

*Dissertation 05/2008*

**Einfluss ausgewählter Schadstoffbelastungen auf die  
Immunreaktivität sechsjähriger Kinder**

Reinhild Gubelt

ISSN 1860-0387



# **Einfluss ausgewählter Schadstoffbelastungen auf die Immunreaktivität sechsjähriger Kinder**

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

Dr. med.

an der Medizinischen Fakultät  
der Universität Leipzig

eingereicht von Reinhild Gubelt  
geboren am 18.10.1980 in Crivitz

angefertigt am  
Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung – UFZ, Dept. Umweltimmunologie, Leipzig,  
Klinik für Kinder- und Jugendmedizin am Städtischen Klinikum St. Georg, Leipzig,  
Institut für Hygiene und Umweltmedizin, Medizinische Fakultät Leipzig

betreut von  
Frau Dr. I. Lehmann, Herrn PD Dr. M. Borte und Herrn Prof. Dr. O. Herbarth

Beschluß über die Verleihung des Doktorgrades vom 20.05.2008

*Medicine is a science of uncertainty  
and an art of probability.*

Sir William Osler, 1849–1919

# Bibliographische Beschreibung

Gubelt, Reinhild

## **Einfluss ausgewählter Schadstoffbelastungen auf die Immunreaktivität sechsjähriger Kinder**

Universität Leipzig, Dissertation  
79 S., 148 Lit., 16 Abb., 15 Tab.

### **Referat:**

Lebensbedingungen und Umweltfaktoren haben eine wesentliche Bedeutung für das Verständnis der dramatischen Prävalenzanstiege allergischer Erkrankungen in der westlichen Welt. Da der Innenraum zum typischen Aufenthaltsort des modernen Menschen geworden ist, sind insbesondere Innenraumschadstoffe relevante Faktoren bei der Untersuchung möglicher immunmodulatorischer Expositionen. Innerhalb der prospektiven LISA-Studie (Einfluss von Lebensbedingungen und Verhaltensweisen auf die Entwicklung von Immunsystem und Allergien im Ost-West-Vergleich) wurden bei 324 nunmehr sechsjährigen Leipziger Probanden die *ex vivo* stimulierte Zytokinsekretion der T-Lymphozyten, inflammatorische Immunparameter in einem Vollblutassay sowie IgE-Antikörper aus dem Serum bestimmt und in Relation zueinander und zu ausgewählten Innenraumschadstoff-Belastungen gestellt. Im Zusammenhang mit Renovierungsaktivitäten in der Wohnung, insbesondere dem Verlegen von neuem Teppichboden und Laminat, wurden erhöhte Spiegel der proinflammatorischen Mediatoren MCP-1 und IL-8 in verschiedenen Ansätzen des Vollblutassays beobachtet. Malerarbeiten und das Aufstellen neuer Möbel allein hatte keinen Effekt auf die Konzentration der Immunparameter. Aussagen zu Assoziationen zwischen Schimmelpilzexpositionen und Immunparametern ließen sich aufgrund geringer Prävalenz von Schimmelflecken in den Wohnungen der Probanden nur unter Vorbehalt treffen. Für häusliche Passivrauchbelastungen konnte ein deutlicher Trend zu erhöhten Spiegeln proinflammatorischer Mediatoren in unstimulierten und partikelstimulierten Ansätzen des Vollblutassays aufgezeigt werden. Bei elterlichem Zigarettenkonsum von über 14 Zigaretten pro Tag war das Risiko allergischer Sensibilisierungen erhöht. Interessanterweise ergaben sich deutlich geschlechtsspezifische Unterschiede in der Immunantwort auf Zigarettenrauch. Im Gegensatz zu Jungen reagierten nur Mädchen dosisabhängig mit Steigerungen der Konzentrationen von MCP-1, IL-6, IL-8 und TNF- $\alpha$  auf passive Rauchbelastungen. Gleiches galt für ein erhöhtes Sensibilisierungsrisiko gegen inhalative Allergene bei täglichem Rauchen der Eltern, was eine stärkere Suszeptibilität von Mädchen gegen Zigarettenrauchbelastungen nahe legt. In Abhängigkeit des Zigarettenkonsums der Eltern zeigte sich eine deutliche Zunahme der Benzolkonzentration in der Wohnung. Zusammenfassend wurde die Induktion einer proinflammatorischen Immunantwort vor allem im Zusammenhang mit Renovierungsarbeiten und Passivrauchexpositionen beobachtet. Darüber hinaus gab es Assoziationen zwischen einer Th2-polarisierten Immunantwort und Schwimmbadbesuchen im frühen Kindesalter. Weiterhin konnten Zusammenhänge zwischen proinflammatorischen Mediatoren des Vollblutassays und Th2-Zytokinen auf T-Zellebene sowie spezifischen Sensibilisierungen nachgewiesen werden.

## Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>7</b>
1.1	Allergie und Atopie	7
1.1.1	Begriffsdefinitionen	7
1.1.2	T-Lymphozyten und Zytokine	8
1.1.3	Allergische Reaktion vom Soforttyp	10
1.2	Das kindliche Immunsystem	11
1.2.1	Prä- und Perinatalperiode	11
1.2.2	Entwicklung des Immunsystems und atopischer Erkrankungen	13
1.3	Einfluss von Genetik und Umwelt auf das Immunsystem	16
1.3.1	Hereditäre Faktoren	16
1.3.2	Allergene	17
1.3.3	Adjuvante Faktoren	18
1.4	Epidemiologie atopischer Erkrankungen	21
1.5	Zielstellungen	22
<b>2</b>	<b>Material und Methoden</b>	<b>24</b>
2.1	Studienpopulation	24
2.2	Materialgewinnung	26
2.2.1	Blutentnahme	26
2.2.2	Flüchtige organische Verbindungen (Volatile Organic Compounds, VOC)	26
2.2.3	Fragebogenerhebung	27
2.3	Methoden	28
2.3.1	Intrazelluläre Zytokinfärbung	28
2.4	Fixierung	29
2.4.1	Vollblutassay	31
2.4.2	IgE-Bestimmung	34
2.4.3	Analyse flüchtiger organischer Verbindungen	34
2.4.4	Statistische Analyse	35
<b>3</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>36</b>
3.1	Immunparameter im sechsten Lebensjahr	36
3.1.1	Intrazelluläre Zytokinproduktion peripherer T-Lymphozyten	36
3.1.2	Im Vollblutassay analysierte Zytokine und Chemokine	37
3.1.3	Zytokine, Chemokine und allergische Sensibilisierung	40
3.2	Einfluss der atopischen Familienanamnese	43
3.2.1	T-Zell-Zytokine und atopische Familienanamnese	43
3.2.2	Im Vollblutassay analysierte Immunparameter und atopische Familienanamnese	45
3.2.3	Allergische Sensibilisierung und atopische Familienanamnese	46
3.3	Einfluss des Geschlechts	47
3.3.1	Zytokine, Chemokine und Geschlecht	47
3.3.2	Allergische Sensibilisierung und Geschlecht	48
3.4	Schwimmen in chloriertem Wasser	48
3.4.1	T-Zell-Zytokine und Schwimmen in chloriertem Wasser	49
3.4.2	Im Vollblutassay analysierte Immunparameter und Schwimmen in chloriertem Wasser	51

3.5	Schimmelpilzbelastung .....	51
3.5.1	T-Zell-Zytokine und Schimmelpilzbelastungen .....	51
3.5.2	Im Vollblutassay analysierte Immunparameter und Schimmelpilzbelastungen ..	52
3.6	Renovierungsaktivitäten .....	53
3.6.1	T-Zell-Zytokine und Renovierungsaktivitäten .....	54
3.6.2	Im Vollblutassay analysierte Immunparameter und Renovierungsaktivitäten ....	54
3.7	Zigarettenrauchexpositionen .....	57
3.7.1	T-Zell-Zytokine und Passivrauchexpositionen .....	57
3.7.2	Im Vollblutassay analysierte Immunparameter und Passivrauchexpositionen ...	58
3.7.3	Allergische Sensibilisierung in Abhängigkeit von Passivrauchexposition .....	65
<b>4</b>	<b>Diskussion</b> .....	<b>68</b>
4.1	Immunparameter im sechsten Lebensjahr .....	68
4.1.1	Intrazelluläre Zytokinproduktion peripherer T-Lymphozyten .....	68
4.1.2	Im Vollblutassay analysierte Zytokine und Chemokine .....	69
4.1.3	Assoziationen zwischen intra- und extrazellulär analysierten Immunparametern	70
4.1.4	Assoziationen der Immunparameter zu allergischen Sensibilisierungen .....	71
4.2	Immunparameter bei parentaler Atopiebelastung .....	72
4.2.1	Zytokine, Chemokine und atopische Familienanamnese .....	72
4.2.2	Allergische Sensibilisierungen und atopische Familienanamnese .....	73
4.3	Immunparameter und Geschlecht .....	74
4.4	Immunparameter und Schwimmen in chloriertem Wasser .....	74
4.5	Immunparameter und Schimmelpilzbelastungen .....	77
4.6	Immunparameter und Renovierungsaktivitäten .....	78
4.7	Immunparameter und Zigarettenrauchexpositionen .....	80
	<b>Zusammenfassung der Arbeit</b> .....	<b>86</b>
	<b>Literaturverzeichnis</b> .....	<b>90</b>
	<b>Erklärung über die eigenständige Abfassung der Arbeit</b> .....	<b>103</b>
	<b>Danksagung</b> .....	<b>104</b>
	<b>Lebenslauf</b> .....	<b>105</b>
	<b>Anhang</b> .....	<b>106</b>

## Abkürzungsverzeichnis

APZ	Antigenpräsentierende Zelle
B	B-Lymphozyten
CI	Konfidenzintervall
CD	Cluster of Differentiation
COPD	Chronic Obstructiv Pulmonary Disease
FA	Familienanamnese
FACS	Fluorescence Activated Cell Sorter
FKS	Fetales Kälberserum
IFN	Interferon
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
LISA	Lebensstil-Immun-System-Allergierisiko-Studie
LPS	Lipopolysaccharide
MCP-1	Monocyte Chemoattractant Protein 1
MHC	Major Histocompatibility Complex
M $\Phi$	Makrophage
MVCO	Microbial Volatile Organic Compounds
n	Fallzahlen
n/N	Anzahl von Fälle (n) in der Gesamtkohorte (N)
NK-Zellen	Natürliche Killerzellen
OR	Odds Ratio
PBS	Phosphate Buffered Saline
PHA	Phytohämagglutinin
RANTES	Regulated upon Activation, Normal T cell Expressed and Secreted
TGF- $\beta$	Transforming Growth Factor $\beta$
Th	T-Helfer-Zelle
TNF	Tumor-Nekrose-Faktor
Treg	Regulatorische T-Zellen
TZR	T-Zell-Rezeptor
VOC	Volatile Organic Compounds

# 1 Einleitung

Die menschliche Immunabwehr umfasst unterschiedliche Erkennungssysteme und ein breites Spektrum an Effektormechanismen, um Krankheitserreger, die überall im Körper und an dessen Oberfläche vorkommen können, aufzufinden und zu zerstören. Unspezifische angeborene Mechanismen, bestehend aus der Barrierefunktion von Körperepithelien, phagozytierenden Zellen und dem Komplementsystem bilden dabei die erste Abwehr, während die adaptive oder erworbene Immunantwort mit Produktion spezifischer Antikörper für eine lebenslange Immunität sorgt. Lernt das Immunsystem jedoch auf harmlose Antigene mit einer Produktion von Immunglobulin Typ E (IgE) zu reagieren, kommt es zur Entwicklung von Allergien, die zu Krankheiten von hoher sozioökonomischer Bedeutung geworden sind. Zwar sind die Symptome selten lebensbedrohlich, bereiten aber viele Beschwerden und führen zu langen Ausfallzeiten an Schule und Arbeitsplatz.

## 1.1 Allergie und Atopie

### 1.1.1 Begriffsdefinitionen

Da im Sprachgebrauch meist wenig zwischen den Begriffen „Allergie“ und „Atopie“ differenziert wird, sollen diese hier zunächst näher definiert werden.

Das ursprünglich durch den Wiener Kinderarzt Clemens von Pirquet (1874-1929) generierte Wort „Allergie“ ist dem griechischen „allos“ (fremd, anders) und „ergon“ (Reaktion) entlehnt. Es bezeichnet eine Überempfindlichkeit des Immunsystems gegenüber normalerweise apathogenen Inhalationsallergenen (Hausstaubmilben-, Pollen-, Tier- und Schimmelpilzallergene), Ingestionsallergenen (Nahrungsmittel, Medikamente) und Kontaktallergenen. 1963 schlugen Gell und Coombs eine Einteilung der hypersensiblen Reaktionen in vier Kategorien vor, wobei die IgE-vermittelte Reaktion vom Soforttyp als Typ I bezeichnet wurde. Häufig wird die Allergie mit dieser Reaktion gleichgesetzt.

Im Gegensatz dazu ist Atopie („atopos“, gr.: ungewöhnlich, unpassend) als genetische Prädisposition zur Bildung allergenspezifischer IgE-Antikörper und Neigung zu erhöhten IgE-Spiegeln im Serum definiert. Zu den Erkrankungen des atopischen Formenkreises gehören die *atopische Dermatitis*, die *Rhinokonjunktivitis allergica* und das *Asthma bronchiale*.

### 1.1.2 T-Lymphozyten und Zytokine

Grundlage für die Ausbildung einer allergischen Reaktion ist die allergische Sensibilisierung, durch die bei wiederholtem Allergenkontakt eine spezifische Immunreaktion in Gang gesetzt wird. Die Initiation und Unterhaltung der Reaktion involviert komplexe Interaktionen verschiedener Zelltypen und chemischer Botenstoffe wie Zytokine.

Ruhende CD4<sup>+</sup>-T-Zellen werden durch antigenpräsentierende Zellen (APZ) wie Makrophagen, B-Lymphozyten und dendritische Zellen zu Effektor-T-Zellen Typ 1 oder 2 aktiviert. Die Identifizierung der Subpopulationen gelang aufgrund des unterschiedlichen Zytokinsekretionsmusters. Th1-Zellen produzieren Interleukin-2 (IL-2), Interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), Granulozyten/Monozyten-stimulierenden Faktor (GM-CSF) und Tumornekrosefaktor- $\alpha$  und - $\beta$  (TNF- $\alpha/\beta$ ). Th2-Zellen sezernieren dagegen vorwiegend IL-4, IL-5, IL-10 und IL-13 (Mosmann et al., 2005; Romagnani, 1995). Zytokinvermittelte Signale spielen eine entscheidende Rolle bei der T-Zell-Proliferation und -Differenzierung.

Die Funktion der Th1-Zellen besteht in der Vermittlung zytotoxischer Reaktionen wie der Abwehr von Tumorzellen und intrazellulären Erregern. Im Gegensatz dazu spielen Th2-Zellen eine wichtige Rolle in der humoralen Immunität sowie Abwehr extrazellulär vorkommender Bakterien (Mosmann und Coffman, 1989). Das ursprünglich nur für CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten postulierte Th1/Th2-Modell konnte inzwischen auch auf die Zytokinsekretion der CD8<sup>+</sup>-T-Lymphozyten erweitert werden (Noble et al., 2001; Sad et al., 1995).

Im Verständnis der T-Zell-Toleranz und Immunsuppression gewinnt eine weitere T-Zell-Population, die sogenannten regulatorischen T-Zellen, zunehmend an Bedeutung. Die Gruppe der regulatorischen T-Zellen umfasst eine Reihe verschiedener Subpopulationen, zu denen beispielsweise die Th3-Zellen, regulatorische T-Zellen vom Typ 1 und CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>-Zellen gehören (Akbari et al., 2003). Durch die Produktion von Transforming Growth Factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) und IL-10 sind sie in der Lage, Th1- und Th2-Antworten zu regulieren oder zu supprimieren. Obwohl die Mechanismen der Wirkungen noch weitestgehend unbekannt sind, könnte die gezielte Aktivierung regulatorischer T-Zellen nicht nur in der allergenspezifischen Therapie von Allergien und Asthma, sondern auch in der Transplantationsmedizin und in der Therapie von Autoimmunerkrankungen eine wichtige Rolle spielen (Taylor et al., 2005).

Antigenpräsentierende Zellen sind in der Lage, Allergenfragmente nach lysosomaler Degradation und Bindung an MHC-Klasse-II-Moleküle zur Zelloberfläche zu transpor-

tieren. Die Initiation der T-Zell-Differenzierung erfolgt durch die Bindung des T-Zell-Rezeptors (TZR) an den Peptid-MHC-II-Komplex.

Wichtige Determinanten für die Entwicklung in Richtung Th1- oder Th2-Antwort sind die Avidität der Bindung und die Dichte der MHC- und TZR-Moleküle. Es konnte beobachtet werden, dass hohe Bindungsaffinität und hohe Rezeptordichte eher zu einer Th1-Antwort führen und umgekehrt eine weniger starke Bindung und geringe Rezeptordichte eine Th2-Antwort begünstigen. Außerdem hat die Antigen dosis einen wesentlichen Effekt auf die Richtung der T-Zell-Differenzierung. Während hohe Antigen dosen die IFN- $\gamma$ -Produktion fördern, wird durch eine niedrige Antigen dosis eher eine IL-4-Produktion verursacht (Grakoui et al., 1999). Dies ist im Hinblick auf Allergieentstehung durchaus interessant, da es sich dabei meist um einen Kontakt mit nur geringen Antigen dosen handelt.

Außer der Rezeptorbindung bestimmen kostimulatorische Signale und das umgebende Zytokinmilieu, ob aus einer proliferierenden CD4<sup>+</sup>-T-Zelle eine Th1- oder eine Th2-Zelle wird. INF- $\gamma$  und IL-12 sind Signale für eine Th1-Entwicklung, während IL-4 die Th2-Differenzierung begünstigt.

Die verschiedenen T-Zell-Populationen stehen durch die von ihnen gebildeten Immunmediatoren in ständiger Wechselwirkung miteinander. So wirken die gebildeten Zytokine als gegenseitige Inhibitoren der Proliferation und Effektorfunktionen sowie als Wachstumsfaktoren des eigenen Phänotyps. Während IFN- $\gamma$  die Proliferation und Expansion der Th1-Zellen fördert, wirkt es gleichzeitig hemmend auf die Th2-Zellen. Die Th2-Zytokine IL-4 und IL-10 dagegen antagonisieren die Wirkung von IFN- $\gamma$  (Daser et al., 1995; Romagnani, 2000).

Neben den klassischen Th1/Th2-Zytokinen gibt es eine Reihe inflammatorischer Zytokine und Chemokine, die ebenfalls in den allergischen Entzündungsprozess involviert sind. Die unter anderem von Makrophagen und Endothelzellen sezernierten Chemokine stellen eine Klasse von Zytokinen mit den Eigenschaften von Chemoattraktoren dar. Sie veranlassen Zellen mit den passenden Rezeptoren zur Quelle der Chemokine zu wandern. So sind Chemokine wie IL-8, MCP-1, RANTES und Eotaxin in der Lage, den Übertritt verschiedener Leukozyten wie eosinophile Zellen und T-Effektorzellen ins Gewebe zu fördern. Anhand experimenteller Untersuchungen konnten Zusammenhänge zwischen den Funktionen von MCP-1 bzw. IL-8 und einer Th2-polarisierten Immunantwort nachgewiesen werden. In

Gegenwart von MCP-1 wurden eine Differenzierung naiver T-Zellen zu IL-4 produzierenden Th2-Zellen und die bronchiale Hyperreagibilität erhöht (Gonzalo et al., 1998; Rose et al., 2003). Ebenso sind verschiedene genetische Polymorphismen von IL-8 und MCP-1 mit erhöhter Suszeptibilität für allergische Atemwegserkrankungen assoziiert (Puthothu et al., 2006; Yao et al., 2004).

Es wird deutlich, dass eine kompetente Abwehr von Allergenen und eine ausgewogene Immunität das Ergebnis einer äußerst diffizilen Regulation der verschiedenen T-Zellpopulationen ist (Abb. 1.1).

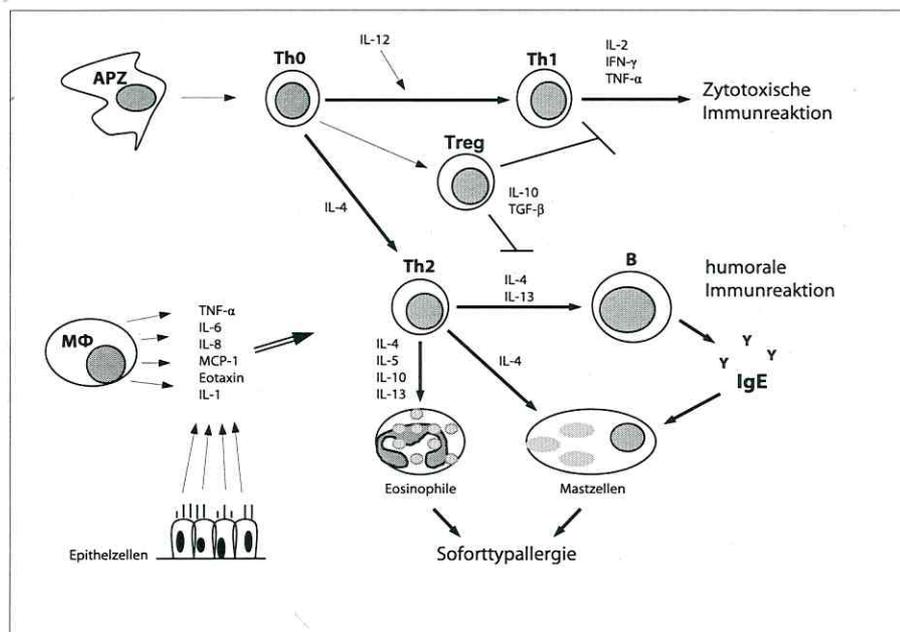


Abb. 1.1: Rolle der Immunmediatoren und T-Zell-Populationen in der allergischen Immunantwort (nach Sengler et al., 2002)

### 1.1.3 Allergische Reaktion vom Soforttyp

Die verschiedenen atopischen Erkrankungen lassen sich alle auf einen gemeinsamen Mechanismus zurückführen: die IgE-vermittelte Überempfindlichkeit vom Soforttyp. Aktivierte Th2-Zellen nehmen dabei eine wichtige Funktion in der Regulation der IgE-Synthese ein, während eosinophile Granulozyten und Mastzellen die zentralen Effektorzellen darstellen (Abb. 1.1).

Die durch Diffusion über die Schleimhäute eingedrungenen Allergene binden zunächst an Oberflächenantikörper ruhender B-Zellen. Nach Internalisierung und Abbau des Antigen-Antikörper-Komplexes, werden Peptide des Antigens an MHC-II-Moleküle gekoppelt und an der B-Zell-Oberfläche präsentiert. CD4<sup>+</sup>-T-Zellen mit einem spezifischen Rezeptor für das Epitop sind nun in der Lage an den MHC-Peptid-Komplex zu binden. Erhält die interagierende T-Zelle IL-4 als kostimulatorisches Signal, welches unter anderem von B-Zellen produziert werden kann, differenziert sie sich zur Th2-Zelle und produziert unter anderem IL-4 und IL-13. IL-4 und IL-13 wiederum fördern die Produktion von antigenspezifischen IgE-Antikörpern in der B-Zelle. Die gebildeten IgE-Antikörper können nun über hochaffine IgE-Rezeptoren (FcεR1) an Mastzellen, basophile oder eosinophile Granulozyten gebunden werden. Bei erneutem Allergenkontakt kommt es durch eine Kreuzvernetzung mehrerer IgE-Antikörper zur Degranulation der Zellen und Freisetzung verschiedener Mediatoren, unter anderem Histamin, Serotonin, Prostaglandinen und Leukotrienen.

Die für die allergische Reaktion typische Bluteosinophilie und Akkumulation der Eosinophilen am Entzündungsort wird wesentlich durch IL-5 vermittelt. Das Interleukin ist nicht nur ein starker Stimulus zur Proliferation und Degranulation der Zellen, sondern verlängert auch deren Überleben.

Die allergische Reaktion lässt sich in zwei Phasen unterteilen: eine Frühphase, die durch die Freisetzung kurzlebiger Mediatoren wie Histamin gekennzeichnet ist, und eine Spätphase, die sich nach 4 bis 6 Stunden entwickelt. In der Spätphase bewirken sezernierte Chemokine wie MCP-1 (Monocyte Chemoattractant Protein 1), Eotaxin, RANTES und IL-8 sowie Leukotriene und andere Mediatoren eine Mobilisation weiterer Leukozyten zum Entzündungsherd. Dies kann zu einer chronischen Entzündung führen, die durch das Auftreten von T-Effektorzellen gekennzeichnet ist und besonders deutlich beim chronischen *Asthma bronchiale* beobachtet werden kann.

## 1.2 Das kindliche Immunsystem

### 1.2.1 Prä- und Perinatalperiode

Jede erfolgreiche Schwangerschaft ist ein Phänomen induzierter Immuntoleranz. Da der Fetus MHC-Moleküle sowohl der Mutter als auch des Vaters besitzt, muss eine Abstoßung

des haplodifferenten Gewebes aktiv verhindert werden. Dies geschieht offensichtlich durch eine Immundeprivation zur Th2-Antwort in der feto-maternalen Kontaktzone und im Fetus selbst. Die dadurch erreichte Suppression der Th1-Effektorfunktionen verhindert eine Triggerung zytotoxischer Angriffe, die zur Rejektion und zum Abort führen können (Piccinni et al., 2000). Wesentliche von der Plazenta produzierte Vermittler der Th2-Deviation sind unter anderem Progesteron, Prostaglandin E2 und Zytokine wie IL-4 und IL-10 (Holt und Jones, 2000).

Die Infektanfälligkeit Neugeborener ist nicht nur in der Th2-Lastigkeit der Immunabwehr zur Geburt, sondern auch in der funktionellen Unreife des Immunsystems begründet. Bereits zu Beginn des zweiten Trimenons der Schwangerschaft lassen sich immunkompetente T- und B-Zellen sowie nicht-spezifische phagozytierende Zellen im Fetus nachweisen, die jedoch erst postnatal durch Zunahme der Antigenreize eine Aktivierung erfahren (Hitzig, 1994).

Untersuchungen der humoralen Immunantwort im Nabelschnurblut zeigten, dass die Immunglobulinsynthese im Vergleich zu Erwachsenen quantitativ geringer ist und überwiegend niedrigaffine IgM-Antikörper gebildet werden (Holt und Jones, 2000).

Verantwortlich für die inadäquate humorale Immunantwort sind die unreifen Th-Funktionen. Der überwiegende Anteil neonataler T-Zellen weist den naiven CD45RA<sup>+</sup>-Phänotyp auf, dessen Stimulierbarkeit und Fähigkeit zur Zytokinsynthese herabgesetzt ist (Chalmers et al., 1998). Die Inkubation neonataler mononukleärer Zellen mit verschiedenen Stimulatoren zeigte wiederholt eine verminderte IFN- $\gamma$ -Sekretion (Lewis et al., 1991; Wilson et al., 1986). Gleiches konnte für die Synthese von IL-4 und TNF- $\alpha$  gefunden werden (Chalmers et al., 1998; Krampera et al., 2000; Pastorelli et al., 1990).

Auch für das phagozytäre System Neugeborener fand man eine verringerte Aktivität der Zytokinsynthese (Brichard et al., 2001) sowie eine verminderte Fähigkeit zur Chemotaxis (Weston et al., 1977).

Die zytotoxische Funktion natürlicher Killerzellen (NK) ist im Nabelschnurblut herabgesetzt, lässt sich jedoch durch exogene Zugabe von IL-12 auf das Niveau adulter NK-Zellen anheben. Interessanterweise lassen sich neonatale NK-Zellen nicht wie adulte durch IL-2 aktivieren, obwohl IL-2 im Nabelschnurblut in vergleichbaren Konzentrationen zum Erwachsenen vorliegt (Cohen et al., 1999).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die unreife und Th2-geprägte Immunantwort Neugeborener eine Labilität des Immunsystems gegenüber perinatalen Einflüssen nahe legt.

### 1.2.2 Entwicklung des Immunsystems und atopischer Erkrankungen

In den ersten Lebensmonaten verfügt das kindliche Immunsystem über eine sog. Leihimmunität durch transplazentar übertragene mütterliche Immunglobuline vom Typ IgG. Nach und nach werden diese durch die eigene Produktion von Antikörpern ersetzt.

Auch Allergene gelangen transplazentar in den Fetus und tragen zur initialen T-Zell-Prägung bei. Wie bereits beschrieben reagieren die fetalen T-Zellen mit einer Th2-geprägten Zytokinproduktion. Untersuchungen von mononukleären Zellen des Nabelschnurblutes konnten bereits in der 22. Schwangerschaftswoche allergenspezifische Antworten nachweisen (Warner et al., 1997). Prescott et al. fanden bei 80 % von 60 Neugeborenen lymphoproliferative Antworten auf mindestens ein häufiges Allergen. Es zeigte sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen Stärke der Proliferation und positiver Familienanamnese, jedoch waren die Proliferationsraten bei familiär belasteten Kindern tendenziell erhöht (Prescott et al., 1998).

Während das Immunsystem nicht-atopischer Kinder durch die Zunahme der Allergenexposition nach der Geburt eine Reifung und Stärkung der Th1-Antwort erfährt, wird bei atopischen Kindern die Persistenz einer Th2-geprägten Immunantwort mit verringerter Kapazität der IFN- $\gamma$ -Produktion beobachtet. Je länger sich die Ausbildung einer reifen Th1-Antwort verzögert, desto größer erscheint das Risiko einer bleibenden Th2-Deviation (Prescott et al., 1999).

Frühe Infektionen in der Kindheit, ältere Geschwister, der zeitige Besuch von Kindertagesstätten und Aufwachsen in ländlicher Umgebung werden als protektive Faktoren vor allergischer Sensibilisierung angesehen.

Anhand einer Studie über den Zusammenhang zwischen Heuschnupfen, Hygiene und Größe des Haushaltes postulierte Strachan 1989 die sogenannte Hygiene-Hypothese, die die steigende Inzidenz von Allergien auf verbesserte Hygiene und abnehmende Anzahl von Familienmitgliedern zurückführt (Strachan, 1989).

Virale und intrazelluläre bakterielle Infektionen sind starke Stimulatoren der IFN- $\gamma$ -Produktion und führen dadurch zu einer Suppression der Th2-Antwort. In einer Studie unter japanischen Schulkindern konnte ein stark negativer Zusammenhang zwischen der

Reaktion auf Tuberkulin und atopischen Erkrankungen beobachtet werden (Shirakawa et al., 1997). Bestätigend zeigte sich im Mausmodell die Unterdrückung einer allergeninduzierten Eosinophilie der Atemwege durch eine BCG-Infektion. Die intranasale Infektion mit dem *Mycobacterium* 4 bzw. 12 Wochen vor einer Allergenprovokation der Atemwege mit Ovalbumin konnte die Eosinophilie in der Lunge um über 90 % bzw. 60 % im Vergleich zu nicht infizierten Mäusen senken (Erb et al., 1998).

Ein ähnlich protektiver Effekt wurde für die Infektion mit Masern gefunden. In einer respektiven epidemiologischen Studie in Westafrika hatten 17 von 133 Kindern, die eine Maserninfektion überstanden hatten, einen positiven Haut-Pricktest, versus 33 von 129 Kindern, die keine Maserninfektion hatten oder geimpft waren (Shaheen et al., 1996). In einer prospektiven Untersuchung an 329 finnischen Kindern wurde über ein geringeres Risiko für *atopische Dermatitis* in Abhängigkeit von Atemwegsinfektionen in der frühen Kindheit berichtet. Kinder, die vor dem 6. Lebensmonat an einer akuten Mittelohrentzündung erkrankten, hatten ein um 58 % geringeres Risiko eine *atopische Dermatitis* zu entwickeln als Kinder ohne Infektion. Ebenso wurde eine Risikosenkung um 47 % für Kinder mit dem ersten Atemwegsinfekt vor dem 6. Lebensmonat gefunden (Kilpi et al., 2002). Ältere Geschwister und Besuch einer Kindertagesstätte führen durch den engen Kontakt der Kinder und die hohe Kontagiosität vieler Erreger zu häufigeren Infektionen im Kindesalter. Untersuchungen einer ostdeutschen Querschnittsstudie mit 2471 Kindern wiesen einen Zusammenhang zwischen dem Eintrittsalter in den Kindergarten und Allergieentwicklung in der späteren Kindheit auf. Kinder aus kleinen Familien (bis zu 3 Personen), die bereits zwischen dem 6. bis 11. Lebensmonat eine Tagesstätte besuchten, zeigten eine signifikant geringere Atopieprävalenz im Vergleich zu Kindern, die erst zu einem späteren Zeitpunkt im Kindergarten betreut wurden. Für Kinder aus größeren Familien ließ sich dieser Effekt nicht beobachten (Kramer et al., 1999b). Innerhalb der LISA-Studie hatten Kinder, die vom 7. bis 24. Monat sowie vom 13. bis 24. Monat in einer Kinderkrippe betreut wurden, eine signifikant erhöhte IFN- $\gamma$ -Produktion. Wurde das Kind erst nach dem 19. Monat in einer Kinderkrippe betreut, hatte dies keinen Einfluss mehr auf die T-Zell-Funktion (Spiegel, 2003). Ein ebenfalls altersabhängiger Zusammenhang wird zwischen dem protektiven Effekt des Lebens in ländlicher Umgebung mit Kontakt zu Tieren und der Entwicklung von Atopien beobachtet. Radon et al. untersuchten in einer Querschnittsstudie mittels Fragebogenerhebung den Einfluss von regelmäßigem Aufenthalt in Tierställen in der Kindheit auf

atopische Symptome im Erwachsenenalter. Regelmäßige Aufenthalte in Ställen während des ersten oder zwischen dem 3. bis 5. Lebensjahr reduzierten am stärksten das Risiko für das Auftreten von Symptomen allergischer Rhinitis im späteren Leben (Radon et al., 2004).

Neben den aufgeführten Faktoren spielen das Stillen und die Ernährung in der Kindheit sowie mikrobielle Komponenten der Darmflora eine wichtige Rolle bei der Ausbildung der immunologischen Toleranz (Becker, 2005; Noverr und Huffnagle, 2004; von Berg A. et al., 2003).

Da für alle genannten Einflussfaktoren die größten Effekte bei Exposition in der frühen Kindheit zu beobachten sind, kann davon ausgegangen werden, dass sich das Immunsystem besonders vor dem 2. Lebensjahr in einer vulnerablen Phase befindet. Die Stimulation der Typ1-Antwort während dieser Zeit weist protektive Effekte bis in das Erwachsenenalter hinein auf.

Kommt es in der Kindheit zur Entwicklung einer Atopie, so tritt eine charakteristische Sequenz der Sensibilisierung und Symptommanifestation auf (Abb. 1.2). Die Symptome haben typische Altersgipfel, können über Jahre oder Jahrzehnte persistieren und neigen mit zunehmendem Alter zur spontanen Remission.

Spezifisches IgE gegen Allergene ist meist vor den klinischen Manifestationen nachweisbar. Im Säuglingsalter spielt die Sensibilisierung gegen Nahrungsmittel die größte Rolle, während die Sensibilisierung gegen Innen- und Außenraumallergene erst später an Bedeutung gewinnt. Klinisch manifestiert sich die Atopie typischerweise in der altersabhängigen Reihenfolge: *atopische Dermatitis*, *allergisches Asthma* und *allergische Rhinitis* (Bergmann et al., 1994; Hahn und Bacharier, 2005).

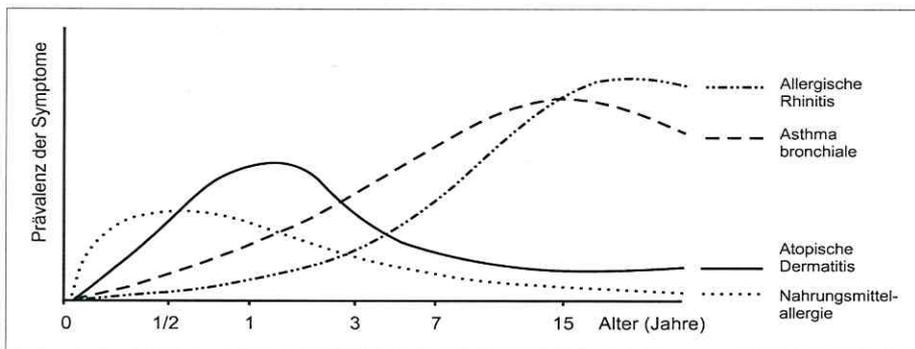


Abb. 1.2: Allergische Symptome in Abhängigkeit vom Lebensalter (nach Wahn, 2000)

## 1.3 Einfluss von Genetik und Umwelt auf das Immunsystem

### 1.3.1 Hereditäre Faktoren

Es ist unstrittig, dass genetische Faktoren die Suszeptibilität für allergische Erkrankungen beeinflussen. Epidemiologische Studien berichteten wiederholt über höhere Prävalenzen von Asthma, Allergischer Rhinitis und Sensibilisierungen bei Jungen vor der Pubertät, postpubertär jedoch von einer Angleichung oder Umkehr der Verhältnisse. Als Ursachen werden neben soziokulturellen Einflüssen strukturelle und funktionelle Unterschiede der Atemwege sowie Interaktionen zwischen Geschlechtshormonen und dem Immunsystem diskutiert (Arshad et al., 2005; Nicolai et al., 2003b; Osman, 2003).

Atopien treten zudem familiär gehäuft auf und unterliegen einem polygenen Vererbungsmodus. Für monozygote Zwillinge liegt die Konkordanz bezüglich des Nachweises von erhöhtem Gesamt-IgE, spezifischem IgE und allergischen Symptomen bei etwa 60 %, für dizygote Zwillinge bei ca. 30 % (Strachan et al., 2001).

Kinder der German Multicenter Allergy Study (MAS), die atopische Verwandte ersten Grades aufwiesen, waren weniger häufig Tabakrauch ausgesetzt, besaßen seltener ein Haustier und erhielten hydrolysierte Kuhmilch. Trotzdem litten solche mit zweifach positiver Familienanamnese doppelt so häufig an einem atopischen Ekzem, verglichen mit Kindern ohne atopische Vorbelastung (12,8 % versus 6,1 % im 12. bis 18. Lebensmonat). Der Einfluss der atopischen Familienanamnese nahm mit zunehmendem Alter der Kinder ab (Bergmann et al., 1994). Die als protektiv geltenden Th1-Zytokine IFN- $\gamma$  und TNF- $\alpha$  zeigten im Nabelschnurblut von Probanden der LISA-Studie ebenfalls signifikante Unterschiede in Abhängigkeit von der atopischen Vorbelastung. Waren beide Elternteile Atopiker, ließ sich signifikant weniger IFN- $\gamma$  und TNF- $\alpha$  in stimulierten T-Lymphozyten nachweisen, als bei Neugeborenen ohne familiäres Risiko (Lehmann et al., 2002b).

Trotz der engen Beziehung zwischen Ausbildung atopischer Symptome und positiver Familienanamnese wird die Mehrzahl der Kinder, die im Laufe des Lebens eine Atopie entwickeln, in Familien ohne atopische Erkrankungen geboren. Daher kann der Großteil zukünftiger Allergiker zur Geburt nicht anhand der Familienanamnese identifiziert werden. Darüber hinaus ist der Zeitraum für den starken Prävalenzanstieg allergischer Erkrankungen in den letzten Jahrzehnten zu kurz, als dass Veränderungen des Erbgutes alleinige

Ursache sein könnten. Vielmehr wird dieses Phänomen durch veränderte Umwelt- und Lebensstilfaktoren erklärlich.

### 1.3.2 Allergene

Zeitpunkt und Ausmaß von Allergenexpositionen sind maßgebliche Faktoren bei der Entstehung allergischer Sensibilisierung und atopischer Erkrankungen.

Viele Allergene unterliegen saisonalen Schwankungen, so dass Hinweise für unterschiedliche Sensibilisierungen in Abhängigkeit des Geburtsmonats eines Kindes gefunden werden konnten. Kinder, die zwischen Dezember und Februar geboren wurden, bildeten eher spezifisches IgE gegen Gräser, während Geburt im Herbst dagegen mit höheren Sensibilisierungsraten gegen Innenraumallergene verbunden war (Koning et al., 1996).

Im Innenraum ist Hausstaub eine der wichtigsten Allergenquellen. Hausstaub stellt ein komplexes Gemisch verschiedener Biokontaminanten dar, wobei insbesondere eine frühe Exposition mit Antigenen von Milben, Haustieren und Schimmelpilzen mit einem erhöhten Risiko für allergische Sensibilisierung assoziiert wird (Muller et al., 2002; Wahn et al., 1997). In einer deutschen Querschnittsstudie mit 272 Kindern im Alter von 5 bis 14 Jahren konnten mit steigender Schimmelpilzbelastung höhere Prävalenzen allergischer Sensibilisierung mittels spezifischer IgE-Messung beobachtet werden. Gleichzeitig war das Risiko für Sensibilisierungen gegen weitere Antigene wie Pollen sowie Katzen- und Milbenallergene erhöht. Sensibilisierte Kinder, die Sporenkonzentrationen über der 90. Perzentile ausgesetzt waren, litten häufiger an Symptomen einer *allergischen Rhinokonjunktivitis* (Jacob et al., 2002). Auf zellulärer Ebene schienen Schimmelpilze die Produktion von Th1-Zytokinen wie IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  und IL-2 zu supprimieren und somit die Ausbildung allergischer Reaktionen zu begünstigen (Muller et al., 2002).

Eine ebenfalls dosisabhängige Beziehung wurde zwischen Innenraumkonzentrationen von Milben- und Katzenallergenen und dem Risiko einer Sensibilisierung beobachtet (Nickel et al., 2002).

Dagegen haben hohe Endotoxinspiegel im Hausstaub durch Stimulation der Th1-Reaktivität einen protektiven Effekt auf allergische Manifestationen. So zeigten schwedische Kinder aus Haushalten mit geringer Endotoxinbelastung höhere Prävalenzen atopischer Erkrankungen und Sensibilisierung als Kinder, die einer hohen Endotoxinbelastung ausgesetzt waren (Bottcher et al., 2003).

### 1.3.3 Adjuvante Faktoren

Im Gegensatz zu Allergenen, die direkt an der Entstehung allergischer Erkrankungen beteiligt sind, beeinflussen adjuvante Faktoren das Krankheitsgeschehen nur indirekt. Sie wirken als so genannte Triggerfaktoren, indem sie die Wirkung von Allergenen ermöglichen, verstärken oder einen allergischen Entzündungsprozess aufrechterhalten.

#### *Flüchtige Organische Verbindungen (VOC)*

Zunehmend längere Aufenthaltsdauer und hohe Belastungen mit flüchtigen organischen Verbindungen in Innenräumen rücken die gesundheitlichen Auswirkungen dieser Expositionen in das Interesse epidemiologischer Forschung. In einer Studie zur Belastung von amerikanischen Schulkindern mit flüchtigen organischen Verbindungen zeigte sich, dass die Kinder über 90 % der Zeit am Tag in Innenräumen verbrachten, in denen die Konzentration von VOC (engl.: Volatile Organic Compound) deutlich höher war als im Außenbereich (Adgate et al., 2004). Vergleichbare Daten fanden sich bei Untersuchungen unter deutschen Kindern (Herbarth et al., 2001).

Die Gruppe flüchtiger organischer Verbindungen (im Folgenden wird der Begriff VOC gebraucht) fasst ganz unterschiedliche organische Substanzen zusammen, zu denen recht bekannte Stoffe wie Petroleum, Benzol, Toluol, Ester und Tetrachlorethylen gehören.

Typische VOC-Quellen in der häuslichen Umgebung sind:

- Reinigungs-, Putz- und Pflegemittel
- Farben, Lacke, Verdünnungen
- Kleber/Klebstoffe (Parkett, Teppichboden, Tapeten usw.)
- Duftstoffe, Duftöle
- Massivmöbel aus Kiefern- und Fichtenholz.

In den letzten 5 bis 10 Jahren hat eine Veränderung im Spektrum der Innenraumschadstoffe stattgefunden. Klassische leicht flüchtige Lösungsmittel in Farben, Lacken, Reinigungsmitteln usw. werden durch schwer flüchtige Verbindungen ersetzt, da solche Produkte als „lösungsmittelarm“ oder „lösungsmittelfrei“ deklariert werden können. Der im Trend steigende Einsatz von „Naturstoffen“ statt „chemischer Produkte“ führt nicht unbedingt zur Verringerung der Schadstoffbelastung, sondern vielmehr zu einem veränderten Spektrum. Werden beispielsweise Spanplattenmöbel durch Massivmöbel aus Kiefer ersetzt, sinkt zwar die Formaldehydbelastung, die durch Terpene dagegen steigt an.

Eine eigenständige Gruppe flüchtiger organischer Verbindungen sind Stoffe mikrobiellen Ursprungs (MVOC), die von Pilzen und Bakterien gebildet werden. Die MVOC umfassen ebenfalls ein großes Spektrum chemischer Substanzen, z. B. Alkane, Alkohole, Ether, Ester und Terpene. Leitsubstanzen dieser Gruppe sind 3-Methylfuran, Dimethyldisulfid, 1-Octen-3-ol, 3-Octanon und 3-Methyl-1-butanol. In der Praxis wird die Beurteilung von Konzentrationsmessungen dadurch erschwert, dass MVOC-Emissionen vom Alter und Wachstumsstadium des Schimmelpilzes sowie dem Untergrund, auf dem der Schimmelpilz wächst, abhängig sind. Darüber hinaus sind viele Verbindungen nicht zwingend mikrobiellen Ursprungs, sondern können auch aus chemischen Lösungsmitteln stammen (Seifert, 2002).

Studien zur Wirkung von VOC auf das Immunsystem konnten sowohl einen Einfluss auf atopische Manifestationen, als auch Veränderungen von Immunparametern auf zellulärer Ebene aufzeigen. Innerhalb der LARS-Studie fand sich bei Neugeborenen mit hohem Atopierisiko (doppelt positive Familienanamnese, erhöhtes Nabelschnur-IgE oder erniedrigtes Geburtsgewicht), eine erhöhte Infektanfälligkeit im Zusammenhang mit erhöhten Styrolexpositionen. Styrol konnte dabei als Indikatorsubstanz für frisch verlegte textile Fußbodenbeläge identifiziert werden. Wurde bei Kindern mit erniedrigtem Geburtsgewicht während der Schwangerschaft renoviert, besaßen sie ein signifikant erhöhtes Risiko für die Entwicklung von Milchschorf (Diez et al., 1999). Auf zellulärer Ebene führte die Exposition gegenüber Alkanen und einigen Aromaten zu einem erniedrigten Anteil peripherer CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>-T-Zellen sowie einem erhöhten Anteil IL-4 produzierender CD3<sup>+</sup>-T-Zellen (Lehmann et al., 2001). Im Rahmen der LISA-Studie konnte auch bei Neugeborenen ohne erhöhtes Atopierisiko ein Einfluss der VOC auf die Zytokinproduktion beobachtet werden. Erhöhte Konzentrationen von Trichlorethylen waren mit einer verringerten Produktion von IFN- $\gamma$  assoziiert, hohe Konzentrationen von Methylcyclopentan, Naphthalen und m-p-Xylol mit einer verstärkten Produktion von IL-4 (Lehmann et al., 2002a).

Darüber hinaus ist bekannt, dass viele VOC irritative Symptome an Augen, Haut und den oberen Luftwegen hervorrufen und ein Zusammenhang zu Asthma oder Asthma-assoziierten Symptomen wie nächtlicher Atemnot, bronchialer Hyperreagibilität und verschlechterter Lungenfunktion besteht (Saijo et al., 2004; Wieslander et al., 1997b).

### Weitere Faktoren

Neben den flüchtigen organischen Verbindungen sind weitere Luftschadstoffe wie Schwefeldioxid, Stickoxide, Ozon, Staubpartikel und Tabakrauch gesundheitsrelevante Faktoren.

Belastungen mit SO<sub>2</sub>, NO<sub>2</sub> und Staubpartikeln in der Außenluft zeigten in mehreren Untersuchungen positive Assoziationen zu Atemwegsinfektionen und Irritationen des Respirationstraktes. Korrelationen zu allergischer Sensibilisierung schienen jedoch nicht zu bestehen (Charpin et al., 1999; Kramer et al., 1999a; Ramadour et al., 2000). Herbarth et al. fanden ebenfalls eine Beziehung zwischen SO<sub>2</sub> als Indikatorsubstanz für das Heizen mit Kohle und erhöhter Prävalenz bronchitischer Beschwerden. Benzol als Indikatorsubstanz für Verkehrsbelastung dagegen erhöhte das Risiko für Asthma und Allergien (Herbarth et al., 1999). In einer epidemiologischen Studie mit 317 Kindern aus drei verschiedenen westdeutschen Städten konnte ebenfalls ein Zusammenhang zwischen verkehrsassoziierter Luftverschmutzung und *Rhinokonjunktivitis allergica*, Wheezing sowie Sensibilisierungen gegen typische Inhalations- und Nahrungsmittelallergene nachgewiesen werden (Kramer et al., 2000). In einer schweizerischen Studie waren höhere Expositionen gegenüber Dieselabgasen mit einem größeren Risiko für Pollensensibilisierungen verbunden. Einflüsse auf allergische Symptome oder Sensibilisierung gegen Innenraumallergene konnte allerdings nicht beobachtet werden (Wyler et al., 2000). Jang et al. konnten den additiven Effekt von Dieselabgasen auf die Ausprägung einer allergischen Immunreaktion im Mausmodell bestätigen. Gegen Ovalbumin sensibilisierte Mäuse, die zusätzlich Dieselabgasen ausgesetzt wurden, zeigten in der Bronchiallavage eine Erhöhung von IL-4 und Erniedrigung von IFN- $\gamma$  (Jang et al., 2005).

Die negativen Effekte von Tabakrauch auf die kindlichen Atemwege und die Lungenfunktion sind bekannt und relativ gut untersucht, während eine positive Assoziation zu Atopien umstritten ist (Jindal und Gupta, 2004). In der oben erwähnten Neugeborenenstudie mit Hochrisikokindern war das mütterliche Rauchen bzw. Rauchen in der Wohnung mit erhöhten Prävalenzen von *atopischer Dermatitis* und obstruktiven Bronchitiden assoziiert (Diez et al., 1999; Diez et al., 2000). Autoren der MAS-Studie berichten über einen Zusammenhang zwischen Sensibilisierungen gegen Nahrungsmittelallergene und mütterlichem Rauchen in den ersten drei Lebensjahren, wobei keine Assoziationen zu Sensibili-

sierungen gegen inhalative Allergene oder Symptomen einer Nahrungsmittelallergie bestanden (Kulig et al., 1999b).

#### 1.4 Epidemiologie atopischer Erkrankungen

Zahlreiche bevölkerungsbezogene Untersuchungen berichten einstimmig über dramatische Prävalenzanstiege allergischer Erkrankungen in der westlichen Welt.

Ergebnisse des Bundes-Gesundheitssurveys des Robert Koch-Instituts zeigten für die Jahre 1990 bis 1998 allein für die Häufigkeit *allergischer Rhinokonjunktivitis* bei Erwachsenen in Deutschland einen Anstieg um 70 % (10 % versus 17 %). Die Häufigkeit von allergischem *Asthma bronchiale* hatten sich mit einer Zunahme von 3 % auf 7 % in den letzten Jahren mehr als verdoppelt. Bei 47 % aller Frauen und 33 % aller Männer wird im Laufe des Lebens eine allergische Erkrankung diagnostiziert, so dass jeder dritte deutsche Erwachsene mindestens einmal an einer Allergie leidet.

Im Jahr 2000 lag die Prävalenz von *atopischer Dermatitis* unter Schulanfängern in Brandenburg bei 6,8 %. Drei Prozent gaben an, unter Symptomen von allergischer Rhinitis zu leiden, vier Prozent dagegen berichteten von asthmatischen Beschwerden (Ellsäßer und Diepgen, 2002). Bei den 13- bis 14-Jährigen wurden höhere 1-Jahres-Prävalenzen beobachtet. Die Rate für *atopische Dermatitis* betrug 7 %, die für *Asthma bronchiale* 14 % und das Auftreten von *allergischer Rhinokonjunktivitis* wurde auf etwa 13 % geschätzt (ISAAC Steering Committee, 1998).

In den Jahren 1991 und 1992 durchgeführte repräsentative Studien zur Erfassung des Gesundheitszustandes der erwachsenen Bevölkerung in beiden Teilen Deutschlands boten die einmalige Gelegenheit, an einer genetisch gleich veranlagten Population gesundheitliche Auswirkungen einer über 40 Jahre währenden Entwicklung unter zum Teil extrem unterschiedlichen Umwelt- und Lebensbedingungen zu untersuchen. Interessanterweise zeigten ältere Probanden, die ihre Kindheit noch im ungeteilten Deutschland verbracht hatten, keine Unterschiede in der Häufigkeit der Sensibilisierung gegen Inhalationsallergene. Dagegen fanden sich Unterschiede bei Probanden unter 40 Jahren: westdeutsche Personen dieser Untergruppe besaßen mit abnehmendem Lebensalter ein deutlich zunehmendes Sensibilisierungsrisiko, während in der ostdeutschen Untergruppe die Sensibilisierungsrate in allen Altersgruppen stabil blieb (Nicolai et al., 1997). Nach der Wieder-

vereinigung Deutschlands konnte beobachtet werden, dass sich die Häufigkeit atopischer Erkrankungen im Osten kontinuierlich an das westdeutsche Niveau anglich. Unter 9- bis 11-jährigen Kindern nahm die atopische Sensibilisierung von 19,3 % auf 26,7 % zu, die Prävalenz von allergischer Rhinitis stieg von 2,3 % auf 5,1 % (von Mutius et al., 1998).

Die Vermutung, dass Lebensstilfaktoren die Allergieentwicklung kausal beeinflussen, wird durch die Tatsache gestützt, dass weltweit große Prävalenzunterschiede in Abhängigkeit von der wirtschaftlichen Entwicklung eines Landes existieren. Im Rahmen der ISAAC-Studie (International Study of Asthma and Allergies in Childhood) wurden in 56 Ländern mittels identischer Befragungsmethoden die Häufigkeiten der drei wichtigsten Erkrankungen des atopischen Formenkreises unter 13- bis 14-jährigen Kindern ermittelt. Für Asthma ergaben sich bis zu 20-fache Unterschiede (1,6 % versus 36,8 %) mit höchsten Prävalenzen in Großbritannien, Australien, Neuseeland und Irland, gefolgt von Nord-, Mittel-, und Südamerika und geringsten Häufigkeiten in verschiedenen osteuropäischen Ländern, Indonesien, Griechenland, China, Taiwan, Indien und Äthiopien (ISAAC Steering Committee, 1998).

Die Identifizierung und Bewertung einzelner Lebensstilfaktoren und Umweltbedingungen zur Erklärung der Häufigkeitsverteilung und des stetigen Prävalenzanstieges sind nach wie vor Gegenstand epidemiologischer Forschung.

Die LISA-Studie trägt durch die Einbeziehung zahlreicher Lebensstilfaktoren wie Wohnumfeld, Renovierungsaktivitäten, direkt und indirekt die Gesundheit beeinflussende Faktoren (Infektionen, Impfungen, Ernährung) sowie durch die Einbeziehung sozialer Komponenten (Anzahl der Geschwister, Besuch von Kindergarten, Haustiere, Sozialstatus der Eltern) zur Klärung der Zusammenhänge bei. Darüber hinaus bietet die Rekrutierung von Kindern aus ost- und westdeutschen Gebieten die Möglichkeit, bestehende Unterschiede der Umweltbedingungen, des Lebensstils und der Prävalenz atopischer Erkrankungen zu untersuchen.

## 1.5 Zielstellungen

Da der Innenraum zum typischen Aufenthaltsort des modernen Menschen geworden ist, sind Innenraumschadstoffe relevante Faktoren bei der Untersuchung möglicher immunmodulatorischer Expositionen. Innerhalb der LISA-Studie liegen bereits Ergebnisse vom

Zeitpunkt der Geburt und dem zweiten bzw. dritten Lebensjahr zu Beziehungen zwischen Zytokinproduktion der T-Zellen und VOC-Expositionen bzw. Renovierungsaktivitäten vor. Auch im Rahmen der Untersuchungen zum sechsten Lebensjahr der Leipziger Probanden wurden verschiedene Innenraumexpositionen erfasst und sollten in Relation zu Immunparametern gesetzt werden. Ziel dieser Arbeit war es, das Immunsystem sechsjähriger Kinder hinsichtlich des Zytokinsekretionsmusters der T-Lymphozyten im Sinne des Th1/Th2-Konzeptes, der Blutkonzentrationen verschiedener inflammatorischer Immunparameter, des Gesamt-IgE und spezifischer Sensibilisierungen zu charakterisieren. Im Blick auf innenraumrelevante Schadstoffeinflüsse wurden das Renovieren der Wohnung, Schwimmen in chloriertem Wasser, häusliche Schimmelpilzbelastung sowie Zigarettenrauchexpositionen in die Analysen einbezogen und deren Zusammenhang zu T-Zell-Zytokinen und Entzündungsmediatoren im Vollblutassay betrachtet. Im Kontext mit diesen und nachfolgenden Untersuchungen der LISA-Studienkohorte sollen die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit dazu beitragen, einzelne Schadstoffbelastungen zu identifizieren, die zu Imbalancen in der Immunreaktivität bei Kindern führen und damit die Suszeptibilität für allergische Reaktionen erhöhen.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Studienpopulation

Im Zeitraum von Dezember 1997 bis Januar 1999 konnten 2443 reife Neugeborene in vier Leipziger (n = 976) und sechs Münchner (n = 1467) Entbindungskliniken in die LISA-Studie rekrutiert werden. Weiterhin wurden 654 Kinder aus der Studienregion Rheinland (Wesel und Bad Honnef) in die Studie eingeschlossen. Ausschlusskriterien waren Geburt vor der vollendeten 37. Schwangerschaftswoche, Geburtsgewicht unter 2500 g, angeborene Fehlbildungen oder postnatale Erkrankungen, chronische Erkrankungen oder Dauermedikation der Mutter sowie eine nicht deutsche Nationalität oder Abstammung.

Die bisher erhobenen Daten umfassen zelluläre und humorale Immunparameter aus Blutproben, Ergebnisse aus Fragebogenerhebungen sowie Untersuchungen zur VOC-, Schimmelpilz-, Milben- und Katzenallergenbelastung in den Wohnungen. Zur 6-Jahresuntersuchung wurden die Fragestellungen der Studie um die Erfassung genetischer Prädispositionen für Asthma und atopisches Ekzem sowie deren Modifikation durch Schadstoff- und Allergeneffekte erweitert. Der Einfluss von Verkehrsexpositionen und Partikelbelastungen auf die Entstehung von allergischen Manifestationen im sechsten Lebensjahr der Kinder war ebenfalls Gegenstand der Untersuchungen. Weiterhin wurden der quantitative Einfluss von Innen- und Außenraumallergenen auf die Allergieentstehung und die positive Assoziation zwischen sozialer Schicht und Allergien im Kindesalter untersucht. Darüber hinaus galt das Interesse der gesundheitlichen Entwicklung der Kinder unter Berücksichtigung atopischer Erkrankungen und humoraler Immunparameter.

Zu den im 6. Lebensjahr beteiligten Studienzentren gehören:

- UFZ-Umweltforschungszentrum Leipzig-Halle, Department Expositionsforschung und Epidemiologie/Department Umweltimmunologie; Prof. Dr. O. Herbarth/ Dr. I. Lehmann
- IUF-Institut für Umweltmedizinische Forschung in Düsseldorf, Arbeitsbereich Epidemiologie und Partikelforschung; PD Dr. U. Krämer, Dr. R. Schins
- GSF-Forschungszentrum für Umwelt und Gesundheit in Neuherberg, Institut für Epidemiologie; Prof. Dr. Dr. H.-E. Wichmann, Dr. J. Heinrich

Kooperationspartner für die Untersuchung der Kohorte sind:

- *Leipzig*: Klinik für Kinder- und Jugendmedizin Städtisches Klinikum „St. Georg“;  
PD Dr. M. Borte
- *München*: Arbeitsgruppe Allergologie, Kinderklinik und Poliklinik der TU München und der LVA Oberbayern; Prof. Dr. C. P. Bauer
- *Wesel*: Forschungsinstitut zur Prävention von Allergien und Atemwegserkrankungen der Abteilung für Kinder- und Jugendmedizin am Marienhospital; Dr. A. v. Berg
- *Bad Honnef*: Praxis für Kinder- und Jugendmedizin; Dr. B. Schaaf

Kooperationspartner für die Untersuchung bestimmter Expositions- und Wirkungsmaße sind:

- *München*:
  - Klinik für Dermatologie und Allergologie – am Biederstein – der Technischen Universität München; Prof. Dr. Dr. J. Ring;
  - Zentrum für Allergie und Umwelt an der Klinik für Dermatologie und Allergologie der Technischen Universität München; Prof. Dr. H. Behrendt;
  - AG „Pädiatrische Immunologie“, Forschungszentrum Kubus der Kinderklinik am Dr. v. Haunerschen Kinderspital der LMU München; Dr. S. Krauss-Etshmann
- *Lübeck*: Institut für Sozialmedizin, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein;  
Prof. Dr. T. Schäfer

In Leipzig wurde im Rahmen der Untersuchung im 6. Lebensjahr eine Fragebogenerhebung (n = 567) zur Erfassung klinischer Endpunkte und sozialer Lebensumstände sowie zur Charakterisierung des Wohnumfeldes durchgeführt. Außerdem erfolgten eine klinische Untersuchung mit freiwilliger Blutentnahme (n = 324), eine Hautbegutachtung (ggf. Pricktestung), eine Urinuntersuchung (n = 354) und eine VOC-Messung (n = 365). Die differierenden Probandenzahlen erklären sich durch die unterschiedliche Bereitschaft der Eltern, den verschiedenen Untersuchungen zuzustimmen. Im Folgenden wird sich – wenn nicht anders gekennzeichnet – nur auf Kinder der Leipziger Kohorte bezogen, für die eine Immunparameteranalyse des Blutes vorlag. Das Studienprotokoll wurde von der zuständigen Ethikkommission und den Datenschutzbeauftragten akzeptiert. Die Teilnahme an der Studie war freiwillig und basierte auf einer schriftlichen Einverständniserklärung der

Eltern. Die Studie wurde vom Bundesministerium für Umwelt unterstützt. Aufgaben der Promovendin umfassten neben der statistischen Auswertung der Daten, die Zellstimulation und -fixierung für die intrazelluläre Zytokinanalyse sowie die Durchführung des Vollblutassays einschließlich der Messung der Immunparameter mittels Cytometric Bead Assay.

## 2.2 Materialgewinnung

### 2.2.1 Blutentnahme

Zur Gewinnung der Blutproben wurden die Kinder im 6. Lebensjahr zu einer Untersuchung in das Städtische Klinikum „St. Georg“ eingeladen.

Im Rahmen der Sprechstunde erfolgte nach Zustimmung der Eltern neben einer klinischen Untersuchung die Entnahme von insgesamt 12,5 ml Blut. Für den Fall, dass nicht genügend Blut gewonnen werden konnte, wurde die Reihenfolge der Abnahme wie folgt festgelegt: 4,0 ml Nativblut für die IgE-Bestimmung, 6,5 ml Heparinblut für immunologische Untersuchungen (intrazelluläre Zytokinfärbung, Vollblutassay) und mRNA-Präparation sowie jeweils zwei Röhrchen EDTA-Blut (2×1,0 ml) für spezifische, durch die Ethikkommission genehmigte genetische Fragestellungen. Die Durchführung des Vollblutassays sowie die Stimulation und Fixierung der Ansätze für die intrazelluläre Zytokinmessung erfolgten nach maximal vierstündiger Lagerung der Blutproben bei Raumtemperatur. Zur weiteren Bearbeitung der Proben für die mRNA-Analyse wurden diese über Nacht bei Raumtemperatur gelagert und am folgenden Tag in das immunologische Labor des Umweltforschungszentrums transportiert. Das EDTA-Blut sowie das Serum und der Blutkuchen des Nativblutes wurden bei  $-80\text{ °C}$  bis zur weiteren Analyse gelagert.

### 2.2.2 Flüchtige organische Verbindungen (Volatile Organic Compounds, VOC)

Für die Innenraummessung ausgewählter flüchtiger organischer Verbindungen wurde jeweils ein Passivsammler des Typs OVM 3500 der Firma 3M, Neuss, durch die Eltern im Wohn- und Kinderschlafzimmer angebracht. Der Probensammler sollte in Raummitte und mindestens 50 cm von der Glühlampe entfernt befestigt werden. Nach vierwöchiger Probennahmezeit erfolgte die Auswertung der Probensammler im chemischen Labor des Departments für Expositionsforschung und Epidemiologie am UFZ in Leipzig (Laborleiterin: M. Rehwagen).

### 2.2.3 Fragebogenerhebung

Zur Erfassung des Gesundheitszustandes und der Lebensumstände der Kinder wurde ein Fragebogen durch die Eltern der Probanden ausgefüllt. In die vorliegende Arbeit wurden folgende Fragen einbezogen:

<b>Schwimmen in chloriertem Wasser</b>	
In welchem Alter hat Ihr Kind das erste Mal in einem Freibad, Swimming Pool oder Hallenbad (nicht Badeseesee oder Badeteich oder Fluss) gebadet?	<input type="checkbox"/> im 1. Lebensjahr regelmäßig (Babyschwimmen) <input type="checkbox"/> im 1. Lebensjahr gelegentlich <input type="checkbox"/> zwischen 1. und 3. Geburtstag <input type="checkbox"/> zwischen 3. und 6. Geburtstag <input type="checkbox"/> bis jetzt noch nie
Wie oft war Ihr Kind in den letzten 12 Monaten im Hallenbad, Freibad oder Swimming Pool? Im Frühling/Sommer	<input type="checkbox"/> mindestens 1 mal/Woche <input type="checkbox"/> mindestens 1 mal/Monat <input type="checkbox"/> seltener <input type="checkbox"/> nie
	Im Herbst/Winter <input type="checkbox"/> mindestens 1 mal/Woche <input type="checkbox"/> mindestens 1 mal/Monat <input type="checkbox"/> seltener <input type="checkbox"/> nie
<b>Zigarettenrauchexpositionen</b>	
Wurde während der vergangenen 12 Monate in Ihrer Wohnung geraucht?	<input type="checkbox"/> täglich oder fast täglich <input type="checkbox"/> mindestens 1 mal/Woche <input type="checkbox"/> seltener <input type="checkbox"/> nie
Wenn „JA“, wie viele Zigaretten pro Tag wurden in Ihrer Wohnung durchschnittlich geraucht?	<b>Anzahl</b> Vater                          Mutter                          andere Person
War Ihr Kind in den vergangenen 12 Monaten außerhalb der Wohnung Tabakrauch ausgesetzt?	<input type="checkbox"/> täglich oder fast täglich <input type="checkbox"/> mindestens 1 mal/Woche <input type="checkbox"/> gelegentlich <input type="checkbox"/> nie
<b>Schimmelpilzbelastung</b>	
Würden Sie Ihre Wohnung als feucht bezeichnen?	ja/nein
Gibt es Schimmel- oder Stockflecken in folgenden Räumen (außer auf Nahrungsmitteln)?	<input type="checkbox"/> Schlafzimmer/Kinderzimmer des Kindes <input type="checkbox"/> übrige Wohnung <input type="checkbox"/> Keller <input type="checkbox"/> nirgends
<b>Renovierungsaktivitäten im sechsten Lebensjahr</b>	
Wurde Ihre Wohnung renoviert?	ja/nein
Wurden Malerarbeiten durchgeführt?	ja/nein
Wurde Fußbodenbelag neu verlegt?	ja/nein
Wenn „JA“, was wurde verlegt?	<input type="checkbox"/> Parkett/Holzfußboden <input type="checkbox"/> Laminat <input type="checkbox"/> Teppichbodenbelag <input type="checkbox"/> sonstiges
Wurde Parkett/Laminat/Holzfußboden versiegelt?	ja/nein
Wurden im Kinderzimmer neue Möbel aufgestellt?	ja/nein
Wenn „JA“, bestehen sie aus	<input type="checkbox"/> Vollholz <input type="checkbox"/> Spanplatten <input type="checkbox"/> sonstigem Material

Informationen für Adjustierungsvariablen wie „atopische Familienanamnese“, „Rauchen in der Schwangerschaft“, „Stillen für mindestens vier Monate“ und „Bildungsindex“ wurden aus dem vorhandenen Datensatz vom Zeitpunkt der Geburt der LISA-Probanden entnommen. Angaben zur Anzahl der Geschwisterkinder bzw. jüngerer Geschwisterkinder wurden

im 6-Jahres-Fragebogen mit folgenden Fragen erfasst: Wie viele Geschwister hat Ihr Kind? Wie viele Personen leben ständig in Ihrem Haushalt, Sie selbst mitgerechnet; Wie viele davon sind unter 6 Jahre alt? Bei der Frage: „Halten Sie zur Zeit Haustiere in der Wohnung, wenn ‚Ja‘, welche Haustiere halten Sie?“ konnte unter anderem die Angabe „Katze“ angekreuzt werden.

## 2.3 Methoden

### 2.3.1 Intrazelluläre Zytokinfärbung

Die intrazelluläre Zytokinfärbung ermöglicht eine Erfassung der Zytokinproduktion auf Einzelzellebene mittels fluorochromkonjugierter monoklonaler Antikörper und Durchflusszytometrie. Da die Sensibilität des Tests für die *in vivo* gebildete Zytokinmenge zu gering ist, bedarf es einer *ex-vivo*-Stimulation. Diese erfolgte durch Phorbol-12-Myristat-13-Acetat (PMA), einem Proteinkinase-C-Liganden und dem Calcium-Ionophor Ionomycin. Um eine intrazelluläre Kumulation der Zytokine im Golgi-Komplex zu erreichen, wurde Monensin zur Blockade des Golgi-Apparates zugegeben. Nach der Stimulation wurden die Zellen mit Paraformaldehyd fixiert. Die anschließende Permeabilisierung der Zellmembran durch Saponin ermöglichte die intrazelluläre Bindung der Antikörper an die Zytokine. Simultan wurden membranständige Antigene zur Identifizierung der Lymphozyten-subpopulationen angefärbt. Die Messung der Fluoreszenzsignale erfolgte mittels eines FACSCalibur-Durchflusszytometers. Im Folgenden wird die Durchführung detailliert beschrieben.

#### *Zellstimulation*

Zur Stimulation der Zellen wurden pro Studienproband jeweils in zwei 12×75-mm-Falcon®-Röhrchen 100 µl Heparinblut sowie 900 µl RPMI (Biochrom KG) vorgelegt. Anschließend erfolgte die Zugabe von 10 µl PMA (Endkonzentration: 10 ng/ml, Sigma-Aldrich), 10 µl Monensin (Endkonzentration: 2,5 µM, Calbiochem) und 7,5 µl Ionomycin (Endkonzentration: 1,0 µM, Sigma-Aldrich). Nach gründlichem Mischen wurden die Zellen für 5 Stunden bei 37 °C mit den Stimulatoren inkubiert.

## 2.4 Fixierung

Der Ansatz wurde in 3 ml PBS/1% FKS (Biochrom KG/Sigma-Aldrich) aufgenommen und bei 1200 U/min und 4 °C für 5 min zentrifugiert. Nach dem Dekantieren des Überstandes wurde ein weiteres Mal mit 3 ml PBS/1% FKS gespült. Nun erfolgte die Resuspension der Zellen in 500 µl kaltem Fixierpuffer I (4 % Paraformaldehyd in PBS/1% FKS), in dem sie bei 4 °C für 10 min in Dunkelheit inkubiert wurden. Danach wurden die Röhrchen sofort mit 4 ml PBS/1% FKS aufgefüllt und zentrifugiert. Nach einem weiteren Waschvorgang wurde der Überstand verworfen. Die Zellen waren nun bis zur Weiterbearbeitung 24 Stunden bei 4 °C haltbar.

### Färbung

Zunächst erfolgte die Permeabilisierung der Zellmembran durch Zugabe von 2 ml Permeabilisierungspuffer (0,1 % Saponin, 0,1M HEPES-Puffer, 10 ml PBS/1% FKS) und einer Inkubation von 10 min bei Raumtemperatur. Anschließend wurde bei 1200 U/min zentrifugiert und der Überstand dekantiert. Die Zellen wurden nun in je 600 µl Permeabilisierungspuffer resuspendiert. In 12 weitere 12×75-mm-Falcon®-Röhrchen wurden wie folgt Antikörper vorgelegt (IL-13 von BD Biosciences, alle anderen Antikörper von Beckmann-Coulter):

1	2	3	4	5	6
CD3-FITC	CD3-FITC	CD3-FITC	CD3-FITC	CD3-FITC	CD3-FITC
CD4-PE-Cy5	CD4-PE-Cy5	CD4-PE-Cy5	CD4-PE-Cy5	CD4-PE-Cy5	CD4-PE-Cy5
Ig2a-PE	IFN-γ-PE	TNF-α-PE	IL-2-PE	IL-4-PE	IL-13-PE
7	8	9	10	11	12
CD3-FITC	CD3-FITC	CD3-FITC	CD3-FITC	CD3-FITC	CD3-FITC
CD8-PE-Cy5	CD8-PE-Cy5	CD8-PE-Cy5	CD8-PE-Cy5	CD8-PE-Cy5	CD8-PE-Cy5
Ig2a-PE	IFN-γ-PE	TNF-α-PE	IL-2-PE	IL-4-PE	IL-13-PE

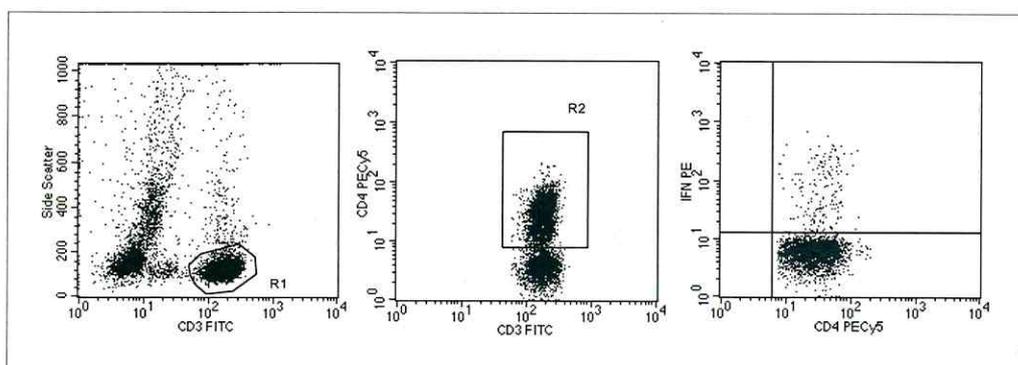
Es wurden jeweils 2,5 µl der Antikörper benötigt, nur bei IL-4-PE wurden 20 µl verwendet. Zu den Antikörpern wurden nun jeweils 100 µl Zellsuspension zugegeben. Nach dem Mischen wurden die Ansätze für 30 min bei Dunkelheit und 4 °C inkubiert. Nachdem die Zellen zweimal mit 3 ml Permeabilisierungspuffer gewaschen wurden, erfolgte die Zugabe von je 250 µl Fixierpuffer II (1 % Formaldehyd in PBS).

### Messung und Auswertung

Die Messung und Auswertung der Ansätze erfolgte mittels eines FACSCalibur-Durchflusszytometers und der Software CellQuest™ der Firma BD Biosciences. Pro Ansatz wurden 10.000 Zellen analysiert.

Anhand der Zellgröße und Granularität wurden zunächst die Lymphozyten in einem zweidimensionalen Scatterplot von den übrigen Zellen abgegrenzt. In einem nächsten Schritt wurden aus der Population die CD3<sup>+</sup>-Zellen im F11/Seitwärtsscatter-Plot separiert (Abb. 2.1: CD3<sup>+</sup>-Lymphozyten).

Mit Hilfe dieser Gating-Technik konnten im Folgenden die zu untersuchenden Subpopulationen in den jeweiligen Plots betrachtet werden (Abb. 2.1). Für die Zytokinanalyse wurden die CD3<sup>+</sup>/CD4<sup>+</sup>-Zellen sowie die CD3<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>-Zellen getrennt untersucht. Auf der Abszisse wurde der jeweilige den Zelltyp bestimmende Antikörper und auf der Ordinate der Zytokin-Antikörper aufgetragen. Durch ein manuell gesetztes Fadenkreuz, welches die Signal-positiven von den Signal-negativen Zellen abgrenzte, konnte der Anteil Zytokin produzierender Zellen identifiziert werden. Eventuelle unspezifische Bindungen aus der Isotypenkontrolle wurden von den ermittelten Werten subtrahiert.



**Abb. 2.1:** Bestimmung des Anteils Zytokin produzierender CD4<sup>+</sup>-T-Zellen am Beispiel von IFN- $\gamma$ . Links: CD3<sup>+</sup>-Lymphozyten, mittig: Eingrenzung der CD4<sup>+</sup>-Subpopulation, rechts: Anteil IFN- $\gamma$ -bildender CD4<sup>+</sup>-T-Zellen

### 2.4.1 Vollblutassay

Der Vollblutassay ist eine einfache und praktikable Methode zur Messung verschiedener Immunparameter im stimulierten oder unstimulierten Blut. Die ermittelten Zytokin-konzentrationen spiegeln dabei nicht nur die Aktivität der T-Lymphozyten wieder, sondern erfassen, je nach eingesetztem Stimulans in unterschiedlichem Ausmaß, die Sekretionsleistung einer Vielzahl von Zellen. Zu diesen gehören Monozyten, Natürliche Killerzellen, B-Zellen und Granulozyten.

Im Rahmen des Vollblutassays erfolgte eine vierstündige *ex-vivo*-Inkubation von Heparinblut mit verschiedenen Stimulatoren sowie zur Kontrolle mit Medium (Tabelle 2.1). Nachfolgend wurden die Kulturüberstände abgenommen, eingefroren und später mittels Bead-Array-Assay auf Chemokin- und Zytokinkonzentrationen untersucht.

**Tabelle 2.1:** Inhalt der Ansätze des Vollblutassays

Ansatz	Stimulatoren
1	Kontrollansatz mit Medium (RPMI 1640, Biochrom KG, Berlin)
2	Partikelsuspension (high-volume-Sammlung, 100 µg/ml)
3	Lipopolysaccharide (E. coli Serotyp 026: B6, 1 µg/ml, Sigma-Aldrich)
4	Phytohämagglutinin (PHA, 50 µg/ml, Sigma-Aldrich)

Für die Partikelstimulation kamen Staubpartikel, die während einer high-volume-Sammlung in Leipzig Permoser-/Ecke Torgauer Straße in der Zeit vom 10.09.–06.10.2003 gewonnen worden waren, zur Anwendung. Die Stimulatoren wurden in sterile endotoxinfreie Reaktionsgefäße (1,5 ml, BIO-CERT® Brand, Endotoxine  $< 6 \times 10^{-12}$  g/unit) vorgelegt, bei  $-80$  °C tiefgefroren und unmittelbar vor der Verwendung aufgetaut. Anschließend wurden die vier verschiedenen Ansätze jeweils mit 500 µl Heparinblut versetzt. Die Durchführung des Assays erfolgte pro Kind im Doppelansatz (siehe Abb. 2.2).

Innerhalb von vier Stunden nach der Entnahme wurden je 500 µl des Blutes in die vorbereiteten Röhrchen mit den Reagenzien (PHA, RPMI, LPS, Partikel) gegeben. Nach vorsichtigem Schwenken wurden die Ansätze für vier Stunden bei 37 °C inkubiert. Nach der Inkubation erfolgte die Zugabe von 500 µl RPMI. Anschließend wurde für fünf Minuten bei 800 g zentrifugiert. Die Kulturüberstände wurden in Portionen von 3×150 µl abgenommen und bei  $-80$  °C bis zur weiteren Bearbeitung tiefgefroren.

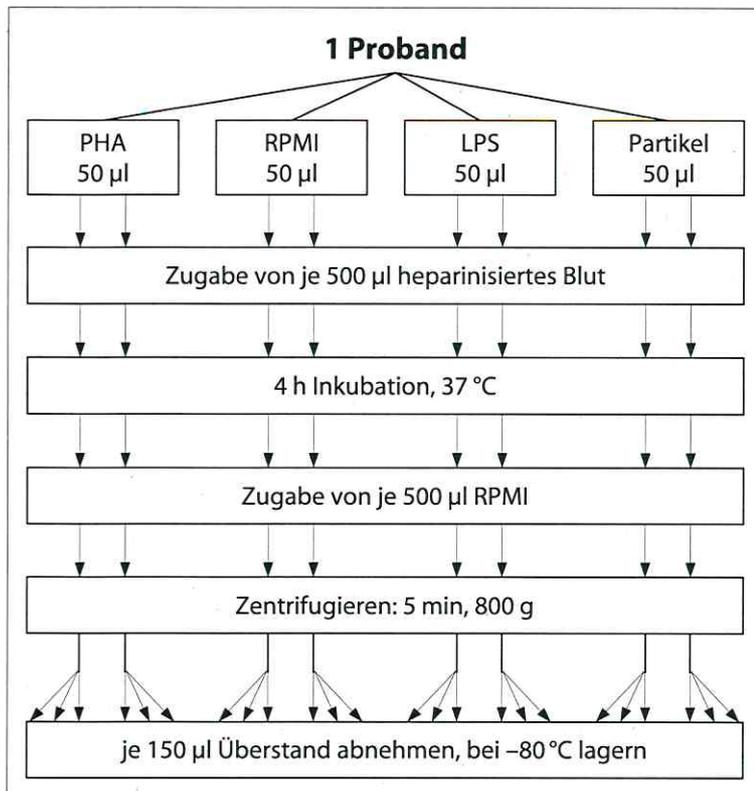


Abb. 2.2: Herstellung der Ansätze für den Vollblutassay

#### Zytokin- und Chemokinanalyse mittels eines Cytometric Bead Assays

Mittels eines Cytometric Bead Assays wurden die Konzentrationen von IL-6, IL-8, IL-10, MCP-1, IFN- $\gamma$  und TNF- $\alpha$  in den Kulturüberständen der LPS- und partikelstimulierten sowie unstimulierten Ansätze gemessen. Zusätzlich wurden in dem PHA-stimulierten Ansatz sowie im unstimulierten Kontrollansatz die Konzentrationen von IL-4, IL-5, IL-10, Eotaxin, RANTES und IFN- $\gamma$  bestimmt.

Die Methode arbeitet mit suspendierten fluoreszierenden Beads, an deren antikörperbeschichteter Oberfläche gelöste Analytate spezifisch binden können. Durch die gleichzeitige Verwendung verschiedenartiger Beads ist es möglich, in einem kleinen Probenvolumen mehrere Parameter in einem Messvorgang zu erfassen. Die einzelnen Bead-Populationen lassen sich aufgrund der spezifischen Fluoreszenzintensität voneinander unterscheiden. Nach dem Prinzip eines „Sandwich-Assays“ können durch Zugabe eines

zweiten fluoreszenzmarkierten Antikörpers, der Spezifität für den jeweiligen Parameter besitzt, die zu untersuchenden Stoffe am Durchflusszytometer detektiert und quantifiziert werden.

Zur Durchführung des Assays wurde das CBA Human Soluble Protein Flex Set™ der Firma BD Biosciences benutzt. Die Arbeitsschritte werden im Folgenden stichpunktartig beschrieben.

Herstellung der Bead-Mischungen und Standardlösungen nach Herstellervorschrift:

- je 25 µl Bead-Mischung in 12×75-mm-Falcon®-Röhrchen vorlegen
- Zugabe von je 25 µl der Kulturüberstände bzw. Standardlösung, 1 h Inkubation bei Raumtemperatur und Dunkelheit
- Zugabe von je 25 µl Detektionsantikörper-Mischung, 2 h Inkubation bei Raumtemperatur und Dunkelheit
- Zugabe von 500 µl Waschpuffer pro Ansatz, 5 min zentrifugieren bei 200 g
- Verwerfen des Überstandes, Pellet in 150 µl Waschpuffer aufnehmen, sofortige Messung der Proben am FACSCalibur-Durchflusszytometer unter Verwendung der CellQuest™-Software

Von jeder Bead-Population wurden 300 Beads aquiriert. Die Auswertung der Daten aus der Durchflusszytometrie erfolgte mit Hilfe der Software FCAP Array™, BD Biosciences. Anhand der Messung einer Verdünnungsreihe mit bekannten Zytokinkonzentrationen wurde eine Eichkurve erstellt. Mittels dieser konnten anschließend die Konzentrationen in pg/ml für die jeweilige Fluoreszenzintensität ermittelt werden. Die Nachweisgrenzen der einzelnen Parameter lagen dabei für TNF- $\alpha$ , IL-4, IL-5, IL-6, IL-8 und IL-10 bei 3 pg/ml, für IFN- $\gamma$  und RANTES bei 4 pg/ml, für MCP-1 bei 7 pg/ml sowie für Eotaxin bei 30 pg/ml.

#### 2.4.2 IgE-Bestimmung

Die Bestimmung des gesamten und spezifischen IgE erfolgte in der Klinik für Dermatologie und Allergologie der Technischen Universität München (verantwortlicher Kooperationspartner: Prof. H. Behrendt) mittels des Pharmacia CAP Systems™. Die Sensitivität des Tests lag bei 0,35 kU/l. Zur Bestimmung wurden jeweils 50 µl Serum benötigt.

Unter Verwendung drei verschiedener Allergenmischungen (Sx1, Fx5, Mx1) wurden die Proben zunächst auf multispezifisches IgE untersucht. Bei positivem Ergebnis folgte für die Nahrungs- und Inhalationsallergenmischung eine Nachtestung auf die enthaltenen Einzelallergene. Tabelle 2.2 zeigt den Inhalt der verwendeten Mischungen. Zusätzlich wurde das Gesamt-IgE bestimmt.

**Tabelle 2.2:** Getestete Allergenmischungen und Einzelallergene

Allergenmischung	Einzelallergene
Sx1 inhalative Allergene (Screeningmischung)	d1 Dermatophagoides pteron. e1 Katzenschuppen e5 Hundeschuppen g12 Roggen g6 Lieschgras m2 Cladosporium herbarum t3 Birke w6 Beifuss
Fx5 Kindernahrungsmischung	f1 Hühnerei f13 Erdnuss f14 Sojabohne f2 Milcheiweiß f3 Dorsch (Kabeljau) f4 Weizenmehl
Mx1 Schimmelpilzmischung	m1 Penicillium notatum m2 Cladosporium herbarum m3 Aspergillus fumigatus m6 Alternaria alternata

### 2.4.3 Analyse flüchtiger organischer Verbindungen

Die quantitative und qualitative Analyse der flüchtigen organischen Verbindungen wurde im chemischen Labor des Departments Expositionsforschung und Epidemiologie des Umweltforschungszentrums Leipzig-Halle (Leiter: Prof. O. Herbarth) von Frau Rehwagen durchgeführt.

Die im Passivsammler adsorbierten Stoffe wurden mit Schwefelkohlenstoff extrahiert und durch Gaschromatographie mittels Massenspektrometrischer Detektoren analysiert. Verwendet wurde ein Gaschromatograph vom Typ TurboMass, Perkin Elmer, Berlin, der mit einer RTX-1-Kapillarsäule (60 m, ID = 0,32 mm, Schichtdicke 1 µm) ausgerüstet war. Die Gaschromatographie wurde unter folgenden Bedingungen durchgeführt: Trägergas Helium, Injektionsvolumen 1 µl, Temperaturprogramm: 43 °C für 6 min, 2,5 °C/min bis 200 °C. Die

Auswertung erfolgte nach der Methode der internen Standards (d6-Benzol und Cyclo-dodecan). Das Detektionslimit lag unter genannten Bedingungen zwischen 0,1 und 1  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ .

#### 2.4.4 Statistische Analyse

Die Auswertung der erhobenen Daten erfolgte mit den Programmen STATISTICA 7 (StatSoft Inc., Tulsa, Oklahoma) und StatXact 7 (Cytel Inc., Cambridge Mass.).

Da weder die Prozentwerte Zytokin produzierender T-Zellen, noch die im Vollblut analysierten Zytokin- und Chemokinkonzentrationen oder die Daten der VOC-Messung einer Normalverteilung unterlagen, kamen nur Tests für nicht normalverteilte Daten zur Anwendung. Entsprechend erfolgte die deskriptive Darstellung der Daten anhand von Medianen und Perzentilen.

Die Korrelationsanalyse metrisch skaliertes, nicht normalverteilter Daten erfolgte mittels Rangkorrelation nach Spearman, während für Gruppenvergleiche dieser Daten der U-Test nach Mann-Whitney benutzt wurde. Die Überprüfung von Unterschieden zwischen zwei Gruppen mit nominal skalierten Merkmalen erfolgte mittels  $\chi^2$ -Test. Zur Untersuchung auf Vorliegen eines Trends bei geordneten Kategorien wurde der Jonckheere-Terpstra-Test verwendet. Differenzen zwischen zwei Gruppen mit nominal skalierten Merkmalen wurden mittels logistischer Regression getestet. Die Durchführung einer multiplen linearen Regression mit mehreren unabhängigen Variablen erforderte die logistische Transformation der CBA-Messdaten. Eine Umformung der Prozentwerte aus der intrazellulären Zytokinanalyse erfolgte nach folgender Formel:

$$v_{\text{trans}} = \log\left(\frac{v_{\text{roh}}/100+0,5/2000}{1-v_{\text{roh}}/100+0,5/2000}\right).$$

## 3 Ergebnisse

### 3.1 Immunparameter im sechsten Lebensjahr

#### 3.1.1 Intrazelluläre Zytokinproduktion peripherer T-Lymphozyten

Nach polyklonaler Stimulation von Heparinblut mit PMA und Ionomycin wurde bei 312 Probanden die Zytokinsynthese einzelner T-Zell-Populationen mittels FACS-Analyse bestimmt (Tabelle 3.1).

Tabelle 3.1: Anteile der T-Zell-Populationen an der Zytokinproduktion [%]

Zytokin	Zellpopulation	Median	25. Perzentile	75. Perzentile
<b>IFN-<math>\gamma</math></b>	CD3 <sup>+</sup>	15,06	11,00	20,53
	CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	5,36	3,8	7,35
	CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	24,29	18,26	32,35
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	CD3 <sup>+</sup>	16,13	11,51	21,77
	CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	13,45	9,63	18,47
	CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	14,72	10,10	20,65
<b>IL-2</b>	CD3 <sup>+</sup>	14,32	9,58	18,47
	CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	21,54	14,57	27,91
	CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	4,81	2,73	6,99
<b>IL-4</b>	CD3 <sup>+</sup>	0,72	0,45	1,14
	CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	1,24	0,75	1,95
	CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	0,30	0,03	0,70
<b>IL-13</b>	CD3 <sup>+</sup>	1,11	0,79	1,61
	CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	1,88	1,15	2,76
	CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	0,71	0,26	1,48

Mittels Rangkorrelation nach Spearman wurde der Zusammenhang der einzelnen Zytokine untereinander untersucht. Es konnten sowohl für die Th1- bzw. Th2-Zytokine untereinander als auch zwischen den Th1- und Th2-Zytokinen, außer für IL-13 in CD8<sup>+</sup>-T-Zellen, stark positive Korrelationen nachgewiesen werden. Nachstehende Tabelle zeigt die Korrelation der Zytokine in den Subpopulationen der T-Zellen (Tab. 3.2).

**Tabelle 3.2:** Korrelation der Zytokine untereinander, Korrelationskoeffizient R, bei  $p < 0,05$  hervorgehoben

		IFN- $\gamma$		TNF- $\alpha$		IL-2		IL-4		IL-13	
		CD4 <sup>+</sup>	CD8 <sup>+</sup>								
IFN- $\gamma$	CD4 <sup>+</sup>	1,00	<b>0,54</b>	<b>0,61</b>	<b>0,49</b>	<b>0,56</b>	<b>0,20</b>	<b>0,54</b>	0,04	<b>0,44</b>	-0,09
	CD8 <sup>+</sup>	<b>0,54</b>	1,00	<b>0,51</b>	<b>0,80</b>	<b>0,37</b>	<b>0,25</b>	<b>0,44</b>	<b>0,14</b>	<b>0,33</b>	0,10
TNF- $\alpha$	CD4 <sup>+</sup>	<b>0,61</b>	<b>0,51</b>	1,00	<b>0,54</b>	<b>0,71</b>	<b>0,48</b>	<b>0,55</b>	<b>0,19</b>	<b>0,42</b>	0,09
	CD8 <sup>+</sup>	<b>0,49</b>	<b>0,80</b>	<b>0,54</b>	1,00	<b>0,38</b>	<b>0,33</b>	<b>0,34</b>	<b>0,20</b>	<b>0,23</b>	<b>0,13</b>
IL-2	CD4 <sup>+</sup>	<b>0,56</b>	<b>0,37</b>	<b>0,71</b>	<b>0,38</b>	1,00	<b>0,65</b>	<b>0,54</b>	<b>0,16</b>	<b>0,36</b>	0,01
	CD8 <sup>+</sup>	<b>0,20</b>	<b>0,25</b>	<b>0,48</b>	<b>0,33</b>	<b>0,65</b>	1,00	<b>0,28</b>	<b>0,30</b>	<b>0,14</b>	<b>0,20</b>
IL-4	CD4 <sup>+</sup>	<b>0,54</b>	<b>0,44</b>	<b>0,55</b>	<b>0,34</b>	<b>0,54</b>	<b>0,28</b>	1,00	<b>0,19</b>	<b>0,70</b>	0,10
	CD8 <sup>+</sup>	0,04	<b>0,14</b>	<b>0,19</b>	<b>0,20</b>	<b>0,16</b>	<b>0,30</b>	<b>0,19</b>	1,00	<b>0,17</b>	<b>0,50</b>
IL-13	CD4 <sup>+</sup>	<b>0,44</b>	<b>0,33</b>	<b>0,42</b>	<b>0,23</b>	<b>0,36</b>	<b>0,14</b>	<b>0,70</b>	<b>0,17</b>	1,00	<b>0,12</b>
	CD8 <sup>+</sup>	-0,09	0,10	0,09	<b>0,13</b>	0,01	<b>0,20</b>	0,10	<b>0,50</b>	<b>0,12</b>	1,00

### 3.1.2 Im Vollblutassay analysierte Zytokine und Chemokine

Mittels eines Cytometric Bead Assays (CBA) wurden bei 320 Kindern die Konzentrationen verschiedener Zytokine und Chemokine im stimulierten und unstimulierten heparinierten Vollblut gemessen. Als Stimulatoren kamen PHA (50  $\mu\text{g/ml}$ ), Lipopolysaccharid (LPS 1  $\mu\text{g/ml}$ ) von *E. coli* und Staubpartikel (100  $\mu\text{g/ml}$ ) zum Einsatz. In den LPS- und partikelstimulierten Ansätzen sowie der Mediumkontrolle wurden die Konzentrationen von IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , MCP-1, IL-6, IL-8 und IL-10 bestimmt. Zusätzlich wurden die Konzentrationen von IL-4, IL-5, IL-10, IFN- $\gamma$ , RANTES und Eotaxin in PHA- und unstimulierten Ansätzen gemessen. Die Mediane und Quartile der ermittelten Konzentrationen sind in Tabelle 3.3 aufgeführt.

In Abhängigkeit von dem jeweiligen Stimulans und Parameter ließen sich sehr unterschiedliche Konzentrationsanstiege beobachten. Während die Konzentrationen von Eotaxin und RANTES in PHA-stimulierten Ansätzen im Vergleich zur Mediumkontrolle kaum verändert vorlagen, zeigte sich für IFN- $\gamma$  ein sehr starker, für IL-4 ebenfalls ein deutlicher und für IL-5 ein geringer Anstieg der Konzentrationen. Anstiege der Zytokin- und Chemokinkonzentrationen nach Partikelstimulation fielen generell geringer aus als nach Stimulation mit LPS. Dabei wurden IL-10- und IFN- $\gamma$ -Konzentrationen in partikelstimulierten Ansätzen nur geringfügig, die von IL-8 und MCP-1 dagegen stark erhöht.

**Tabelle 3.3:** Median und Interquartile der Zytokin- bzw. Chemokinkonzentrationen [pg/ml] in stimulierten und unstimulierten Ansätzen des Vollblutassays

Zytokin	Ansatz	Median	25. Perzentile	75. Perzentile
<b>IFN-<math>\gamma</math></b>	Medium	7,24	0,00	13,70
	PHA	1630,82	909,43	2823,41
	Partikel	8,18	0,00	13,67
	LPS	50,92	28,62	103,84
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Medium	6,48	4,54	10,34
	Partikel	82,52	56,56	126,85
	LPS	3084,43	2361,34	3790,42
<b>Eotaxin</b>	Medium	399,10	315,38	519,94
	PHA	369,15	273,73	472,67
<b>RANTES</b>	Medium	7198,94	5325,68	9135,86
	PHA	8016,08	6028,43	11204,85
<b>MCP-1</b>	Medium	86,58	63,39	128,77
	Partikel	609,09	421,16	919,48
	LPS	748,49	509,63	1018,70
<b>IL-4</b>	Medium	5,94	0,00	9,40
	PHA	45,02	27,59	72,23
<b>IL-5</b>	Medium	0,25	0,00	2,34
	PHA	3,74	2,20	6,39
<b>IL-6</b>	Medium	6,98	4,87	10,93
	Partikel	149,58	94,60	235,58
	LPS	8571,43	7556,46	9555,22
<b>IL-8</b>	Medium	48,17	28,00	93,45
	Partikel	805,59	534,24	1253,57
	LPS	3910,36	3044,39	5294,28
<b>IL-10</b>	Medium	1,50	1,50	3,12
	PHA	42,98	29,92	55,96
	Partikel	6,39	4,52	9,36
	LPS	13,88	9,44	21,06

Mit Hilfe der Rangkorrelation nach Spearman wurde der Zusammenhang der Immunparameter aus dem Vollblutassay untersucht. Da in den verschiedenen stimulierten und unstimulierten Ansätzen vergleichbare Assoziationen vorlagen, wird im Folgenden beispielhaft auf die Korrelationen unstimulierter Proben eingegangen (Tab. 3.4). Zwischen den Th1-Zytokinen IFN- $\gamma$  und TNF- $\alpha$ , ebenso wie zwischen den Th2-Zytokinen IL-4 und IL-5, ließen sich positive Korrelationen nachweisen. Auch die Chemokine MCP-1, RANTES und Eotaxin sowie die proinflammatorischen Zytokine IL-6, IL-8, MCP-1 und TNF- $\alpha$  waren positiv miteinander assoziiert. Weiterhin fand sich zwischen RANTES und IL-4 ein positiver Zusammenhang, während IL-4 zusätzlich negativ mit TNF- $\alpha$  und RANTES negativ mit IFN- $\gamma$  verbunden war. Positive Beziehungen zeigten sich zudem zwischen IFN- $\gamma$  und MCP-1 sowie IFN- $\gamma$  und IL-6. Das regulatorische Zytokin IL-10 war positiv mit IFN- $\gamma$ ,

TNF- $\alpha$ , MCP-1 und IL-6 assoziiert, während mit RANTES eine negative Korrelation zu beobachten war.

**Tabelle 3.4:** Korrelation der Zytokine des unstimulierten Vollblutes untereinander, Korrelationskoeffizient R, bei  $p < 0,05$  hervorgehoben

	IFN- $\gamma$	TNF- $\alpha$	Eotaxin	RANTES	MCP-1	IL-4	IL-5	IL-6	IL-8	IL-10
IFN- $\gamma$	1,00	<b>0,15</b>	-0,02	<b>-0,17</b>	<b>0,17</b>	0,05	0,00	<b>0,22</b>	0,09	<b>0,52</b>
TNF- $\alpha$	<b>0,15</b>	1,00	0,00	0,00	<b>0,38</b>	<b>-0,14</b>	-0,06	<b>0,75</b>	<b>0,52</b>	<b>0,20</b>
Eotaxin	-0,02	0,00	1,00	<b>0,29</b>	<b>0,14</b>	0,07	0,05	-0,01	0,03	-0,09
RANTES	<b>-0,17</b>	0,00	<b>0,29</b>	1,00	<b>0,15</b>	<b>0,16</b>	0,02	0,04	0,10	<b>-0,21</b>
MCP-1	<b>0,17</b>	<b>0,38</b>	<b>0,15</b>	<b>0,15</b>	1,00	-0,01	0,04	<b>0,51</b>	<b>0,65</b>	<b>0,18</b>
IL-4	0,05	<b>-0,14</b>	0,07	<b>0,16</b>	-0,01	1,00	<b>0,50</b>	-0,03	0,00	-0,05
IL-5	0,00	-0,06	0,04	0,02	0,04	<b>0,50</b>	1,00	-0,02	0,02	0,00
IL-6	<b>0,22</b>	<b>0,74</b>	-0,01	0,04	<b>0,51</b>	-0,03	-0,02	1,00	<b>0,75</b>	<b>0,18</b>
IL-8	0,09	<b>0,52</b>	0,03	0,10	<b>0,65</b>	0,00	0,02	<b>0,75</b>	1,00	0,06
IL-10	<b>0,52</b>	<b>0,20</b>	-0,09	<b>-0,21</b>	<b>0,18</b>	-0,05	0,00	<b>0,18</b>	0,06	1,00

Um den Zusammenhang zwischen direkt auf T-Zell-Ebene mittels intrazellulärem Zytokin-nachweis bestimmten und im Überstand des Vollblutassays gemessenen Immunmediatoren zu untersuchen, erfolgte eine Korrelationsanalyse für die Anteile Zytokin produzierender T-Zellen mit den Zytokinen und Chemokinen der unstimulierten bzw. T-Zell-stimulierten Ansätze des Vollblutassays (Tab. 3.5). Die Anteile IFN- $\gamma$  bzw. TNF- $\alpha$  produzierender T-Zellen waren positiv mit den Konzentrationen von IFN- $\gamma$  (PHA), IL-6 (Medium) und IL-8 (Medium) sowie negativ mit IL-10 (Medium, PHA) aus Kulturüberständen des Vollblut-assays korreliert. Zusätzlich zeigte die intrazellulär in T-Zellen gemessene Produktion von IFN- $\gamma$  eine positive Assoziation zu IL-4 (PHA). Zwischen TNF- $\alpha$  produzierenden CD8<sup>+</sup>-T-Zellen und extrazellulärem TNF- $\alpha$  (Medium) war ebenfalls eine positive Beziehung zu beobachten. Die Analyse für IL-4 und IL-13 aus T-Lymphozyten zeigte positive Zusammenhänge zu MCP-1 (Medium), IL-4 (PHA), IL-5 (PHA), IL-6 (Medium) und IL-8 (Medium) aus dem Vollblut. Anteile IL-4 produzierender T-Lymphozyten waren zudem positiv mit RANTES und negativ mit IL-10 korreliert. Zwischen IL-2 aus T-Zellen und IL-10 des Vollblutes bestanden ebenfalls negative Assoziationen. Eotaxin zeigte keinerlei signifikante Zusammenhänge zu den Anteilen Zytokin produzierender T-Lymphozyten.

**Tabelle 3.5:** Korrelation der intrazellulären T-Zell-Zytokine mit Zytokinen bzw. Chemokinen im Vollblutassays (Korrelationskoeffizient R, bei  $p < 0,05$  hervorgehoben)

		IFN- $\gamma$			TNF- $\alpha$			IL-2			IL-4			IL-13		
		CD3 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup>	CD8 <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup>	CD8 <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup>	CD8 <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup>	CD8 <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup>	CD8 <sup>+</sup>
IFN- $\gamma$	Medium	0,06	0,06	0,04	0,08	0,08	0,05	-0,01	0,00	-0,01	0,05	0,06	-0,04	-0,02	0,02	0,00
	PHA	<b>0,36</b>	<b>0,23</b>	<b>0,31</b>	<b>0,15</b>	0,02	<b>0,27</b>	-0,05	0,00	-0,05	-0,05	-0,02	-0,07	-0,01	0,01	-0,03
TNF- $\alpha$	Medium	0,09	0,02	0,04	0,10	0,05	<b>0,13</b>	-0,06	-0,01	-0,03	0,01	0,06	-0,05	0,06	0,07	0,04
Eotaxin	Medium	-0,04	0,03	-0,06	0,00	0,05	-0,05	0,07	0,07	0,07	0,08	0,08	0,06	0,03	0,02	-0,03
	PHA	-0,07	0,01	-0,08	-0,04	0,01	-0,07	0,04	0,03	0,03	0,06	0,06	0,01	-0,01	0,03	-0,06
RANTES	Medium	0,08	0,09	0,10	0,03	0,03	0,03	0,05	0,06	0,01	0,01	0,05	-0,02	-0,03	-0,07	-0,01
	PHA	<b>0,17</b>	0,11	<b>0,18</b>	0,06	0,05	0,06	0,09	0,08	0,07	<b>0,12</b>	<b>0,14</b>	0,02	-0,01	0,02	0,02
MCP-1	Medium	0,08	0,04	0,05	0,10	0,11	0,07	0,00	0,03	-0,02	<b>0,13</b>	<b>0,21</b>	-0,04	0,10	<b>0,13</b>	0,06
IL-4	Medium	0,08	0,06	0,09	0,05	0,04	0,03	0,03	0,03	-0,02	-0,02	0,02	0,03	-0,07	-0,04	-0,09
	PHA	<b>0,13</b>	<b>0,17</b>	0,11	0,06	0,09	0,06	0,06	0,05	0,08	<b>0,27</b>	<b>0,24</b>	-0,01	<b>0,39</b>	<b>0,38</b>	-0,04
IL-5	Medium	0,06	0,00	0,06	0,04	0,03	0,03	0,02	0,00	0,05	-0,01	0,02	-0,02	-0,04	-0,02	-0,05
	PHA	0,00	0,05	-0,04	-0,03	0,01	-0,05	-0,01	-0,04	0,00	<b>0,15</b>	<b>0,13</b>	-0,06	<b>0,26</b>	<b>0,23</b>	-0,04
IL-6	Medium	<b>0,19</b>	<b>0,11</b>	<b>0,14</b>	<b>0,22</b>	<b>0,18</b>	<b>0,23</b>	0,05	0,11	0,01	0,11	<b>0,19</b>	-0,05	0,07	<b>0,13</b>	0,00
IL-8	Medium	<b>0,15</b>	0,09	0,08	<b>0,18</b>	<b>0,18</b>	<b>0,14</b>	0,05	0,09	-0,01	<b>0,12</b>	<b>0,18</b>	-0,06	0,10	<b>0,12</b>	-0,01
IL-10	Medium	-0,09	<b>-0,12</b>	<b>-0,12</b>	-0,02	-0,07	-0,04	<b>-0,19</b>	<b>-0,20</b>	-0,09	-0,08	-0,07	<b>-0,13</b>	0,00	-0,05	0,02
	PHA	-0,07	0,02	-0,10	<b>-0,17</b>	<b>-0,11</b>	<b>-0,15</b>	-0,03	-0,05	-0,03	0,04	0,00	-0,03	0,02	0,05	-0,06

### 3.1.3 Zytokine, Chemokine und allergische Sensibilisierung

#### *T-Zell-Zytokine und allergische Sensibilisierung*

Die Analyse des Zusammenhangs zwischen allergischer Sensibilisierung und den Anteilen Zytokin produzierender T-Lymphozyten erfolgte anhand des Mann-Whitney-U-Tests. In Tabelle 3.6 wurden alle signifikanten Ergebnisse zusammengefasst (ausführliche Daten im Anhang). Gesamt-IgE-Spiegel über 180 kU/l zeigten negative Zusammenhänge zu IL-2 (CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Zellen) und IL-4 (CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>-T-Zellen). Waren spezifische IgE-Antikörper gegen Einzelallergene vorhanden, ging dies mit einer erhöhten Synthese von IL-13 in der CD8<sup>+</sup>-Subpopulation einher. Das Vorhandensein von spezifischem IgE gegen Beifußpollen war ebenfalls mit einer gesteigerten Produktion von IL-13 in CD8<sup>+</sup>-T-Zellen verbunden. Weiterhin fand sich ein positiver Zusammenhang für IgE gegen Allergene der Schimmelpilzmischung und den Th2-Zytokinen IL-4 und IL-13 (CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>-T-Zellen). Sensibilisierungen gegen tierische Allergene wiesen signifikante Beziehungen zu erniedrigten Th1-Zytokinen auf: während der Nachweis von spezifischem IgE gegen Katzenschuppen mit einer verringerten Synthese von TNF- $\alpha$  assoziiert war, korreliert die Sensibilisierung gegen

Hundeschuppen mit signifikant erniedrigten IL-2-Syntheseraten in T-Lymphozyten und der CD4<sup>+</sup>-Subpopulation. Erniedrigte Syntheseraten des Th1-Zytokins IFN- $\gamma$  ließen sich bei Sensibilisierung gegen *Cladosporium herbarum* beobachten (CD4<sup>+</sup>-T-Zellen). Für Allergene von Erdnuss und Sojabohne fanden sich Zusammenhängen zwischen dem Nachweis von spezifischem IgE und einer Erhöhung der IFN- $\gamma$  produzierenden CD8<sup>+</sup>-T-Lymphozyten. Dagegen zeigten Probanden mit Sensibilisierungen gegen die Nahrungsallergenmischung und das Einzelallergen Hühnereiweiß eine signifikant gesteigerte Produktion der Th2-Zytokine IL-4 und IL-13 in verschiedenen T-Zell-Populationen.

**Tabelle 3.6:** Signifikant positive ( $\blacktriangle$ ) bzw. negative ( $\blacktriangledown$ ) Beziehungen im U-Test zwischen den Anteilen Zytokin produzierender T-Zellen und Gesamt-IgE > 180 kU/l bzw. spez. Sensibilisierungen, schwarzes Symbol: p < 0,05; graues Symbol: p < 0,01 (ausführliche Daten im Anhang)

	IFN- $\gamma$			TNF- $\alpha$			IL-2			IL-4			IL-13		
	CD3 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup>	CD8 <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup>	CD8 <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup>	CD8 <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup>	CD8 <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup>	CD8 <sup>+</sup>
<b>ges. IgE</b>									$\blacktriangledown$			$\blacktriangledown$			
<b>spez. IgE</b>															$\blacktriangle$
<b>Sx1</b>															
d1															
e1					$\blacktriangledown$										
e5								$\blacktriangledown$	$\blacktriangledown$						
g12															
g6															
t3															
w6															$\triangle$
<b>Mx1</b>															$\blacktriangle$
m2		$\blacktriangledown$													$\blacktriangle$
<b>Fx5</b>															
f1										$\blacktriangle$			$\blacktriangle$		$\triangle$
f13			$\blacktriangle$												
f14			$\blacktriangle$												
f2															
f3															
f4															

#### *Immunmediatoren des Vollblutassays und allergische Sensibilisierung*

Tabelle 3.7 zeigt die schematische Zusammenfassung signifikanter Ergebnisse für den Zusammenhang von im Vollblutassay analysierten Zytokinen bzw. Chemokinen und allergischen Sensibilisierungen (ausführliche Daten im Anhang). Da sich für Eotaxin keinerlei signifikante Beziehungen zu untersuchten Allergenen fanden, blieb es in der Darstellung unberücksichtigt.

Erhöhte Spiegel an Gesamt-IgE zeigten einen positiven Zusammenhang zu Konzentrationen von IL-4 (PHA), IL-5 (PHA), IL-8 (alle Ansätze) und MCP-1 (Medium und LPS). Das Vorhandensein von spezifischem IgE gegen Einzelallergene war ebenfalls positiv mit IL-4 und IL-5 in PHA-stimulierten Ansätzen verbunden sowie negativ mit IL-6-Konzentrationen in unstimuliertem Blut.

**Tabelle 3.7:** Signifikant positive (▲) bzw. negative (▼) Beziehungen im U-Test zwischen im Vollblutassay analysierten Zytokin- bzw. Chemokinkonzentrationen und Gesamt-IgE > 180 kU/l bzw. spez. Sensibilisierungen, schwarzes Symbol:  $p < 0,05$ ; graues Symbol:  $p < 0,01$  (ausführliche Daten im Anhang)

	IFN- $\gamma$			TNF- $\alpha$			IL-6			MCP-1			IL-8			IL-10			RANTES		IL-4		IL-5	
	M	P	E	M	P	E	M	P	E	M	P	E	M	P	E	M	P	E	M	PHA	M	PHA	M	PHA
ges. IgE										▲		▲	▲	▲	▲			▲					▲	▲
spez. IgE							▼																▲	▲
Sx1										▲													▲	▲
d1																							▲	▲
e1													▲		▲			▲					▲	▲
e5										▲					▲			▲						▲
g12																								▲
g6																								▲
t3																			▲					
w6	▼				▼			▼																▲
Mx1										▲					▲									
m2										▲					▲									▲
Fx5	▼						▼																	▲
f1					▼																			
f13																			▲				▲	▲
f14					▼	▼																		
f2		▼		▼	▼		▼	▼																
f3										▲														
f4					▼	▼																		

M = Medium, P = Partikel, E = Endotoxin (LPS)

Für inhalative Allergene fanden sich vor allem positive Zusammenhänge zwischen dem Nachweis von spezifischem IgE und erhöhten Spiegeln an IL-4 und IL-5 in PHA-stimulierten Ansätzen. So ließen sich diese bei Sensibilisierungen gegen das Milbenallergen, Katzen- und Hundeschuppen, Roggen-, Lieschgras und Beifußpollen, Cladosporium herb. und der Inhalationsallergenmischung nachweisen. Spezifisches IgE gegen Tierschuppen und Schimmelpilze war zudem positiv mit IL-8 und MCP-1 (LPS) assoziiert. Probanden, bei denen eine Sensibilisierung gegen die Inhalationsallergenmischung nachgewiesen werden konnte, hatten ebenfalls signifikant erhöhte Spiegel an IL-8 (LPS). Allein das Vorhandensein von spezifischem IgE gegen Beifußpollen war negativ mit IFN- $\gamma$  (Medium), IL-6

(Partikel) und TNF- $\alpha$  (Partikel) assoziiert, während die Sensibilisierung gegen Birkenpollen mit erhöhten Konzentrationen an RANTES (PHA) einherging.

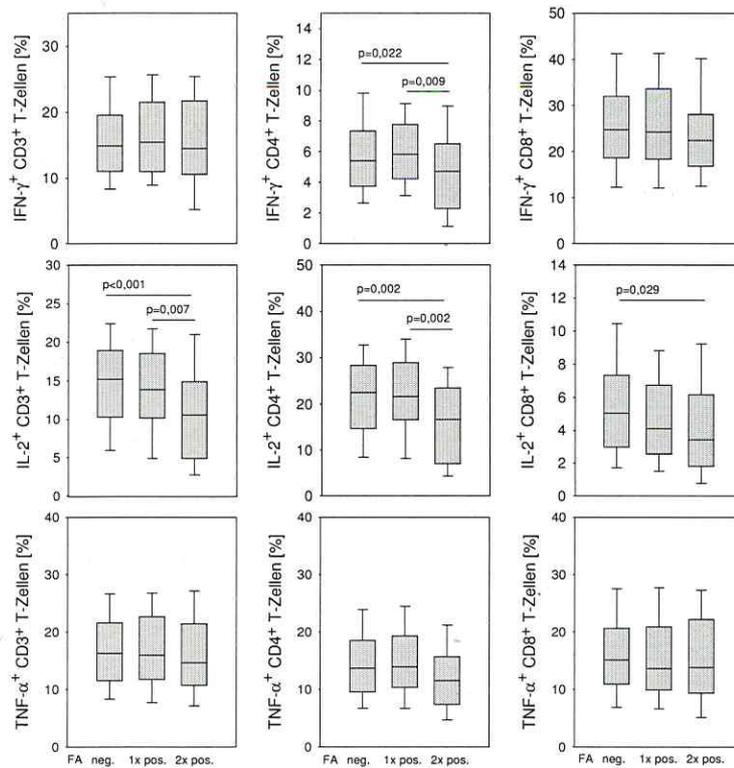
Sensibilisierungen gegen Nahrungsmittelallergene waren außer für Erdnuss und Dorsch mit erniedrigten Konzentrationen an TNF- $\alpha$  (Medium bzw. Partikel) assoziiert. Das Vorhandensein von spezifischem IgE gegen Kuhmilchprotein ging zusätzlich mit Erniedrigungen von IFN- $\gamma$  (Partikel), IL-6 (Medium, Partikel) und IL-10 (Medium) einher. Weiterhin ließen sich Zusammenhänge zwischen spezifischem IgE gegen Dorsch und erhöhten MCP-1-Spiegeln (LPS) sowie zwischen IgE gegen Erdnuss und erhöhten Konzentrationen an IL-4, IL-5 und RANTES (PHA) nachweisen. Eine Sensibilisierung gegen Allergene der Kindernahrungsmischung war mit den Konzentrationen von IFN- $\gamma$  (Medium) und IL-6 (Medium) negativ bzw. mit den Konzentrationen von IL-5 (PHA) positiv assoziiert.

## 3.2 Einfluss der atopischen Familienanamnese

### 3.2.1 T-Zell-Zytokine und atopische Familienanamnese

Bezüglich des Risikofaktors „atopische Familienanamnese“ waren 102 Kinder (32,7 %) durch ein Elternteil und 34 Kinder (10,9 %) durch beide Elternteile atopisch vorbelastet. 176 Kinder (56,4 %) wiesen eine negative Familienanamnese auf. Die intrazelluläre Zytokinproduktion der T-Zellen dieser drei Gruppen wurde mit Hilfe des Rangsummen-Tests (U-Test) nach Mann-Whitney verglichen. Kinder mit einer doppelt positiven Familienanamnese zeigten im Trend eine geringere Produktion aller Th1-Zytokine im Vergleich zu den übrigen Kindern.

Der Vergleich der Anteile TNF- $\alpha$  produzierender T-Zellen erbrachte keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den drei Gruppen. Tendenziell waren sie jedoch in der Gruppe mit doppelt positiver Familienanamnese am niedrigsten (Abb. 3.1).



**Abb. 3.1:** Anteile der IFN- $\gamma$ , IL-2 und TNF- $\alpha$  produzierenden T-Lymphozytenpopulationen [%] in Abhängigkeit von der atopischen Familienanamnese. Dargestellt sind Median und Interquartile (Box), 10. und 90. Perzentile (Whisker) sowie p-Werte des U-Tests  $< 0,05$

Für IL-13 und IL-4 fanden sich bei Kindern mit einfach positiver Familienanamnese die höchsten Anteile Zytokin produzierender Zellen. In der CD4<sup>+</sup>-T-Zell-Population waren die erhöhte Synthese von IL-13 bei Erkrankung eines Elternteils im Vergleich zu Kindern ohne familiäre Belastung und die Produktion von IL-4 im Vergleich zu den Gruppen ohne bzw. mit doppelter familiärer Belastung signifikant (Abb. 3.2).

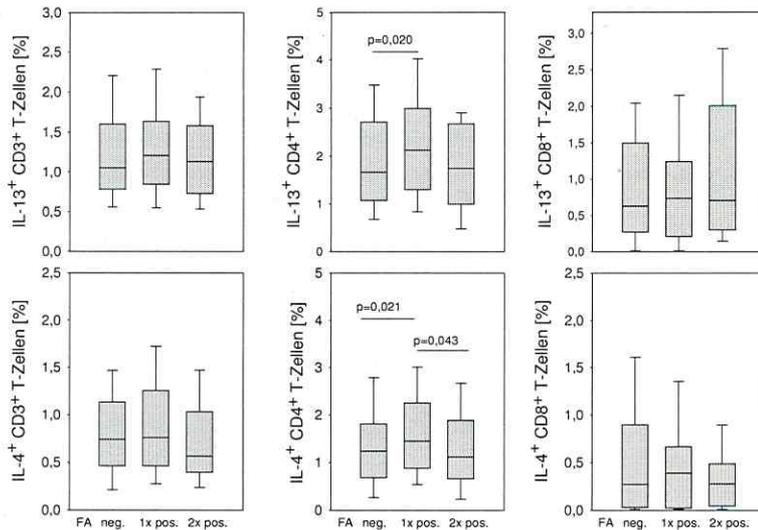


Abb. 3.2: Anteile der IL-13 und IL-4 produzierenden T-Lymphozytenpopulationen [%] in Abhängigkeit von der atopischen Familienanamnese. Dargestellt sind Median und Interquartile (Box), 10. und 90. Perzentile (Whisker) sowie p-Werte des U-Tests  $< 0,05$

### 3.2.2 Im Vollblutassay analysierte Immunparameter und atopische Familienanamnese

Innerhalb der Subkohorte, für die Daten aus der CBA-Messung vorlagen, befanden sich 181 Kinder (56,6 %) mit negativer, 105 Kinder (32,8 %) mit einfach positiver und 34 Kinder (10,6 %) mit doppelt positiver atopischer Familienanamnese. Der Vergleich der Zytokin-konzentrationen innerhalb dieser Gruppen erfolgte mittels U-Test (Daten nicht gezeigt). Kinder mit negativer Familienanamnese zeigten in partikelstimulierten Ansätzen knapp signifikant höhere Spiegel an IFN- $\gamma$  ( $p_{U\text{-Test}} = 0,0499$ ) als Kinder mit einfacher oder doppelter atopischer Vorbelastung. Dagegen fanden sich bei Kindern mit doppelt positiver Familienanamnese, verglichen mit Kindern, die nicht oder nur durch ein Elternteil atopisch belastet waren, erhöhte Konzentrationen an IL-4 ( $p_{U\text{-Test}} = 0,028$ ) in unstimulierten Ansätzen. Weiterhin ließen sich in der Kohorte, die durch ein Elternteil atopisch vorbelastet war, signifikante Konzentrationserhöhungen von Eotaxin beobachten (Medium:  $p_{U\text{-Test}} = 0,038$ ; PHA:  $p_{U\text{-Test}} = 0,034$ ).

**Tabelle 3.8:** Sensibilisierungshäufigkeiten in Abhängigkeit von der atopischen Familienanamnese und Odds Ratios für das Sensibilisierungsrisiko bei doppelt positiver Familienanamnese

	gesamt	neg. FA	einfach pos. FA	doppelt pos. FA	doppelt vs neg./einfach pos. FA		p*
	n/N (%)	n/N (%)	n/N (%)	n/N (%)	OR [95%-CI]	OR* [95%-CI]	
<b>ges. IgE</b>	44/324 (13,6)	23/183 (12,6)	14/106 (13,2)	7/35 (20,0)	1,70 [0,69;4,19]	1,97 [0,77;5,04]	0,523
<b>spez. IgE</b>	105/324 (32,4)	51/183 (27,9)	34/106 (32,1)	20/35 (57,1)	<b>3,20</b> <b>[1,56;6,57]</b>	<b>3,73</b> <b>[1,71;8,13]</b>	<b>0,000</b>
<b>Mx1</b>	26/252 (10,3)	13/136 (9,6)	6/85 (7,1)	7/31 (22,6)	<b>3,10</b> <b>[1,18;8,17]</b>	4,53 [1,57;13,03]	0,077
<b>Fx5</b>	42/324 (13,0)	21/183 (11,5)	17/106 (16,0)	4/35 (11,4)	0,85 [0,28;2,56]	0,87 [0,27;2,75]	0,009
<b>f1</b>	12/324 (3,7)	7/183 (3,8)	5/106 (4,7)	0/35 0	- -	- -	-
<b>f13</b>	12/324 (3,7)	5/183 (2,7)	6/106 (5,7)	1/35 (2,9)	- -	- -	-
<b>f14</b>	9/324 (4,0)	4/183 (2,2)	4/106 (3,8)	1/35 (2,9)	- -	- -	-
<b>f2</b>	20/324 (6,2)	9/183 (4,9)	9/106 (8,5)	2/35 (5,7)	- -	- -	-
<b>f3</b>	5/324 (1,5)	3/183 (1,6)	1/106 (0,9)	1/35 (2,9)	- -	- -	-
<b>f4</b>	10/324 (3,1)	5/183 (2,7)	4/106 (3,8)	1/35 (2,9)	- -	- -	-
<b>Sx1</b>	93/324 (28,7)	45/183 (24,6)	28/106 (26,4)	20/35 (57,1)	<b>3,95</b> <b>[1,91;8,15]</b>	<b>5,00</b> <b>[2,26;11,03]</b>	<b>0,000</b>
<b>d1</b>	53/324 (16,6)	26/183 (14,2)	13/106 (12,4)	14/35 (40,0)	<b>4,26</b> <b>[1,99;9,10]</b>	<b>4,37</b> <b>[1,98;9,65]</b>	<b>0,202</b>
<b>e1</b>	20/324 (6,2)	8/183 (4,4)	8/106 (7,6)	4/35 (11,4)	2,19 [0,69;7,01]	2,56 [0,77;8,56]	0,610
<b>e5</b>	13/324 (4,0)	5/183 (2,7)	4/106 (3,8)	4/35 (11,4)	<b>4,00</b> <b>[1,16;13,79]</b>	4,30 [1,19;15,53]	0,452
<b>g12</b>	39/324 (12,0)	18/183 (9,8)	12/106 (11,4)	9/35 (25,7)	<b>2,98</b> <b>[1,27;6,98]</b>	<b>3,62</b> <b>[1,47;8,92]</b>	<b>0,031</b>
<b>g6</b>	46/324 (14,2)	22/183 (12,0)	14/106 (13,3)	10/35 (28,6)	<b>2,80</b> <b>[1,24;6,33]</b>	<b>3,67</b> <b>[1,54;8,77]</b>	<b>0,004</b>
<b>m2</b>	6/324 (1,9)	1/183 (0,5)	3/106 (2,9)	2/35 (5,7)	- -	- -	-
<b>t3</b>	35/324 (10,8)	18/183 (9,8)	11/106 (10,5)	6/35 (17,1)	1,85 [0,71;4,84]	1,65 [0,55;4,95]	0,029
<b>w6</b>	21/324 (6,5)	11/183 (6,0)	7/106 (6,7)	3/35 (8,6)	- -	- -	-

OR = Odds Ratio der Rohdaten, OR\* = Odds Ratio adjustiert auf Geschlecht, Rauchen in der Schwangerschaft, Stillen für mind. 4 Monate, Geschwister, Bildungsindex, Haustier Katze, p\* = p-Wert des Modells

### 3.2.3 Allergische Sensibilisierung und atopische Familienanamnese

Die Bestimmung des gesamten und spezifischen IgE im Nativblut erfolgte bei insgesamt 324 Kindern. Tabelle 3.8 zeigt die Prävalenzen der Sensibilisierung gegen Allergenmischungen,

Einzelallergene und für erhöhtes Gesamt-IgE in der Gesamtkohorte sowie den Gruppen mit negativer, einfach positiver und doppelt positiver atopischer Familienanamnese. In der Gesamtkohorte waren Sensibilisierungen gegen Inhalationsallergene mehr als doppelt so häufig wie Sensibilisierungen gegen Nahrungsallergene (28,7 % versus 13,0 %). Während in der Gruppe mit einfach positiver Familienanamnese die Prävalenzen der Sensibilisierungen gegenüber der Gruppe ohne atopische Vorbelastung nur geringfügig höher waren, fanden sich bei doppelt positiver Familienanamnese, ausgenommen der Nahrungsmittelallergene, deutlich höhere Prävalenzen. Das Vorhandensein von spezifischem IgE lag dort bei 57,1 %, im Gegensatz zu 27,9 % bei negativer bzw. 32,1 % bei einfach positiver Familienanamnese. Für Sensibilisierungen gegen inhalative Allergene bestand ein ähnliches Verhältnis.

Das Risiko für Sensibilisierungen bei zweifacher atopischer Vorbelastung, verglichen mit den restlichen Kindern, wurde mittels logistischer Regression bestimmt. Um statistisch sinnvolle Maßzahlen zu erhalten, wurde die Berechnung nur bei Prävalenzen über 9 % durchgeführt. Kinder mit biparentaler atopischer Belastung besaßen ein drei- bis fünffach höheres Sensibilisierungsrisiko für verschiedene inhalative Allergene. Nach einer Adjustierung auf bekannte Einflussfaktoren blieb die Risikoerhöhung für das Vorhandensein von spezifischem IgE sowie Sensibilisierungen gegen Allergene der Inhalationsmischung sowie Roggen- und Gräserpollen signifikant erhalten.

### 3.3 Einfluss des Geschlechts

#### 3.3.1 Zytokine, Chemokine und Geschlecht

Die Subkohorte der LISA-Probanden mit Daten zu den Anteilen Zytokin produzierender T-Zellen bestand aus 163 (52,2 %) Jungen und 149 (47,8 %) Mädchen. Es ließen sich im U-Test keinerlei statistisch signifikante Unterschiede in der intrazellulären Zytokinproduktion zwischen Jungen und Mädchen nachweisen (Daten nicht gezeigt).

Der Vergleich der Immunparameter aus dem Vollblutassay (167 Jungen, 153 Mädchen) ergab für Jungen signifikant höhere Spiegel an Eotaxin (unstimuliert:  $p_{U\text{-Test}} = 0,002$ , PHA:  $p_{U\text{-Test}} = 0,001$ ).

### 3.3.2 Allergische Sensibilisierung und Geschlecht

Die Sensibilisierungsprävalenzen der Studienkohorte wurden hinsichtlich eines Geschlechtsunterschiedes mittels  $\chi^2$ -Test überprüft. Jungen zeigten außer für Milcheiweiß generell höhere Sensibilisierungsraten als Mädchen. Der Unterschied war jedoch nur für spezifisches IgE gegen die Inhalationsallergenmischung statistisch signifikant. In Tabelle 3.9 sind die Prävalenzen für erhöhtes Gesamt-IgE, spezifisches IgE und Sensibilisierungen gegen Allergenmischungen aufgeführt.

**Tabelle 3.9:** Zusammenhang zwischen Gesamt-IgE bzw. Sensibilisierungen gegen Allergenmischungen und Geschlecht

	Mädchen n/N (%)	Jungen n/N (%)	P <sub>2</sub>
Gesamt-IgE	17/155 (11)	27/169 (16)	0,189
spez. IgE	42/155 (27)	63/169 (37)	0,051
Fx5	17/155 (11)	25/169 (15)	0,306
Mx1	11/119 (9)	15/133 (11)	0,596
Sx1	36/155 (23)	57/169 (34)	<b>0,037</b>

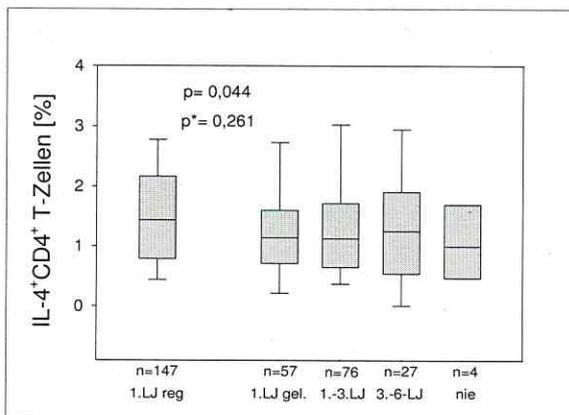
p-Wert des  $\chi^2$ -Tests < 0,05 hervorgehoben

### 3.4 Schwimmen in chloriertem Wasser

Anhand der Frage, in welchem Alter das Kind zum ersten Mal in einem Freibad, Swimming Pool oder Hallenbad gebadet hat, wurden mögliche Auswirkungen der Belastung durch chloriertes Wasser auf die Zytokinproduktion im sechsten Lebensjahr untersucht. 47 % der Eltern (147 von 312) gaben an, mit ihrem Kind regelmäßig am Babyschwimmen teilgenommen zu haben, während nur etwa 1 % der Kinder (4 von 312) bis zum Zeitpunkt der Befragung noch nie ein Schwimmbad besucht hatte. Zur Erfassung von Expositionen im sechsten Lebensjahr wurde die Häufigkeit der Schwimmbadbesuche in den letzten zwölf Monaten getrennt nach Frühling/Sommer und Herbst/Winter erfragt.

### 3.4.1 T-Zell-Zytokine und Schwimmen in chloriertem Wasser

Kinder, die im ersten Lebensjahr regelmäßig in chloriertem Wasser geschwommen waren, zeigten im Vergleich mit allen anderen Kindern im U-Test eine signifikant erhöhte Produktion von IL-4 in der CD4<sup>+</sup>- (Abb. 3.3) und CD8<sup>+</sup>-T-Zell-Population ( $p_{U\text{-Test}}=0,049$ ). Da der Geburtsmonat, eine doppelt positive Familienanamnese und der Zigarettenkonsum der Eltern Einfluss auf die intrazelluläre Zytokinproduktion zeigten, wurde die Auswirkung des Schwimmens gemeinsam mit diesen Variablen in einer multiplen Regressionsgleichung untersucht. Dabei war der im U-Test signifikante Zusammenhang nicht zu beobachten.



**Abb. 3.3:** Zusammenhang zwischen IL-4 produzierenden CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten [%] und Alter des ersten Schwimmbadbesuches. Dargestellt sind Median und Interquartile (Box) sowie 10. und 90. Perzentile (Whisker). p\* = p-Wert der multiplen Regression (adjustiert auf Geburtsmonat, doppelt positive Familienanamnese, Zigarettenkonsum der Eltern)

Für die Th1-Zytokine IFN- $\gamma$  und TNF- $\alpha$  fanden sich dagegen erniedrigte Syntheseraten in T-Lymphozyten von Kindern, die im ersten Lebensjahr regelmäßig, gelegentlich oder zwischen dem ersten und dritten Geburtstag in chloriertem Wasser gebadet hatten, im Gegensatz zu denjenigen, die erst nach dem dritten Geburtstag oder noch nie im Schwimmbad waren. Beim Zusammenfassen der Gruppen zu einer Gruppe von Kindern, die bis zum dritten Lebensjahr erstmalig in chloriertem Wasser badeten, erreichte der Unterschied das Signifikanzniveau gegenüber den restlichen Kindern. In der oben beschriebenen Regressionsanalyse konnte die Assoziation für TNF- $\alpha$  mit statistischer Signifikanz bestätigt werden (Abb. 3.4).

Die Untersuchung des Zusammenhangs zwischen Expositionen im sechsten Lebensjahr und intrazellulärer Zytokinproduktion zeigte für IL-2, IL-4 und IL-13 weder im Frühling/Sommer, noch im Herbst/Winter eine Assoziation zur Häufigkeit des Schwimmens in

chloriertem Wasser. Bei Kindern, die im sechsten Lebensjahr nie ein Schwimmbad besucht hatten, wurden in beiden Jahreshälften tendenziell erhöhte Anteile für die IFN- $\gamma$ - und TNF- $\alpha$ -Synthese in allen T-Zell-Populationen beobachtet. Dieser Unterschied war im Winter für IFN- $\gamma$  in CD3<sup>+</sup>-T-Zellen bei Kindern signifikant, die nie in chloriertem Wasser badeten, verglichen mit denen, die einmal pro Woche ins Schwimmbad gingen. In der multiplen Regression mit den genannten Kovariablen wurde das Signifikanzniveau knapp verfehlt (Abb. 3.5).

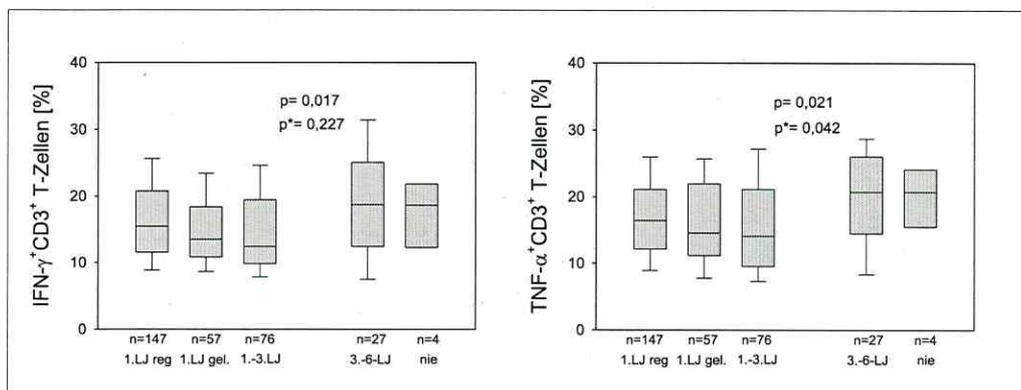


Abb. 3.4: Zusammenhang zwischen IFN- $\gamma$  und TNF- $\alpha$  produzierenden CD3<sup>+</sup>-T-Lymphozyten und Alter des ersten Schwimmbadbesuches. Dargestellt sind Median und Interquartile (Box) sowie 10. und 90. Perzentile (Whisker). p\* = p-Werte der multiplen Regression (adjustiert auf Geburtsmonat, doppelt positive Familienanamnese, Zigarettenkonsum der Eltern)

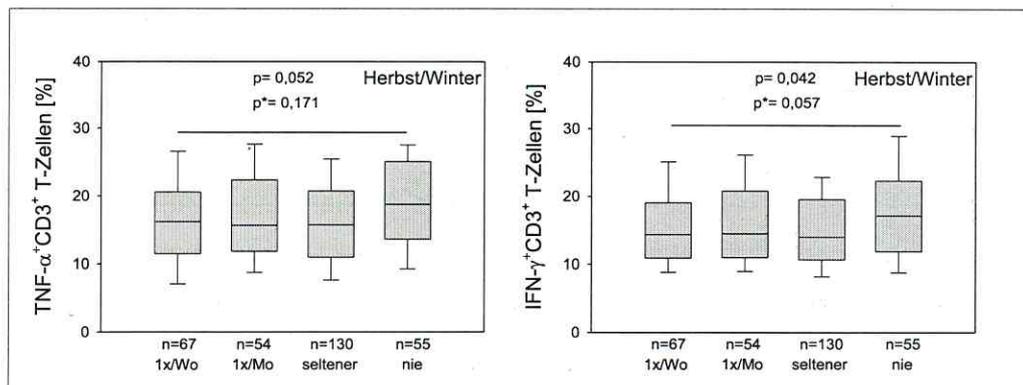
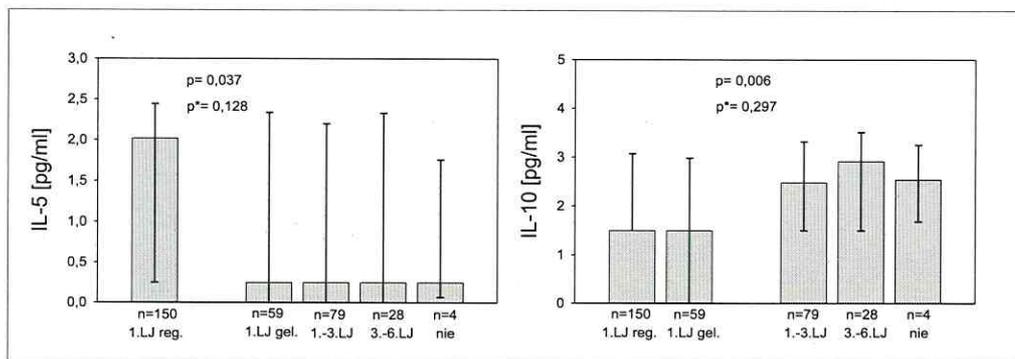


Abb. 3.5: Zusammenhang zwischen IFN- $\gamma$  bzw. TNF- $\alpha$  produzierenden CD3<sup>+</sup>-T-Zellen [%] und Häufigkeit der Schwimmbadbesuche der letzten 12 Monate im Herbst/Winter. Dargestellt sind Median und Interquartile (Box) sowie 10. und 90. Perzentile (Whisker). p\* = p-Werte der multiplen Regression (adjustiert auf positive Familienanamnese, Geburtsmonat, Zigarettenkonsum der Eltern)

### 3.4.2 Im Vollblutassay analysierte Immunparameter und Schwimmen in chloriertem Wasser

Die Untersuchung der Zytokin- bzw. Chemokinkonzentrationen in Abhängigkeit vom Zeitpunkt des ersten Schwimmbadbesuches ergab für IL-5 und IL-10 signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen. Kinder, die im ersten Lebensjahr regelmäßig chloriertem Wasser ausgesetzt waren, zeigten in unstimulierten Ansätzen signifikant höhere Konzentrationen an IL-5 als die restlichen Kinder. Für IL-10 fanden sich bei Kindern, die im ersten Lebensjahr exponiert waren, erniedrigte Konzentrationen, im Gegensatz zu denen, die erst danach erstmalig ein Schwimmbad besuchten. Beide Effekte blieben jedoch in der multiplen Regression mit den Variablen „Renovieren“, „mehr als ein jüngeres Geschwisterkind“ und „elterlicher Konsum von über 14 Zigaretten pro Tag“ nicht bestehen (Abb. 3.6).

Schwimmbadbesuche im sechsten Lebensjahr zeigten keine statistisch signifikanten Zusammenhänge zu erhöhten oder erniedrigten Zytokinkonzentrationen im Vollblutassay.



**Abb. 3.6:** Zusammenhang zwischen IL-5 und IL-10 [pg/ml] in unstimulierten Ansätzen und Alter des ersten Schwimmbadbesuches. Dargestellt sind Median (Balken) sowie 25. und 75. Perzentile (Whisker).  $p^*$  = p-Werte der multiplen Regression (adjustiert auf Renovieren, mehr als ein jüngeres Geschwisterkind, Zigarettenkonsum der Eltern > 14 Zig/d)

## 3.5 Schimmelpilzbelastung

### 3.5.1 T-Zell-Zytokine und Schimmelpilzbelastungen

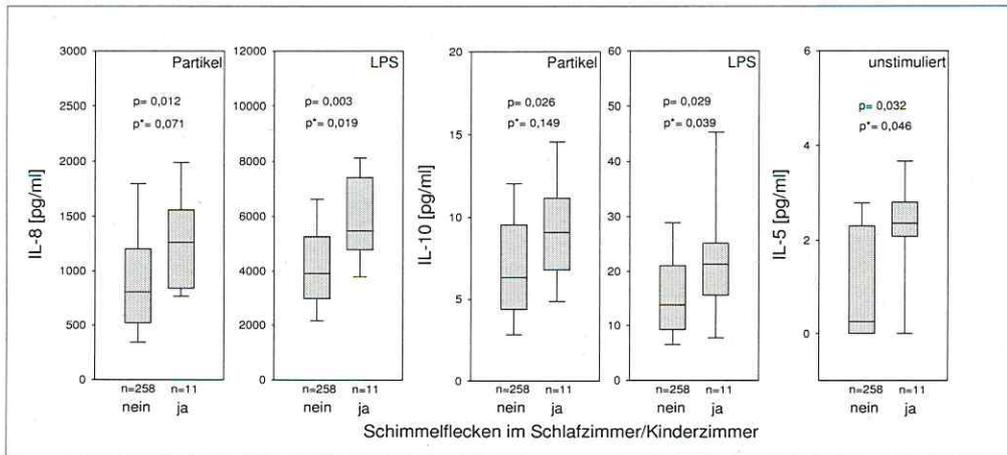
Die Befragung der Eltern im sechsten Lebensjahr der Kinder ergab, dass 5 von 309 ihre Wohnung als feucht bezeichnen würden. Bei 11 Probanden gab es Schimmelflecken im

Kinderzimmer, während bei 46 bzw. 59 Probanden Schimmelflecken in der übrigen Wohnung bzw. im Keller vorhanden waren. Im U-Test fanden sich bei Kindern aus feuchten Wohnungen signifikant erhöhte Anteile an IL-13 produzierenden T-Zellen. Allerdings ist dieser Zusammenhang aufgrund der geringen Fallzahl von Probanden mit einer feuchten Wohnung kritisch zu werten. Der Zusammenhang konnte entsprechend in einer multiplen Regression mit den Kovariablen „doppelt positive Familienanamnese“, „Aufstellen neuer Möbel im Kinderzimmer“, „Zigarettenkonsum der Eltern“ und „mehr als ein jüngeres Geschwisterkind“ nicht bestätigt werden. Für die Angabe von Schimmelflecken in der übrigen Wohnung fanden sich keine signifikanten Assoziationen zur intrazellulären Zytokinsynthese.

### 3.5.2 Im Vollblutassay analysierte Immunparameter und Schimmelpilzbelastungen

Immunparameter des Vollblutes waren ebenfalls mit Schimmelpilzexpositionen in der Wohnung assoziiert. Auf Rohdatenebene zeigten Probanden, die in feuchten Wohnungen lebten (5 von 317) signifikant erhöhte Konzentrationen an IL-10 in unstimulierten Ansätzen ( $p_{U-Test} = 0,043$ ). Der Zusammenhang blieb bei gemeinsamer Betrachtung mit den Variablen „Renovieren“, „mehr als ein jüngeres Geschwisterkind“ und „Zigarettenkonsum der Eltern über 14 Zigaretten pro Tag“ in einer multiplen Regressionsgleichung nicht bestehen. Waren im Schlaf- bzw. Kinderzimmer Schimmelflecken vorhanden, ließen sich erhöhte Konzentrationen verschiedener Chemokine und Th2-Zytokine beobachten. So fanden sich im U-Test signifikante Konzentrationsunterschiede für IL-8 und IL-10 in LPS- und partikelstimulierten Ansätzen (Abb. 3.7), für MCP-1 nur in partikelstimulierten Ansätzen (Daten nicht dargestellt) sowie für IL-5 in unstimulierten Proben (Abb.3.7). Die multiple Regression mit genannten Variablen bestätigte jedoch nur den Zusammenhang für IL-5 (Medium), IL-8 und IL-10 (LPS).

Das Vorhandensein von Schimmelflecken in der übrigen Wohnung ging ebenfalls mit einer signifikanten IL-5-Konzentrationserhöhung ( $p_{U-Test} = 0,004$ ), aber auch mit einer knapp signifikanten Erniedrigung von PHA-stimulierten IL-10-Spiegeln ( $p_{U-Test} = 0,049$ ) einher. Beides fand in der multiplen Regression mit den identifizierten Einflussfaktoren keine Bestätigung.



**Abb.3.7:** Zusammenhang zwischen IL-8, IL-10, IL-5 [pg/ml] und Schimmelpilzbelastungen im Schlaf- bzw. Kinderzimmer. Dargestellt sind Median und Interquartile (Box) sowie 10. und 90. Perzentile (Whisker).  $p^*$  = p-Werte der multiplen Regression (adjustiert auf mehr als ein jüngeres Geschwisterkind, Renovieren, Zigarettenkonsum der Eltern >14 Zig/d)

### 3.6 Renovierungsaktivitäten

Als Renovierungstätigkeiten sollten das Durchführen von Malerarbeiten, das Aufstellen neuer Möbel und das Verlegen von neuem Fußboden erfasst werden. Es zeigte sich, dass viele Eltern die global gestellte Frage „Wurde Ihre Wohnung renoviert?“ nicht als solche verstanden hatten, da nur ca. 67 % (89 von 131), in deren Wohnung gemalert oder Fußboden verlegt wurde, die Frage mit „Ja“ beantworteten. Zudem fanden bei 54 von 56 Probanden, in deren Wohnung neuer Fußboden verlegt wurde, zugleich Malerarbeiten im sechsten Lebensjahr statt. Um den Einfluss der Renovierungstätigkeiten getrennt und als Summe untersuchen zu können, wurden die Probanden folgenden Belastungsgruppen zugeteilt:

- keinerlei Renovierungsarbeiten oder Aufstellen neuer Möbel (n = 123),
- nur Malerarbeiten (n = 37),
- nur Aufstellen neuer Möbel (n = 48),
- Malerarbeiten und Aufstellen neuer Möbel (n = 38),
- Fußbodenverlegung und Malern und/oder Aufstellen neuer Möbel (n = 55).

### 3.6.1 T-Zell-Zytokine und Renovierungsaktivitäten

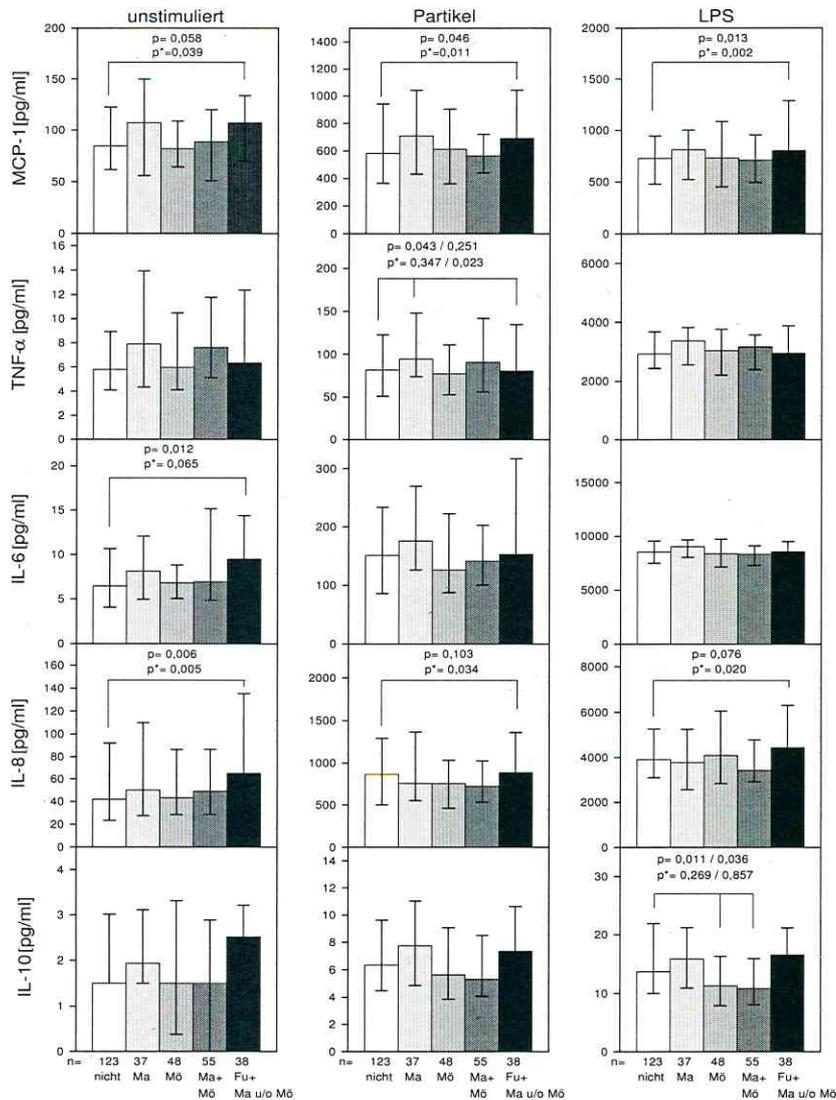
Es wurden keinerlei signifikante Assoziationen zwischen den verschiedenen Renovierungsaktivitäten einschließlich des Materials der aufgestellten Möbel und des verlegten Fußbodens und der intrazellulären Zytokinsynthese gefunden (Daten nicht gezeigt).

### 3.6.2 Im Vollblutassay analysierte Immunparameter und Renovierungsaktivitäten

Für Renovierungsaktivitäten im sechsten Lebensjahr konnten verschiedene Assoziationen zu Chemokin- und inflammatorischen Zytokinkonzentrationen im Vollblut beobachtet werden (Abb. 3.8). Mit Hilfe des U-Tests wurden jeweils die Parameter der Kinder, in deren Wohnung keinerlei Renovierungsaktivitäten stattgefunden hatten, mit denen jeder Belastungsgruppe verglichen. Während sich für Malerarbeiten nur auf Rohdatenebene eine signifikante TNF- $\alpha$ -Erhöhung (Partikel) und für die Kombination von Malerarbeiten und Aufstellen von Möbeln eine Verminderung der IL-10-Konzentration fanden, war Malern und/oder das Aufstellen neuer Möbel in Verbindung mit dem Verlegen von neuem Fußboden mit einer signifikanten Erhöhung der Konzentrationen von MCP-1, IL-6 und IL-8 assoziiert. Für IL-10 zeigte sich ein gleichgerichteter Trend, der das Signifikanzniveau jedoch nicht erreichte. Die beschriebenen Zusammenhänge wurden in einem multiplen Regressionsmodell mit Adjustierung auf „Schimmelflecken im Kinderzimmer“, „elterlichem Zigarettenkonsum von mehr als 14 Zigaretten pro Tag“ und „Vorhandensein von mehr als einem jüngeren Geschwisterkind“ überprüft. Es konnten außer der Erhöhung der Konzentrationen von IL-6 in unstimulierten Ansätzen alle Signifikanzen des U-Tests bestätigt werden (Abb. 3.8).

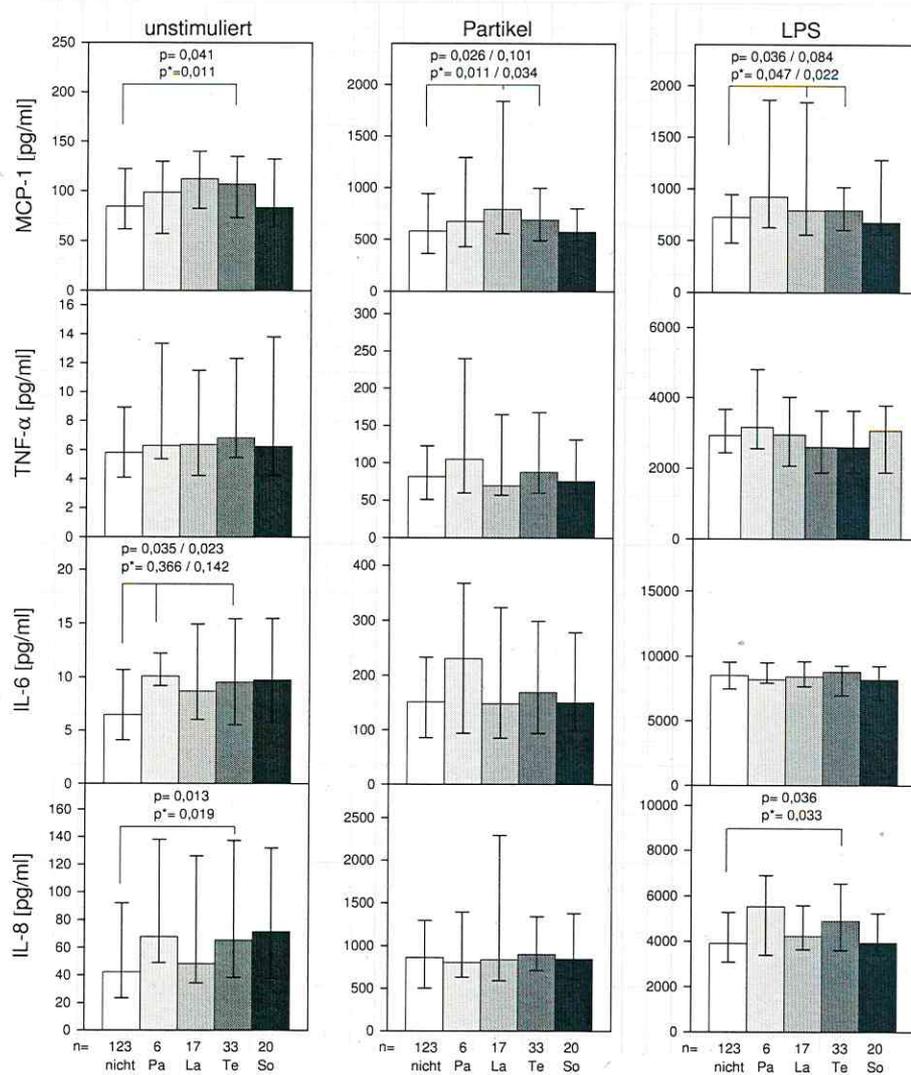
Die Analyse des Materials des Fußbodens zeigte im U-Test bzw. in der multiplen Regression, dass die Verlegung von Teppichboden mit gesteigerten Konzentrationen von MCP-1 (Medium, Partikel, LPS) und IL-8 (Medium, LPS) einherging. Eine ebenfalls erhöhte Konzentration von IL-6 (Medium) im Zusammenhang mit Teppichboden- oder Parkettverlegung konnte im multiplen Regressionsmodell nicht bestätigt werden. Wurde in der Wohnung Laminat verlegt, ging dies sowohl im U-Test als auch im Modell mit erhöhten MCP-1-Konzentrationen in Partikel- und LPS-stimulierten Ansätzen einher. Auf die Konzentrationen von TNF- $\alpha$  wurden keine signifikanten Einflüsse in Abhängigkeit vom Fußbodenmaterial beobachtet (Abb. 3.9). Für die unterschiedlichen Materialien der

aufgestellten Möbel ließen sich keine signifikanten Beziehungen zu den im Vollblut analysierten Immunparametern nachweisen (Daten nicht gezeigt).



**Abb. 3.8:** Zusammenhang zwischen MCP-1, TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8, IL-10 [pg/ml] und Renovierungsarbeiten im 6. LJ. Dargestellt sind Median (Balken), 25. und 75. Perzentile (Whisker) sowie p-Werte < 0,05 und entsprechende p\* = p-Werte der multiplen Regression im Vergleich mit den Renovierungsaktivitäten (adjustiert auf Schimmelflecken im Kinderzimmer, Zigarettenkonsum der Eltern >14 Zig/d, mehr als ein jüngeres Geschwisterkind).

nicht = keine Renovierungsarbeiten, Ma = nur Malern, M6 = nur neue Möbel aufgestellt, Ma+M6 = Malern und neue Möbel aufgestellt, FU+Ma u/o M6 = Fußboden verlegt und Malern und/oder neue Möbel aufgestellt



**Abb. 3.9:** Zusammenhang zwischen MCP-1, TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8 [pg/ml] und Fußbodenverlegung im 6. LJ. Dargestellt sind Median (Balken), 25. und 75. Perzentile (Whisker) sowie p-Werte < 0,05 und entsprechende p\* = p-Werte der multiplen Regression im Vergleich mit Fußbodenmaterialien (adjustiert auf Schimmelflecken im Kinderzimmer, Rauchen in der Wohnung, mehr als ein jüngeres Geschwisterkind).  
 nicht = keine Renovierungsarbeiten, Pa = Parkettverlegung, La = Laminatverlegung, Te = Teppichverlegung, So = sonstiges Material verlegt

### 3.7 Zigarettenrauchexpositionen

Im sechsten Lebensjahr wurden Daten zum Passivrauchen getrennt nach Expositionen innerhalb und außerhalb der eigenen Wohnung erhoben. Die Angaben zur Häufigkeit des Rauchens in der eigenen Wohnung wurden in drei Gruppen zusammengefasst:

- täglich geraucht,
- < täglich geraucht (gelegentliche bis wöchentliche Rauchexposition) und
- nie geraucht.

Weiterhin wurde die Anzahl der von Vater, Mutter und anderen Personen gerauchten Zigaretten pro Tag erfragt. Um die Intensität der Rauchbelastung der Probanden einzuschätzen, wurden anhand der gerauchten Zigarettenanzahl von Vater und Mutter (Summe aus beiden) folgende Gruppen gebildet:

- Nichtraucher,
- 1-4 Zigaretten pro Tag,
- 5-9 Zigaretten pro Tag,
- 10-14 Zigaretten pro Tag und
- mehr als 14 Zigaretten pro Tag.

#### 3.7.1 T-Zell-Zytokine und Passivrauchexpositionen

Es konnten keinerlei Zusammenhänge zwischen der Häufigkeit der Zigarettenrauchbelastungen außerhalb oder in der eigenen Wohnung und der Zytokinproduktion der T-Lymphozyten beobachtet werden.

Der Zusammenhang zwischen Anzahl täglich gerauchter Zigaretten und Zytokinproduktion der T-Zellen zeigte sich sehr inkonsistent. Im U-Test wies die Gruppe mit täglicher Rauchbelastung von 5-9 Zigaretten im Vergleich mit unbelasteten Probanden sowohl signifikante Verringerungen der Produktion von IFN- $\gamma$  (CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>/CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>), TNF- $\alpha$  (CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>), als auch der Th2-Zytokine IL-4 (CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>) und IL-13 (CD3<sup>+</sup>) auf. Gegenätzlich dazu waren in der Gruppe, deren Eltern 10-14 Zigaretten pro Tag rauchten, die Produktion der genannten Zytokine im Trend erhöht, wobei die Erhöhung von IFN- $\gamma$  in T-Lymphozyten das Signifikanzniveau erreichte. Da die doppelt positive Familienanamnese, das Aufstellen neuer Möbel im Kinderzimmer, eine feuchte Wohnung und mehr als ein jüngeres Geschwisterkind signifikante Einflüsse auf die T-Zell-Zytokinsynthese hatten, wurde der Zusammenhang zu Zigarettenrauchbelastungen in einem multiplen Regressions-

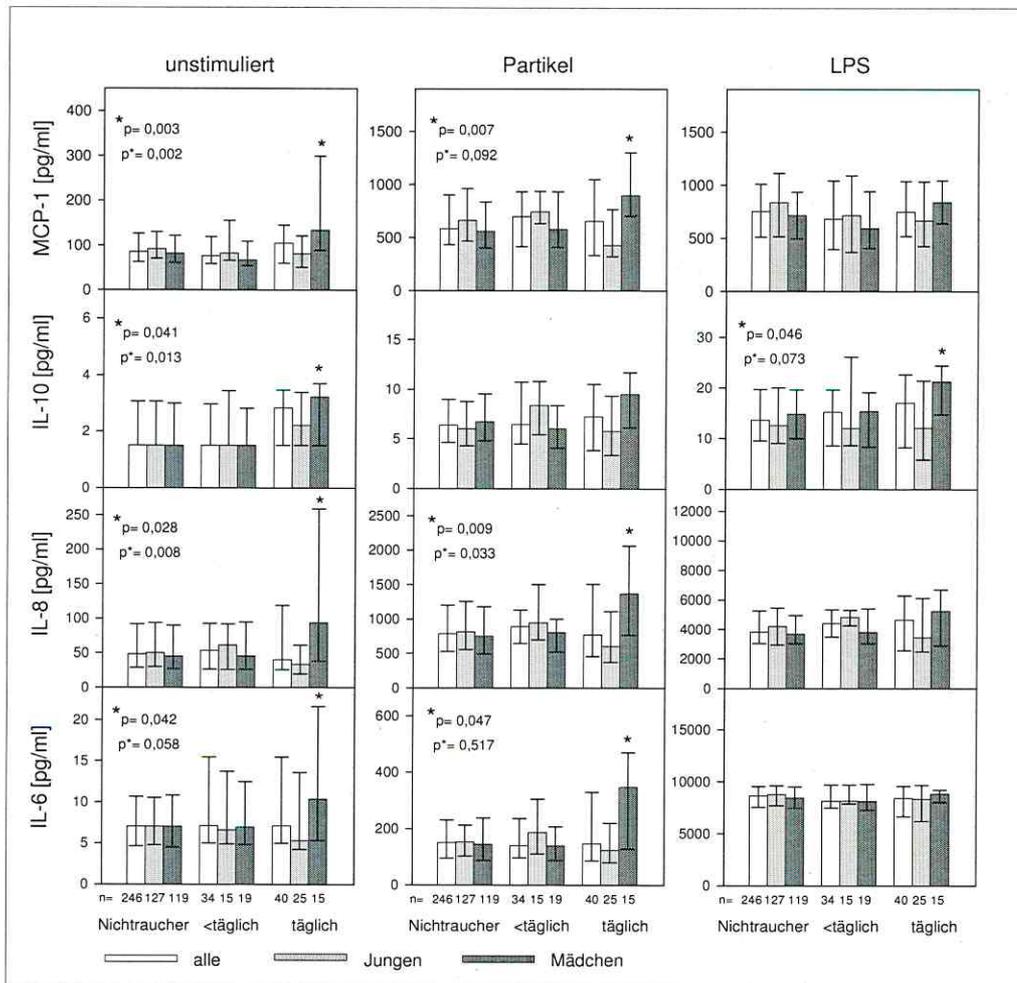
modell gleichzeitig mit diesen Faktoren untersucht. Von den anhand des U-Tests beschriebenen Zusammenhängen konnte lediglich eine signifikante Verringerung von IFN- $\gamma$  in der CD4<sup>+</sup>-Subpopulation bei einer täglichen Rauchbelastung von 5-9 Zigaretten bestätigt werden (Daten nicht gezeigt).

### 3.7.2 Im Vollblutassay analysierte Immunparameter und Passivrauchexpositionen

Im Vollblutassay wurden in der Gesamtpopulation keine signifikanten Zusammenhänge zwischen den Angaben zur Häufigkeit der Passivrauchbelastungen in- oder außerhalb der eigenen Wohnung und den Konzentrationen der Immunparameter gefunden. Aufgrund einer im Mausmodell beschriebenen geschlechtsdifferenten Suszeptibilität gegenüber Passivrauchbelastungen (Seymour et al., 2002), wurden die Zytokin- und Chemokinkonzentrationen in Abhängigkeit von Rauchbelastungen für Jungen und Mädchen getrennt untersucht. Dabei fanden sich in der Gruppe mit gelegentlicher bis wöchentlicher Belastung weder für weibliche noch für männliche Probanden signifikante Konzentrationsunterschiede, verglichen mit Probanden ohne Exposition. Waren Mädchen jedoch täglich gegenüber Zigarettenrauch in der eigenen Wohnung exponiert, reagierten sie im U-Test mit signifikant erhöhten Konzentrationen an MCP-1, IL-6, IL-8 und IL-10. Eine Erhöhung von TNF- $\alpha$  war ebenfalls tendenziell zu beobachten. Die Assoziationen für MCP-1, IL-8 und IL-10 in unstimulierten Ansätzen sowie für IL-8 in partikelstimulierten Ansätzen blieben in dem multiplen Regressionsmodell mit weiteren relevanten Einflussfaktoren (Renovieren, Schimmelflecken im Kinderzimmer, mehr als ein jüngeres Geschwisterkind) bestehen. Abbildung 3.10 zeigt die Zytokin- und Chemokinkonzentrationen der Gesamtkohorte sowie von Jungen und Mädchen in den drei Belastungsgruppen. Auf Zytokin- und Chemokinkonzentrationen der Jungen hatte tägliches Rauchen in der eigenen Wohnung keinerlei statistisch signifikanten Einfluss.

Bei Prüfung im U-Test waren bei Mädchen auch Belastungen mit Tabakrauch außerhalb der eigenen Wohnung mit erhöhten Konzentrationen der Chemokine in unstimulierten Proben assoziiert. Zur Berechnung wurde die Gruppe der Kinder, die außerhalb der eigenen Wohnung Rauch ausgesetzt war (täglich oder fast täglich, mindestens 1x/Woche, gelegentlich), mit Kindern ohne Exposition verglichen. Das Zusammenfassen der Probanden zur erstgenannten Gruppe erfolgte aufgrund geringer Fallzahlen in den Subgruppen mit häufiger Tabakrauchexposition (täglich oder fast täglich: n = 3, mindestens 1x/Woche: n = 9,

gelegentlich: n = 78). Mädchen mit Zigarettenrauchbelastung außerhalb der eigenen Wohnung (90 von 151) zeigten signifikant erhöhte Spiegel an MCP-1 ( $p_{U\text{-Test}} = 0,034$ ) und IL-8 ( $p_{U\text{-Test}} = 0,021$ ). Zusätzlich fanden sich signifikant höhere Konzentrationen an IL-4 in unstimulierten Ansätzen ( $p_{U\text{-Test}} = 0,040$ ).



**Abb. 3.10:** Zusammenhang zwischen Zytokin- bzw. Chemokinkonzentrationen [pg/ml] und der Häufigkeit des Rauchens der Eltern in der eigenen Wohnung. Dargestellt sind Median (Balken), 25. und 75. Perzentile (Whisker) sowie p-Werte  $< 0,05$  und entsprechende  $p^* = p$ -Werte der multiplen Regression (adjustiert auf Renovieren, Schimmelflecken im Kinderzimmer, mehr als ein jungeres Geschwisterkind).

In der gemeinsamen multiplen Regression mit den oben genannten Kovariablen verfehlten diese Zusammenhänge jedoch das Signifikanzniveau. Auch eine für Jungen mit Passivrauchexpositionen außerhalb der Wohnung höhere Konzentration an IFN- $\gamma$  in partikelstimulierten Ansätzen ( $p_{U\text{-Test}} = 0,0496$ ) konnte in der multiplen Regressionsgleichung nicht bestätigt werden (Daten nicht gezeigt).

In Abhängigkeit von der Intensität der Rauchexposition, festgestellt anhand der täglich gerauchten Zigarettenanzahl, konnten positive Assoziationen zwischen hohem elterlichen Zigarettenkonsum und Konzentrationen von Chemokinen und proinflammatorischen Zytokinen in der Gesamtkohorte beobachtet werden. Aufgrund geringer Fallzahlen in der hochbelasteten Gruppe (3 Väter und 2 Mütter rauchten mehr als 14 Zigaretten pro Tag) wurde auf eine getrennte Betrachtung von mütterlichem und väterlichem Rauchen verzichtet. Probanden, deren Eltern stark rauchten (über 14 Zigaretten pro Tag in Summe von Vater und Mutter), waren im Vergleich zu weniger oder nicht belasteten Probanden von signifikanten Erhöhungen der Interleukine IL-6, IL-8, IL-10 sowie MCP-1 in unstimulierten und partikelstimulierten Blutproben bzw. von TNF- $\alpha$  nur in unstimulierten Blutproben betroffen (Tab. 3.10).

Dieser Zusammenhang blieb für unstimulierte Ansätze und zusätzlich für IL-10 in partikelstimulierten Ansätzen in der multiplen Regression mit den die inflammatorischen Zytokine und Chemokine beeinflussenden Kovariablen „Renovieren“, „Schimmelflecken im Kinderzimmer“ und „mehr als ein jüngeres Geschwisterkind“ bestehen. Eine dosisabhängige Beziehung zwischen dem Zigarettenkonsum der Eltern und den Konzentrationen der Immunparameter im Vollblutassay konnte in der Gesamtkohorte jedoch nicht nachgewiesen werden (Abb. 3.11).

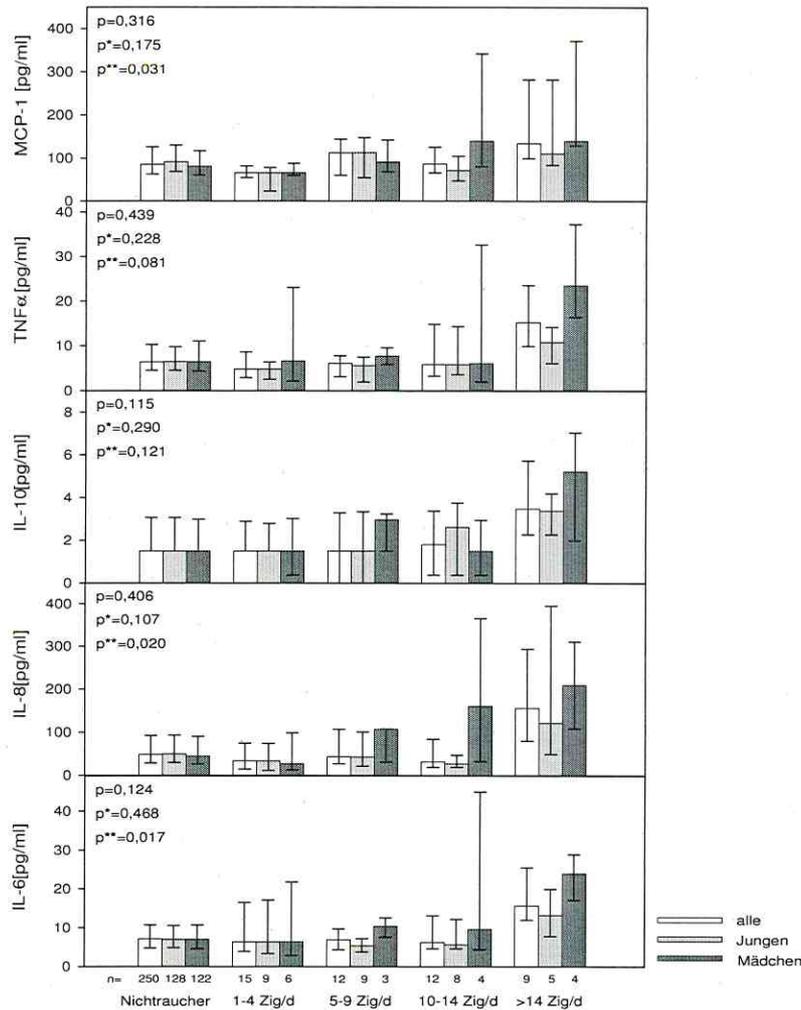
Rauchten die Eltern in Summe 1-4 Zigaretten pro Tag, ließen sich im Gruppenvergleich nach Mann-Whitney mit der Kohorte ohne Rauchbelastung signifikante Verringerungen von MCP-1 (Medium, LPS) beobachten. Im multiplen Regressionsmodell verlor dieser Effekt jedoch statistische Signifikanz. Das tägliche parentale Rauchen von 10-14 Zigaretten ging, verglichen mit Nichtrauchern in PHA-stimulierten Ansätzen, mit Erhöhungen von IFN- $\gamma$  und IL-4 einher. Unter Berücksichtigung der Kovariablen in der multiplen Regression blieb die Erhöhung von IFN- $\gamma$  ( $p_{\text{adj}} = 0,017$ ) erhalten (Daten nicht gezeigt). Das Einbeziehen der Zigarettenanzahl, die von anderen Personen im Haushalt geraucht wurde, zeigte

für sehr starkes Rauchen (> 14 Zig/d) bis auf den Verlust der signifikant erhöhten Konzentrationen von TNF- $\alpha$  und MCP-1 in partikelstimulierten Ansätzen gleiche Ergebnisse (Daten nicht gezeigt).

**Tabelle 3.10:** Zusammenhang zwischen Zytokin- bzw. Chemokinkonzentrationen [pg/ml] und der Summe gerauchter Zigaretten von Vater und Mutter. Dargestellt sind Median, Interquartile sowie p-Werte

[pg/ml]		Nichtraucher n = 250	1-4 Zig/d n = 15	5-9 Zig/d n = 12	10-14 Zig/d n = 12	>14 Zig/d n = 9	$P_{\text{NRvs>14}}$	$P_{\text{NRvs>14}}^*$
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Medium	6,44 (4,5;10,2)	4,82 (2,9;8,6)	6,06 (3,8;7,8)	5,87 (3,3;12,8)	15,22 (10,8;19,7)	<b>0,003</b>	<b>0,005</b>
	Partikel	82,38 (56,6;123,2)	76,62 (52,6;113,5)	75,23 (54,9;196,8)	106,3 (77,4;188,0)	143,72 (57,8;156,1)	0,399	0,070
	LPS	3063,58 (2388,2;3795,8)	2781,68 (2192,1;3768,3)	3434,05 (3267,9;3826,6)	2956,77 (2361,6;4429,1)	2891,84 (2053,9;3602,1)	0,703	0,539
<b>MCP-1</b>	Medium	85,12 (63,0;126,3)	66,18 (54,5;82,1)	112,34 (62,8;143,3)	86,44 (66,4;118,7)	134,06 (110,5;198,4)	<b>0,005</b>	<b>0,017</b>
	Partikel	583,26 (430,5;903,7)	440,18 (153,0;745,7)	664,90 (354,3;968,3)	601,17 (417,4;936,4)	900,92 (757,8;1302,7)	<b>0,029</b>	0,104
	LPS	752,47 (511,7;1007,7)	405,88 (280,1;640,0)	839,58 (552,0;1047,7)	849,78 (644,4;1122,4)	725,82 (604,5;839,4)	0,730	0,509
<b>IL-6</b>	Medium	7,02 (4,7;10,6)	6,34 (3,9;16,5)	6,87 (4,5;9,0)	6,22 (4,7;12,0)	15,56 (13,2;24,6)	<b>0,001</b>	<b>0,017</b>
	Partikel	148,66 (94,7;227,4)	141,88 (82,8;207,1)	122,56 (79,6;322,0)	184,58 (131,0;351,7)	223,08 (211,2;352,2)	<b>0,042</b>	0,100
	LPS	8634,88 (7556,5;9550,3)	8174,98 (6680,7;8889,4)	8595,97 (8030,2;9661,2)	8987,58 (8296,4;9866,5)	8041,16 (6513,4;9769,5)	0,760	0,594
<b>IL-8</b>	Medium	48,17 (28,4;92,2)	33,24 (14,6;75,0)	43,45 (28,1;107,7)	31,71 (19,3;74,2)	156,08 (92,1;259,4)	<b>0,001</b>	<b>0,007</b>
	Partikel	784,62 (521,3;1181,6)	700,98 (292,4;965,1)	952,44 (483,9;1517,9)	842,54 (518,6;1227,9)	1448,22 (753,0;1907,6)	<b>0,031</b>	0,079
	LPS	3815,32 (3040,6;5264,6)	3543,12 (2004,7;5331,2)	4651,37 (3380,6;6846,9)	4937,05 (2490,1;6143,1)	4928,26 (4691,7;5667,7)	0,219	0,163
<b>IL-10</b>	Medium	1,50 (1,5;3,0)	1,50 (1,5;2,9)	1,50 (0,0;3,3)	1,81 (0,8;3,3)	3,48 (3,1;4,5)	<b>0,004</b>	<b>0,012</b>
	Partikel	6,33 (4,6;8,9)	4,60 (1,5;8,4)	7,30 (2,3;10,8)	8,23 (4,4;9,8)	9,50 (6,4;12,3)	<b>0,014</b>	<b>0,036</b>
	LPS	13,67 (9,5;19,7)	10,58 (8,3;18,6)	17,09 (6,6;23,2)	19,40 (9,2;22,6)	21,28 (12,1;22,1)	0,226	0,177

$P_{\text{NRvs>14}}$  = p-Werte Nichtraucher versus > 14 Zig/d,  $P_{\text{NRvs>14}}^*$  = p-Wert adjustiert auf „Schimmelflecken im Kinderzimmer“, „Renovieren“, „mehr als ein jüngeres Geschwisterkind“)



**Abb. 3.11:** Zusammenhang zwischen unstimulierten Zytokin- bzw. Chemokinkonzentrationen [pg/ml] und der Anzahl gerauchter Zigaretten pro Tag (Summe von Vater und Mutter). Dargestellt sind Median (Balken), 25. und 75. Perzentile (Whisker) sowie p-Werte des Trendtests. p = alle, p\* = Jungen, p\*\* = Mädchen

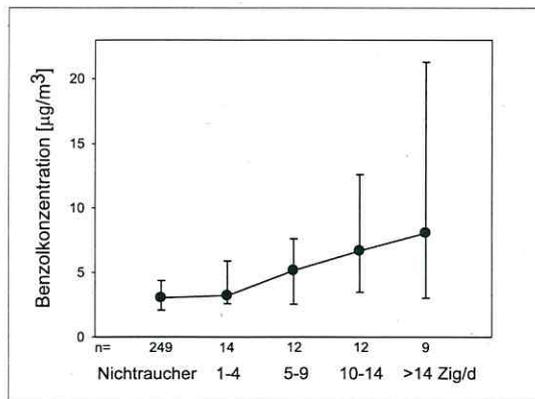
Bei getrennter Betrachtung der Geschlechter zeigten Mädchen steigende Konzentrationen von MCP-1, TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8 und IL-10 in Abhängigkeit vom täglichen Zigarettenkonsum der Eltern, weshalb das Vorliegen eines Trends anhand des Jonckheere-Terpstra-Test überprüft wurde. Dabei ergab sich ein statistisch signifikanter Trend für den Anstieg von MCP-1, TNF- $\alpha$ , IL-8 und IL-6 in unstimulierten bzw. partikelstimulierten Ansätzen

(unstimulierte Ansätze: Abb. 3.11). In LPS-stimulierten Proben wurden keine signifikanten Zusammenhänge beobachtet (Daten nicht gezeigt). Für Jungen zeigten sich erst bei stärkerem elterlichen Zigarettenkonsum Erhöhungen der Zytokin- bzw. Chemokinkonzentrationen, die jedoch deutlich geringer als bei den Mädchen ausfielen. Entsprechend konnte das Vorliegen eines Trends nicht nachgewiesen werden. Auch der Vergleich der Konzentrationsdifferenzen bei Jungen ohne Exposition mit denen, deren Eltern täglich mehr als 14 Zigaretten konsumierten, wies im U-Test keinerlei statistische Signifikanz auf (Daten nicht gezeigt).

Um die anhand von Fragebögen erfassten Angaben zu Rauchgewohnheiten in der Wohnung zu objektivieren, erfolgte eine Untersuchung des Zusammenhangs zwischen Benzolkonzentrationen im Innenraum und den Zytokin- und Chemokinkonzentrationen im Vollblutassay. Für 296 von 298 Kindern mit Angaben zum Zigarettenkonsum der Eltern lagen Daten zur Benzolkonzentration in der Wohnung vor. Im Rahmen der LISA-Studie wurde die Exposition gegen Benzol und andere flüchtige organische Verbindungen mittels Passivsammlern während einer vierwöchigen Probennahmezeit im Kinderschlafzimmer und Wohnzimmer ermittelt. Da sich die Messwerte aus Kinder- und Wohnzimmer kaum unterschieden, ging der Mittelwert beider in alle Betrachtungen ein.

Benzol stellt eine der Indikatorsubstanzen für Zigarettenrauchbelastungen im Innenraum dar. Da die Benzolkonzentrationen jahreszeitlich bedingten Schwankungen unterliegen, wurden diese durch Multiplikation mit den in der Literatur angegebenen Faktoren korrigiert (Rehwagen et al., 2003). Werte unterhalb der Nachweisgrenzen wurden zur Verbesserung der Genauigkeit halbiert. In der vorliegenden Untersuchung lagen die medianen Benzolkonzentrationen bei Kindern, in deren Wohnungen nicht bzw. nur gelegentlich geraucht wurde jeweils bei  $3,03 \mu\text{g}/\text{m}^3$ . Bei täglichem Zigarettenkonsum lag die mediane Benzolkonzentration bei  $6,23 \mu\text{g}/\text{m}^3$ . In Abhängigkeit vom täglichen Zigarettenkonsum der Eltern zeigte sich ebenfalls eine deutliche Zunahme der Benzolkonzentrationen in der Wohnung (Abb. 3.12).

Zur Testung eines dosisabhängigen Zusammenhangs erfolgte eine Einteilung der Benzolkonzentrationen in Quartile. Mittels Jonckheere-Terpstra-Test wurde auf das Vorliegen eines Trends zwischen steigenden Benzolkonzentrationen und den Immunparametern in der Gesamtkohorte sowie getrennt für Jungen und Mädchen geprüft (Tab. 3.11).



**Abb. 3.12:** Zusammenhang zwischen Benzolkonzentration [ $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ] und Anzahl gerauchter Zigaretten pro Tag in Summe von Vater und Mutter. Dargestellt sind Median (Dot) und 25. bzw. 75. Perzentile (Whisker).

**Tabelle 3.11:** Zusammenhang zwischen Benzolkonzentration und unstimulierten Zytokin- bzw. Chemokinkonzentrationen [ $\text{pg}/\text{ml}$ ]. Dargestellt sind Median, Interquartile sowie p-Werte des Trendtests.

		1. Quartile (0,22-2,16 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )	2. Quartile (2,16-3,21 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )	3. Quartile (3,21-4,71 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )	4. Quartile (4,71-43,92 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )	p*
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	alle	5,50 (3,8;8,6)	6,20 (4,6;8,8)	6,46 (4,0;10,6)	8,40 (4,9;11,6)	<b>0,007</b>
	Jungen	5,66 (3,9;9,1)	6,48 (4,9;8,4)	6,30 (3,6;9,6)	7,22 (3,6;9,6)	0,185
	Mädchen	5,40 (3,6;8,3)	5,36 (4,5;9,2)	6,56 (4,1;12,4)	9,02 (5,8;15,2)	<b>0,004</b>
<b>MCP-1</b>	alle	80,75 (64,4;102,8)	88,69 (61,7;137,6)	95,41 (66,8;123,5)	87,36 (63;134,1)	0,134
	Jungen	83,76 (70,9;112,8)	119,39 (71,8;163,5)	89,50 (70,7;119,4)	81,14 (70,7;119,4)	0,138
	Mädchen	76,37 (62,5;95,4)	69,69 (60;103)	99,58 (54,5;131,8)	95,8 (76,1;146,5)	<b>0,004</b>
<b>IL-6</b>	alle	6,49 (4,3;9,7)	7,07 (5,0;10,7)	7,02 (4,2;10,9)	7,45 (5,4;13,9)	0,059
	Jungen	6,80 (4,6;9,7)	6,77 (5,1;11,0)	6,62 (4,1;10,7)	6,92 (4,1;10,7)	0,456
	Mädchen	6,34 (4,1;9,7)	7,40 (4,5;9,4)	7,30 (4,2;13,2)	8,87 (6,5;17,2)	<b>0,020</b>
<b>IL-8</b>	alle	51,90 (27,8;90,4)	49,79 (30,4;112,4)	41,23 (22,4;92,2)	49,91 (28,4;100,7)	0,306
	Jungen	63,68 (33,2;91,3)	59,49 (32,9;120,8)	42,18 (21,6;89,5)	42,52 (21,6;89,5)	<b>0,029</b>
	Mädchen	46,83 (23,9;79,7)	41,87 (23,1;78,4)	39,76 (24,6;94,9)	82,13 (33,6;151,4)	<b>0,035</b>
<b>IL-10</b>	alle	2,54 (1,5;3,1)	1,50 (1,5;3,2)	1,50 (1,5;2,8)	1,50 (0,0;3,2)	<b>0,012</b>
	Jungen	2,63 (1,5;3,2)	1,72 (1,5;3,1)	1,50 (1,5;3,2)	1,50 (1,5;3,2)	<b>0,011</b>
	Mädchen	2,51 (1,5;3,0)	1,50 (1,5;3,4)	1,50 (0,0;2,5)	1,50 (0,0;3,5)	0,104

p\* = p-Wert des Trendtests, bei < 0,05 hervorgehoben

Für Mädchen zeigte sich ähnlich wie in Abhängigkeit von der Intensität der Rauchbelastung ein statistisch signifikanter Trend für TNF- $\alpha$ , MCP-1, IL-6 und IL-8 in unstimulierten Proben. In der Gesamtkohorte ließ sich dieser nur für TNF- $\alpha$  nachweisen. Jungen zeigten dagegen bei steigender Benzolkonzentration signifikant verringerte Konzentrationen von IL-8 und IL-10. Die Verringerung von IL-10 war auch in der Gesamtkohorte statistisch signifikant nachweisbar. Die hier nicht dargestellten Zusammenhänge in Partikel- und LPS-stimulierten Proben zeigten sich weniger deutlich. In partikelstimulierten Proben waren nur der positive Trend für MCP-1 bei Mädchen und die Verringerung von IL-8 bei Jungen und in der Gesamtkohorte bzw. von IL-10 nur in der Gesamtkohorte signifikant. In LPS-stimulierten Ansätzen zeigte nur die Erhöhung von TNF- $\alpha$  bei Mädchen einen statistisch signifikanten Trend.

### 3.7.3 Allergische Sensibilisierung in Abhängigkeit von Passivrauchexposition

Die Untersuchung der Sensibilisierungsprävalenzen in der Gesamtkohorte sowie bei Jungen und Mädchen erfolgte zunächst für die Angaben zur Häufigkeit des Rauchens in der Wohnung. Da sich die Sensibilisierungshäufigkeiten bei Kindern, in deren Wohnung gelegentlich geraucht wurde, auf dem Niveau der Nichtraucher befand, erfolgte die Risikoberechnung nur für Kinder mit täglicher Rauchexposition. Limitiert durch die Fallzahlen, wurde eine Berechnung für erhöhtes Gesamt-IgE, spezifisches IgE und Sensibilisierungen gegen Allergenmischungen durchgeführt. In der Gesamtkohorte ließ sich für alle genannten Parameter eine tendenzielle Risikoerhöhung bei täglichem parentalen Rauchen in der Wohnung beobachten, doch wurde das statistische Signifikanzniveau nicht erreicht. Bei der geschlechtsgetrennten Betrachtung konnten durch geringe Fallzahlen die Odds Ratios für Nahrungsmittelsensibilisierung nicht errechnet werden (Tab. 3.12).

Sowohl Jungen als auch Mädchen zeigten bei täglicher häuslicher Rauchbelastung höhere Sensibilisierungsraten, im Vergleich mit denen, die nie exponiert waren. Nach Adjustierung auf „doppelt positive Familienanamnese“, „Rauchen in der Schwangerschaft“, „Stillen für mindestens vier Monate“, „Schulbildung der Eltern“ und „Katze als Haustier“ wurde die Risikoerhöhung für Sensibilisierungen gegen inhalative Allergene bei Mädchen signifikant. Bei Mädchen zeigte sich zudem auf Rohdatenebene eine signifikante Risikoerhöhung für das Vorhandensein von Gesamt-IgE-Spiegeln über 180 kU/l, was im Modell jedoch nicht bestätigt werden konnte.

**Tabelle 3.12:** Sensibilisierungshäufigkeiten in Abhängigkeit von täglicher bzw. keiner Zigarettenrauchbelastungen in der eigenen Wohnung und Odds Ratios für das Sensibilisierungsrisiko bei täglichem Rauchen.

		Rauchen in der Wohnung		OR [95%-CI]	OR* [95%-CI]	p*
		nie n/N (%)	täglich n/N (%)			
ges. IgE>180kU/l	alle	35/250 (14,0)	8/40 (20,0)	1,54 [0,65;3,62]	1,25 [0,45;3,52]	0,699
	Jungen	23/129 (17,8)	3/25 (12,0)	0,63 [0,17;2,30]	0,49 [0,11;2,24]	0,125
	Mädchen	12/121 (9,9)	5/15 (33,0)	<b>4,54</b> [1,32;15,68]	3,59 [0,73;17,58]	0,480
spez. IgE	alle	79/250 (31,6)	18/40 (45,0)	1,77 [0,90;3,50]	2,04 [0,88;4,72]	<0,001
	Jungen	49/129 (38,0)	12/25 (48,0)	1,51 [0,63;3,59]	1,38 [0,47;4,09]	0,010
	Mädchen	30/121 (24,8)	6/15 (40,0)	2,02 [0,66;6,22]	3,88 [0,92;16,29]	0,019
Fx5	alle	32/250 (12,8)	7/40 (17,5)	1,44 [0,59;3,55]	1,04 [0,35;3,10]	0,009
	Jungen	20/129 (15,5)	4/25 (16,0)	-	-	-
	Mädchen	12/121 (9,9)	3/15 (20,0)	-	-	-
Sx1	alle	72/250 (28,8)	16/40 (40,0)	1,65 [0,82;3,31]	1,80 [0,77;4,22]	<0,001
	Jungen	46/129 (35,7)	10/25 (40,0)	1,20 [0,59;2,92]	1,00 [0,16;6,09]	0,027
	Mädchen	26/121 (21,5)	6/15 (40,0)	2,44 [0,79;7,54]	<b>5,16</b> [1,17;22,81]	<b>0,006</b>
Mx1	alle	18/194 (9,3)	6/30 (20,0)	2,44 [0,88;6,80]	2,70 [0,71;10,25]	0,047
	Jungen	10/102 (9,8)	4/20 (20,0)	2,30 [0,63;8,34]	2,58 [0,49;13,67]	0,501
	Mädchen	8/92 (6,6)	2/10 (20,0)	2,63 [0,46;14,84]	3,62 [0,22;58,19]	0,067

OR = Odds Ratio der Rohdaten, OR\* = Odds Ratio adjustiert auf Geschlecht, doppelt positive Familienanamnese, Rauchen in der Schwangerschaft, Stillen für mind. 4 Monate, Bildungsindex, Haustier Katze, p\* = p-Wert des Modells

Die Prävalenz allergischer Sensibilisierungen in Abhängigkeit von der Intensität der Passivrauchbelastung ergab für Kinder, deren Eltern insgesamt 15 und mehr Zigaretten pro Tag rauchten, ein erhöhtes Sensibilisierungsrisiko gegen inhalative Allergene (Tab. 3.13). Auf der Ebene der Rohdaten waren bei diesen Kindern die höheren Prävalenzen von Sensibilisierungen gegen Dermatophagoides pteron. und Hundeschuppen signifikant. Nach Adjustierung auf die Faktoren „Geschlecht“, „doppelt positive Familienanamnese“, „mütterliches Rauchen in der Schwangerschaft“, „Stillen mindestens während der ersten

vier Lebensmonate“, „Geschwisterkind“, „Schulbildung der Eltern“ und „Katze als Haustier“ wurde das höhere Risiko für Vorhandensein von spezifischem IgE und IgE gegen die Inhalationsallergenmischung signifikant. Der Zusammenhang zwischen starker Rauchbelastung und erhöhtem Sensibilisierungsrisiko gegen Hundeschuppen verfehlte im Modell das Signifikanzniveau, während die Risikoerhöhung für IgE gegen das Milbenallergen erhalten blieb. Aufgrund der geringen Fallzahlen in der Gruppe mit starker Rauchbelastung war eine Berechnung für die übrigen Allergene und erhöhtes Gesamt-IgE, ebenso wie eine getrennte Berechnung von Odds Ratios, für Jungen und Mädchen nicht durchführbar.

**Tabelle 3.13:** logistische Regression der Sensibilisierungsprävalenzen von Kindern mit Zigarettenrauchbelastungen über 14 Zig/d bzw. darunter, Odds Ratios für Rohdaten und Modell, p-Wert des Modells (adjustiert auf Geschlecht, doppelt positive Familienanamnese, Rauchen in der Schwangerschaft, Stillen für mind. 4 Monate, Geschwister, Bildungsindex, Haustier Katze)

	0-14 Zig/d n/N (%)	> 14 Zig/d n/N (%)	Odds Ratio		p-Wert Modell
			Rohdaten	Modell	
spez. IgE	96/297 (32,3)	5/9 (55,6)	2,69 [0,70;10,30]	<b>6,46</b> <b>[1,15;36,30]</b>	<b>&lt; 0,001</b>
Inhalationsallergenmischung	85/297 (28,6)	5/9 (55,6)	3,22 [0,84;12,34]	<b>9,1</b> <b>[1,52;54,70]</b>	<b>&lt; 0,001</b>
Der p1	48/297 (16,2)	4/9 (44,4)	<b>4,28</b> <b>[1,10;16,63]</b>	<b>8,89</b> <b>[1,55;50,97]</b>	<b>0,002</b>
Hundeschuppen	13/297 (4,4)	2/9 (22,2)	<b>7,3</b> <b>[1,35;39,55]</b>	8,93 [1,05;75,93]	0,239
Lieschgras	43/297 (14,5)	2/9 (22,2)	1,75 [0,35;8,77]	1,93 [0,28;13,41]	0,008

## 4 Diskussion

### 4.1 Immunparameter im sechsten Lebensjahr

#### 4.1.1 Intrazelluläre Zytokinproduktion peripherer T-Lymphozyten

In der vorliegenden Studie erfolgte die Bestimmung der Zytokinproduktion auf T-Zell-Ebene semiquantitativ mittels intrazellulärer Zytokinfärbung und Durchflusszytometrie. Die simultane Detektion von Oberflächenmarkern und Zytokinen ermöglichte die Zuordnung der Zytokinsignale zu definierten Zellpopulationen. Aufgrund der einfachen Durchführbarkeit bei einem Bedarf von nur 100 µl Blut ist diese Methode für die Untersuchung immunologischer Parameter insbesondere in pädiatrischen Studien gut geeignet. Da generell immunmodulatorisch wirksame Einflussfaktoren untersucht werden sollten, wurde auf allergenspezifische Verfahren zu Gunsten einer polyklonalen Stimulation mit Phorbol-12-Myristat und Ionomycin verzichtet.

Die Entstehung und Ausprägung atopischer Erkrankungen ist eng mit dem Zytokinsekretionsmuster peripherer T-Zellen verbunden. So konnten die verminderte Fähigkeit der IFN- $\gamma$ -Produktion zur Geburt sowie ein erhöhter Serumspiegel an IL-4 im Alter von 18 Monaten mit erhöhten Prävalenzen allergischer Erkrankungen im sechsten Lebensjahr assoziiert werden (Borres and Bjorksten, 2004; Kondo et al., 1998). Eine australische Studie fand bei Kindern mit *atopischer Dermatitis* eine signifikant geringere Produktion von IL-10, IFN- $\gamma$  und TNF- $\alpha$ , verglichen mit gesunden gleichaltrigen Probanden. Gleichzeitig reagierten erkrankte Kinder mit einer stärkeren IL-5- und IL-13-Synthese auf Aeroallergene, was für eine Th2-polarisierte Immunantwort spricht und die Ausbildung spezifischer Sensibilisierungen begünstigt (Dunstan et al., 2005). Bestimmungen der intrazellulären Zytokinproduktion von T-Zellen im Sputum ergaben Zusammenhänge zwischen erhöhten Syntheseraten an IL-4, IL-5, IFN- $\gamma$  und atopischem Asthma (Cho et al., 2005). Der zunächst paradox erscheinenden Erhöhung des Th1-Zytokins IFN- $\gamma$  konnte gemeinsam mit anderen Studienergebnissen eine den allergischen Entzündungsprozess unterhaltende Funktion zugeschrieben werden (Magnan et al., 2000; Ngoc et al., 2005).

Während die IL-4-Produktion im Nabelschnurblut der LISA-Probanden keine Assoziationen zur Produktion von IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  und IL-2 gezeigt hatte (Thölke, 2002), fanden sich im sechsten Lebensjahr sowohl innerhalb der Gruppe der Th1- und Th2-Zytokine als auch zwischen beiden Gruppen stark positive Korrelationen. Untersuchungen im zweiten und dritten Lebensjahr der Kinder hatten ebenfalls positive Beziehungen zwischen allen bestimmten Zytokinen ergeben (Henker, 2004; Spiegl, 2003).

Im Einklang mit den Ergebnissen anderer Autoren (Chipeta et al., 1998; Krampera et al., 2000), wurde IFN- $\gamma$  überwiegend von zytotoxischen T-Zellen gebildet, während die Anteile IL-2-, IL-4- und IL-13-exprimierender T-Lymphozyten unter den CD4<sup>+</sup>-Zellen größer waren als unter den CD8<sup>+</sup>-Zellen. Anders als beschrieben, erfolgte die TNF- $\alpha$ -Synthese zu gleichen Teilen von CD4<sup>+</sup>- und CD8<sup>+</sup>-T-Lymphozyten. Dies wurde bereits im zweiten Lebensjahr der LISA-Probanden beobachtet (Spiegl, 2003).

#### **4.1.2 Im Vollblutassay analysierte Zytokine und Chemokine**

Zusätzlich zu den Anteilen Zytokin produzierender T-Lymphozyten wurden die Konzentrationen von Zytokinen und Chemokinen in stimulierten bzw. unstimulierten Ansätzen des Vollblutassays mittel eines Bead-Array-Assays und Durchflusszytometrie bestimmt. Das Spektrum der untersuchten Parameter wurde dabei um die Chemokine IL-8, MCP-1, RANTES und Eotaxin, das proinflammatorisch wirkende IL-6, das regulatorische Zytokin IL-10 und IL-5 als Th2-Zytokin erweitert. Konzentrationen von IL-2 und IL-13 wurden im Vollblut nicht analysiert. Die Bedeutung der genannten proinflammatorischen und Th2-Zytokine bei der Induktion und Erhaltung allergischer Entzündungsprozesse wurde bereits durch eine Vielzahl von Studien belegt (Cho et al., 2005; Conti und DiGiacchino, 2001; Lilly et al., 1999).

Die Durchführung des Vollblutassays erfolgte nach einem in der Literatur beschriebenen Protokoll (Schins et al., 1996). Die Autoren der Methode konnten eine Vergleichbarkeit der Zytokinfreisetzung in stimulierten Ansätzen des Vollblutassays mit der von isolierten Monozyten nachweisen. Aufgrund berichteter Konzentrationsabnahmen in Abhängigkeit von der Lagerungszeit und -temperatur, wurden die Proben spätestens nach vierstündiger Lagerung bei Raumtemperatur weiterbearbeitet. Um spontane Zytokinfreisetzungen zu vermeiden, erfolgte die Inkubation der Ansätze in sterilen endotoxinfreien Röhrchen. Auch dieses Verfahren erlaubte durch die unkomplizierte Handhabung eine Durchführung in der

Gesamtkohorte. Darüber hinaus bot die Nutzung eines Cytometric Bead Assays den Vorteil, in einem sehr kleinen Probenvolumen (25 µl) viele verschiedene Parameter in einem Messvorgang zu erfassen. Neben der Zytokin- und Chemokinbestimmung in unstimulierten Ansätzen des Vollblutassays, erfolgte eine Analyse nach Stimulation des Blutes mit Phytohämagglutinin (PHA, 50 µg/ml), suspensierten Staubpartikeln (100 µg/ml) und Lipopolysacchariden (LPS, 1 µg/ml) von *E. coli*. Die untersuchten Immunparameter waren in unstimulierten Ansätzen bei allen bzw. dem größten Teil der Probanden detektierbar und stiegen nach Stimulation in unterschiedlichem Ausmaß an. Während PHA ein Stimulans der T-Lymphozyten ist, führen Partikel und Endotoxine überwiegend zu einer Aktivierung der Monozyten (Schins et al., 1996).

Die im Vollblutassay gemessenen Th1-Zytokine IFN- $\gamma$  und TNF- $\alpha$  waren positiv miteinander assoziiert, ebenso die Th2-Zytokine IL-4 und IL-5 sowie die Chemokine MCP-1, Eotaxin und RANTES. Das in der Literatur beschriebene enge Zusammenspiel der proinflammatorischen Zytokine IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$  und MCP-1 (D'Ambrosio et al., 2000), konnte anhand stark positiver Korrelationen bestätigt werden. Für IL-10 ließen sich positive Beziehungen zu Th1-Zytokinen, MCP-1 und IL-6 beobachten, während keine oder schwach negative Zusammenhänge zu Th2-Zytokinen und den übrigen Chemokinen bestanden.

#### **4.1.3 Assoziationen zwischen intra- und extrazellulär analysierten Immunparametern**

Für IFN- $\gamma$  und IL-4 erfolgte sowohl der intrazelluläre Nachweis in PMA/Ionomycin-stimulierten T-Zellen, als auch die Analyse in den Überständen PHA-stimulierter Proben des Vollblutassays. Bei beiden Parametern zeigten sich positive Korrelationen und damit eine Übereinstimmung mit Daten einer Studie, die ebenfalls extrazellulär detektierte Zytokine mit den Anteilen Zytokin produzierender Zellen verglich. Zwar berichteten die Autoren über wesentlich stärkere Zusammenhänge, was möglicherweise auf Unterschiede in der Stimulation und Messmethode zurückzuführen ist (Schuerwegh et al., 2003). Die beobachteten Korrelationen belegen die Relevanz der beiden eingesetzten Methoden und die alternative Anwendbarkeit. Darüber hinaus fanden sich in PHA-stimulierten Ansätzen des Vollblutassays positive Zusammenhänge zwischen extrazellulärem IFN- $\gamma$  und intrazellulärem TNF- $\alpha$ . Gleiches galt für die extrazellulär bestimmten Konzentrationen von IL-4 und IL-5 und der intrazellulären Synthese von IL-4 und IL-13, was als Bestätigung für eine

gemeinsame Regulation der Th1- bzw. Th2-Zytokine untereinander angesehen werden kann. Zwar zeigte IL-4 in PHA-versetzten Proben auch positive Korrelationen zu den Anteilen IFN- $\gamma$  produzierender T-Zellen, doch war der Zusammenhang schwächer als der zur Th2-Zytokinsynthese. Verschiedene Studien konnten Zusammenhänge zwischen Chemokinen wie MCP-1, RANTES, Eotaxin sowie IL-8 und allergischen Entzündungsprozessen aufzeigen (Conti und DiGiacchino, 2001; Puthothu et al., 2006). Im Einklang mit diesen Ergebnissen fanden sich außer für Eotaxin positive Korrelationen zu den Anteilen IL-4 und IL-13 produzierender T-Lymphozyten. Darüber hinaus lagen positive Assoziationen zwischen IL-8 und der intrazellulären Synthese von IFN- $\gamma$  und TNF- $\alpha$  sowie RANTES und der intrazellulären IFN- $\gamma$ -Synthese vor. Dies gibt Hinweise auf die Beteiligung von IL-8 und RANTES an inflammatorischen Prozessen, unabhängig von der Art der Entzündung.

#### **4.1.4 Assoziationen der Immunparameter zu allergischen Sensibilisierungen**

Im Zentrum der Pathogenese atopischer Erkrankungen stehen Mechanismen, die zu einer allergischen Sensibilisierung führen. Der Prozess der Sensibilisierung ist von zahlreichen Interaktionen zellulärer Komponenten sowie deren Botenstoffen, den Zytokinen, abhängig. Viele Studien mit Neugeborenen (Macaubas et al., 2003; Prescott et al., 1999) und Kindern (Borres und Bjorksten, 2004; van der Velden et al., 2001) belegen, dass eine Verschiebung des Zytokinsekretionsmusters in Richtung Th2 Grundlage zur Ausbildung von allergenspezifischem IgE und atopischen Manifestationen ist. Innerhalb der LISA-Studie war zum Zeitpunkt der Geburt erhöhtes Nabelschnur-IgE im Zusammenhang mit einer herabgesetzten IFN- $\gamma$ -Synthese beobachtet worden (Thölke, 2002), während sich im zweiten Lebensjahr positive Assoziationen zwischen dem Gesamt-IgE-Spiegel und Anteilen IL-4 produzierender T-Zellen zeigten (Spiegl, 2003). Im sechsten Lebensjahr fanden sich für die extrazellulär bestimmten Immunparameter Zusammenhänge zwischen erhöhtem Gesamt-IgE und signifikant erhöhten Konzentrationen an Th2-Zytokinen (IL-4, IL-5), Chemokinen (MCP-1, IL-8) und IL-10. Die Analyse des Zusammenhangs zwischen Sensibilisierungen gegen spezifische Einzelallergene und T-Zell-Zytokine bzw. Immunparameter aus dem Vollblutassay zeigte übereinstimmend Veränderungen im Sinne einer verstärkten Th2-Immunantwort in Abhängigkeit verschiedener Sensibilisierungen. Sowohl für Allergenmischungen als auch für Einzelallergene zeigten sich Korrelationen zu erhöhten IL-4- und IL-5-Konzentrationen im Vollblut sowie gesteigerten Anteilen IL-4 und IL-13 produzierenden

der T-Lymphozyten. Hinweise für eine Involvierung der Chemokine MCP-1 und IL-8 in den Prozess der allergischen Sensibilisierung konnten durch positive Korrelationen mit spezifischem IgE gegen Tierschuppen, Schimmelpilze und inhalative Allergene (nur MCP-1) erhalten werden. Für Sensibilisierungen gegen Nahrungsmittelallergene und Beifußpollen ließen sich zudem Assoziationen zu erniedrigten Konzentrationen an TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  und IL-6 nachweisen. Spezifisches IgE gegen Tierschuppen ging mit erniedrigten Syntheseraten von Th1-Zytokinen in T-Lymphozyten einher. Zusammenfassend zeigten Kinder mit allergischen Sensibilisierungen ein Th2-lastiges Zytokinsekretionsmuster.

## 4.2 Immunparameter bei parentaler Atopiebelastung

### 4.2.1 Zytokine, Chemokine und atopische Familienanamnese

Die familiäre Belastung mit atopischen Erkrankungen gilt als ein starker Risikofaktor für die Entwicklung von Allergien (Prescott et al., 2003). Zur Geburt der Probanden lag eine Assoziation zwischen biparentaler atopischer Belastung und signifikant erniedrigten Anteilen TNF- $\alpha$  und IFN- $\gamma$  produzierender T-Zellen bzw. einer tendenziell erhöhten IL-4-Synthese vor (Thölke, 2002). Im zweiten und dritten Lebensjahr der Kinder zeigten sich die Verminderungen der Th1-Zytokinsynthese weniger deutlich, während die Erhöhung der Produktion von IL-4 und IL-13 bei einfach positiver Familienanamnese im dritten Lebensjahr Signifikanzniveau erreichte (Henker, 2004; Spiegl, 2003). Die Zytokinanalysen im sechsten Lebensjahr der Kinder ergaben deutliche Zusammenhänge zwischen einer atopischen Belastung durch beide Elternteile und verminderten Anteilen IFN- $\gamma$  produzierender T-Zellen. Ein gleichgerichteter Einfluss auf die TNF- $\alpha$ -Synthese war nur tendenziell in der CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Zell-Population zu erkennen. Während sich zur Geburt keine Beziehungen zu einer veränderten IL-2-Produktion beobachten ließen (Thölke, 2002), zeigte sich diese im sechsten Lebensjahr durch eine doppelt positive Familienanamnese beeinträchtigt. Interessanterweise war die Th1-Zytokinsynthese bei einfach positiver Anamnese noch nicht erkennbar reduziert. Dies entspricht den bereits zur Geburt in der LISA-Studie beobachteten Daten, die hinsichtlich der IFN- $\gamma$ -Produktion keinen Unterschied zwischen der Gruppe mit negativer und der mit einfach positiver Familienanamnese zeigten (Thölke, 2002).

Die intrazelluläre Produktion der Th2-Zytokine IL-4 und IL-13 war, wie bereits im dritten Lebensjahr beobachtet, bei atopischer Belastung durch ein Elternteil signifikant erhöht. Gleichsinnig mit den Veränderungen der intrazellulären T-Zell-Zytokinproduktion zeigten sich bei parentaler Atopie extrazellulär erniedrigte Spiegel an IFN- $\gamma$  sowie erhöhte Konzentrationen an IL-4 und Eotaxin. Die Erhöhung von IL-4 erreichte allerdings nur bei einer Belastung durch beide Eltern das Signifikanzniveau, Eotaxin dagegen bei der Erkrankung eines Elternteils. Insgesamt zeigen die Ergebnisse, dass Kinder mit positiver Familienanamnese als Hochrisikogruppe für die Ausbildung einer atopischen Reaktionslage des Immunsystems gelten, was mit Daten anderer Untersuchungen übereinstimmt (Prescott et al., 2003; van der Velden et al., 2001).

#### **4.2.2 Allergische Sensibilisierungen und atopische Familienanamnese**

Gemäß den Beobachtungen, dass Sensibilisierungen gegen Nahrungsmittelallergene im Säuglingsalter die wichtigste Rolle spielen, in den nachfolgenden Jahren jedoch Innen- und Außenraumallergene an Bedeutung gewinnen (Wahn, 2000), zeigten sechsjährige Kinder der LISA-Studie doppelt so häufig Sensibilisierungen gegen inhalative Allergene im Vergleich zu Nahrungsallegenen (28,7 % versus 13,0 %). Die Prävalenzen decken sich mit Angaben einer anderen Studie (Kulig et al., 1999a) an 4082 sechsjährigen Kindern (26 % versus 10 %). Auch die berichtete Rate von 30 % für Sensibilisierungen gegen mindestens eines der getesteten Allergene stimmt mit der Prävalenz von 32,4 % innerhalb der LISA-Kohorte überein.

Bei der Betrachtung der Sensibilisierungsprävalenzen in Abhängigkeit von der atopischen Familienanamnese waren atopisch vorbelastete Kinder häufiger sensibilisiert als Kinder ohne familiäre Belastung. Während Probanden mit einem erkrankten Elternteil nur geringfügig erhöhte Prävalenzen aufwiesen, zeigten solche, deren Eltern beide Atopiker waren, signifikante Risikoerhöhungen für Sensibilisierungen gegen verschiedene inhalative Allergene und das Vorhandensein von spezifischem IgE. Auch nach Adjustierung auf bekannte Einflussfaktoren hatten Kinder mit doppelt positiver Familienanamnese ein drei- bis fünffach höheres Risiko für Sensibilisierungen gegen Allergene der Inhalationsmischung sowie Roggen- und Gräserpollen. Aussagen bezüglich des Sensibilisierungsrisikos gegen Nahrungsmittel ließen sich aufgrund der geringen Prävalenzen nicht sicher treffen. Gemeinsam mit Daten anderer Studien wird die Bedeutung der genetischen Vorbelastung

nicht nur im Hinblick auf veränderte Zytokinmuster, sondern auch für die Entwicklung von allergenspezifischem IgE als pathogenetische Grundlage für die Ausbildung allergischer Symptome deutlich (Prescott et al., 2003; Wahn, 2000).

### 4.3 Immunparameter und Geschlecht

Die untersuchten Immunparameter zeigten außer einer signifikanten Erhöhung von Eotaxin bei männlichen Probanden keine Assoziationen zum Geschlecht. Eine im dritten Lebensjahr signifikante Erhöhung IL-13 produzierender T-Zellen bei Jungen (Henker, 2004) konnte im sechsten Lebensjahr nicht mehr beobachtet werden. Es ist bekannt, dass Jungen präpubertär häufiger an Asthma leiden als Mädchen (Nicolai et al., 2003b). Weiterhin konnte in verschiedenen Studien männliches Geschlecht mit erhöhten Sensibilisierungsraten assoziiert werden (Arshad et al., 2001; Carlsen et al., 2006; Nicolaou et al., 2006). Innerhalb der LISA-Studie wiesen fast doppelt so viele Jungen wie Mädchen erhöhte IgE-Konzentrationen von mehr als 0,35 kU/l im Nabelschnurblut auf (Thölke, 2002). Die Analyse der allergischen Sensibilisierungen im sechsten Lebensjahr ergab bis auf Milcheiweiß für alle untersuchten Allergene ebenfalls höhere Prävalenzen unter den Jungen. Der Unterschied zwischen Jungen und Mädchen erreichte jedoch nur für IgE gegen Allergene der Inhalationsmischung das Signifikanzniveau (34 % versus 23 %). Obwohl männliches Geschlecht per se keinen wesentlichen Risikofaktor für allergische Krankheiten darstellt (Williams et al., 1999), erscheinen Jungen präpubertär für die Entwicklung von Asthma und atopischer Sensibilisierung prädestiniert (Rhodes et al., 2005).

### 4.4 Immunparameter und Schwimmen in chloriertem Wasser

Verschiedene Studien, die den Besuch von Schwimmbädern mit chloriertem Wasser in Zusammenhang mit erhöhter Asthmaprävalenz, bronchialer Hyperreagibilität und Hyperpermeabilität des Lungenepithels brachten (Bernard et al., 2003; Thickett et al., 2002), gaben Anlass, die Immunparameter der LISA-Probanden hinsichtlich möglicher Effekte zu untersuchen. Es stellte sich heraus, dass ein großer Teil der Kinder regelmäßig am Babyschwimmen im ersten Lebensjahr teilgenommen hatte (47 %). Innerhalb dieser Kohorte fand sich im Vergleich zu den übrigen Kindern eine auf Rohdatenebene signifikant erhöhte

IL-4-Synthese in den Subpopulationen der T-Lymphozyten. In unstimulierten Ansätzen des Vollblutassays zeigten sich erhöhte Konzentrationen des Th2-Zytokins IL-5 und erniedrigte Spiegel an IL-10, wenn der erste Schwimmbadbesuch während des ersten Lebensjahres stattgefunden hatte. Hingegen wiesen Kinder, die erst nach dem dritten Lebensjahr in chloriertem Wasser geschwommen waren, höhere Anteile IFN- $\gamma$  und TNF- $\alpha$  produzierender T-Lymphozyten auf. In der gemeinsamen multiplen Regression mit weiteren Einflussfaktoren blieb lediglich der Zusammenhang zwischen erstem Schwimmbadbesuch nach dem dritten Lebensjahr und stärkerer TNF- $\alpha$ -Synthese signifikant erhalten. Diese Ergebnisse geben Hinweise darauf, dass vor allem Schwimmbadbesuche in der frühen Kindheit zur Ausbildung einer allergischen Reaktionslage des Immunsystems beitragen könnten.

In einer norwegischen Studie mit 2862 Probanden wurde über deutlich höhere Prävalenzen chronischer Atemwegsinfekte unter Kindern, die in den ersten elf Lebensmonaten am Babyschwimmen teilgenommen hatten, berichtet (12,3 % versus 7,5 %). Eine signifikante Risikoerhöhung für die Infektionen zeigte sich jedoch nur bei Kindern atopischer Eltern. Ein ähnlicher Trend ließ sich für das Risiko von Mittelohrentzündungen beobachten. Zwar werden häufigen Infektionen in der Kindheit eine protektive Funktion hinsichtlich der Entwicklungen von Allergien zugeschrieben (Kilpi et al., 2002), doch vermuten die Autoren aufgrund des unreifen Immunsystems zu dem sehr frühen Zeitpunkt der initialen Infektion eine Steigerung der Vulnerabilität gegen unspezifische Reize und ein dadurch höheres Risiko für chronische Atemwegserkrankungen (Nystad et al., 2003). Andere Untersuchungen zu toxischen Effekten von Expositionen gegen chlorierte Verbindungen in Schwimmbädern fanden bei gesunden belgischen Kindern einen Zusammenhang zwischen der Dauer von Schwimmbadbesuchen und steigenden Serumkonzentrationen der Surfactant-assoziierten Proteine A und B (SP-A/B). Anhand der Bestimmung dieser lungenspezifischen Proteine als Marker für die Integrität des Lungenepithels, konnte eine Störung der Barrierefunktion desselben aufgezeigt werden. Zudem war die Prävalenz von Asthma signifikant mit der Häufigkeit von Schwimmbadbesuchen assoziiert (Bernard et al., 2003). Dies stützt die Hypothese, dass eine Hyperpermeabilität des Lungengewebes Allergenpenetrationen erleichtert und zu einer Risikoerhöhung für das Auftreten von Asthma und anderen allergischen Erkrankungen beiträgt. Zwar ist zu beachten, dass die Ergebnisse der belgischen Studie nicht ohne weiteres auf die Verhältnisse in Deutschland

übertragbar sind, da in Belgien keine verbindlichen bzw. fünfmal höhere Grenzwerte für freies und gebundenes Chlor im Badewasser existieren, doch wurden kürzlich auch von einer deutschen Arbeitsgruppe ähnliche Zusammenhänge beobachtet. Erwachsene, die im Schulkindalter regelmäßig Schwimmbäder besucht hatten, litten häufiger an Heuschnupfen (Kohlhammer et al., 2006). In einer anderen Untersuchung wurden die Assoziationen zwischen Prävalenzen von Asthma, Heuschnupfen und atopischem Ekzem aus den Daten der ISAAC-Studie und der Anzahl chlorierter Schwimmbäder der jeweiligen Studienzentren in Europa betrachtet. Es zeigten sich bei Kindern zwischen dem 6. und 7. Lebensjahr bzw. dem 13. und 14. Lebensjahr in ganz Europa positive Zusammenhänge zwischen den Asthma-Prävalenzen und der Verfügbarkeit von Schwimmbädern (Marc und Bernard, 2006). Ebenso wurde in der Literatur über Fälle mit eindeutig berufsbedingtem Asthma sowie irritativen Symptomen an Augen und Atemwegen durch Chlorverbindungen bei Schwimmbadpersonal berichtet (Massin et al., 1998; Thickett et al., 2002). Nichtsdestotrotz gilt Schwimmen in warmer und feuchter Umgebung als wenig Asthma auslösend und wird weiterhin als Sportart für Asthmapatienten empfohlen (Del Giacco et al., 2001).

Für Expositionen im sechsten Lebensjahr fanden sich bei Kindern, die im Winter einmal pro Woche ein Schwimmbad besucht hatten, auf Ebene der Rohdaten, jedoch nicht in der multiplen Regression, signifikant erniedrigte Anteile IFN- $\gamma$  produzierender T-Zellen, verglichen mit Kindern, die im Winter nie schwammen. Ein gleichgerichteter Trend war für das Schwimmen während der Sommermonate zu beobachten. Zusammenhänge zu veränderten Zytokin- bzw. Chemokinkonzentrationen im Vollblutassay konnten nicht nachgewiesen werden. Da das zur Desinfektion genutzte Chlor mit organischem Material im Badewasser reagiert, entstehen verschiedene halogenierte Verbindungen wie Chloramine und Trihalomethane mit humantoxischem Potenzial. Es konnte gezeigt werden, dass die Konzentrationen der Trihalomethane von der Anzahl der Schwimmbadbesucher und der Wassertemperatur abhängig sind. Zudem finden sich in Freibädern geringere Luftkonzentrationen als in Hallenbädern (Chu und Nieuwenhuijsen, 2002). Dies ist möglicherweise eine Ursache dafür, dass im sechsten Lebensjahr der Besuch von Schwimmbädern während der Wintermonate mit stärkeren Einschränkungen der IFN- $\gamma$ -Produktion einherging als während der Sommermonate. Auch wenn innerhalb der LISA-Studie das Immunsystem sechsjähriger Kinder relativ stabil gegen aktuelle Expositionen mit chlorierten Verbindungen in Schwimmbädern erscheint, wird die Notwendigkeit der

Minimierung eingesetzter Chlormengen und die Einhaltung gesetzlicher Grenzwerte auch im vorliegenden Kontext deutlich.

#### 4.5 Immunparameter und Schimmelpilzbelastungen

Es gilt als bekannt, dass Schimmelpilzexpositionen das Auftreten von respiratorischen Erkrankungen und deren Symptomen begünstigen. Effekte von Innenraumbelastungen mit Schimmelpilzen und hoher Feuchtigkeit auf die Atemwege und allergische Manifestationen bei Kindern stehen dabei im besonderen Interesse und wurden bereits weltweit untersucht (Gent et al., 2002; Simoni et al., 2005; Venn et al., 2003; Verhoeff et al., 1995). Die zugrunde liegenden Mechanismen für die negativen Auswirkungen von Feuchtigkeit und Schimmelpilzbelastungen auf das Immunsystem bzw. die Entstehung von Atemwegserkrankungen und allergischen Manifestationen sind dagegen weitgehend unbekannt und Gegenstand aktueller Forschung (Bornehag et al., 2001). Die im Rahmen der LARS-Studie durchgeführten Untersuchungen an Hochrisikokindern (doppelt positive Familienanamnese, erhöhtes Nabelschnur-IgE, erniedrigtes Geburtsgewicht) fanden Zusammenhänge zwischen Expositionen mit Aspergillusarten und eingeschränkter Produktion von Th1-Zytokinen auf Ebene der T-Zellen sowie allergischer Rhinitis und assoziierten Symptomen (Muller et al., 2002). Untersuchungen im Mausmodell konnten darüber hinaus Erhöhungen proinflammatorischer Immunparameter in Lungenepithelzellen nach Exposition gegen verschiedene Schimmelpilze aus Häusern mit Wasserschäden nachweisen. Die Effekte wurden für die Zytokine IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  sowie MCP-1 und andere Chemokine beschrieben (Jussila et al., 2002; Leino et al., 2003). Im Einklang damit berichteten Autoren einer finnischen Studie über Anstiege der Entzündungsmediatoren IL-1, IL-6 und TNF- $\alpha$  im Sekret der oberen und unteren Atemwege bei Erwachsenen, die in schimmelbelasteten Schulgebäuden arbeiteten. Veränderungen von IL-4-Konzentrationen traten aufgrund saisonaler Einflüsse sowohl unter den Exponierten, als auch in der Kontrollgruppe auf und wurden nach Ausschluss atopischer Probanden nicht mehr beobachtet (Purokivi et al., 2001). In den vorliegenden Analysen berichteten nur 11 Eltern der Probanden über sichtbare Schimmelflecken im Kinderzimmer. Dennoch zeigte sich sowohl auf Rohdatenebene als auch unter Einbeziehung relevanter Kofaktoren ein positiver Zusammenhang zu erhöhten Spiegeln an IL-8 und IL-10 in endotoxinstimulierten Ansätzen des Vollblutassays sowie eine Erhöhung

von IL-5 in unstimulierten Ansätzen. Für IL-6 und TNF- $\alpha$  konnte allenfalls ein Trend zu erhöhten Konzentrationen nachgewiesen werden, während MCP-1 in partikelstimulierten Ansätzen auf Rohdatenebene, jedoch nicht im multiplen Regressionsmodell, signifikant erhöht zu beobachten war. Die 5 Kinder, deren Eltern ihre Wohnung subjektiv als feucht einschätzten, zeigten eine gesteigerte IL-13-Produktion in T-Lymphozyten. Auch wenn diese Ergebnisse aufgrund der geringen Fallzahlen sehr kritisch bewertet werden müssen, geben die Zusammenhänge zwischen Schimmel- bzw. Feuchtigkeitsbelastungen und erhöhten Konzentrationen von IL-8, IL-10 und IL-5 Hinweise auf einen allergischen Entzündungsprozess. Die im Zusammenhang mit Schimmelpilzexposition erhöhten Konzentrationen von MCP-1 und gesteigerte Synthese von IL-13 in T-Zellen könnten für eine Th2-polarisierte Immunität sprechen. Zudem zeigten die vorliegenden Untersuchungen unter anderem positive Assoziationen zwischen MCP-1, IL-8 sowie IL-13 und Sensibilisierungen gegen Schimmelpilze, während die Konzentrationen von IL-10 und IL-5 positiv mit Sensibilisierungen gegen andere Inhalations- bzw. Nahrungsallergene verbunden waren. Somit ist ein Wirkmechanismus über Induktion einer allergischen Entzündung durch proinflammatorische Immunmediatoren hin zu allergischen Sensibilisierungen und den damit verbundenen Krankheitserscheinungen denkbar (Purokivi et al., 2001; Verhoeff et al., 1995).

#### **4.6 Immunparameter und Renovierungsaktivitäten**

Da Belastungen mit flüchtigen organischen Kohlenwasserstoffen (VOC) in Wohnungen erheblich höher sind als im Außenbereich und die Aufenthaltsdauer in Innenräumen die des Aufenthalts im Freien wesentlich übertrifft (Adgate et al., 2004), gewinnt die Untersuchung von Innenraumschadstoffexpositionen auf das Immunsystem zunehmend an Bedeutung. In epidemiologischen Studien konnten wiederholt Zusammenhänge zwischen erhöhten VOC-Konzentrationen und inflammatorischen bzw. allergischen Symptomen beobachtet werden (Diez et al., 2000; Herbarth et al., 2006; Saijo et al., 2004). Quellen dieser Chemikalien sind unter anderem Farben, Lacke, Baumaterialien, Klebstoffe, Möbel, Reinigungsmittel und Teppichböden. Entsprechend führen verschiedene Renovierungsaktivitäten in der Wohnung zu erhöhten VOC-Konzentrationen (Wieslander et al., 1997a). Die beobachteten entzündlichen Reaktionen im Zusammenhang mit Renovierungsarbeiten

sind dabei offensichtlich nicht nur auf die Schleimhäute des Respirationstraktes beschränkt. So wurde bei Probanden, die in neu gemalerten Häusern lebten, ein erhöhter Anteil eosinophiler Granulozyten im Blut nachgewiesen (Wieslander et al., 1997b). Auch die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit weisen auf einen systemischen Effekt von Renovierungsaktivitäten bei sechsjährigen Kindern hin. Es zeigten sich erhöhte Konzentrationen von MCP-1 und IL-8 bei Kindern, deren Eltern über Verlegung von neuem Fußboden und Malerarbeiten und/oder dem Aufstellen von neuen Möbeln berichteten. Eine Zunahme der IL-6- und TNF- $\alpha$ -Spiegel in unstimulierten bzw. partikelstimulierten Ansätzen ließ sich nur auf Rohdatenebene nachweisen. Da Malerarbeiten und das Aufstellen von neuen Möbeln allein keinen Effekt auf diese Parameter zeigten, kann daraus geschlossen werden, dass die Verlegung von neuem Fußbodenbelag verantwortlich ist für den Anstieg der Chemokinkonzentrationen im Blut der exponierten Kinder. Eine getrennte Untersuchung des Einflusses von Fußbodenverlegung konnte nicht vorgenommen werden, da bis auf zwei Fälle stets gleichzeitig andere Renovierungsarbeiten stattfanden. Hinsichtlich des Fußbodenmaterials fanden sich die Erhöhungen von IL-8 und MCP-1 bei Verlegung von Teppichboden sowie eine Erhöhung von MCP-1 in partikel- und Endotoxin-stimulierten Ansätzen bei Laminatverlegung wieder.

Das Chemokin MCP-1 spielt eine wichtige Rolle in der Pathogenese inflammatorischer Lungenerkrankungen. Es wird über eine Vielzahl von Mechanismen berichtet, über die MCP-1 möglicherweise die Entstehung von allergischen Atemwegserkrankungen moduliert, einschließlich der Ausschüttung von Histamin und Leukotrienen sowie der Polarisierung der Immunantwort in Richtung Th2 (Rose, Jr. et al., 2003). Eine Studie mit Probanden, die an schwerem Asthma litten, zeigte nicht nur in der Flüssigkeit einer broncho-alveolären Lavage, sondern auch im Blut, erhöhte Konzentrationen von IL-8 und TNF- $\alpha$ , so dass diese Parameter als Marker einer systemischen entzündlichen Reaktion bei schwerem Asthma diskutiert werden (Silvestri et al., 2006). Untersuchungen im Rahmen der LISA-Studie hatten bereits im dritten Lebensjahr der Probanden ein erhöhtes Risiko für das Auftreten von *atopischer Dermatitis* in Abhängigkeit von Renovierungsaktivitäten während der Schwangerschaft sowie Risikoerhöhungen für irritativ-entzündliche Symptome der Atemwege bei Renovierung der Wohnung in den letzten zwölf Monaten ergeben (Henker, 2004). Aufgrund dieser Datenlage ist anzunehmen, dass die beschriebenen Einflüsse von Renovierungsaktivitäten, insbesondere das Verlegen von Teppichboden und Laminat, auch

im sechsten Lebensjahr Relevanz für die Ausprägung irritativer und allergischer Symptome besitzen.

#### 4.7 Immunparameter und Zigarettenrauchexpositionen

Prä- und postnatale Belastungen mit Substanzen des Tabakrauchs sind eine der häufigsten und schwerwiegendsten Umweltexpositionen, denen Kinder ausgesetzt sind. Durch eine große Anzahl epidemiologischer Studien konnten klare Zusammenhänge zwischen Rauchexpositionen von Kindern und der Inzidenz von Atemwegserkrankungen, verminderter Lungenfunktion, Mittelohrentzündungen, plötzlichem Kindstod, Verhaltensstörungen und neurokognitiven Defiziten aufgezeigt werden (DiFranza et al., 2004). Ob eine ursächliche Beziehung zwischen kindlichem Passivrauchen und allergischer Sensibilisierung besteht, ist jedoch – wie Eingangs erwähnt – umstritten.

Eine Studie, die 369 Kinder mit hohem Atopierisiko einschloss (doppelt positive Familienanamnese), berichtete über eine Assoziation von mütterlichem Rauchen in der Schwangerschaft und/oder im ersten Lebensjahr und Wheezing während des ersten Lebensjahres (OR 1,88), zeigte jedoch keinen Zusammenhang zwischen Passivrauchen und Atopie im Sinne einer positiven Haut-Pricktestung (Murray et al., 2004). In einer unselektierten Kohorte von 7-8-jährigen Kindern konnte eine Beziehung zwischen passiven Rauchbelastungen und asthmoiden Symptomen sowie Husten gefunden werden (Mommers et al., 2005; Zhang et al., 2002). Diese Ergebnisse stützen die These, dass Passivrauchen einen adjuvanten Einfluss auf die Entwicklung von bronchialer Hyperreagibilität und Asthma bei genetisch vorbelasteten Kindern besitzt, während es irritativ auf die Atemwege nicht atopisch vorbelasteter Kinder wirkt.

Auf zellulärer Ebene konnten verschiedene Experimente Anstiege proinflammatorischer Zytokine durch Rauchexposition nachweisen. So zeigten humane Lungenepithelzellen nach Inkubation mit Zigarettenrauch eine gesteigerte Produktion von IL-6, IL-8 und Matrix-Metalloprotease-1 (Phillips et al., 2005). Eine *in-vitro*-Stimulation muriner Milzzellen mit Nebenstromrauch, der Hauptkomponente passiver Rauchbelastungen, ergab Konzentrationserhöhungen für IL-6, TNF- $\alpha$  und IL-1 $\beta$  (Zhang et al., 2002). Die Zytokinbestimmungen im Vollblut der LISA-Probanden konnten den proinflammatorischen Effekt von Passivrauchen *in vivo* bestätigen. In der Gesamtkohorte war das parentale Rauchen von mehr als

14 Zigaretten pro Tag mit erhöhten Spiegeln an IL-6, IL-8, IL-10, TNF- $\alpha$  und MCP-1 assoziiert. Chemokine wie IL-8 und MCP-1 sind in der Lage, chemotaktische Gradienten zu generieren, die die Akkumulation und Aktivierung von neutrophilen Granulozyten, Makrophagen und anderen Entzündungszellen bewirken. Ebenso konnte gezeigt werden, dass IL-6 und TNF- $\alpha$  in die Aktivierung von Monozyten, B- und T-Lymphozyten involviert sind sowie die Expression vieler Zytokine und Zelladhäsionsmoleküle wie IL-8, RANTES, ICAM-1 (Intercellular Cell Adhesion Molecule 1) und E-Selektin beeinflussen (D'Ambrosio et al., 2000; Mills et al., 1999; Pechkovsky et al., 2005). IL-10 dagegen, welches sowohl von Th1-, als auch von Th2-T-Zellen produziert wird, ist als regulatorisches und immunsuppressives Zytokin bekannt. Es hat einen stark inhibitorischen Effekt auf Th1-Lymphozyten, antigenpräsentierende Zellen und die Produktion inflammatorischer Mediatoren. Weiterhin sind regulatorische CD4<sup>+</sup>-T-Zellen durch die Sekretion von IL-10 in der Lage, Entzündungen vom Typ Th1 und Th2 zu hemmen (Nakagome et al., 2005; Zhou et al., 2005). Die gleichzeitige Erhöhung der proinflammatorischen Zytokine und des antiinflammatorischen Zytokins IL-10, die auch kürzlich im Zusammenhang mit Asthma und Passivrauchen beschrieben wurde (Leem et al., 2005), reflektiert möglicherweise den Versuch des Immunsystems, das Entzündungsgeschehen zu regulieren und zu dämpfen.

Verschiedene Studien berichten von einer dosisabhängigen Beziehung zwischen Krankheitssymptomen und Rauchexpositionen. So konnte in einer älteren Untersuchung mütterliches Rauchen von mindestens einer halben Schachtel Zigaretten pro Tag als unabhängiger Risikofaktor für die Entwicklung von kindlichem Asthma während des ersten Lebensjahres identifiziert werden (Weitzman et al., 1990). Für die durchschnittliche tägliche Dauer der Zigarettenrauchbelastung wurde ein dosisabhängiger Effekt auf das Risiko von Wheezing beobachtet (Lux et al., 2000). Auch in den vorliegenden Untersuchungen war erst starkes Rauchen der Eltern (15 und mehr Zigaretten pro Tag) mit stimulierenden Effekten auf die Konzentrationen von IL-6, IL-8, IL-10, TNF- $\alpha$  und MCP-1 verbunden. Ebenso zeigte nur tägliches Rauchen in der Wohnung einen signifikant erhöhenden Einfluss auf Zytokinkonzentrationen von weiblichen Probanden.

Die Gruppe der LISA-Probanden, deren Eltern 10-14 Zigaretten pro Tag rauchten, zeigte zusätzlich auf Rohdatenebene signifikant erhöhte IFN- $\gamma$ - und IL-4-Konzentrationen in PHA-stimulierten Proben. Nach Adjustierung auf die Einflussfaktoren „doppelt positive Familienanamnese“, „Aufstellen neuer Möbel im Kinderzimmer“, „eine feuchte Wohnung“

und „mehr als ein jüngeres Geschwisterkind“ blieb allein die Erhöhung von IFN- $\gamma$  statistisch signifikant. Intrazellulär ließ sich in der genannten Belastungsgruppe eine tendenzielle Erhöhung aller intrazellulär bestimmten Zytokine beobachten, was auf eine generelle T-Zell-Stimulation hinweist. In weniger belasteten Subgruppen war allerdings in der Gesamtkohorte sowie für Jungen und Mädchen ein gegensätzlicher Effekt zu verzeichnen, so dass die Ergebnisse hinsichtlich der Zytokinproduktion auf T-Zell-Ebene insgesamt inkonsistent erschienen. Darüber hinaus ergaben alle weiteren Untersuchungen der intrazellulären Zytokinproduktion weder für die Dauer der Rauchexposition, noch für die Menge des täglichen Zigarettenkonsums Assoziationen zu Verschiebungen des Th1-/Th2-Gleichgewichts. Es lassen sich daher anhand der epidemiologischen Daten keine sicheren Rückschlüsse auf beeinträchtigte oder veränderte Anteile Zytokin produzierender T-Lymphozyten ziehen. Die Ergebnisse der Korrelation gemessener Benzolkonzentrationen mit den T-Zell-Zytokinen zeigten in der Gesamtkohorte und bei Mädchen positive Zusammenhänge sowohl für Th1- als auch für Th2-Zytokine. Bei Jungen waren dagegen nur die Anteile IL-2 und IL-4 produzierender T-Zellen positiv mit Benzol assoziiert. Häusliche Benzolkonzentrationen hatten somit bei Mädchen stärkere Einflüsse auf die Produktion von T-Zell-Zytokinen als bei Jungen, wenngleich auch hier keine Polarisierung der Zytokinantwort in die eine oder andere Richtung zu beobachten war.

Bei getrennter Betrachtung von Jungen und Mädchen waren für Mädchen die genannten extrazellulären Zytokin- und Chemokinerhöhungen (IL-6, IL-8, IL-10, TNF- $\alpha$ , MCP-1) schon bei parentalem Rauchen von über 10 Zigaretten pro Tag zu beobachten. Tägliches Rauchen in der Wohnung war ebenfalls nur bei weiblichen Probanden mit gesteigerten Konzentrationen von MCP-1, IL-8 und IL-10 verbunden. Für Jungen war der Effekt nicht oder nur tendenziell nachweisbar. Dieser geschlechtsspezifische Unterschied der proinflammatorischen Zytokinantwort lässt eine höhere pulmonale Suszeptibilität der Mädchen gegen passive Zigarettenrauchbelastungen vermuten.

Im Einklang mit dieser Hypothese beobachtete eine kanadische Studie mit 862 Probanden zwischen 6 bis 17 Jahren gravierendere Effekte von Tabakrauch auf die Lungenfunktion von Mädchen, als auf die von Jungen. Mädchen zeigten stärkere Assoziationen zwischen der Anzahl der im Haushalt lebenden Raucher bzw. deren täglichem Zigarettenkonsum und verringerten pulmonalen Funktionsparametern wie der Einsekundenkapazität (FEV-1), dem mittleren Fluss bei 25-75 % der forcierten Vitalkapazität (FEF25-75) und dem maxi-

malen Fluss bei 75 %, 50 % bzw. 25 % der forcierten Vitalkapazität ( $V_{max75}$ ,  $V_{max50}$ ,  $V_{max25}$ ) (Chen et al., 2005). In einer Befragung von 6817 schwedischen Nichtraucher berichteten Frauen im Gegensatz zu Männern nahezu doppelt so häufig über Atemnot, Wheezing und Hustenattacken, die durch Passivrauch verursacht wurden (Larsson et al., 2003). Einen weiteren Hinweis für eine höhere Empfindlichkeit von Frauen gegen Tabakrauch ergab eine repräsentative epidemiologische Studie zur Prävalenz der chronisch obstruktiven Lungenerkrankung (COPD) in Kanada. Häufigste exogene Ursache für diese Erkrankung ist das Rauchen. Unter Rauchern waren 8,2 % der Frauen, im Vergleich zu 3,5 % der Männer, von einer derartigen Diagnose betroffen (Chen et al., 2000). Allerdings gibt es auch Daten, die über ein gegensätzliches Verhältnis berichten (de Torres et al., 2005). Trotzdem erscheinen Frauen prädestiniert für die Ausbildung von COPD in früheren Lebensjahren und reagieren mit größeren Funktionseinbußen der Lungenfunktion auf Tabakrauch (Chapman, 2004; Silverman et al., 2000). Es stellt sich die Frage, ob Ergebnisse zur Tabakrauchsuszeptibilität erwachsener Frauen ohne weiteres auf die von sechsjährigen Kindern übertragbar sind. Als eine mögliche Ursache für den Geschlechtsunterschied in der Suszeptibilität gegenüber Tabakrauch werden hormonelle Faktoren diskutiert (Hellings et al., 2003; Yamatomo et al., 2001). Da sich die Geschlechtshormonspiegel zwischen Jungen und Mädchen präpubertär nicht wesentlich unterscheiden, können sie hier nicht als Erklärungsgrundlage dienen. Näherliegend sind Interaktionen zwischen genetischen Faktoren und Zigarettenrauch, die zur Entstehung geschlechtsdifferenter Reaktionen führen.

Auch die Korrelation mit Benzol ergab nur in der Gesamtkohorte und für Mädchen positive Assoziationen zu den Konzentrationen von MCP-1, IL-6 und IL-8. Hauptquelle für Benzol in der Außenluft ist der motorisierte Straßenverkehr, der auch im Innenraum zu einer messbaren Grundbelastung führt. In der Wohnung stellt Tabakrauch praktisch die einzige zusätzliche Emissionsquelle dar, so dass die Belastung der Raucher fünf- bis zehnmals höher sein kann, als die der Nichtraucher (EKL-BUWAL, 2003). LISA-Probanden, deren Eltern nicht rauchten, hatten eine mittlere Benzolkonzentration von  $3,9 \mu\text{g}/\text{m}^3$ , während die Konzentration bei elterlichem Konsum von 15 und mehr Zigaretten pro Tag auf  $11,8 \mu\text{g}/\text{m}^3$  anstieg. Untersuchungen von Effekten häuslicher Benzolbelastungen bzw. Expositionen durch starken Straßenverkehr konnten Zusammenhänge zur Prävalenz irritativer und allergischer Atemwegssymptome aufzeigen (Nicolai et al., 2003a; Rumchev et al., 2004). Die

aus Verkehrsexpositionen resultierenden Benzolbelastungen waren bei 5- bis 11-jährigen Kindern mit Wheezing, Asthma und Husten verbunden. Für Kinder, die gleichzeitig Passivrauch exponiert waren, ergab sich in Abhängigkeit von der Verkehrsbelastung ein erhöhtes Risiko für Asthma sowie eine positive Hautpricktestung gegen inhalative Allergene (Nicolai et al., 2003a). Die in der LISA-Studie mit parentalem Zigarettenkonsum verbundenen Anstiege der Konzentrationen von IL-10 und TNF- $\alpha$  ließen sich nicht durch erhöhte Benzolkonzentrationen in der Wohnung erklären. Da Zigarettenrauch eine Vielzahl verschiedener Inhaltsstoffe wie Partikel, Chlorkohlenwasserstoffe und Kohlenstoffmonoxid enthält, spiegeln die beobachteten Zusammenhänge die Wirkungen dieser Substanzen in ihrer Summe wieder. Aus den vorliegenden Daten konnte somit gezeigt werden, dass Benzol eine geeignete Verbindung zur Verifizierung der Rauchbelastung ist, jedoch keine ausschließliche Ursache für die beobachteten irritativen Effekte darstellt.

Einflüsse des Passivrauchens auf das Sensibilisierungsrisiko konnten in den durchgeführten Untersuchungen bestätigt werden. Kinder, deren Eltern mehr als 14 Zigaretten pro Tag konsumierten, hatten sowohl auf Rohdatenebene als auch nach Adjustierung auf bekannte Einflussfaktoren ein statistisch signifikant erhöhtes Risiko für die Sensibilisierung gegen Milbenallergene. Auch das Risiko für das Vorhandensein von spezifischem IgE und IgE gegen die Inhalationsallergenmischung konnte nach Adjustierung auf mögliche Risikofaktoren signifikant erhöht beobachtet werden. Etwaige Geschlechtsunterschiede der Sensibilisierungsprävalenzen wurden aufgrund höherer Fallzahlen nur in den Gruppen mit täglicher bzw. keiner häuslichen Rauchbelastung untersucht. Tägliche Passivrauchexposition zeigte bei Mädchen eine signifikante Risikoerhöhung für Gesamt-IgE über 180 kU/l auf Rohdatenebene, während das Risiko für Sensibilisierungen gegen Allergene der Inhalationsmischung in einem auf weitere Risikofaktoren adjustierten Modell Signifikanzniveau erreichte. Zwar stiegen auch bei Jungen die Prävalenzen allergischer Sensibilisierungen in Abhängigkeit von Rauchexpositionen an, doch erreichte der Trend keine statistische Signifikanz. Auch diese Ergebnisse lassen sich als eine stärkere Empfindlichkeit von Mädchen gegen Tabakrauch interpretieren. Untersuchungen im Mausmodell konnten ebenfalls einen geschlechtsspezifischen Unterschied in der allergischen Immunantwort auf Zigarettenrauch beobachten. Weibliche Tiere, die Tabakrauch ausgesetzt wurden, reagierten im Gegensatz zu männlichen Tieren auf eine Sensibilisierung gegen Ovalbumin mit

signifikant höheren Spiegeln an spezifischem IgE und Th2-Zytokinen wie IL-4, IL-5, IL-10 und IL-13 (Seymour et al., 2002).

Obwohl die beobachteten Zusammenhänge einer Bestätigung in größeren Kohorten bedürfen, geben sie Hinweise für geschlechtsdifferente Effekte von Passivrauchen auf allergische Sensibilisierungen via inflammatorische Reaktionen. Die geschlechtsdifferente Reaktion könnte eine Ursache für fehlende Zusammenhänge zwischen Rauchexpositionen und Sensibilisierungen in anderen epidemiologischen Studien sein, in denen Effekte jeweils nur für die Gesamtkohorte beschrieben wurden (Jindal und Gupta, 2004; Murray et al., 2004). Ergebnisse aus *in-vivo*- und *in-vitro*-Untersuchungen geben Aufschluss über die vielen unterschiedlichen Angriffspunkte von Zigarettenrauch auf pulmonale Zellfunktionen und zeigen die Komplexität der ineinander greifenden Mechanismen (van der Velden et al., 2004). Neben einer nachweislichen Erhöhung des oxidativen Stress durch Passivrauchen in der kindlichen Lunge und einer damit verbundenen Freisetzung inflammatorischer Zytokine und Schädigungen der Zellmembran (Kosecik et al., 2005; Yang et al., 2006), sind suppressive Wirkungen auf die Prägung dendritischer Zellen bekannt, die die Entwicklung einer Th2-geprägten Immunität begünstigen (Nouri-Shirazi und Guinet, 2006; Vassallo et al., 2005). Weiterhin wurde beschrieben, dass MCP-1 nicht nur in die Aktivierung von Monozyten, Mastzellen, eosinophilen und basophilen Granulozyten involviert ist, sondern auch die Differenzierung naiver T-Zellen in IL-4 produzierende Th2-Zellen begünstigt (Rose et al., 2003). Im Mausmodell konnten drastische Verringerungen der bronchialen Hyperreagibilität durch Neutralisation von MCP-1 erreicht werden, was auf dessen wichtige Rolle im allergischen Entzündungsprozess hinweist (Gonzalo et al., 1998). In der vorliegenden Arbeit zeigten MCP-1-Konzentrationen positive Korrelationen zu den Anteilen IL-4 und IL-13 produzierender T-Lymphozyten. Zudem lagen positive Zusammenhänge zwischen MCP-1 und Gesamt-IgE-Spiegeln sowie Sensibilisierungen gegen inhalative Allergene und Schimmelpilzallergene vor. Die Ergebnisse des betrachteten Datenmaterials sprechen somit ebenfalls für eine Förderung der Th2-Differenzierung und allergischer Sensibilisierungen durch eine Induktion von MCP-1. Darüber hinaus sind eine Vielzahl von Polymorphismen in antioxidativen Enzymen und Zytokinen wie IL-8 und MCP-1 bekannt, die die Suszeptibilität für eine allergische Entzündung der Atemwege erhöhen (Puthothu et al., 2006; Spiteri et al., 2000; Yao et al., 2004).

## Zusammenfassung der Arbeit

Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades Dr. med.

### **Einfluss ausgewählter Schadstoffbelastungen auf die Immunreaktivität sechsjähriger Kinder**

eingereicht von Reinhild Gubelt  
geboren am 18.10.1980 in Crivitz

angefertigt am

- Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung – UFZ, Dept. Umweltimmunologie, Leipzig
- Klinik für Kinder- und Jugendmedizin am Städtischen Klinikum St. Georg, Leipzig,
- Institut für Hygiene und Umweltmedizin, Medizinische Fakultät Leipzig

betreut von

Frau Dr. I. Lehmann, Herrn PD Dr. M. Borte und Herrn Prof. Dr. O. Herbarth

eingereicht im Mai 2007

Lebensbedingungen, Verhaltensweisen und Umweltfaktoren haben eine wesentliche Bedeutung für das Verständnis der dramatischen Prävalenzanstiege allergischer Erkrankungen in der westlichen Welt. Da der Innenraum zum typischen Aufenthaltsort des modernen Menschen geworden ist, sind insbesondere Innenraumschadstoffe relevante Faktoren bei der Untersuchung möglicher immunmodulatorischer Expositionen. Die Wirkung dieser unspezifischen adjuvanten Faktoren auf das in der Entwicklung befindliche kindliche Immunsystem ist dabei von besonderem Interesse. Innerhalb der prospektiven LISA-Studie (Einfluss von Lebensbedingungen und Verhaltensweisen auf die Entwicklung von Immunsystem und Allergien im Ost-West-Vergleich) wurden bei 324 nunmehr sechsjährigen Leipziger Probanden die *ex vivo* stimulierte Zytokinsekretion der T-Lymphozyten, inflammatorische Immunparameter im Vollblutassay sowie IgE-Antikörper aus dem Serum bestimmt und in Relation zueinander und zu ausgewählten Innenraumschadstoff-

Belastungen gestellt. Weiterhin wurden bekannte Einflussfaktoren wie atopische Familienanamnese und Geschlecht in die Untersuchungen einbezogen.

Es bestanden positive Assoziationen zwischen den Expressionsstärken der Th1- bzw. Th2-Zytokine untereinander sowie zwischen beiden Zytokingruppen. Die Produktion der T-Zell-Zytokine wurde vom Geschlecht der Probanden nicht signifikant beeinflusst. Dagegen ging eine doppelt positive Familienanamnese mit einer Einschränkung der Synthesekapazität der Typ-1-Zytokine IFN- $\gamma$  und IL-2 einher. Entsprechend wiesen diese Kinder ein drei- bis fünffach erhöhtes Risiko für Sensibilisierungen gegen häufige inhalative Allergene auf und ließen sich somit als Hochrisikogruppe für eine atopische Reaktionslage des Immunsystems identifizieren. Probanden mit einem atopischen Elternteil zeigten gegenüber denen ohne atopische Vorbelastung nur geringfügig höhere Sensibilisierungsprävalenzen.

Für die Immunparameter im Vollblutassay ergaben sich innerhalb der Gruppen der Th1- und Th2-Zytokine sowie den Chemokinen und proinflammatorischen Zytokinen positive Korrelationen. Anhand positiver Assoziationen zwischen den Anteilen IFN- $\gamma$  bzw. IL-4 produzierender T-Lymphozyten und den Konzentrationen von IFN- $\gamma$  bzw. IL-4 in PHA-stimulierten Ansätzen des Vollblutassays, konnte die Relevanz der beiden eingesetzten Methoden sowie deren alternative Anwendbarkeit zur extrazellulären Bestimmung der Zytokine belegt werden. Weiterhin waren die Anteile Th2 produzierender T-Lymphozyten positiv mit den Konzentrationen von IL-5, IL-6, IL-8 und MCP-1 im Vollblutassay korreliert, was auf deren Beteiligung an allergischen Immunantworten hindeutet. Dies konnte für IL-4, IL-5, IL-8 und MCP-1 durch signifikante Zusammenhänge zwischen Sensibilisierungen gegen verschiedene inhalative Allergene und Gesamt-IgE-Spiegel über 180 kU/l gestützt werden.

Bezüglich des Geschlechts fanden sich im Vollblutassay bei Jungen höhere Spiegel an Eotaxin in PHA-stimulierten und unstimulierten Ansätzen. Probanden mit einfach oder doppelt positiver atopischer Vorbelastung zeigten auch im Vollblutassay erniedrigte Konzentrationen an IFN- $\gamma$ . Zusätzlich wiesen solche mit biparentaler atopischer Belastung erhöhte IL-4-Spiegel auf.

Da der Innenraum mit deutlich höheren Konzentrationen an flüchtigen organischen Verbindungen belastet ist und die Aufenthaltsdauer in Innenräumen weitaus größer ist als im Außenbereich, geraten Innenraumschadstoffe zunehmend in Verdacht zur Ausbreitung

von Atemwegserkrankungen und allergischen Symptomen beizutragen. Renovierungsaktivitäten tragen nachweislich zur Steigerung der Schadstoffkonzentrationen im Innenraum bei. Dementsprechend war vor allem das Verlegen von neuem Fußbodenbelag mit erhöhten Spiegelwerten der proinflammatorischen Mediatoren MCP-1 und IL-8 in unstimulierten, partikel- oder LPS-stimulierten Ansätzen des Vollblutassays verbunden. Malern und Aufstellen neuer Möbel allein hatte keinen signifikanten Einfluss auf die im Vollblutassay gemessenen Immunparameter. Die Untersuchung des Fußbodenbelagmaterials ergab, dass das Verlegen von Teppichboden zu den Anstiegen der IL-8- und MCP-1-Konzentrationen und das Verlegen von Laminat zu MCP-1-Erhöhungen führt.

Für das Vorhandensein von Schimmelflecken im Schlaf- bzw. Kinderzimmer der Probanden fanden sich in LPS-stimulierten Ansätzen des Vollblutassays erhöhte Konzentrationen an IL-8 und IL-10. Unstimulierte Ansätze zeigten höhere Spiegel an IL-5. Insgesamt war die Prävalenz sichtbarer Schimmelflecken allerdings sehr gering.

Erniedrigte Anteile TNF- $\alpha$  produzierender T-Lymphozyten bei Kindern, die in den ersten drei Lebensjahren erstmals in chloriertem Wasser schwammen, gaben Anhalt für eine mögliche Beeinträchtigung der Th1-Immunantwort. Effekte auf die Immunreaktivität durch Schwimmbadbesuche im sechsten Lebensjahr der Kinder konnten nicht festgestellt werden.

Kinder, die häuslichen Passivrauchbelastungen ausgesetzt waren, zeigten in Abhängigkeit vom täglichen Zigarettenkonsum der Eltern einen deutlichen Trend zu erhöhten Spiegelwerten proinflammatorischer Mediatoren in unstimulierten und partikelstimulierten Ansätzen des Vollblutassays. In der höchsten Belastungsgruppe mit einem elterlichen Zigarettenkonsum von über 14 Zigaretten pro Tag ließ sich zusätzlich ein erhöhtes Risiko für Sensibilisierungen gegen spezifische Allergene, inhalative Allergene sowie das Milbenallergen beobachten. Interessanterweise ergaben sich deutlich geschlechtsspezifische Unterschiede in der Immunantwort auf Zigarettenrauch. Während Mädchen wie in der Gesamtkohorte dosisabhängig mit Steigerungen der Konzentrationen von MCP-1, IL-6, IL-8 und TNF- $\alpha$  auf passive Rauchbelastungen reagierten, zeigten sich bei Jungen keinerlei signifikante Veränderungen. Gleiches traf für die Konzentrationen von MCP-1, IL-10, IL-8 bei täglichem Rauchen der Eltern in der Wohnung zu. Auch ein erhöhtes Sensibilisierungsrisiko gegen inhalative Allergene bei täglichem Rauchen der Eltern fand sich nur unter weiblichen Probanden, was eine stärkere Suszeptibilität von Mädchen gegen Zigarettenrauchbelas-

tungen nahe legt. Abhängig von der Intensität des Zigarettenkonsums der Eltern zeigte sich zudem eine deutliche Zunahme der Benzolkonzentrationen in der Wohnung. In Übereinstimmung mit den genannten Ergebnissen ergab sich bei Mädchen ein positiver Trend zwischen gemessenen Benzolkonzentrationen und steigenden Konzentrationen von TNF- $\alpha$ , MCP-1, IL-6 und IL-8 in unstimulierten Ansätzen des Vollblutassays.

Zusammenfassend wurde die Induktion einer proinflammatorischen Immunantwort im Zusammenhang mit Renovierungsarbeiten, Schimmelpilz- und Passivrauchexpositionen beobachtet. Eine atopische Reaktionslage der T-Zellen wurde durch eine doppelt positive Familienanamnese, eine feuchte Wohnung und Schwimmbadbesuche im frühen Kindesalter begünstigt. Weiterhin konnten Assoziationen zwischen proinflammatorischen Mediatoren des Vollblutassays und Th2-Zytokinen auf T-Zell-Ebene sowie spezifischen Sensibilisierungen nachgewiesen werden.

## Literaturverzeichnis

- Adgate JL, Church TR, Ryan AD, Ramachandran G, Fredrickson AL, Stock TH, Morandi MT, Sexton K, 2004: Outdoor, indoor, and personal exposure to VOCs in children. *Environ.Health Perspect.* 112 1386-1392.
- Akbari O, Stock P, DeKruyff RH, Umetsu DT, 2003: Role of regulatory T cells in allergy and asthma. *Curr.Opin.Immunol.* 15 627-633.
- Arshad SH, Kurukulaaratchy RJ, Fenn M, Matthews S, 2005: Early life risk factors for current wheeze, asthma, and bronchial hyperresponsiveness at 10 years of age. *Chest* 127 502-508.
- Arshad SH, Tariq SM, Matthews S, Hakim E, 2001: Sensitization to common allergens and its association with allergic disorders at age 4 years: a whole population birth cohort study. *Pediatrics* 108 E33.
- 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.
- Bernard A, Carbonnelle S, Michel O, Higuete S, De BC, Buchet JP, Hermans C, Dumont X, Doyle I, 2003: Lung hyperpermeability and asthma prevalence in schoolchildren: unexpected associations with the attendance at indoor chlorinated swimming pools. *Occup.Environ.Med.* 60 385-394.
- Bornehag CG, Blomquist G, Gyntelberg F, Jarvholm B, Malmberg P, Nordvall L, Nielsen A, Pershagen G, Sundell J, 2001: Dampness in buildings and health. Nordic interdisciplinary review of the scientific evidence on associations between exposure to "dampness" in buildings and health effects (NORDDAMP). *Indoor.Air* 11 72-86.
- Borres MP, Bjorksten B, 2004: Peripheral blood eosinophils and IL-4 in infancy in relation to the appearance of allergic disease during the first 6 years of life. *Pediatr.Allergy Immunol.* 15 216-220.
- Bottcher MF, Bjorksten B, Gustafson S, Voor T, Jenmalm MC, 2003: Endotoxin levels in Estonian and Swedish house dust and atopy in infancy. *Clin.Exp.Allergy* 33 295-300.
- Brichard B, Varis I, Latinne D, Deneys V, de BM, Leveugle P, Cornu G, 2001: Intracellular cytokine profile of cord and adult blood monocytes. *Bone Marrow Transplant.* 27 1081-1086.
- Carlsen KC, Haland G, Devulapalli CS, Munthe-Kaas M, Pettersen M, Granum B, Lovik M, Carlsen KH, 2006: Asthma in every fifth child in Oslo, Norway: a 10-year follow up of a birth cohort study\*. *Allergy* 61 454-460.

- Chalmers IM, Janossy G, Contreras M, Navarrete C, 1998: Intracellular cytokine profile of cord and adult blood lymphocytes. *Blood* 92 11-18.
- Chapman KR, 2004: Chronic obstructive pulmonary disease: are women more susceptible than men? *Clin.Chest Med.* 25 331-341.
- Charpin D, Pascal L, Birnbaum J, Armengaud A, Sambuc R, Lanteaume A, Vervloet D, 1999: Gaseous air pollution and atopy. *Clin.Exp.Allergy* 29 1474-1480.
- Chen Y, Breithaupt K, Muhajarine N, 2000: Occurrence of chronic obstructive pulmonary disease among Canadians and sex-related risk factors. *J.Clin.Epidemiol.* 53 755-761.
- Chen Y, Rennie DC, Lockinger LA, Dosman JA, 2005: Gender, environmental tobacco smoke, and pulmonary function in rural children and adolescents: the Humboldt study. *J.Agric.Saf Health* 11 167-173.
- Chipeta J, Komada Y, Zhang XL, Deguchi T, Sugiyama K, Azuma E, Sakurai M, 1998: CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> cell cytokine profiles in neonates, older children, and adults: increasing T helper type 1 and T cytotoxic type 1 cell populations with age. *Cell Immunol.* 183 149-156.
- Cho SH, Stanciu LA, Holgate ST, Johnston SL, 2005: Increased interleukin-4, interleukin-5, and interferon-gamma in airway CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cells in atopic asthma. *Am.J.Respir. Crit Care Med.* 171 224-230.
- Chu H, Nieuwenhuijsen MJ, 2002: Distribution and determinants of trihalomethane concentrations in indoor swimming pools. *Occup. Environ. Med.* 59 243-247.
- Cohen SB, Perez-Cruz I, Fallen P, Gluckman E, Madrigal JA, 1999: Analysis of the cytokine production by cord and adult blood. *Hum.Immunol.* 60 331-336.
- Conti P, DiGiacchino M, 2001: MCP-1 and RANTES are mediators of acute and chronic inflammation. *Allergy Asthma Proc.* 22 133-137.
- D'Ambrosio D, Mariani M, Sinigaglia F, 2000: Chemokines and their receptors: trafficking cues for Th1 and Th2 cells. *Eur.Cytokine Netw.* 11 495-496.
- Daser A, Meissner N, Herz U, Renz H, 1995: Role and modulation of T-cell cytokines in allergy. *Curr.Opin.Immunol.* 7 762-770.
- de Torres JP, Campo A, Casanova C, guirre-Jaime A, Zulueta J, 2005: Gender and Chronic Obstructive Pulmonary Disease in High-Risk Smokers. *Respiration.* 73 306-310
- Del Giacco Sr, Manconi PE, Del Giacco GS, 2001: Allergy and sports. *Allergy* 56 215-223.

- Diez U, Kroessner T, Rehwagen M, Richter M, Schlink U, Krumbiegel P, Fritz G, Schulz R, Wetzig H, Metzner G, Herbarth O, Borte M, 1999: Einfluss von Innenraumchemikalien auf die Häufigkeit von Infektionen der oberen Luftwege und die Atopie-Entwicklung in den ersten Lebenswochen. *Pädiatr.Grenzgeb.* 37 469-485.
- Diez U, Kroessner T, Rehwagen M, Richter M, Wetzig H, Schulz R, Borte M, Metzner G, Krumbiegel P, Herbarth O, 2000: Effects of indoor painting and smoking on airway symptoms in atopy risk children in the first year of life results of the LARS-study. Leipzig Allergy High-Risk Children Study. *Int.J.Hyg. Environ. Health* 203 23-28.
- DiFranza JR, Aligne CA, Weitzman M, 2004: Prenatal and postnatal environmental tobacco smoke exposure and children's health. *Pediatrics* 113 1007-1015.
- Dunstan JA, Hale J, Breckler L, Lehmann H, Weston S, Richmond P, Prescott SL, 2005: Atopic dermatitis in young children is associated with impaired interleukin-10 and interferon-gamma responses to allergens, vaccines and colonizing skin and gut bacteria. *Clin. Exp. Allergy* 35 1309-1317.
- EKL-BUWAL, 2003: Benzol in der Schweiz. Bern: Bundesamt für Umwelt, Wald und Landschaft, Schriftenreihe Umwelt Nr. 35, 2003
- Ellsäßer G, Diepgen TL, 2002: Atopische Erkrankungen und soziale Lage bei Einschulungskindern im Land Brandenburg, Trendanalyse 1994-2000. *Monatsschr Kinderheilkd* 150 839-847.
- Erb KJ, Holloway JW, Sobeck A, Moll H, Le GG, 1998: Infection of mice with *Mycobacterium bovis*-Bacillus Calmette-Guerin (BCG) suppresses allergen-induced airway eosinophilia. *J. Exp. Med.* 187 561-569.
- Gent JF, Ren P, Belanger K, Triche E, Bracken MB, Holford TR, Leaderer BP, 2002: Levels of household mold associated with respiratory symptoms in the first year of life in a cohort at risk for asthma. *Environ. Health Perspect.* 110 A781-A786.
- Gonzalo JA, Lloyd CM, Wen D, Albar JP, Wells TN, Proudfoot A, Martinez A, Dorf M, Bjerke T, Coyle AJ, Gutierrez-Ramos JC, 1998: The coordinated action of CC chemokines in the lung orchestrates allergic inflammation and airway hyperresponsiveness. *J. Exp. Med.* 188 157-167.
- Grakoui A, Donermeyer DL, Kanagawa O, Murphy KM, Allen PM, 1999: TCR-independent pathways mediate the effects of antigen dose and altered peptide ligands on Th cell polarization. *J. Immunol.* 162 1923-1930.
- Hahn EL, Bacharier LB, 2005: The atopic march: the pattern of allergic disease development in childhood. *Immunol. Allergy Clin. North Am.* 25 231-46.

- Hellings PW, Vandekerckhove P, Claeys R, Billen J, Kasran A, Ceuppens JL, 2003: Progesterone increases airway eosinophilia and hyper-responsiveness in a murine model of allergic asthma. *Clin.Exp.Allergy* 33 1457-1463.
- Henker C, 2004: Immunologische Untersuchungen zum Einfluss chemischer Belastungen in der Schwangerschaft und im dritten Lebensjahr auf Zytokinexpression peripherer T-Lymphozyten, allergische Sensibilisierungen und allergische Manifestationen im dritten Lebensjahr. Medizinische Dissertation, Leipzig.
- Herbarth O, Diez U, Fritz G, Kroessner T, Krumbiegel P, Lehmann I, Metzner G, Müller A, Rehwagen M, Richter M, Rolle-Kampczyk U, Schlink U, Schulz R, Wetzig H, Borte M, 2001: Allergieentwicklung im frühen Kindesalter. In: Ring, J. und Darsow, U. Allergie 2000: Probleme, Strategien und praktische Konsequenzen. Dustri-Verlag Dr. Karl Feistle pp. 30-39.
- Herbarth O, Fritz G, Behler J, Rehwagen M, Puliafito J, Richter M, Schlink U, Sernaglia J, 1999: Epidemiologic risk analysis of environmentally attributed exposure on airway diseases and allergies in children. *Centr.eur.J.publ.hlth* 7 72-76.
- Herbarth O, Fritz GJ, Rehwagen M, Richter M, Roder S, Schlink U, 2006: Association between indoor renovation activities and eczema in early childhood. *Int.J.Hyg.Environ. Health.* 209 241-247
- Holt PG, Jones CA, 2000: The development of the immune system during pregnancy and early life. *Allergy* 55 688-697.
- ISAAC Steering Committee, 1998: Worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and atopic eczema: ISAAC. The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Steering Committee. *Lancet* 351 1225-1232.
- Jacob B, Ritz B, Gehring U, Koch A, Bischof W, Wichmann HE, Heinrich J, 2002: Indoor exposure to molds and allergic sensitization. *Environ.Health Perspect.* 110 647-653.
- Jang AS, Choi IS, Takizawa H, Rhim T, Lee JH, Park SW, Park CS, 2005: Additive effect of diesel exhaust particulates and ozone on airway hyperresponsiveness and inflammation in a mouse model of asthma. *J.Korean Med.Sci.* 20 759-763.
- Jindal SK, Gupta D, 2004: The relationship between tobacco smoke & bronchial asthma. *Indian J.Med.Res.* 120 443-453.
- Jussila J, Komulainen H, Kosma VM, Nevalainen A, Pelkonen J, Hirvonen MR, 2002: Spores of *Aspergillus versicolor* isolated from indoor air of a moisture-damaged building provoke acute inflammation in mouse lungs. *Inhal.Toxicol.* 14 1261-1277.

- Kilpi T, Kero J, Jokinen J, Syrjanen R, Takala AK, Hovi T, Isolauri E, 2002: Common respiratory infections early in life may reduce the risk of atopic dermatitis. *Clin.Infect.Dis.* 34 620-626.
- Kohlhammer Y, Doring A, Schafer T, Wichmann HE, Heinrich J, 2006: Swimming pool attendance and hay fever rates later in life. *Allergy* 61 1305-1309.
- Kondo N, Kobayashi Y, Shinoda S, Takenaka R, Teramoto T, Kaneko H, Fukao T, Matsui E, Kasahara K, Yokoyama Y, 1998: Reduced interferon gamma production by antigen-stimulated cord blood mononuclear cells is a risk factor of allergic disorders – 6-year follow-up study. *Clin.Exp.Allergy* 28 1340-1344.
- 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.
- Kosecik M, Erel O, Sevinc E, Selek S, 2005: Increased oxidative stress in children exposed to passive smoking. *Int.J.Cardiol.* 100 61-64.
- Kramer U, Behrendt H, Dolgner R, Ranft U, Ring J, Willer H, Schlipkoter HW, 1999a: Airway diseases and allergies in East and West German children during the first 5 years after reunification: time trends and the impact of sulphur dioxide and total suspended particles. *Int.J.Epidemiol.* 28 865-873.
- Kramer U, Heinrich J, Wjst M, Wichmann HE, 1999b: Age of entry to day nursery and allergy in later childhood. *Lancet* 353 450-454.
- Kramer U, Koch T, Ranft U, Ring J, Behrendt H, 2000: Traffic-related air pollution is associated with atopy in children living in urban areas. *Epidemiology* 11 64-70.
- Krampera M, Tavecchia L, Benedetti F, Nadali G, Pizzolo G, 2000: Intracellular cytokine profile of cord blood T-, and NK- cells and monocytes. *Haematologica* 85 675-679.
- Kulig M, Bergmann R, Klettke U, Wahn V, Tacke U, Wahn U, 1999a: Natural course of sensitization to food and inhalant allergens during the first 6 years of life. *J.Allergy Clin.Immunol.* 103 1173-1179.
- Kulig M, Luck W, Lau S, Niggemann B, Bergmann R, Klettke U, Guggenmoos-Holzmann I, Wahn U, 1999b: 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. *Allergy* 54 220-228.
- Larsson ML, Loit HM, Meren M, Polluste J, Magnusson A, Larsson K, Lundback B, 2003: Passive smoking and respiratory symptoms in the FinEsS Study. *Eur.Respir.J.* 21 672-676.
- Leem JH, Kim JH, Lee KH, Hong Y, Lee KH, Kang D, Kwon HJ, 2005: Asthma attack associated with oxidative stress by exposure to ETS and PAH. *J.Asthma* 42 463-467.

- 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, Thielke A, Rehwagen M, Rolle-Kampczyk U, Schlink U, Schulz R, Borte M, Diez U, Herbarth O, 2002a: The influence of maternal exposure to volatile organic compounds on the cytokine secretion profile of neonatal T cells. *Environ.Toxicol.* 17 203-210.
- Lehmann I, Thielke A, Weiss M, Schlink U, Schulz R, Diez U, Sierig G, Emmrich F, Jacob B, Belcredi P, Bolte G, Heinrich J, Herbarth O, Wichmann HE, Borte M, 2002b: T cell reactivity in neonates from an East and a West German city--results of the LISA study. *Allergy* 57 129-136.
- Leino M, Makela M, Reijula K, Haahtela T, Mussalo-Rauhamaa H, Tuomi T, Hintikka EL, Alenius H, 2003: Intranasal exposure to a damp building mould, *Stachybotrys chartarum*, induces lung inflammation in mice by satratoxin-independent mechanisms. *Clin.Exp.Allergy* 33 1603-1610.
- Lewis DB, Yu CC, Meyer J, English BK, Kahn SJ, Wilson CB, 1991: Cellular and molecular mechanisms for reduced interleukin 4 and interferon-gamma production by neonatal T cells. *J.Clin.Invest* 87 194-202.
- Lilly CM, Woodruff PG, Camargo CA, Jr., Nakamura H, Drazen JM, Nadel ES, Hanrahan JP, 1999: Elevated plasma eotaxin levels in patients with acute asthma. *J.Allergy Clin.Immunol.* 104 786-790.
- Lux AL, Henderson AJ, Pocock SJ, 2000: Wheeze associated with prenatal tobacco smoke exposure: a prospective, longitudinal study. ALSPAC Study Team. *Arch.Dis.Child* 83 307-312.
- Macaubas C, de Klerk NH, Holt BJ, Wee C, Kendall G, Firth M, Sly PD, Holt PG, 2003: Association between antenatal cytokine production and the development of atopy and asthma at age 6 years. *Lancet* 362 1192-1197.
- Magnan AO, Mely LG, Camilla CA, Badier MM, Montero-Julian FA, Guillot CM, Casano BB, Prato SJ, Fert V, Bongrand P, Vervloet D, 2000: Assessment of the Th1/Th2 paradigm in whole blood in atopy and asthma. Increased IFN-gamma-producing CD8(+) T cells in asthma. *Am.J.Respir.Crit Care Med.* 161 1790-1796.
- Marc N, Bernard AM, 2006: Ecological association between childhood asthma and availability of indoor chlorinated swimming pools in Europe. *Occup.Environ.Med.*, Published Online First

- Massin N, Bohadana AB, Wild P, Hery M, Toamain JP, Hubert G, 1998: Respiratory symptoms and bronchial responsiveness in lifeguards exposed to nitrogen trichloride in indoor swimming pools. *Occup. Environ. Med.* 55 258-263.
- Mills PR, Davies RJ, Devalia JL, 1999: Airway epithelial cells, cytokines, and pollutants. *Am. J. Respir. Crit Care Med.* 160 38-43.
- Mommers M, Jongmans-Liedekerken AW, Derkx R, Dott W, Mertens P, van Schayck CP, Steup A, Swaen GM, Ziemer B, Weishoff-Houben M, 2005: Indoor environment and respiratory symptoms in children living in the Dutch-German borderland. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 208 373-381.
- Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, Coffman RL, 2005: Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. 1986. *J. Immunol.* 175 5-14.
- Mosmann TR, Coffman RL, 1989: TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu. Rev. Immunol.* 7 145-173.
- 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.
- Murray CS, Woodcock A, Smillie FI, Cain G, Kissen P, Custovic A, 2004: Tobacco smoke exposure, wheeze, and atopy. *Pediatr. Pulmonol.* 37 492-498.
- Nakagome K, Dohi M, Okunishi K, Komagata Y, Nagatani K, Tanaka R, Miyazaki J, Yamamoto K, 2005: *In vivo* IL-10 gene delivery suppresses airway eosinophilia and hyperreactivity by down-regulating APC functions and migration without impairing the antigen-specific systemic immune response in a mouse model of allergic airway inflammation. *J. Immunol.* 174 6955-6966.
- Ngoc PL, Gold DR, Tzianabos AO, Weiss ST, Celedon JC, 2005: Cytokines, allergy, and asthma. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 5 161-166.
- Nickel R, Lau S, Niggemann B, Gruber C, von ME, Illi S, Kulig M, Wahn U, 2002: Messages from the German Multicentre Allergy Study. *Pediatr. Allergy Immunol.* 13 Suppl 15 7-10.
- Nicolai T, Bellach B, Mutius EV, Thefeld W, Hoffmeister H, 1997: Increased prevalence of sensitization against aeroallergens in adults in West compared with East Germany. *Clin. Exp. Allergy* 27 886-892.
- Nicolai T, Carr D, Weiland SK, Duhme H, von EO, Wagner C, von ME, 2003a: Urban traffic and pollutant exposure related to respiratory outcomes and atopy in a large sample of children. *Eur. Respir. J.* 21 956-963.

- Nicolai T, Pereszlenyiova-Bliznakova L, Illi S, Reinhardt D, von ME, 2003b: Longitudinal follow-up of the changing gender ratio in asthma from childhood to adulthood: role of delayed manifestation in girls. *Pediatr.Allergy Immunol.* 14 280-283.
- Nicolaou N, Yiallourous P, Pipis S, Ioannou P, Simpson A, Custovic A, 2006: Domestic allergen and endotoxin exposure and allergic sensitization in Cyprus. *Pediatr.Allergy Immunol.* 17 17-21.
- Noble A, Thomas MJ, Kemeny DM, 2001: Early Th1/Th2 cell polarization in the absence of IL-4 and IL-12: T cell receptor signaling regulates the response to cytokines in CD4 and CD8 T cells. *Eur.J.Immunol.* 31 2227-2235.
- Nouri-Shirazi M, Guinet E, 2006: A possible mechanism linking cigarette smoke to higher incidence of respiratory infection and asthma. *Immunol.Lett.* 103 167-176.
- Noverr MC, Huffnagle GB, 2004: Does the microbiota regulate immune responses outside the gut? *Trends Microbiol.* 12 562-568.
- Nystad W, Nja F, Magnus P, Nafstad P, 2003: Baby swimming increases the risk of recurrent respiratory tract infections and otitis media. *Acta Paediatr.* 92 905-909.
- Osman M, 2003: Therapeutic implications of sex differences in asthma and atopy. *Arch.Dis.Child* 88 587-590.
- Pastorelli G, Rousset F, Pene J, Peronne C, Roncarolo MG, Tovo PA, de Vries JE, 1990: Cord blood B cells are mature in their capacity to switch to IgE-producing cells in response to interleukin-4 *in vitro*. *Clin.Exp.Immunol.* 82 114-119.
- Pechkovsky DV, Goldmann T, Ludwig C, Prasse A, Vollmer E, Muller-Quernheim J, Zissel G, 2005: CCR2 and CXCR3 agonistic chemokines are differently expressed and regulated in human alveolar epithelial cells type II. *Respir.Res.* 6 75.
- Phillips J, Kluss B, Richter A, Massey E, 2005: Exposure of bronchial epithelial cells to whole cigarette smoke: assessment of cellular responses. *Altern.Lab Anim* 33 239-248.
- Piccinni MP, Scaletti C, Maggi E, Romagnani S, 2000: Role of hormone-controlled Th1- and Th2-type cytokines in successful pregnancy. *J.Neuroimmunol.* 109 30-33.
- Prescott SL, King B, Strong TL, Holt PG, 2003: The value of perinatal immune responses in predicting allergic disease at 6 years of age. *Allergy* 58 1187-1194.
- Prescott SL, Macaubas C, Holt BJ, Smallacombe TB, Loh R, Sly PD, Holt PG, 1998: Transplacental priming of the human immune system to environmental allergens: universal skewing of initial T cell responses toward the Th2 cytokine profile. *J.Immunol.* 160 4730-4737.

- 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.
- Purokivi MK, Hirvonen MR, Randell JT, Roponen MH, Meklin TM, Nevalainen AL, Husman TM, Tukiainen HO, 2001: Changes in pro-inflammatory cytokines in association with exposure to moisture-damaged building microbes. *Eur.Respir.J.* 18 951-958.
- Puthothu B, Krueger M, Heinze J, Forster J, Heinzmann A, 2006: Impact of IL8 and IL8-Receptor alpha polymorphisms on the genetics of bronchial asthma and severe RSV infections. *Clin.Mol.Allergy* 4 2.
- Radon K, Ehrenstein V, Praml G, Nowak D, 2004: Childhood visits to animal buildings and atopic diseases in adulthood: an age-dependent relationship. *Am.J.Ind.Med.* 46 349-356.
- 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.
- Rehwagen M, Schlink U, Herbarth O, 2003: Seasonal cycle of VOCs in apartments. *Indoor.Air* 13 283-291.
- Rhodes L, Moorman JE, Redd SC, 2005: Sex differences in asthma prevalence and other disease characteristics in eight states. *J.Asthma* 42 777-782.
- Romagnani S, 1995: Biology of human TH1 and TH2 cells. *J.Clin.Immunol.* 15 121-129.
- Romagnani S, 2000: T-cell subsets (Th1 versus Th2). *Ann.Allergy Asthma Immunol.* 85 9-18.
- Rose CE, Sung SS, Fu SM, 2003: Significant involvement of CCL2 (MCP-1) in inflammatory disorders of the lung. *Microcirculation.* 10 273-288.
- Rumchev K, Spickett J, Bulsara M, Phillips M, Stick S, 2004: Association of domestic exposure to volatile organic compounds with asthma in young children. *Thorax* 59 746-751.
- Sad S, Marcotte R, Mosmann TR, 1995: Cytokine-induced differentiation of precursor mouse CD8<sup>+</sup> T cells into cytotoxic CD8<sup>+</sup> T cells secreting Th1 or Th2 cytokines. *Immunity.* 2 271-279.
- Saijo Y, Kishi R, Sata F, Katakura Y, Urashima Y, Hatakeyama A, Kobayashi S, Jin K, Kurahashi N, Kondo T, Gong YY, Umemura T, 2004: Symptoms in relation to chemicals and dampness in newly built dwellings. *Int.Arch.Occup.Environ.Health* 77 461-470.
- Schins RP, van HB, Borm PJ, 1996: *Ex vivo* cytokine release from whole blood. A routine method for health effect screening. *Exp.Toxicol.Pathol.* 48 494-496.

- Schuerwegh AJ, De Clerck LS, Bridts CH, Stevens WJ, 2003: Comparison of intracellular cytokine production with extracellular cytokine levels using two flow cytometric techniques. *Cytometry B Clin.Cytom.* 55 52-58.
- Seifert, B., 2002: Leitfaden zur Vorbeugung, Untersuchung, Bewertung und Sanierung von Schimmelpilzwachstum in Innenräumen. Berlin: Innenraumlufthygienekommission des Umweltbundesamtes, 2002.
- Sengler C, Lau S, Wahn U, Nickel R, 2002: Interactions between genes and environmental factors in asthma and atopy: new developments. *Respir.Res.* 3 7.
- Seymour BW, Friebertshausen KE, Peake JL, Pinkerton KE, Coffman RL, Gershwin LJ, 2002: Gender differences in the allergic response of mice neonatally exposed to environmental tobacco smoke. *Dev.Immunol.* 9 47-54.
- Shaheen SO, Aaby P, Hall AJ, Barker DJ, Heyes CB, Shiell AW, Goudiaby A, 1996: Measles and atopy in Guinea-Bissau. *Lancet* 347 1792-1796.
- Shirakawa T, Enomoto T, Shimazu S, Hopkin JM, 1997: The inverse association between tuberculin responses and atopic disorder. *Science* 275 77-79.
- Silverman EK, Weiss ST, Drazen JM, Chapman HA, Carey V, Campbell EJ, Denish P, Silverman RA, Celedon JC, Reilly JJ, Ginns LC, Speizer FE, 2000: Gender-related differences in severe, early-onset chronic obstructive pulmonary disease. *Am.J.Respir. Crit Care Med.* 162 2152-2158.
- Simoni M, Lombardi E, Berti G, Rusconi F, La GS, Piffer S, Petronio MG, Galassi C, Forastiere F, Viegi G, 2005: Mould/dampness exposure at home is associated with respiratory disorders in Italian children and adolescents: the SIDRIA-2 Study. *Occup. Environ.Med.* 62 616-622.
- Silvestri M, Bontempelli M, Giacomelli M, Malerba M, Rossi GA, Di SA, Rossi A, Ricciardolo FL, 2006: High serum levels of tumour necrosis factor-alpha and interleukin-8 in severe asthma: markers of systemic inflammation? *Clin Exp Allergy* 36 1373-1381.
- Spiegel U, 2003: Einfluss von Sozial- und Lebensstilfaktoren auf die kindliche T-Zell-Funktion im zweiten Lebensjahr. Medizinische Dissertation, Leipzig.
- Spiteri MA, Bianco A, Strange RC, Fryer AA, 2000: Polymorphisms at the glutathione S-transferase, GSTP1 locus: a novel mechanism for susceptibility and development of atopic airway inflammation. *Allergy* 55 Suppl 61 15-20.
- Strachan DP, 1989: Hay fever, hygiene, and household size. *BMJ* 299 1259-1260.
- Strachan DP, Wong HJ, Spector TD, 2001: Concordance and interrelationship of atopic diseases and markers of allergic sensitization among adult female twins. *J.Allergy Clin.Immunol.* 108 901-907.

- Taylor A, Verhagen J, Akdis CA, Akdis M, 2005: T regulatory cells and allergy. *Microbes. Infect.* 7 1049-1055.
- Thickett KM, McCoach JS, Gerber JM, Sadhra S, Burge PS, 2002: Occupational asthma caused by chloramines in indoor swimming-pool air. *Eur.Respir.J.* 19 827-832.
- Thölke, A, 2002: Immunologische Untersuchungen zur atopischen Diathese bei Neugeborenen aus Leipzig und München. Medizinische Dissertation, Leipzig.
- van der Velden V, Laan MP, Baert MR, de Waal MR, Neijens HJ, Savelkoul HF, 2001: Selective development of a strong Th2 cytokine profile in high-risk children who develop atopy: risk factors and regulatory role of IFN-gamma, IL-4 and IL-10. *Clin.Exp.Allergy* 31 997-1006.
- van der Velden V, Postma DS, Timens W, ten Hacken NH, 2004: Acute effects of cigarette smoke on inflammation and oxidative stress: a review. *Thorax* 59 713-721.
- Vassallo R, Tamada K, Lau JS, Kroening PR, Chen L, 2005: Cigarette smoke extract suppresses human dendritic cell function leading to preferential induction of Th-2 priming. *J.Immunol.* 175 2684-2691.
- Venn AJ, Cooper M, Antoniak M, Laughlin C, Britton J, Lewis SA, 2003: Effects of volatile organic compounds, damp, and other environmental exposures in the home on wheezing illness in children. *Thorax* 58 955-960.
- Verhoeff AP, van Strien RT, van Wijnen JH, Brunekreef B, 1995: Damp housing and childhood respiratory symptoms: the role of sensitization to dust mites and molds. *Am.J.Epidemiol.* 141 103-110.
- von Berg A., Koletzko S, Grubl A, Filipiak-Pittroff B, Wichmann HE, Bauer CP, Reinhardt D, Berdel D, 2003: The effect of hydrolyzed cow's milk formula for allergy prevention in the first year of life: the German Infant Nutritional Intervention Study, a randomized double-blind trial. *J.Allergy Clin.Immunol.* 111 533-540.
- von Mutius E, Weiland SK, Fritsch C, Duhme H, Keil U, 1998: Increasing prevalence of hay fever and atopy among children in Leipzig, East Germany. *Lancet* 351 862-866.
- Wahn U, 2000: What drives the allergic march? *Allergy* 55 591-599.
- Wahn U, Lau S, Bergmann R, Kulig M, Forster J, Bergmann K, Bauer CP, Guggenmoos-Holzmann I, 1997: Indoor allergen exposure is a risk factor for sensitization during the first three years of life. *J.Allergy Clin.Immunol.* 99 763-769.
- Wang C, Cao Q, Zhang HZ, Jiang RF, 2005: [Effects of volatile organic compounds inhalation on the inflammation biomarkers in nasal lavage fluids of decoration workers]. *Wei Sheng Yan.Jiu.* 34 55-57.

- Warner JA, Jones AC, Miles EA, Colwell BM, Warner JO, 1997: Prenatal origins of asthma and allergy. *Ciba Found.Symp.* 206 220-228.
- Weitzman M, Gortmaker S, Walker DK, Sobol A, 1990: Maternal smoking and childhood asthma. *Pediatrics* 85 505-511.
- Weston WL, Carson BS, Barkin RM, Slater GD, Dustin RD, Hecht SK, 1977: Monocyte-macrophage function in the newborn. *Am.J.Dis.Child* 131 1241-1242.
- Wieslander G, Norback D, Bjornsson E, Janson C, Boman G, 1997a: Asthma and the indoor environment: the significance of emission of formaldehyde and volatile organic compounds from newly painted indoor surfaces. *Int.Arch.Occup.Environ.Health* 69 115-124.
- Wieslander G, Norback D, Edling C, 1997b: Airway symptoms among house painters in relation to exposure to volatile organic compounds (VOCS) – a longitudinal study. *Ann. Occup.Hyg.* 41 155-166.
- Williams H, Robertson C, Stewart A, it-Khaled N, Anabwani G, Anderson R, Asher I, Beasley R, Bjorksten B, Burr M, Clayton T, Crane J, Ellwood P, Keil U, Lai C, Mallol J, Martinez F, Mitchell E, Montefort S, Pearce N, Shah J, Sibbald B, Strachan D, von ME, Weiland SK, 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.
- Wilson CB, Westall J, Johnston L, Lewis DB, Dower SK, Alpert AR, 1986: Decreased production of interferon-gamma by human neonatal cells. Intrinsic and regulatory deficiencies. *J.Clin.Invest* 77 860-867.
- Wyler C, Braun-Fahrlander C, Kunzli N, Schindler C, Ackermann-Liebrich U, Perruchoud AP, Leuenberger P, Wuthrich B, 2000: Exposure to motor vehicle traffic and allergic sensitization. The Swiss Study on Air Pollution and Lung Diseases in Adults (SAPALDIA) Team. *Epidemiology* 11 450-456.
- Yamatomo T, Okano M, Ono T, Nakayama E, Yoshino T, Satoskar AR, Harn DA, Jr., Nishizaki K, 2001: Sex-related differences in the initiation of allergic rhinitis in mice. *Allergy* 56 525-531.
- Yang SR, Chida AS, Bauter M, Shafiq N, Seweryniak K, Maggirwar SB, Kilty I, Rahman I, 2006: Cigarette smoke induces pro-inflammatory cytokine release by activation of NF- $\kappa$ B and post-translational modifications of histone deacetylase in macrophages. *Am.J.Physiol Lung Cell Mol.Physiol.* 29 L46-57
- Yao TC, Wu KC, Chung HT, Shaw CK, Kuo ML, Wu CJ, Huang JL, 2004: MCP-1 gene regulatory region polymorphism in Chinese children with mild, moderate and near-fatal asthma. *Allergy* 59 436-441.

Zhang J, Liu Y, Shi J, Larson DF, Watson RR, 2002: Side-stream cigarette smoke induces dose-response in systemic inflammatory cytokine production and oxidative stress. *Exp.Biol.Med.(Maywood.)* 227 823-829.

Zhou X, Schmidtke P, Zepp F, Meyer CU, 2005: Boosting interleukin-10 production: therapeutic effects and mechanisms. *Curr.Drug Targets.Immune.Endocr.Metabol. Disord.* 5 465-475.

## **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 geldwerte Leistung 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 der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren.

Leipzig, Mai 2007

Reinhild Gubelt

## Danksagung

Hiermit möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. O. Herbarth und Herrn PD Dr. M. Borte für die freundliche Aufnahme in die LISA-Arbeitsgruppe Leipzig sowie die Bereitstellung des Themas bedanken.

Frau Dr. I. Lehmann und Herrn Dr. M. Borte danke ich für die fachliche Betreuung bei der Durchführung und Anfertigung der Arbeit.

Darüber hinaus gilt Frau Dr. I. Lehmann mein besonderer Dank für die experimentelle Einarbeitung, ihre ständige Bereitschaft zu fachlichen Diskussionen und konstruktiver Kritik und ihre freundliche und engagierte Zusammenarbeit, die viel zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen hat.

Aus dem Department Expositionsforschung und Epidemiologie des Helmholtz-Zentrums für Umweltforschung – UFZ in Leipzig danke ich Frau M. Rehwagen für die Analyse der VOC. Ebenso gilt mein Dank Herrn Dr. S. Röder für die freundliche Unterstützung hinsichtlich der statistischen Datenanalyse.

Bei Annegret Weber bedanke ich mich für ihre Freundschaft und anregende Zusammenarbeit.

Ich danke Frau S. Drubig für die technische Assistenz und allen Mitarbeitern der LISA-Studiengruppe Leipzig für Ihre Kollegialität und Schaffung einer konstruktiven Arbeitsatmosphäre.

Meiner Familie, insbesondere meinem Bruder Christian, danke ich für die hilfreichen Korrekturen und geduldige Unterstützung.

## Lebenslauf

### Persönliche Daten

Name: Reinhild Gubelt  
Geburtsdatum /-ort: 18.10.1980 in Crivitz

### Schulbildung

1987 – 1993 Grund- und Realschule Schwerin  
1993 – 1997 Realschule Falkenstein  
1997 – 2000 Wirtschaftsgymnasium Rodewisch  
Abitur, Note 1,1

### Studium

2000 – 2007 Universität Leipzig: Studium der Humanmedizin  
2002 Ärztliche Vorprüfung  
2003 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung  
2005 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung  
2006 – 2007 Praktisches Jahr: Parkkrankenhaus Leipzig,  
Universitätsklinikum Leipzig,  
Memorial University of Newfoundland, Kanada  
2007 Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung  
Gesamtnote der Ärztlichen Prüfung „sehr gut“

### Promotion

seit 2003 Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung – UFZ  
und Klinik für Kinder- und Jugendmedizin am  
Städtischen Klinikum St. Georg, Leipzig

### Berufliche Tätigkeit

ab Juni 2007 Ärztin in Weiterbildung, Klinik für Innere Medizin, am  
Klinikum Frankfurt (Oder)

Leipzig, Mai 2007

## **Anhang**

**Tabelle I:** Zusammenhang zwischen den Anteilen Zytokin produzierender T-Zellen in [%] und Gesamt-IgE bzw. Sensibilisierungen gegen spezifische Allergene, Median (25./75. Perzentile), p-Werte des U-Tests < 0,05 hervorgehoben

		Gesamt-IgE > 180 kU/l			Spezifisches IgE		
		positiv	negativ	p-Wert	positiv	negativ	p-Wert
IFN- $\gamma$	CD3 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	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- $\alpha$	CD3 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	16,64 (11,0; 24,4)	22,32 (15,4; 28,0)	<b>0,035</b>	21,40 (12,5; 27,8)	21,59 (15,4; 28,4)	0,609
	CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	0,15 (0,0; 0,6)	0,32 (0,0; 0,8)	<b>0,042</b>	0,39 (0,0; 0,8)	0,27 (0,0; 0,7)	0,225
IL-13	CD3 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	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)	<b>0,011</b>
		Kindernahrungsmischung			Inhalative Allergene		
		positiv	negativ	p-Wert	positiv	negativ	p-Wert
IFN- $\gamma$	CD3 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	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- $\alpha$	CD3 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup>	0,82 (0,5; 1,7)	0,71 (0,4; 1,1)	<b>0,041</b>	0,76 (0,4; 1,2)	0,71 (0,5; 1,1)	0,383
	CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup>	1,36 (0,8; 2,0)	1,09 (0,8; 1,6)	<b>0,042</b>	1,15 (0,8; 1,7)	1,09 (0,8; 1,6)	0,189
	CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	1,18 (0,5; 1,7)	0,65 (0,3; 1,4)	<b>0,040</b>	0,91 (0,3; 1,8)	0,60 (0,2; 1,4)	0,06

Tabelle I (Fortsetz.): Zusammenhang zwischen den Anteilen Zytokin produzierender T-Zellen in [%] und Gesamt-IgE bzw. Sensibilisierungen gegen spezifische Allergene, Median (25./75. Perzentile), p-Werte des U-Tests < 0,05 hervorgehoben

		Eiklar			Erdnuss		
		positiv	negativ	p-Wert	positiv	negativ	p-Wert
IFN- $\gamma$	CD3 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	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)	<b>0,028</b>
TNF- $\alpha$	CD3 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	17,60 (9,6; 25,0)	13,30 (9,7; 18,2)	0,224	16,85 (11,8; 19,6)	13,25 (9,6; 18,2)	0,288
	CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup>	17,94 (5,5; 25,2)	14,29 (9,6; 18,3)	0,194	17,10 (13,5; 19,0)	14,28 (9,4; 18,5)	0,192
	CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	1,70 (1,5; 2,8)	1,23 (0,7; 1,9)	<b>0,044</b>	1,60 (1,2; 3,2)	1,24 (0,72; 1,9)	0,091
	CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	0,58 (0,2; 1,3)	0,30 (0,02; 0,69)	0,171	0,14 (0,03; 0,64)	0,31 (0,03; 0,7)	0,728
IL-13	CD3 <sup>+</sup>	1,84 (1,0; 2,3)	1,10 (0,79; 1,58)	0,051	1,24 (0,7; 2,2)	1,11 (0,8; 1,59)	0,652
	CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	3,02 (2,0; 4,1)	1,86 (1,1; 2,67)	<b>0,008</b>	2,31 (1,2; 4,4)	1,88 (1,1; 2,7)	0,292
	CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	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			Milchwei		
		positiv	negativ	p-Wert	positiv	negativ	p-Wert
IFN- $\gamma$	CD3 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	32,53 (30,3; 38,8)	24,16 (18,0; 32,1)	<b>0,042</b>	26,76 (20,8; 32,5)	24,18 (17,8; 32,2)	0,326
TNF- $\alpha$	CD3 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	14,36 (11,2; 19,2)	13,40 (9,6; 18,4)	0,880	11,54 (10,6; 19,2)	13,60 (9,6; 18,3)	0,918
	CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	0,09 (0,03; 0,6)	0,30 (0,03; 0,7)	0,689	0,52 (0,2; 1,0)	0,29 (0,02; 0,67)	0,181
IL-13	CD3 <sup>+</sup>	0,79 (0,64; 3,1)	1,12 (0,8; 1,6)	0,576	1,40 (0,7; 2,0)	1,10 (0,8; 1,6)	0,348
	CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	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

Tabelle I (Fortsetz.): Zusammenhang zwischen den Anteilen Zytokin produzierender T-Zellen in [%] und Gesamt-IgE bzw. Sensibilisierungen gegen spezifische Allergene, Median (25./75. Perzentile), p-Werte des U-Tests < 0,05 hervorgehoben

		Dorsch			Weizenmehl		
		positiv	negativ	p-Wert	positiv	negativ	p-Wert
IFN- $\gamma$	CD3 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	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- $\alpha$	CD3 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	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
		Dermatophagoides pt.			Katzenschuppen		
		positiv	negativ	p-Wert	positiv	negativ	p-Wert
IFN- $\gamma$	CD3 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	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- $\alpha$	CD3 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	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)	<b>0,016</b>
	CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup>	0,82 (0,5; 1,2)	0,71 (0,4; 1,1)	0,345	0,63 (0,4; 0,9)	0,74 (0,5; 1,1)	0,342
	CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	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

**Tabelle I (Fortsetzng.):** Zusammenhang zwischen den Anteilen Zytokin produzierender T-Zellen in [%] und Gesamt-IgE bzw. Sensibilisierungen gegen spezifische Allergene, Median (25./75. Perzentile), p-Werte des U-Tests < 0,05 hervorgehoben

		Hundeschuppen			Roggenpollen		
		positiv	negativ	p-Wert	positiv	negativ	p-Wert
IFN- $\gamma$	CD3 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	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- $\alpha$	CD3 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup>	9,15 (4,5; 13,5)	14,42 (10,0; 18,5)	<b>0,046</b>	13,52 (6,0; 17,2)	14,41 (9,8; 18,5)	0,377
	CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	15,81 (9,1; 20,4)	21,69 (14,7; 28,0)	<b>0,031</b>	20,64 (13,3; 27,4)	21,67 (14,7; 28,0)	0,397
	CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	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- $\gamma$	CD3 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	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)	<b>0,046</b>
	CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	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- $\alpha$	CD3 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	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

**Tabelle I (Fortsetz.):** Zusammenhang zwischen den Anteilen Zytokin produzierender T-Zellen in [%] und Gesamt-IgE bzw. Sensibilisierungen gegen spezifische Allergene, Median (25./75. Perzentile), p-Werte des U-Tests < 0,05 hervorgehoben

		Birke			Beifuß		
		positiv	negativ	p-Wert	positiv	negativ	p-Wert
IFN- $\gamma$	CD3 <sup>+</sup>	15,41 (10,7; 21,9)	14,97 (11,0; 20,4)	0,643	17,00 (11,3; 21,8)	14,95 (11,0; 20,4)	0,832
	CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	5,40 (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 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	24,19 (17,0; 33,2)	24,37 (18,6; 32,1)	0,776	28,65 (18,0; 32,5)	24,20 (18,4; 32,3)	0,808
TNF- $\alpha$	CD3 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	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 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	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)	<b>0,008</b>

Tabelle II: Zusammenhang zwischen Konzentrationen der Zytokin- bzw. Chemokinkonzentrationen [pg/ml] und Gesamt-IgE bzw. Sensibilisierungen gegen Allergenmischungen und spezifische Allergene, Median (25./75. Perzentile), p-Werte des U-Tests < 0,05 hervorgehoben

		Gesamt-IgE > 180 kU/l			Spezifisches IgE		
		positiv	negativ	p-Wert	positiv	negativ	p-Wert
IFN- $\gamma$	Medium	9,04 (0,0; 16,1)	7,24 (0,0; 13,5)	0,694	5,69 (0,0; 14,0)	7,66 (0,0; 13,7)	0,147
	LPS	41,92 (26,6; 90,0)	52,28 (29,1; 108,9)	0,250	48,98 (28,9; 95,1)	54,49 (28,5; 114,8)	0,708
	Partikel	8,18 (0,0; 14,4)	8,18 (0,0; 13,7)	0,771	8,05 (0,0; 13,9)	8,18 (0,0; 13,7)	0,782
	PHA	1697,60 (802,7; 2589,1)	1629,45 (912,5; 2863,0)	0,986	1578,88 (761,9; 2509,2)	1655,82 (917,2; 2921,9)	0,370
TNF- $\alpha$	Medium	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
	Partikel	79,10 (54,2; 134,4)	83,36 (56,8; 126,2)	0,448	81,13 (56,7; 130,9)	83,51 (56,5; 126,2)	0,829
RANTES	Medium	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)	7926,18 (6054,9; 10967,9)	0,290
Eotaxin	Medium	381,78 (279,9; 460,0)	400,20 (319,4; 524,9)	0,155	381,80 (312,4; 502,8)	405,68 (315,4; 524,9)	0,308
	PHA	371,72 (268,6; 456,7)	367,90 (276,1; 476,8)	0,497	381,57 (272,3; 458,0)	366,52 (274,6; 480,6)	0,785
MCP-1	Medium	100,14 (78,5; 150,2)	83,58 (61,7; 127,0)	<b>0,018</b>	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)	<b>0,010</b>	846,74 (522,6; 1041,8)	702,39 (499,1; 998,5)	0,102
	Partikel	738,10 (531,1; 1087,2)	582,56 (415,0; 900,9)	0,052	662,54 (394,3; 921,0)	588,86 (438,2; 919,5)	0,846
IL-4	Medium	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)	<b>0,006</b>	52,33 (31,3; 94,2)	42,77 (27,1; 66,0)	<b>0,020</b>
IL-5	Medium	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)	<b>&lt;0,001</b>	4,47 (2,9; 8,3)	3,33 (1,7; 5,6)	<b>0,002</b>
IL-6	Medium	8,20 (4,2; 11,0)	6,91 (4,9; 10,9)	0,553	6,60 (4,1; 9,8)	7,33 (5,11; 12,6)	<b>0,049</b>
	LPS	8845,89 (7580,7; 9769,5)	8547,82 (7556,5; 9550,3)	0,549	8845,89 (7556,5; 9752,5)	8454,76 (7556,5; 9478,6)	0,271
	Partikel	158,80 (82,3; 236,2)	148,32 (518,2; 1171,5)	0,892	157,20 (85,0; 231,5)	144,93 (98,8; 236,0)	0,993
IL-8	Medium	67,04 (29,3; 128,7)	45,75 (27,5; 90,4)	<b>0,050</b>	43,99 (24,6; 110,7)	50,63 (29,2; 92,1)	0,611
	LPS	5072,52 (3056,5; 7064,3)	3823,08 (3040,6; 5243,5)	<b>0,010</b>	4389,49 (3052,33; 5784,1)	3782,08 (3028,2; 5254,0)	0,129
	Partikel	956,88 (627,8; 1385,6)	774,88 (518,2; 1171,5)	<b>0,038</b>	841,27 (519,8; 1315,0)	802,06 (543,3; 1181,4)	0,629
IL-10	Medium	1,50 (1,5; 3,3)	1,50 (1,5; 3,1)	0,313	1,50 (1,5; 3,4)	1,50 (1,5; 3,1)	0,387
	LPS	18,24 (10,4; 24,4)	13,58 (9,2; 19,6)	<b>0,043</b>	14,40 (9,2; 22,1)	13,73 (9,5; 19,3)	0,532
	Partikel	7,44 (5,1; 10,6)	6,34 (4,5; 9,2)	0,151	6,67 (4,4; 9,5)	6,32 (4,6; 9,2)	0,905
	PHA	49,67 (28,7; 74,1)	42,28 (30,0; 55,4)	0,313	44,21 (29,4; 54,8)	42,16 (29,9; 56,1)	0,691

Tabelle II (Fortsetz.): Zusammenhang zwischen Konzentrationen der Zytokin- bzw. Chemokin-konzentrationen [pg/ml] und Gesamt-IgE bzw. Sensibilisierungen gegen Allergenmischungen und spezifische Allergene, Median (25./75. Perzentile), p-Werte des U-Tests < 0,05 hervorgehoben

		Kindernahrungsmischung			Inhalative Allergene		
		positiv	negativ	p-Wert	positiv	negativ	p-Wert
IFN- $\gamma$	Medium	2,00 (0,0; 9,9)	7,92 (0,0; 13,9)	0,013	6,72 (0,0; 14,5)	7,30 (0,0; 13,4)	0,598
	LPS	44,90 (25,6; 91,2)	51,30 (29,1; 108,4)	0,378	62,03 (28,5; 114,8)	48,76 (28,9; 95,1)	0,473
	Partikel	5,84 (0,0; 12,9)	8,36 (0,0; 13,7)	0,276	8,36 (0,0; 14,0)	8,00 (0,0; 13,5)	0,911
	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
TNF- $\alpha$	Medium	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
	Partikel	72,86 (52,6; 131,2)	83,66 (57,2; 126,2)	0,453	80,65 (57,0; 123,0)	83,79 (56,3; 126,9)	0,614
RANTES	Medium	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
Eotaxin	Medium	375,36 (295,5; 505,2)	400,20 (319,4; 519,9)	0,273	381,80 (321,4; 499,2)	405,70 (307,4; 524,9)	0,356
	PHA	352,61 (268,6; 450,7)	369,80 (276,6; 479,0)	0,280	383,90 (274,5; 458,0)	364,10 (273,7; 479,5)	0,919
MCP-1	Medium	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
	Partikel	608,34 (376,9; 780,5)	609,84 (430,5; 935,1)	0,377	696,92 (402,5; 956,5)	585,16 (430,5; 906,7)	0,533
IL-4	Medium	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)	<b>0,010</b>
IL-5	Medium	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)	<b>0,007</b>	4,57 (3,0; 8,3)	3,33 (1,7; 5,7)	<b>0,001</b>
IL-6	Medium	5,60 (3,5; 9,1)	7,30 (5,0; 11,2)	<b>0,031</b>	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
	Partikel	150,16 (87,1; 219,0)	149,00 (94,9; 236,0)	0,674	158,88 (85,0; 228,5)	144,56 (98,0; 236,1)	0,873
IL-8	Medium	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
	Partikel	920,70 (557,2; 1265,5)	799,06 (526,5; 1251,2)	0,513	864,91 (517,0; 1323,3)	788,01 (543,3; 1181,4)	0,653
IL-10	Medium	1,50 (1,5; 2,9)	1,50 (1,5; 3,1)	0,439	1,50 (1,5; 3,4)	1,50 (1,5; 3,1)	0,251
	LPS	15,98 (9,2; 21,2)	13,78 (9,4; 20,9)	0,608	14,70 (9,3; 22,7)	13,68 (9,4; 19,0)	0,282
	Partikel	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

Tabelle II (Fortsetz.): Zusammenhang zwischen Konzentrationen der Zytokin- bzw. Chemokin-konzentrationen [pg/ml] und Gesamt-IgE bzw. Sensibilisierungen gegen Allergenmischungen und spezifische Allergene, Median (25./75. Perzentile), p-Werte des U-Tests < 0,05 hervorgehoben

		Eiklar			Erdnuss		
		positiv	negativ	p-Wert	positiv	negativ	p-Wert
IFN- $\gamma$	Medium	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	33,40 (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
	Partikel	1,23 (0,0; 12,1)	8,18 (0,0; 13,8)	0,135	9,53 (2,1; 16,6)	8,18 (0,0; 13,7)	0,470
	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
TNF- $\alpha$	Medium	4,25 (1,5; 5,8)	6,61 (4,6; 10,5)	<b>0,035</b>	5,70 (0,75; 12,8)	6,52 (4,6; 10,3)	0,564
	LPS	3171,95 (2036,5; 4004,7)	3076,30 (2388,2; 3787,6)	0,973	2778,71 (1546,4; 3543,3)	3101,42 (2394,5; 3793,1)	0,255
	Partikel	54,30 (40,2; 88,1)	83,79 (57,2; 128,4)	0,063	78,27 (28,0; 151,3)	82,94 (57,0; 126,2)	0,676
RANTES	Medium	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)	<b>0,030</b>
Eotaxin	Medium	343,86 (268,7; 419,1)	399,10 (319,4; 525,0)	0,075	380,72 (270,6; 481,4)	399,10 (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
MCP-1	Medium	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
	Partikel	650,45 (193,8; 1864,5)	603,27 (426,9; 906,7)	0,944	704,95 (295,6; 766,8)	603,27 (424,6; 932,8)	0,605
IL-4	Medium	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)	<b>0,026</b>
IL-5	Medium	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)	<b>0,035</b>
IL-6	Medium	4,80 (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
	Partikel	129,15 (69,8; 243,3)	151,05 (94,8; 235,6)	0,433	177,20 (80,4; 365,2)	148,12 (94,8; 235,6)	0,707
IL-8	Medium	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
	Partikel	869,60 (273,3; 1478,6)	805,59 (539,7; 1205,9)	0,896	924,40 (557,3; 1447,2)	802,06 (528,9; 1253,6)	0,559
IL-10	Medium	1,64 (1,5; 2,9)	1,50 (1,5; 3,13)	0,826	1,50 (1,5; 4,23)	1,50 (1,5; 3,1)	0,510
	LPS	15,03 (9,5; 22,0)	13,88 (9,4; 21,0)	0,780	14,63 (6,4; 21,1)	13,88 (9,5; 21,0)	0,696
	Partikel	6,20 (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

**Tabelle II (Fortsetz.):** Zusammenhang zwischen Konzentrationen der Zytokin- bzw. Chemokin-konzentrationen [pg/ml] und Gesamt-IgE bzw. Sensibilisierungen gegen Allergenmischungen und spezifische Allergene, Median (25./75. Perzentile), p-Werte des U-Tests <0,05 hervorgehoben

		Sojabohne			Milcheiweiß		
		positiv	negativ	p-Wert	positiv	negativ	p-Wert
IFN- $\gamma$	Medium	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)	51,10 (29,1; 102,5)	0,643	40,27 (24,7; 74,5)	51,50 (29,1; 109,0)	0,194
	Partikel	6,72 (0,0; 15,1)	8,18 (0,0; 13,7)	0,851	1,23 (0,0; 7,6)	8,45 (0,0; 13,9)	<b>0,040</b>
	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
TNF- $\alpha$	Medium	4,08 (0,0; 6,0)	6,56 (4,6; 10,4)	<b>0,049</b>	3,92 (0,75; 5,9)	6,75 (4,7; 10,5)	<b>&lt;0,001</b>
	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
	Partikel	56,58 (21,2; 80,7)	83,66 (52,2; 129,3)	<b>0,045</b>	56,74 (32,6; 70,9)	84,52 (57,4; 131,9)	<b>0,000</b>
RANTES	Medium	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
Eotaxin	Medium	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
MCP-1	Medium	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
	Partikel	701,32 (204,0; 739,2)	608,34 (424,3; 931,1)	0,504	495,27 (278,3; 759,3)	617,71 (432,5; 926,9)	0,111
IL-4	Medium	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	Medium	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
IL-6	Medium	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)	<b>0,007</b>
	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
	Partikel	152,68 (78,5; 179,1)	149,00 (94,9; 236,0)	0,318	111,75 (79,2; 150,4)	152,80 (97,0; 236,0)	<b>0,035</b>
IL-8	Medium	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
	Partikel	786,92 (537,2; 1033,7)	806,12 (531,2; 1255,9)	0,617	631,63 (420,6; 1202,3)	811,02 (543,3; 1253,6)	0,306
IL-10	Medium	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)	<b>0,019</b>
	LPS	11,02 (9,1; 21,0)	13,88 (9,4; 21,1)	0,512	15,09 (8,1; 22,3)	13,83 (9,4; 21,0)	0,775
	Partikel	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

**Tabelle II (Fortsetz.):** Zusammenhang zwischen Konzentrationen der Zytokin- bzw. Chemokin-konzentrationen [pg/ml] und Gesamt-IgE bzw. Sensibilisierungen gegen Allergenmischungen und spezifische Allergene, Median (25./75. Perzentile), p-Werte des U-Tests < 0,05 hervorgehoben

		Dorsch			Weizenmehl		
		positiv	negativ	p-Wert	positiv	negativ	p-Wert
IFN- $\gamma$	Medium	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
	Partikel	11,07 (4,3; 14,3)	8,10 (0,0; 13,7)	0,657	8,93 (0,0; 15,1)	8,18 (0,0; 13,7)	0,650
	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
TNF- $\alpha$	Medium	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)	<b>0,016</b>
	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
	Partikel	107,27 (60,8; 171,9)	82,52 (56,5; 126,2)	0,594	60,10 (21,280,7)	83,79 (57,2; 129,3)	<b>0,035</b>
RANTES	Medium	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
Eotaxin	Medium	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
MCP-1	Medium	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)	<b>0,036</b>	940,54 (241,6; 1178,3)	745,03 (510,8; 1007,7)	0,778
	Partikel	759,29 (646,4; 1631,6)	603,27 (416,5; 919,5)	0,239	704,95 (204,0; 748,2)	603,27 (424,3; 931,1)	0,650
IL-4	Medium	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	Medium	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
IL-6	Medium	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
	Partikel	251,22 (169,2; 330,3)	148,12 (94,2; 234,5)	0,124	155,78 (78,5; 179,1)	148,66 (94,9; 236,0)	0,364
IL-8	Medium	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
	Partikel	1086,40 (1013,8; 1268,0)	796,64 (528,6; 1253,6)	0,116	857,51 (537,2; 1139,1)	805,59 (531,2; 1255,9)	0,817
IL-10	Medium	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	21,19 (15,6; 25,9)	13,83 (9,2; 20,8)	0,197	15,08 (9,1; 21,2)	13,88 (9,4; 20,9)	0,879
	Partikel	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

Tabelle II (Fortsetz.): Zusammenhang zwischen Konzentrationen der Zytokin- bzw. Chemokin-konzentrationen [pg/ml] und Gesamt-IgE bzw. Sensibilisierungen gegen Allergenmischungen und spezifische Allergene, Median (25./75. Perzentile), p-Werte des U-Tests < 0,05 hervorgehoben

		Dermatophagoides pt.			Katze		
		positiv	negativ	p-Wert	positiv	negativ	p-Wert
IFN- $\gamma$	Medium	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
	Partikel	8,18 (0,0;13,3)	8,02 (0,0;13,7)	0,948	3,04 (0,0;12,9)	8,27 (0,0;13,7)	0,315
	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
TNF- $\alpha$	Medium	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
	Partikel	80,60 (57,9;108,0)	83,36 (56,4;130,6)	0,604	75,22 (45,7;104,5)	83,51 (56,7;128,4)	0,266
RANTES	Medium	6309,04 (4711,2; 8963,9)	7265,40 (5384,8; 9223,3)	0,221	6972,00 (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
Eotaxin	Medium	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
MCP-1	Medium	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
	Partikel	662,42 (378,0;780,5)	594,00 (430,5;934,5)	0,599	681,87 (352,5;1302,3)	603,27 (424;6;906,7)	0,576
IL-4	Medium	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)	<b>0,005</b>	65,54 (39,4; 98,4)	44,49 (27,1; 71,1)	<b>0,041</b>
IL-5	Medium	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)	<b>0,002</b>	6,27 (4,0; 8,5)	3,58 (2,1; 6,2)	<b>0,005</b>
IL-6	Medium	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
	Partikel	158,88 (93,9;219,0)	147,92 (94,7;237,7)	0,955	155,99 (85,0;208,6)	148,12 (94,8;236,1)	0,831
IL-8	Medium	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)	<b>0,011</b>
	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)	<b>0,026</b>
	Partikel	868,98 (515,8;1255,9)	799,06 (544,4;1251,2)	0,981	1070,46 (567,5;1333,1)	792,99 (523,9;1183,0)	0,232
IL-10	Medium	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)	<b>0,003</b>
	Partikel	6,980 (4,5;9,5)	6,340 (4,5;9,4)	0,768	7,440 (5,1;10,1)	6,320 (4,5;9,3)	0,257
	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

Tabelle II (Fortsetz.): Zusammenhang zwischen Konzentrationen der Zytokin- bzw. Chemokin-konzentrationen [pg/ml] und Gesamt-IgE bzw. Sensibilisierungen gegen Allergenmischungen und spezifische Allergene, Median (25./75. Perzentile), p-Werte des U-Tests < 0,05 hervorgehoben

		Hund			Roggenpollen		
		positiv	negativ	p-Wert	positiv	negativ	p-Wert
IFN- $\gamma$	Medium	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
	Partikel	0,00 (0,0; 15,1)	8,18 (0,0; 13,7)	0,497	7,92 (0,0; 16,0)	8,18 (0,0; 13,7)	0,891
	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
TNF- $\alpha$	Medium	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
	Partikel	80,70 (34,8; 150,9)	82,52 (56,6; 126,2)	0,842	80,70 (53,0; 132,5)	83,36 (57,2; 126,2)	0,469
RANTES	Medium	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
Eotaxin	Medium	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
MCP-1	Medium	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)	<b>0,036</b>	862,38 (494,0; 1018,7)	730,10 (510,8; 1013,9)	0,426
	Partikel	900,92 (554,8; 1647,5)	594,00 (415,0; 904,1)	0,116	701,32 (365,5; 841,7)	594,00 (424,3; 922,6)	0,860
IL-4	Medium	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	Medium	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)	<b>0,048</b>	5,12 (3,0; 8,4)	3,57 (2,1; 6,0)	<b>0,015</b>
IL-6	Medium	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
	Partikel	185,30 (150,2; 235,6)	147,92 (93,9; 235,6)	0,271	150,16 (80,0; 208,7)	149,00 (99,4; 236,2)	0,383
IL-8	Medium	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)	<b>0,028</b>	4595,42 (3168,2; 6383,9)	3828,30 (3015,8; 5264,6)	0,083
	Partikel	1319,02 (1033,7; 1372,0)	786,92 (531,3; 1181,1)	0,073	821,70 (537,2; 1306,1)	805,06 (531,3; 1251,2)	0,974
IL-10	Medium	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
	Partikel	6,98 (4,5; 9,5)	6,34 (4,5; 9,4)	0,768	7,44 (5,1; 10,1)	6,32 (4,5; 9,3)	0,257
	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

Tabelle II (Fortsetz.): Zusammenhang zwischen Konzentrationen der Zytokin- bzw. Chemokin-konzentrationen [pg/ml] und Gesamt-IgE bzw. Sensibilisierungen gegen Allergenmischungen und spezifische Allergene, Median (25./75. Perzentile), p-Werte des U-Tests < 0,05 hervorgehoben

		Lieschgras			Cladosporium herbarum		
		positiv	negativ	p-Wert	positiv	negativ	p-Wert
IFN- $\gamma$	Medium	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
	Partikel	6,71 (0,0; 15,1)	8,18 (0,0; 13,7)	0,780	2,04 (0,0; 12,2)	8,18 (0,0; 13,7)	0,323
	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
TNF- $\alpha$	Medium	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
	Partikel	77,55 (56,6; 131,2)	84,01 (56,5; 126,2)	0,338	66,76 (33,9; 71,3)	83,51 (56,6; 127,5)	0,159
RANTES	Medium	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	8452,30 (5671,6; 15617,3)	8016,08 (6028,4; 11192,9)	0,762
Eotaxin	Medium	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
MCP-1	Medium	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)	741,00 (508,5; 1007,7)	<b>0,048</b>
	Partikel	704,95 (376,9; 841,7)	592,21 (424,9; 931,1)	0,827	956,45 (780,5; 1647,5)	596,10 (418,1; 904,1)	0,107
IL-4	Medium	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	Medium	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)	<b>0,006</b>	8,50 (6,5; 12,3)	3,64 (2,2; 6,2)	<b>0,007</b>
IL-6	Medium	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
	Partikel	152,89 (80,0; 193,7)	148,12 (99,8; 236,2)	0,335	184,45 (115,4; 211,1)	148,66 (94,5; 236,0)	0,920
IL-8	Medium	47,02 (25,5; 116,8)	48,66 (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)	<b>0,042</b>
	Partikel	807,96 (557,4; 1153,2)	805,59 (526,5; 1255,9)	0,989	1316,89 (1139,1; 1338,5)	796,64 (531,3; 1184,4)	0,146
IL-10	Medium	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
	Partikel	6,54 (4,4; 9,6)	6,39 (4,6; 9,2)	0,867	8,23 (4,8; 9,4)	6,37 (4,5; 9,4)	0,720
	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

**Tabelle II (Fortsetz.):** Zusammenhang zwischen Konzentrationen der Zytokin- bzw. Chemokin-konzentrationen [pg/ml] und Gesamt-IgE bzw. Sensibilisierungen gegen Allergenmischungen und spezifische Allergene, Median (25./75. Perzentile), p-Werte des U-Tests < 0,05 hervorgehoben

		Birke			Beifuß		
		positiv	negativ	p-Wert	positiv	negativ	p-Wert
IFN- $\gamma$	Medium	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)	<b>0,020</b>
	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
	Partikel	8,18 (0,0;15,1)	8,18 (0,0;13,7)	0,803	4,18 (0,0;13,5)	8,18 (0,0;13,7)	0,468
	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
TNF- $\alpha$	Medium	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
	Partikel	83,92 (57,5;150,9)	82,52 (56,2;123,2)	0,448	71,34 (53,0;93,0)	83,92 (56,8;130,6)	<b>0,046</b>
RANTES	Medium	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)	<b>0,039</b>	9491,37 (6756,7; 12299,2)	7997,84 (6020,7; 11162,9)	0,321
Eotaxin	Medium	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
MCP-1	Medium	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
	Partikel	712,14 (365,5;1029,9)	587,30 (424,9;909,4)	0,407	708,58 (260,3;780,5)	594,00 (424,3;934,5)	0,719
IL-4	Medium	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	Medium	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
IL-6	Medium	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
	Partikel	177,78 (84,3;307,7)	145,24 (96,1;224,1)	0,279	130,42 (78,5;175,3)	150,80 (97,7;237,7)	0,049
IL-8	Medium	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
	Partikel	889,14 (572,1;1319,0)	794,22 (526,5;1227,4)	0,379	860,84 (537,2;1043,8)	799,06 (531,2;1261,1)	0,710
IL-10	Medium	1,50 (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
	Partikel	7,04 (4,4;10,9)	6,30 (4,5;9,2)	0,325	15,40 (9,2;21,6)	13,78 (9,4;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

Helmholtz-Zentrum  
für Umweltforschung GmbH – UFZ  
Permoserstraße 15, 04318 Leipzig  
Internet: [www.ufz.de](http://www.ufz.de)

