,9; 7,5)	5,36 (3,8, 7,3)	0,565	5,51 (3,2; 7,5)	5,35 (3,8; 7,3)	0,718
	CD3+CD8+	32,53 (30,3; 38,8)	24,16 (18,0; 32,1)	**0,042**	26,76 (20,8; 32,5)	24,18 (17,8; 32,2)	0,326
TNF-α	CD3+	18,69 (14,2; 23,6)	16,03 (11,5; 21,7)	0,604	16,99 (11,7; 22,5)	16,10 (11,5; 21,7)	0,884
	CD3+CD4+	14,36 (11,2; 19,2)	13,40 (9,6; 18,4)	0,880	11,54 (10l,6; 19,2)	13,60 (9,6; 18,3)	0,918
	CD3+CD8+	21,28 (15,2; 26,3)	14,54 (10,1; 20,4)	0,099	12,80 (10,7; 1,3)	14,73 (10,1; 20,7)	0,781
IL-2	CD3+	15,87 (13,3; 19,0)	14,31 (9,6; 18,5)	0,611	14,31 (6,7; 21,6)	14,32 (9,6; 18,3)	0,403
	CD3+CD4+	21,71 (20,0; 24,9)	21,54 (14,4; 28,0)	0,908	24,06 (15,1; 31,8)	21,45 (14,4; 27,9)	0,415
	CD3+CD8+	6,19 (5,9; 9,0)	4,75 (2,7; 7,0)	0,249	4,32 (1,8; 7,4)	4,89 (2,7; 7,0)	0,560
IL-4	CD3+	0,66 (0,5; 1,9)	0,72 (0,4; 1,1)	0,709	0,82 (0,5; 1,8)	0,71 (0,4; 1,1)	0,171
	CD3+CD4+	1,28 (0,9; 3,2)	1,24 (0,7; 2,0)	0,371	1,54 (0,9; 2,8)	1,24 (0,7; 1,9)	0,240
	CD3+CD8+	0,09 (0,03; 0,6)	0,3 (0,03; 0,7)	0,689	0,52 (0,2; 1,0)	0,29 (0,02; 0,67)	0,181
IL-13	CD3+	0,79 (0,64; 3,1)	1,12 (0,8; 1,6)	0,576	1,4 (0,7; 2,0)	1,10 (0,8; 1,6)	0,348
	CD3+CD4+	1,33 (0,9; 5,9)	1,88 (1,2; 2,7)	0,771	1,90 (1,4; 3,0)	1,88 (1,2; 2,7)	0,466
	CD3+CD8+	1,30 (0,2; 2,4)	0,70 (0,3; 1,5)	0,472	1,27 (0,7; 1,6)	0,65 (0,3; 1,4)	0,056

		Dorsch			Weizenmehl		
		positiv	negativ	p-Wert	positiv	negativ	p-Wert
IFN-γ	CD3+	19,09 (14,6; 22,5)	14,95 (10,9; 20,5)	0,339	19,67 (13,9; 22,3)	14,88 (10,9; 20,4)	0,167
	CD3+CD4+	5,35 (3,4; 6,8)	5,36 (3,8; 7,4)	0,765	5,16 (4,3; 7,2)	5,37 (3,8; 7,4)	0,986
	CD3+CD8+	32,80 (23,9; 37,3)	24,20 (18,3; 32,3)	0,295	31,57 (24,5; 38,1)	24,18 (18,0; 32,1)	0,112
TNF-α	CD3+	20,53 (12,2; 23,9)	16,07 (11,5; 21,7)	0,623	17,56 (10,9; 21,2)	16,07 (11,5; 21,8)	0,959
	CD3+CD4+	12,93 (7,2; 19,5)	13,45 (9,6; 18,5)	0,821	13,07 (8,4; 18,1)	13,45 (9,6; 18,5)	0,660
	CD3+CD8+	15,97 (11,1; 22,0)	14,67 (10,1; 20,7)	0,765	19,47 (12,1; 25,4)	14,62 (10,1; 20,4)	0,294
IL-2	CD3+	14,97 (9,0; 20,1)	14,32 (9,6; 18,5)	0,836	14,70 (9,4; 18,1)	14,32 (9,6; 18,5)	0,957
	CD3+CD4+	23,94 (13,3; 29,7)	21,54 (14,6; 27,9)	0,814	20,38 (15,1; 24,9)	21,57 (14,4; 28,0)	0,650
	CD3+CD8+	3,34 (1,9; 5,7)	4,83 (2,7; 7,0)	0,369	6,06 (3,9; 7,9)	4,77 (2,7; 7,0)	0,536
IL-4	CD3+	0,62 (0,2; 1,3)	0,72 (0,5; 1,1)	0,623	0,65 (0,4; 1,4)	0,73 (0,4; 1,1)	0,815
	CD3+CD4+	1,18 (0.4; 1,7)	1,24 (0,8; 2,0)	0,519	1,26 (0,8; 2,5)	1,24 (0,8; 2,0)	0,766
	CD3+CD8+	0,08 (0,01; 0,4)	0,31 (0,04; 0,7)	0,228	0,07 (0,02; 0,5)	0,31 (0,04; 0,7)	0,395
IL-13	CD3+	1,27 (0,6; 1,8)	1,11 (0,8; 1,6)	0,940	0,77 (0,7; 2,1)	1,12 (0.8; 1,6)	0,294
	CD3+CD4+	1,20 (0,8; 2,9)	1,88 (1,2; 2,8)	0,463	1,27 (0,8; 5,0)	1,88 (1,2; 2,7)	0,826
	CD3+CD8+	0,25 (0,2; 1,65)	0,71 (0,3; 1,5)	0,637	0,72 (0,2; 2,4)	0,70 (0,3; 1,5)	0,744

Tabelle 30: Intrazelluläre Zytokinproduktion in Abhängigkeit von der allergischen Sensibilisierung gegen einzelne inhalative Allergene (Median, in Klammern 25. u. 75. Perzentil, Angaben in [%])

		Dermatophagoides pt.			Katze		
		positiv	negativ	p-Wert	positiv	negativ	p-Wert
IFN-γ	CD3+	14,41 (10,9; 20,4)	15,14 (11,0; 20,6)	0,770	14,74 (10,9; 21,7)	15,10 (11,0; 20,5)	0,689
	CD3+CD4+	4,85 (3,2; 7,2)	5,42 (3,8; 7,4)	0,173	3,81 (2,6; 6,9)	5,39 (3,9; 7,4)	0,071
	CD3+CD8+	24,51 (16,5; 32,5)	24,20 (18,6; 32,1)	0,809	24,51 (18,0; 34,2)	24,20 (18,3; 32,1)	0,983
TNF-α	CD3+	16,42 (11,1; 21,1)	16,03 (11,6; 21,8)	0,879	14,35 (8,9; 18,7)	16,21 (11,5; 22,1)	0,178
	CD3+CD4+	13,39 (7,1; 19,2)	13,45 (10,1; 18,4)	0,480	11,03 (5,7; 14,1)	13,75 (9,9; 18,6)	**0,016**
	CD3+CD8+	14,40 (9,8; 21,2)	14,74 (10,1; 20,7)	0,893	13,40 (9,3; 22,2)	14,74 (10,4; 20,4)	0,647
IL-2	CD3+	14,62 7,1; 19,4)	14,29 (10,0; 18,3)	0,903	12,78 (5,6; 18,2)	14,44 (9,9; 18,5)	0,246
	CD3+CD4+	21,57 (10,5; 28,0)	21,50 (15,0; 27,9)	0,560	17,71 (8,1; 27,0)	21,70 (14,7, 28,0)	0,108
	CD3+CD8+	4,80 (3,0; 1,2)	4,82 (2,6; 6,9)	0,281	4,32 (1,8; 7,7)	4,82 (2,8; 7,0)	0,835
IL-4	CD3+	0,82 (0,5;	0,71 (0,4; 1,1)	0,345	0,63 (0,4; 0,9)	0,74 (0,5; 1,1)	0,342
	CD3+CD4+	1,28 (0,8; 2,1)	1,24 (0,7; 1,9)	0,525	1,14 (0,8; 2,0)	1,25 (0,7; 2,0)	0,654
	CD3+CD8+	0,40 (0,1; 0,6)	0,28 (0,01; 0,7)	0,327	0,26 (0,01; 0,6)	0,30 (0,04; 0,7)	0,426
IL-13	CD3+	1,15 (0,8; 1,8)	1,10 (0,8; 1,6)	0,327	1,03 (0,7; 1,4)	1,12 (0,8; 1,6)	0,341
	CD3+CD4+	1,81 (1,1; 2,8)	1,89 (1,2; 2,7)	0,939	1,58 (0,9; 2,7)	1,89 (1,2; 2,8)	0,460
	CD3+CD8+	0,95 (0,3; 1,7)	0,65 (0,3; 1,4)	0,112	0,79 (0,3; 1,5)	0,70 (0,3; 1,5)	0,828
		Hund			**Roggenpollen**		
		positiv	negativ	p-Wert	positiv	negativ	p-Wert
IFN-γ	CD3+	15,71 (7,6; 22,8)	14,92 (11,0; 20,4)	0,836	14,91 (10,6; 21,9)	15,14 (11,0; 20,4)	0,777
	CD3+CD4+	5,04 (2,6; 8,3)	5,36 (3,8; 7,3)	0,549	4,85 (3,1; 7,3)	5,41 (3,8; 7,4)	0,439
	CD3+CD8+	24,51 (16,5; 33,2)	24,20 (18,3; 32,4)	0,898	24,35 (18,2; 35,3)	24,29 (18,3; 32,1)	0,492
TNF-α	CD3+	14,50 (8,0; 19,8)	16,16 (11,5; 22,1)	0,433	15,54 (11,7; 23,6)	16,16 (11,5; 21,7)	0,769
	CD3+CD4+	11,19 (7,0; 14,1)	13,64 (9,7; 18,5)	0,130	12,28 (9,5; 17,8)	13,61 (9,7; 18,5)	0,478
	CD3+CD8+	14,84 (9,5; 21,3)	14,70 (10,1; 20,6)	0,911	14,10 (10,1; 24,5)	14,78 (10,2; 20,2)	0,657
IL-2	CD3+	9,15 (4,5; 13,5)	14,42 (10,0; 18,5)	**0,046**	13,52 (6,0; 17,2)	14,41 (9,8; 18,5)	0,377
	CD3+CD4+	15,81 (9,1; 20,4)	21,69 (14,7; 28,0)	**0,031**	20,64 (13,3; 27,4)	21,67 (14,7; 28,0)	0,397
	CD3+CD8+	2,55 (0,9; 6,2)	4,88 (2,9; 7,0)	0,059	5,16 (2,2; 6,6)	4,81 (2,9; 7,0)	0,602
IL-4	CD3+	0,66 (0,4; 1,0)	0,74 (0,5; 1,1)	0,526	0,74 (0,5; 1,1)	0,71 (0,4; 1,1)	0,670
	CD3+CD4+	1,13 (0,8; 1,7)	1,24 (0,7; 2,0)	0,561	1,24 (0,7; 2,0)	1,24 (0,8; 2,0)	0,970
	CD3+CD8+	0,09 (0,01; 0,42)	0,32 (0,04; 0,7)	0,203	0,42 (0,03; 0,9)	0,30 (0,03; 0,7)	0,575
IL-13	CD3+	0,90 (0,7; 1,3)	1,11 (0,8; 1,6)	0,490	1,12 (0,8; 1,5)	1,11 (0,8; 1,6)	0,970
	CD3+CD4+	1,96 (0,8; 3,9)	1,88 (1,2; 2,8)	0,960	1,79 (1,0; 2,6)	1,88 (1,2; 2,8)	0,857
	CD3+CD8+	0,51 (0,2; 1,3)	0,71 (0,3; 1,5)	0,462	0,83 (0,2; 1,9)	0,69 (0,3; 1,4)	0,511

		Lieschgras			Cladosporium herbarum		
		positiv	negativ	p-Wert	positiv	negativ	p-Wert
IFN-γ	CD3+	14,86 (10,2; 21,8)	15,15 (11,2; 20,4)	0,903	14,11 (11,3;15,3)	15,14 (11,0; 20,6)	0,332
	CD3+CD4+	4,93 (3,0; 7,2)	5,39 (3,9; 7,4)	0,391	2,73 (2,2; 4,9)	5,39 (3,8; 7,4)	**0,046**
	CD3+CD8+	24,19 (16,4; 34,2)	24,37 (18,6; 32,1)	0,869	20,09 (18,0; 22,3)	24,48 (18,3; 32,5)	0,161
TNF-α	CD3+	15,76 (10,1; 22,3)	16,17 (11,5; 21,8)	0,785	13,72 (6,9; 14,5)	16,19 (11,5; 22,1)	0,132
	CD3+CD4+	12,24 (7,0; 18,4)	13,68 (9,9; 18,5)	0,193	9,97 (3,8; 11,1)	13,61 (9,7; 18,5)	0,060
	CD3+CD8+	13,64 (8,9; 24,2)	14,81 (10,7; 20,2)	0,840	11,27 (6,7; 11,7)	14,81 (10,1; 20,8)	0,094
IL-2	CD3+	13,63 (5,4; 17,1)	14,42 (9,9; 18,6)	0,195	7,42 (4,4; 14,3)	14,40 (9,8; 18,5)	0,109
	CD3+CD4+	20,58 (11,7; 27,0)	21,69 (15,1; 28,1)	0,210	12,34 (8,1; 20,6)	21,65 (14,7; 28,0)	0,091
	CD3+CD8+	5,74 (2,1; 6,9)	4,79 (2,9; 7,0)	0,867	2,10 (1,0; 3,3)	4,88 (2,8; 7,0)	0,057
IL-4	CD3+	0,73 (0,5; 1,2)	0,71 (0,4; 1,1)	0,672	0,32 (0,3; 1,1)	0,73 (0,5; 1,1)	0,153
	CD3+CD4+	1,24 (0,5; 1,9)	1,24 (0,8; 2,0)	0,750	0,95 (0,2; 1,1)	1,25 (0,76; 2,0)	0,148
	CD3+CD8+	0,42 (0,04; 0,9)	0,28 (0,01; 0,7)	0,323	0,03 (0,01; 0,3)	0,32 (0,04; 0,7)	0,088
IL-13	CD3+	1,15 (0,8; 1,5)	1,10 (0,8; 1,6)	0,774	1,21 (0,8; 1,6)	1,11 (0,8; 1,6)	0,850
	CD3+CD4+	1,76 (1,0; 2,5)	1,89 (1,2; 2,8)	0,753	1,75 (1,5;2,0)	1,88 (1,2; 2,8)	0,884
	CD3+CD8+	0,89 (0,3; 2,0)	0,65 (0,3; 1,4)	0,108	0,95 (0,3; 1,3)	0,70 (0,3; 1,5)	0,842
		Birke			Beifuß		
		positiv	negativ	p-Wert	positiv	negativ	p-Wert
IFN-γ	CD3+	15,41 (10,7; 21,9)	14,97 (11,0; 20,4)	0,643	17,0 (11,3; 21,8)	14,95 (11,0; 20,4)	0,832
	CD3+CD4+	5,4 (3,8; 7,2)	5,35 (3,8; 7,4)	0,850	5,12 (2,3; 6,8)	5,37 (3,8; 7,4)	0,306
	CD3+CD8+	24,19 (17,0; 33,2)	24,37 (18,6; 32,1)	0,776	28,650	24,20 (18,4; 32,3)	0,808
TNF-α	CD3+	15,98 (11,6; 22,3)	16,13 (11,5; 21,8)	0,860	18,69 (7,6; 23,9)	16,00 (11,5; 21,6)	0,769
	CD3+CD4+	12,31 (9,3; 17,0)	13,60 (9,7; 18,5)	0,326	14,39 (5,8; 19,2)	13,25 (9,7; 18,16)	0,861
	CD3+CD8+	14,11 (9,0; 24,0)	14,81 (10,4; 20,35)	0,937	15,84 (10,1; 23,2)	14,62 (10,1; 20,7)	0,764
IL-2	CD3+	14,03 (8,8; 18,5)	14,35 (9,8; 18,5)	0,949	15,87 (6,0; 32,2)	14,29 (9,8; 18,3)	0,430
	CD3+CD4+	20,21 (12,6; 27,9)	21,65 (15,0; 27,9)	0,657	21,22 (11,0; 31,9)	21,57 (14,9; 27,8)	0,972
	CD3+CD8+	5,37 (2,7; 6,7)	4,77 (2,7; 7,0)	0,727	5,93 (2,1; 9,1)	4,77 (2,7; 7,0)	0,325
IL-4	CD3+	0,74 (0,5; 1,4)	0,72 (0,4; 1,1)	0,193	0,66 (0,4; 1,7)	0,72 (0,5; 1,1)	0,920
	CD3+CD4+	1,40 (1,0; 2,6)	1,24 (0,7; 1,9)	0,233	1,26 (0,7; 2,6)	1,24 (0,8; 1,9)	0,985
	CD3+CD8+	0,44 (0,0; 0,9)	0,29 (0,0; 0,7)	0,534	0,49 (0,1; 0,8)	0,28 (0,0; 0,7)	0,191
IL-13	CD3+	1,11 (0,8; 1,7)	1,11 (0,8; 1,6)	0,628	1,15 (0,7; 1,8)	1,10 (0,8; 1,6)	0,685
	CD3+CD4+	2,38 (1,2; 3,4)	1,88 (1,2; 2,7)	0,290	1,44 (1,0; 2,5)	1,89 (1,2; 2,8)	0,402
	CD3+CD8+	0,68 (0,2; 1,5)	0,71 (0,3; 1,5)	0,963	1,47 (1,0; 2,0)	0,65 (0,3; 1,4)	**0,008**

Tabelle 31: Zytokine im Vollblut in Abhängigkeit von der Sensibilisierung gegen einzelne Nahrungsmittelallergene; angegeben sind Median, in Klammern 25. und 75. Perzentil, Angaben in [pg/ml]

		Eiklar			Erdnuss		
		positiv	negativ	p-Wert	positiv	negativ	p-Wert
IL-4	PM	2,88 (0,0; 7,0)	5,94 (0,0; 9,6)	0,401	5,37 (0,0; 8,2)	5,94 (0,0; 9,6)	0,569
	PHA	53,66 (36,3; 87,7)	44,65 (27,3; 72,0)	0,292	75,49 (50,8; 98,4)	43,80 (27,3; 70,7)	**0,026**
IL-5	PM	2,08 (0,0; 2,3)	0,25 (0,0; 2,34)	0,933	2,16 (0,0; 2,4)	0,25 (0,0; 2,34)	0,657
	PHA	5,18 (3,8; 8,5)	3,64 (2,2; 6,3)	0,106	6,71 (3,8; 9,3)	3,63 (2,2; 6,2)	**0,035**
Eotaxin	PM	343,86 (268,7; 419,1)	399,10 (319,4; 525,0)	0,075	380,72 (270,6; 481,4)	399,1 (319,4; 519,9)	0,492
	PHA	293,44 (269,5; 437,4)	369,16 (276,4; 476,8)	0,241	383,69 (319,3; 458,0)	368,52 (272,8; 474,9)	0,764
RANTES	PM	5952,91 (5281,0; 7137,3)	7232,02 (5325,7; 9223,3)	0,302	7240,73 (5774,6; 8797,5)	7198,94 (5278,9; 9223,3)	0,990
	PHA	6749,79 (5104,0; 9322,2)	8034,32 (6104,9; 11243,9)	0,280	11746,03 (8112, 14072)	7960,92 (5972; 11073,0)	**0,030**
IFN-γ	PM	5,44 (0,0; 12,1)	7,30 (0,0; 13,7)	0,536	11,14 (0,0; 17,5)	7,24 (0,0; 13,6)	0,671
	LPS	33,4 (21,8; 73,4)	51,50 (29,1; 108,7)	0,080	56,10 (15,5; 138,6)	50,92 (29,1; 102,0)	0,667
	PHA	1503,28 (471,3; 2087,5)	1630,82 (912,5; 2857,6)	0,444	2621,18 (1361,2; 3774,8)	1627,37 (905,6; 2713,6)	0,211
IL-6	PM	4,8 (3,1; 17,6)	7,10 (5,0; 10,9)	0,133	6,57 (3,4; 30,79)	6,98 (5,0; 10,9)	0,831
	LPS	9029,31 (8021,3; 9574,2)	8554,06 (7556,5; 9555,2)	0,527	7895,79 (4888,4; 9583,0)	8598,44 (7556,5; 9555,2)	0,339
IL-8	PM	49,03 17,1; 121,4)	48,17 (28,3; 92,7)	0,925	44,73 (25,5; 139,6)	48,31 (28,0; 92,4)	0,755
	LPS	4100,33 (2347,0; 8780,1)	3908,31 (3048,1; 5264,6)	0,722	4215,93 (2705; 5225)	3908,31 (3044,4; 5327,6)	0,916
IL-10	PM	1,64 (1,5; 2,9)	1,5 (1,5; 3,13)	0,826	1,50 (1,5; 4,23)	1,5 (1,5; 3,1)	0,510
	LPS	6,2 (3,2; 9,3)	6,39 (4,6; 9,4)	0,400	8,25 (3,9; 10,8)	6,36 (4,5; 9,3)	0,461
	PHA	39,31 (34,0, 52,7)	43,24 (29,7; 56,1)	0,871	46,94 (20,3; 76,6)	42,98 (30,1; 56,0)	0,903
TNF	PM	4,25 (1,5; 5,8)	6,61 (4,6; 10,5)	**0,035**	5,70 (0,75; 12,8)	6,52 (4,6; 10,3)	0,564
	LPS	3171,95 (2036,5; 4004,7)	3076,3 (2388,2; 3787,6)	0,973	2778,71 (1546,4; 3543,3)	3101,42 (2394,5; 3793,1)	0,255
MCP-1	PM	96,58 68,9; 174,2)	85,58 (63,2; 128,8)	0,386	88,18 (72,41; 207,7)	86,58 (63,2; 128,8)	0,569
	LPS	1008,23 (573,9; 1405,9)	740,96 (507,7; 1007,7)	0,139	884,46 (219,5; 1253,0)	745,03 (514,0; 1010,8)	0,925

		Sojabohne			Milcheiweiß		
		positiv	negativ	p-Wert	positiv	negativ	p-Wert
IL-4	PM	0,00 (0,0; 6,7)	5,94 (0,00; 9,6)	0,287	7,60 (2,7; 10,4)	5,76 (0,0; 9,4)	0,130
	PHA	74,82 (48,7; 94,1)	44,46 (27,4; 71,4)	0,115	50,24 (27,0; 98,4)	44,65 (27,6; 71,1)	0,500
IL-5	PM	2,08(0,0; 2,3)	0,25(0,00; 2,34)	0,731	2,15(0,0; 2,5)	0,25(0,0; 2,34)	0,314
	PHA	4,68 (3,6; 8,3)	3,64 (2,2; 6,3)	0,210	4,47 (2,8; 8,7)	3,64 (2,1; 6,2)	0,178
Eotaxin	PM	375,36 (295,5; 453,0)	399,10 (317,4; 522,4)	0,295	356,42 (295,5; 423,6)	401,30 (319,4; 520,0)	0,165
	PHA	381,40 (318,1; 456,7)	369,15 (273,3; 476,8)	0,972	293,44 (243,9; 450,1)	369,80 (280,9; 478,8)	0,079
RANTES	PM	6140,96 (5517,4; 7573,2)	7215,48 (5278,9; 9223,3)	0,507	6710,05 (5668,6; 9801,9)	7198,94 (5278,9; 9135,9)	0,731
	PHA	12299,20 (7316,4; 13313,8)	7997,60 (6021; 11163)	0,123	6653,45 (5454; 12185)	8070,14 (6142,1; 11204,9)	0,237
IFN-γ	PM	10,86 (0,0; 18,9)	7,24 (0,00; 13,7)	0,708	1,00 (0,0; 11,4)	7,38 (0,0; 13,7)	0,121
	LPS	44,90 (20,2; 125,5)	51,1 (29,1; 102,5)	0,643	40,27 (24,7; 74,5)	51,50 (29,1; 109,0)	0,194
	PHA	1916,70 (1233,4; 3396,6)	1629,45 (906,4; 2753,2)	0,467	1414,93 (653,2; 1925,5)	1634,53 (912,5; 2877,6)	0,274
IL-6	PM	3,58 (3,4; 9,3)	7,06 (5,0; 11,0)	0,131	4,24 (2,8; 7,2)	7,22 (5,0; 11,0)	**0,007**
	LPS	7698,52 (6534,5; 8845,9)	8614,32 (7556,5; 9584,3)	0,143	8036,24 (6851,6; 9206,1)	8598,44 (7556,5; 9590,3)	0,241
IL-8	PM	41,18 (17,4; 112,7)	48,56 (28,2; 93,0)	0,560	41,42 (13,2; 112,9)	49,45 (29,3; 92,7)	0,247
	LPS	4212,60 (3056,5; 4986,1)	3910,36 (3041; 5331)	0,636	3796,80 (2984,6; 6123,9)	3910,36 (3044,4; 5294,3)	0,872
IL-10	PM	1,50 (1,5; 2,7)	1,50 (1,5; 3,1)	0,914	1,50 (0,0; 1,6)	1,50 (1,5; 3,1)	**0,019**
	LPS	6,82 (2,4; 9,8)	6,38 (4,5; 9,36)	0,645	5,36 (2,4; 8,9)	6,54 (4,6; 9,4)	0,098
	PHA	52,08 (19,5; 54,5)	42,79 (30,0; 56,0)	0,755	39,45 (31,9; 50,1)	43,47 (29,9; 56,5)	0,372
TNF-α	PM	4,08 (0,0; 6,0)	6,56 (4,6; 10,4)	**0,049**	3,92 (0,75; 5,9)	6,75 (4,7; 10,5)	**<0,001**
	LPS	2605,41 (1189,5, 2958,2)	3101,42 (2388,2; 3795,8)	0,093	2546,14 (1912,7; 3380,9)	3101,42 (2406,7; 3793,1)	0,083
MCP-1	PM	83,58 (70,4; 91,9)	87,70 (63,4; 128,8)	0,707	75,75 (53,1; 129,7)	87,36 (64,6; 128,8)	0,348
	LPS	862,38 (241,6; 1178,3)	746,24 (510,8; 1013,9)	0,969	733,68 (462,4; 1016,3)	748,95 (509,6; 1018,7)	0,756

		Dorsch			Weizenmehl		
		positiv	negativ	p-Wert	positiv	negativ	p-Wert
IL-4	PM	0,00 (0,0; 3,9)	5,94 (0,0; 9,6)	0,196	0,00 (0,0; 6,7)	5,94 (0,0; 9,6)	0,176
	PHA	34,81 (33,6; 65,8)	45,34 (27,5; 72,2)	0,819	71,39 (35,4; 94,1)	44,49 (27,4; 71,3)	0,178
IL-5	PM	1,04 (0,0; 2,23)	0,25 (0,0; 2,3)	0,522	2,08 (0,0; 2,3)	0,25 (0,0; 2,3)	0,934
	PHA	4,07 (2,8; 6,5)	3,74 (2,2; 6,4)	0,790	4,59 (3,6; 8,3)	3,64 (2,2; 6,3)	0,188
Eotaxin	PM	394,83 (362,8; 432,8)	399,10 (311,4; 519,9)	0,963	378,57 (295,5; 453,0)	399,10 (315,4; 524,9)	0,297
	PHA	397,19 (366,5; 449,9)	369,15 (273,3; 474,9)	0,495	386,31 (318,1; 459,3)	368,52 (273,3; 476,8)	0,757
RANTES	PM	6726,20 (5398,6; 8909,3)	7198,94 (5325,7; 9135,9)	0,886	6113,51 (5517,4; 7573,2)	7232,02 (5278,9; 9223,3)	0,434
	PHA	15120,63 (10196,5; 15513,5)	7997,72 (6028,5; 11162,9)	0,123	12451,56 (7316,4; 14831,7)	7979,26 (6020,7; 1190,0)	0,055
IFN-γ	PM	2,60 (0,0; 8,0)	7,24 (0,0; 13,7)	0,283	5,43 (0,0; 18,9)	7,24 (0.0; 13,7)	0,983
	LPS	119,70 (36,7; 198,6)	50,92 (28,5; 102,0)	0,389	42,86 (20,2; 125,5)	51,20 (29,1; 102,5)	0,578
	PHA	2258,67 (1865,1; 3759,8)	1625,25 (905,6; 2823,4)	0,150	1922,48 (1233,4; 3396,6)	1627,37 (906,4; 2753,2)	0,413
IL-6	PM	5,27 (4,4; 26,1)	7,02 (4,9; 11,0)	0,652	3,76 (3,4; 9,3)	7,06 (5,0; 11,0)	0,069
	LPS	8382,11 (7612,7; 8845,9)	8571,43 (7556,5; 9572,2)	0,588	7808,43 (6534,5; 8845,9)	8621,06 (7556,5; 9584,3)	0,115
IL-8	PM	71,59 (28,6; 287,6)	48,17 (28,0; 92,7)	0,552	44,73 (17,3; 112,4)	48,31 (28,2; 92,4)	0,832
	LPS	5264,60 (3923,9; 6123,9)	3908,31 (3044,4; 5294,3)	0,336	4215,93 (3056,5; 5264,6)	3908,31 (3040,6; 5324,0)	0,997
IL-10	PM	1,43 (0,0; 5,5)	1,50 (1,5; 3,1)	0,785	1,50 (1,5; 2,7)	1,50 (1,5; 3,1)	0,575
	LPS	9,72 (7,6; 12,0)	6,36 (4,5; 9,4)	0,081	6,98 (2,4; 9,8)	6,37 (4,5; 9,4)	0,808
	PHA	57,02 (30,0; 85,0)	42,98 (29,9; 55,7)	0,530	45,45 (19,5; 54,5)	42,98 (30,0; 56,0)	0,705
TNF-α	PM	3,73 (0,8; 25,3)	6,52 (4,6; 10,3)	0,410	2,79 (0,0; 6,0)	6,56 (4,6; 10,4)	**0,016**
	LPS	2901,19 (2605,4; 3252,5)	3084,43 (2325,7; 3793,1)	0,763	2778,71 (1189,5; 3308,1)	3101,42 (2388,2; 3795,8)	0,136
MCP-1	PM	112,30 (52,9; 500,4)	86,58 (63,4; 128,8)	0,707	84,03 (70,4; 150,2)	87,36 (63,4; 128,8)	0,996
	LPS	1035,65 (1018,7; 1211,2	740,96 (507,7; 1007,7)	**0,036**	940,54 (241,6; 1178,3)	745,03 (510,8; 1007,7)	0,778

Tabelle 32: Zytokine im Vollblutassay in Abhängigkeit von der Sensibilisierung gegen inhalative Allergene; angegeben sind Median, in Klammern 25. und 75. Perzentil, Angaben in [pg/ml]

		Dermatophagoides pt.			Katze		
		positiv	negativ	p-Wert	positiv	negativ	p-Wert
IL-4	PM	5,38 (0,0; 9,2)	5,94 (0,0; 9,6)	0,504	2,40 (0,0; 8,7)	5,94 (0,0; 9,4)	0,392
	PHA	59,26 (35,5; 100,4)	43,08 (26,9; 69,4)	**0,005**	65,54 (39,4; 98,4)	44,49 (27,1; 71,1)	**0,041**
IL-5	PM	0,25 (0,0; 2,4)	0,25 (0,0; 2,3)	0,768	2,08 (0,0; 3,6)	0,25 (0,0; 2,3)	0,852
	PHA	4,80 (3,1; 8,5)	3,48 (1,9; 5,9)	**0,002**	6,27 (4,0; 8,5)	3,58 (2,1; 6,2)	**0,005**
Eotaxin	PM	381,78 (319,4; 500,4)	400,20 (313,4; 522,4)	0,473	383,93 (323,4; 524,3)	399,10 (311,4; 519,9)	0,826
	PHA	381,75 (276,6; 456,7)	367,90 (273,3; 476,8)	0,909	391,81 (295,6; 468,0)	366,52 (273,3; 474,9)	0,468
RANTES	PM	6309,04 (4711,2; 8963,9)	7265,40 (5384,8; 9223,3)	0,221	6972,0 (6005,4; 9181,5)	7198,94 (5278,9; 9135,9)	0,751
	PHA	7821,31 (5771,2; 10845,9)	8034,32 (6128,4; 11216,8)	0,636	9708,55 (6264,0; 14072,8)	7960,92 (6028,4; 11162,9)	0,136
IFN-γ	PM	5,70 (0,0; 12,1)	7,38 (0,0; 13,7)	0,367	7,44 (0,0; 11,0)	7,24 (0,0; 13,7)	0,514
	LPS	61,36 (32,5; 122,0)	50,16 (28,5; 100,8)	0,428	64,25 (42,9; 99,2)	49,66 (28,0; 103,8)	0,167
	PHA	1697,60 (655; 9; 2722,2)	1614,75 (912,5; 2827,0)	0,948	1784,26 (1162,4; 3127,1)	1627,37 (905,6; 2823,4)	0,590
IL-6	PM	6,82 (4,1; 9,5)	6,98 (5,0; 11,3)	0,289	9,29 (4,4; 13,6)	6,92 (4,9; 10,9)	0,368
	LPS	8845,88 (7417,6; 9609,3)	8495,04 (7556,5; 9550,3)	0,464	8987,58 (7653,0; 9611,0)	8547,82 (7556,5; 9555,2)	0,465
IL-8	PM	41,18 (23,1; 112;4)	49,64 (29,7; 92,4)	0,381	107,74 (38,5; 132,0)	47,27 (21,2; 90,4)	**0,011**
	LPS	4112,22 (3056,5; 5264; 6)	3906,26 (3040,6; 5331,2)	0,866	4986,07 (3574,5; 7253,2)	3867,06 (3012,6; 5264,6)	**0,026**
IL-10	PM	1,50 (1,5; 3,1)	1,50 (1,5; 3,1)	0,960	1,50 (1,5; 3,3)	1,50 (1,5; 3,1)	0,627
	LPS	14,30 (9,5; 22,8)	13,88 (9,3; 19,7)	0,319	21,11 (13,9; 24,6)	13,62 (9,1; 20,0)	**0,003**
	PHA	45,87 (34,1; 63,2)	42,28 (29,6; 55,2)	0,138	47,39 (30,0; 54,8)	42,29 (30,0; 56,1)	0,428
TNF-α	PM	6,06 (4,5; 10,3)	6,48 (4,6; 10,4)	0,702	6,94 (4,1; 10,3)	6,44 (4,5; 10,3)	0,898
	LPS	3308,12 (2506,2; 4090,2)	2993,56 (2293,7; 3748,3)	0,126	3709,57 (1970,5; 4048,2)	3063,58 (2388,2; 3730,0)	0,368
MCP-1	PM	91,88 (66,0; 136,9)	85,30 (63,4; 127,9)	0,543	106,76 (79,5; 174,3)	84,74 (62,7; 127,5)	0,056
	LPS	790,30 (545,2; 1018,7)	737,48 (500,9; 1018,7)	0,715	949,36 (642,5; 1366,7)	740,96 (503,9; 1003,4)	0,083

		Hund			Roggenpollen		
		positiv	negativ	p-Wert	positiv	negativ	p-Wert
IL-4	PM	0,00 (0,0; 7,7)	5,94 (0,0; 9,6)	0,339	6,66 (0,0; 9,7)	5,76 (0,0; 9,4)	0,419
	PHA	67,96 (35,2; 101,4)	44,78 (27,2; 71,3)	0,172	59,26 (29,9; 96,7)	43,80 (27,5; 69,6)	0,104
IL-5	PM	2,08 (0,3; 2,2)	0,25 (0,0; 2,4)	0,766	2,10 (0,0; 2,5)	0,25 (0,0; 2,3)	0,179
	PHA	6,45 (3,8; 8,6)	3,61 (2,2; 6,2)	**0,048**	5,12 (3,0; 8,4)	3,57 (2,1; 6,0)	**0,015**
Eotaxin	PM	457,66 (366,9; 560,3)	398,01 (309,4; 518,7)	0,312	377,50 (319,4; 519,9)	399,10 (311,4; 519,9)	0,762
	PHA	456,69 (381,7; 463,7)	365,98 (272,3; 472,9)	0,095	381,40 (263,0; 456,7)	369,15 (276,1; 476,8)	0,754
RANTES	PM	6908,26 (5517,4; 8963,9)	7232,02 (5302,3; 9179,6)	0,805	7035,74 (5517,4; 9223,3)	7215,48 (5278,9; 9135,9)	0,895
	PHA	7926,68 (5721,2; 12603,9)	8034,32 (6028,4; 11192,9)	0,960	8749,00 (5771,2; 12397,1)	7997,60 (6028,4; 11056,0)	0,403
IFN-γ	PM	9,73 (2,0; 10,9)	7,24 (0,0; 13,7)	0,993	10,30 (0,0; 16,1)	7,24 (0,0; 13,2)	0,483
	LPS	86,64 (40,8; 122,0)	49,99 (28,5; 102,5)	0,386	51,10 (27,1; 108,4)	50,74 (29,1; 102,5)	0,984
	PHA	1944,90 (489,9; 3664,3)	1629,45 (912,5; 2753,2)	0,924	1651,83 (1000,2; 3396,6)	1629,45 (906,4; 2705,1)	0,553
IL-6	PM	9,10 (3,5; 13,8)	6,92 (4,9; 10,9)	0,848	6,64 (4,0; 9,5)	6,98 (5,0; 11,0)	0,402
	LPS	9179,68 (8785,3; 10117,4)	8538,78 (7556,5; 9550,3)	0,158	8778,20 (6981,3; 9752,5)	8547,82 (7556,5; 9550,3)	0,991
IL-8	PM	106,46 (25,5; 126,0)	47,76 (28,2; 92,2)	0,348	43,99 (25,5; 112,4)	49,26 (28,2; 92,4)	0,888
	LPS	5667,66 (4899,6; 8995,8)	3869,10 (3040,6; 5264,6)	**0,028**	4595,42 (3168,2; 6383,9)	3828,30 (3015,8; 5264,6)	0,083
IL-10	PM	2,94 (1,5; 3,9)	1,50 (1,5; 3,1)	0,087	2,68 (1,5; 4,0)	1,50 (1,5; 3,1)	0,065
	LPS	21,19 (15,3; 23,3)	13,66 (9,2; 20,4)	0,053	14,86 (9,4; 21,6)	13,68 (9,3; 20,4)	0,438
	PHA	44,56 (27,8; 54,5)	42,79 ((30,0; 56,0)	0,884	43,86 (27,4; 54,5)	42,79 (30,5; 56,0)	0,730
TNF-α	PM	6,06 (3,0; 8,8)	6,48 (4,6; 10,4)	0,476	5,96 (4,5; 9,2)	6,56 (4,6; 10,5)	0,631
	LPS	3790,42 (1903,3; 4689,1)	3076,16 (2388,2; 3748,3)	0,316	3164,94 (2247,9; 4090,2)	3076,16 (2388,2; 3764,7)	0,643
MCP-1	PM	110,56 (91,9; 134,1)	84,94 (62,5; 127,9)	0,107	96,22 (71,5; 127,9)	84,54 (63,0; 128,8)	0,252
	LPS	1048,98 (696,9; 1442,1)	738,10 (506,9; 1005,1)	**0,036**	862,38 (494,0; 1018,7)	730,10 (510,8; 1013,9)	0,426

		Lieschgras			Cladosporium herbarum		
		positiv	negativ	p-Wert	positiv	negativ	p-Wert
IL-4	PM	6,30 (0,0; 9,4)	5,76 (0,0; 9,6)	0,533	4,87 (0,0; 11,1)	5,94 (0,0; 9,4)	0,929
	PHA	53,90 (30,5; 94,1)	43,44 (27,2; 70,4)	0,085	86,17 (39,6; 141,9)	44,65 (27,4;71,3)	0,055
IL-5	PM	2,09 (0,0; 2,5)	0,25 (0,0; 2,3)	0,341	1,18 (0,0; 2,2)	0,25 (0,0; 2,3)	0,721
	PHA	4,66 (3,0; 8,2)	3,45 (2,0; 6,0)	**0,006**	8,50 (6,5; 12,3)	3,64 (2,2; 6,2)	**0,007**
Eotaxin	PM	383,93 (323,4; 500,4)	399,10 (305,4; 524,9)	0,870	444,81 (381,8; 560,3)	399,10 (311,4; 519,9)	0,525
	PHA	381,57 (272,3; 456,7)	368,11 (274,9; 476,8)	0,927	455,60 (413,2; 472,4)	367,48 (273,3; 472,9)	0,306
RANTES	PM	7133,19 (5517,4; 9311,6)	7198,94 (5278,9; 9049,4)	0,546	7759,24 (6086,1; 9721,7)	7198,94 (5278,9; 9135,9)	0,643
	PHA	9128,48 (6128,4; 12603,9)	7943,80 (6028,4; 10845,9)	0,158	8452,3 (5671,6; 15617,3)	8016,08 (6028,4; 11192,9)	0,762
IFN-γ	PM	7,52 (0,0; 16,0)	7,24 (0,0; 13,2)	0,698	2,84 (0,0; 5,8)	7,30 (0,0; 13,7)	0,128
	LPS	50,55 (27,5; 109,0)	51,02 (29,1; 101,4)	0,952	52,44 (39,7; 64,4)	50,92 (28,5; 105,2)	0,936
	PHA	1584,77 (1000,2; 3325,7)	1634,53 (906,4; 2753,2)	0,999	1936,58 (1518,3; 2589,8)	1627,37 (904,8; 2827,0)	0,421
IL-6	PM	6,98 (4,0; 10,2)	6,98 (5,0; 11,0)	0,526	6,19 (3,4; 11,0)	6,98 (4,9; 10,9)	0,457
	LPS	8778,20 (7191,8; 9752,5)	8554,06 (7556,5; 9550,3)	0,727	8549,01 (7058,9; 9469,4)	8571,43 (7556,5; 9560,1)	0,897
IL-8	PM	47,02 (25,5; 116,8)	48,655 (28,2; 92,2)	0,639	112,89 (106,5; 135,4)	47,67 (27,8; 92,4)	0,054
	LPS	4326,70 (3056,5; 6183,4)	3827,62 (3040,6; 5264,6)	0,133	6377,01 (4899,6; 8995,8)	3887,68 (3040,6; 5264,6)	**0,042**
IL-10	PM	1,50 (1,5; 3,9)	1,50 (1,5; 3,1)	0,208	2,22 (0,0; 3,1)	1,50 (1,5; 3,1)	0,793
	LPS	15,35 (9,4; 23,3)	13,68 (9,3; 19,9)	0,255	20,47 (14,9; 22,8)	13,73 (9,3; 20,9)	0,217
	PHA	42,84 (28.5; 53,7)	42,98 (30,0; 56,1)	0,849	50,51 (49,5; 54,8)	42,29 (29,7; 56,0)	0,148
TNF-α	PM	5,96 (4,5; 9,2)	6,61 (4,5; 10,5)	0,572	5,28 (3,0; 9,3)	6,52 (4,6; 10,4)	0,362
	LPS	3188,83 (2486,9; 4308,5)	3047,90 (2334,5; 3764,7)	0,386	3546,47 (1556,6; 3835,9)	3076,30 (2388,2; 3790,4)	0,786
MCP-1	PM	98,18 (70,4; 130,5)	84,51 (63,4; 128,8)	0,207	132,01 (102,8; 150,2)	85,58 (63,4; 127,9)	0,120
	LPS	823,44 (511,7; 1018,7)	737,79 (508,5; 1018,7)	0,641	1130,68 (1049,0; 1442,1)	741,0 (508,5; 1007,7)	**0,048**

		Birke			Beifuß		
		positiv	negativ	p-Wert	positiv	negativ	p-Wert
IL-4	PM	6,30 (0,0; 9,4)	5,85 (0,0; 9,6)	0,913	5,94 (0,0; 7,0)	5,94 (0,0; 9,7)	0,383
	PHA	55,58 (26,3; 94,1)	43,08 (27,7; 70,4)	0,132	70,36 (35,4; 96,3)	43,80 (27,4; 70,5)	0,112
IL-5	PM	2,08 (0,0; 2,5)	0,25 (0,0; 2,3)	0,520	2,08 (0,0; 2,3)	0,25 (0,0; 2,3)	0,963
	PHA	5,12 (3,0; 8,2)	3,58 (2,1; 6,2)	0,056	5,16 (3,6; 10,3)	3,58 (2,1; 6,3)	0,014
Eotaxin	PM	375,36 (270,3; 497,9)	399,10 (319,4; 519,9)	0,305	399,10 (245,6; 497,9)	399,10 (319,4; 522,4)	0,393
	PHA	385,99 (266,7; 456,7)	367,07 (274,2; 476,8)	0,961	391,22 (268,6; 456,7)	367,90 (274,2; 476,8)	0,957
RANTES	PM	6366,22 (5517,4; 8963,9)	7248,71 (5278,9; 9311,6)	0,570	6086,06 (5517,4; 9006,6)	7232,02 (5302,3; 9179,6)	0,896
	PHA	9407,86 (7251,8; 12397,1)	7926,68 (5872,6; 11056,0)	**0,039**	9491,37 (6756,7; 12299,2)	7997,84 (6020,7; 11162,9)	0,321
IFN-γ	PM	2,00 (0,0; 14,4)	7,36 (0,0, 13,7)	0,336	0,00 (0,0; 2,0)	7,40 (0,0; 13,9)	**0,020**
	LPS	71,09 (27,5; 125,5)	49,19 (29,1; 98,8)	0,438	44,90 (27,1; 125,5)	51,10 (29,1; 101,4)	0,962
	PHA	1543,47 (655,9; 2641,8)	1636,88 (912,5; 2827,0)	0,637	1911,78 81233,4; 2589,1)	1629,45 (904,8; 2827,0)	0,619
IL-6	PM	7,32 (4,0; 9,5)	6,98 (5,0; 11,1)	0,398	5,26 (3,6; 9,3)	7,06 (5,0; 11,1)	0,074
	LPS	9129,28 (7417,6; 9963,5)	8506,88 (7556,5; 9550,3)	0,161	8093,06 (7191,8; 8845,9)	8614,32 (7556,5; 9590,3)	0,090
IL-8	PM	44,08 (30,0; 93,9)	49,64 (27,8; 93,0)	0,799	48,28 (23,4; 109,0)	48,05 (28,2; 92,4)	0,898
	LPS	4595,42 (3293,8; 6120,0)	3823,08 (3009,3; 5264,6)	0,105	4907,68 (3293,8; 5770,7)	3869,10 (3009,3; 5264,6)	0,241
IL-10	PM	1,5 (1,5; 3,4)	1,50 (1,5; 3,1)	0,509	1,50 (1,5; 2,7)	1,50 (1,5; 3,1)	0,275
	LPS	16,90 (9,5; 23,3)	13,68 (9,3; 19,7)	0,222	15,40 (9,2; 21,6)	13,78 (0,4; 20,4)	0,687
	PHA	47,47 (28,7; 70,4)	42,04 (30,0; 55,5)	0,277	47,47 (30,0; 57,1)	42,29 (29,8; 56,0)	0,600
TNF-α	PM	5,96 (4,5; 9,2)	6,56 (4,6; 10,4)	0,637	5,74 (3,0; 9,39	6,48 (4,6; 10,4)	0,308
	LPS	3296,20 (2605,4; 4304,3)	3028,82 (2316,9; 3790,42)	0,203	2958,22 (2587,5; 3770,6)	3092,42 (2316,9; 3970,4)	0,933
MCP-1	PM	83,58 (55,5; 121,1)	87,70 (63,9; 128,8)	0,500	91,88 (70,4; 150,2)	86,14 (63,4; 128,8)	0,718
	LPS	846,74 (506,9; 1018,7)	730,10 (510,8; 1013,9)	0,350	790,30 (494,0; 1052,6)	743,82 (510,8; 1007,7)	0,732

Danksagung

Keine Arbeit entsteht ohne die Mithilfe verschiedener Personen. Daher möchte ich an dieser Stelle all denen Dank sagen, ohne deren Engagement diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Frau Dr. Irina Lehmann, Frau Dr. Gunda Herberth und Herrn Prof. Olf Herbarth danke ich für die Bereitstellung dieses interessanten Themas und die gute Betreuung.

Darüber hinaus danke ich Frau Dr. Irina Lehmann für die technische Einarbeitung, ihre kameradschaftliche Leitung und ihren Kampfgeist.

Frau Dr. Gunda Herbarth möchte außerdem für ihre ständige Bereitschaft zur fachlichen Diskussion, ihre konstruktive Kritik und ihre offene Tür danken. Dies hat viel zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen.

Mein Dank gilt auch den Kindern der LISA-Studie, dass sie den Mut hatten, sich stechen zu lassen. Ihren Eltern möchte ich für ihre Bereitschaft zur Teilnahme und das Ausfüllen ellenlanger Fragebögen danken.

Herr PD Dr. Michael Borte, Frau Ulrike Diez und Simon Strauch ermöglichten die klinische Untersuchung der Kinder am Klinikum St. Georg, Leipzig in angenehmer Atmosphäre.

Herr Prof. Dr. Torsten Schäfer und seinem Team am Institut für Sozialmedizin am Universitätsklinikum Lübeck danke ich für die Auswertung der Sozialfragebögen und die Bereitstellung des Datensatzes.

Für die technische Unterstützung möchte ich Frau Silke Drubig und Herrn Matthias Richter danken.

Ein besonderer Dank gilt Reinhild Gubelt: Reich ist, wer einen Freund hat wie Dich.

Erklärung über die eigenständige Abfassung der Arbeit

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, und dass die vorgelegte Arbeit weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt wurde. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in dieser Arbeit verwendet oder auf das Bezug genommen wurde, wurde entsprechend kenntlich gemacht. Es wurden alle Personen genannt, die an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren.

Leipzig, den 31. 05. 2007 Annegret Weber

Helmholtz-Zentrum
für Umweltforschung GmbH – UFZ
Permoserstraße 15, 04318 Leipzig
Internet: www.ufz.de