

Philipps



Universität
Marburg

Aus dem medizinischen Zentrum für Klinische Chemie und Molekulare Diagnostik
Geschäftsführender Direktor Prof. Dr. med. H. Renz
des Fachbereichs Medizin der Philippsuniversität Marburg

In Zusammenarbeit mit dem Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH,
Standort Marburg

Pränatale Entwicklung der IgE-Antwort unter Einfluss des mütterlichen Milieus – Ergebnisse einer multizentrischen prospektiven Kohortenstudie

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Humanmedizin
dem Fachbereich Humanmedizin der Philipps Universität Marburg
doctor medicinae (Dr. med.)
vorgelegt von

Christoph Emanuel Albers
aus Marburg

Marburg 2009

Angenommen vom Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg am: 26.03.09

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs.

Dekan: Prof. Dr. med. M. Rothmund

Referent: Prof. Dr. med. H. Renz

Korreferent Prof. Dr. med. H. Löffler

MEINEN ELTERN

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	01
1.1 Epidemiologie	02
1.2 Protektive Faktoren – die Hygiene Hypothese	04
1.3 Molekulare Mechanismen	06
1.4 Immunglobulin E (IgE)	10
1.5 Ziele der Arbeit	11
2. Material und Methoden	12
2.1 Studiendesign und –population	12
2.2 Kohortenkriterien, Teilnahmebedingungen, Betreuung	12
2.3 Studienorte	14
2.4 Messung von spezifischem IgE	16
2.5 Qualitätskontrolle	21
2.6 Statistische Analyse	23
3. Ergebnisse	24
3.1 Studienpopulation	24
3.2 Häufigkeitsverteilungen von Neugeborenen mit erhöhten IgE-Werten	26
3.3 Häufigkeitsverteilung von Eltern mit positiven IgE-Werten	30
3.4 Korrelation zwischen elterlichen und neonatalen Sensibilisierungsmustern	35
3.5 IgA-Antikörper in Nabelschnurblut	39
4. Diskussion	40
4.1 Klinische Wertigkeit erhöhter IgE Werte in Nabelschnurblut	40
4.2 Das neonatale Immunsystem und IgE	42
4.3 Herkunft von IgE-Antikörpern in Nabelschnurblut	43
4.4 Korrelation zwischen neonatalen und elterlichen Sensibilisierungsmustern	44
4.5 Der Bauerneffekt	49
5. Literaturverzeichnis	52
6. Abkürzungsverzeichnis	64

7. Verzeichnis der Abbildungen und Tabellen	65
8. Zusammenfassung	67
9. Lebenslauf	69
10. Verzeichnis akademischer Lehrer	71
11. Danksagung	72
12. Eine Ehrenwörtliche Erklärung	73
13. Verzeichnis der über diese Arbeit entstandenen Veröffentlichungen	74

1. Einleitung

Neurodermitis, Asthma bronchiale und allergische Rhinokonjunktivits gehören zu den häufigsten Vertretern der Krankheiten des atopischen Formenkreises. In den letzten Jahrzehnten ist die Prävalenz dieser Erkrankungen in den industrialisierten Ländern dramatisch gestiegen. Heute zählen sie zu den häufigsten chronischen Erkrankungen. Allen diesen Erkrankungen liegt eine Hypersensibilität gegen harmlose Umweltantigene zugrunde, die sich in einer übermäßigen Immunantwort mit den jeweiligen Symptomen der manifesten, allergischen Erkrankung äußert.

Beim **Asthma bronchiale** handelt es sich um eine chronisch entzündliche Erkrankung der Atemwege. Bei entsprechend veranlagten Personen führt die Entzündung zu einer reversiblen, anfallsweisen Luftnot, die auf eine Verengung der Atemwege zurückzuführen ist. Aufgrund der Entzündung entwickelt sich eine bronchiale Hyperreagibilität. Die Atemwege reagieren empfindlicher auf eine Vielzahl von Reizen. Die Atemwegsverengung wird durch vermehrte Sekretion von Schleim der Bronchialschleimhaut, durch einen Spasmus der Bronchialmuskulatur und durch Bildung von Ödemen verursacht. Es wird zwischen extrinsischem (Synonym: allergischem) Asthma bronchiale, intrinsischem (Synonym: nicht-allergischem) Asthma bronchiale und Mischformen unterschieden. Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich ausschließlich mit der extrinsischen Form des Asthma bronchiale.

Die **allergische Rhinokonjunktivits** ist eine IgE-vermittelte Entzündung der oberen Luftwege, die mit einer hohen Komorbidität einhergeht. Sie wird zum Beispiel mit der Entstehung von anderen Atemwegserkrankungen wie Asthma und Sinusitis in Zusammenhang gebracht. Die Erkrankung beginnt häufig im frühen Kindesalter und führt oftmals über Jahrzehnte hinweg zu einer erheblichen Beeinträchtigung der Lebensqualität. Die negativen gesundheitlichen Auswirkungen betreffen oft das Sozialleben, die schulische Leistungsfähigkeit und die Arbeitsproduktivität.

Die **Neurodermitis** (Synonym: atopische Ekzem) ist eine Hautkrankheit, deren Hauptsymptome rote, schuppige, manchmal auch nässende Ekzeme auf der Haut und ein oft quälender Juckreiz sind. Sie tritt vorwiegend im Kleinkindsalter auf und ist behandelbar, aber bislang nicht heilbar.

1.1 Epidemiologie

Das Vorkommen allergischer Erkrankungen steigt in den westlichen Ländern stetig^{5,23,63}. Laut statistischem Bundesamt (GBE) litten in den neunziger Jahren in Deutschland 1% aller 4-jährigen Kinder, 2,1% der 6-jährigen 2,8% der 9-jährigen und 5,5% der 12-15-jährigen Kinder an Asthma¹²⁸. Bei den Erwachsenen im Alter von 20-44 Jahren zeigte sich 1995 eine Asthma-Jahresprävalenz von 2,1%, davon 3% in den alten Bundesländern und 1,3% in den neuen.

Die Jahresprävalenzen der allergischen Rhinitis in Deutschland lagen in den 90er Jahren im Mittel bei den 6-Jährigen bei 1,7% (West: 2%/Ost: 1,4%), bei den 9-11-Jährigen bei 5,6% (West: 8,6%/Ost: 2,6%) und bei den 12-15-Jährigen bei 16,7% (West: 21,5%/Ost: 11,9%). 18,2% der Erwachsenen im Alter von 20-44 Jahren erkrankten im Jahr 1995 in Deutschland an Heuschnupfen (West: 23,1%/Ost: 13,3%). Die Lebenszeitprävalenz der atopischen Dermatitis in der deutschen Bevölkerung liegt bei 3,4%. Von atopischer Dermatitis sind 4,7% der Erwachsenen (18-35 Jahre) betroffen. Laut statistischem Bundesamt waren in den 1990er Jahren 12,6 % aller 4-jährigen Kinder erkrankt, im Alter von 6 Jahren waren es 4,6% und bei den 9-11-Jährigen waren es 7,3%¹²⁸.

Nach der Wiedervereinigung 1990 untersuchten verschiedene Arbeitsgruppen asthmatische Symptome und allergische Sensibilisierungen im Ost-West-Vergleich. Den Studien lagen genetisch sehr ähnliche Populationen zugrunde, die über 40 Jahre unterschiedlichen Lebensbedingungen ausgesetzt waren und unter verschiedenen allgemeinen Lebensverhältnissen gelebt hatten. So zeigte 1992 eine Untersuchung von sechsjährigen Kindern in Sachsen, Sachsen-Anhalt und Nordrhein-Westfalen, dass Husten häufiger im Osten, Rhinitis und Asthma hingegen häufiger im Westen auftraten. Untersuchungen in Leipzig, Halle und München in den Jahren 1992 und 1994 bestätigten dieses Ergebnis⁹⁴. Heinrich et al. berichteten, dass die Prävalenz von atopischen Erkrankungen bei nach der Wiedervereinigung geborenen Kindern in Ostdeutschland dramatisch anstieg⁵⁶. In Hamburg gaben 85% mehr Erwachsene im Alter von 20 bis 44 Jahren Atemwegs- und allergische Krankheiten an als in Erfurt. 8,9% der Hamburger, aber nur 3,4% der Erfurter wiesen bronchiale Hyperreaktivität und Asthmasymptome auf. Die im Kindesalter wirksamen Einflüsse der Innenraumluft-Faktoren waren in dieser Studie für die Entwicklung asthmatischer und allergischer Erkrankungen bedeutsamer als eine langjährig hohe Belastung der Außenluft mit Schwefeldioxid und Staubpartikeln⁹⁵.

Auch aus dem europäischen Ausland lassen neuere Studienergebnisse auf eine Zunahme des Asthma bronchiale schließen. 40% bis 80% der Kinder mit Asthma verlieren ihre Beschwerden während des Heranwachsens. Allerdings reagieren die Atemwege bei über der Hälfte der Patienten auch nach mehrjähriger Beschwerdefreiheit noch überempfindlich. Rund ein Drittel der im Jugendalter beschwerdefrei gewordenen Asthmatiker erleidet später einen Rückfall. Die Prognose des Asthmas im Kindesalter ist schlechter, wenn bereits asthmatische Erkrankungen in der Familie bestehen, wenn gleichzeitig Allergien und Ekzeme auftreten, wenn die Symptomatik bei Erkrankungsbeginn sehr ausgeprägt ist und wenn entweder aktiv oder passiv Zigarettenrauch eingeatmet wird^{49,71,126}.

Im europäischen Vergleich führt England in der Prävalenz des Asthma bronchiale und der allergischen Rhinitis (8% Asthma, 27% allergischer Rhinitis), gefolgt von Schweden (Asthma 6,2%, allergische Rhinitis 21,9%). Den geringsten prozentualen Anteil an Asthma bronchiale hat Griechenland mit 2,9% und an allergischer Rhinitis Island mit 17,8%. Die Länder mit den weltweit höchsten Prävalenzen sind Australien (Asthma 11,9% / allergischer Rhinitis 40,9%) und Neuseeland (Asthma 10,4% / allergischer Rhinitis 36,3%)¹²⁸. Laut CDC (Center for Disease Control/NCHS National Center for Health Statistics) betrug die Jahresprävalenz von Asthma in den Vereinigten Staaten im Jahr 2002 7,2%, wobei 8,2% der Betroffenen unter 17 Jahre alt waren und 6,8% über 17 Jahre²⁷. Im Jahr 2004 wurde in den USA bei 8,7% (18,6 Millionen) der Erwachsenen und bei 9,2% (6,7 Millionen) der Kinder unter 17 Jahren Heuschnupfen diagnostiziert²⁶.

Auch die gesundheitsökonomische Bedeutung der atopischen Erkrankungen hat dramatische Ausmaße angenommen. Aufgrund von Asthma gingen 1993 in Deutschland etwa 2,6 Mio. Arbeitstage durch Arbeitsunfähigkeit der GKV-Pflichtmitglieder verloren, im Durchschnitt dauerte die Arbeitsunfähigkeit rund 20 Tage an. 3019 Asthmatiker wurden 1995 aufgrund verminderter Erwerbsfähigkeit vorzeitig berentet; bei Rentenbeginn waren Frauen im Durchschnitt 51, Männer 54 Jahre alt. 1994 wurden für Asthmapatienten knapp 2,1 Milliarden DM ausgegeben. Diese direkten Krankheitskosten fielen an für die ambulante und stationäre Behandlung, für Arzneimittel, für Rehabilitation, für Krankengeld und für Leistungen der Berufsgenossenschaften bei berufsbedingten Krankheitsfällen¹²⁸.

Im internationalen Vergleich unterscheiden sich die Krankheitskosten, weil die Länder verschiedene Schwerpunkte in der Behandlung von Allergikern verfolgen. In Deutschland fallen in der stationären Versorgung weniger Kosten an als im Ausland; dennoch ist der Anteil der klinischen Intervention noch hoch.

An Asthma erkrankte Erwachsene können kaum auf eine Spontanheilung hoffen; die Wahrscheinlichkeit dafür liegt unter 20%. Die Auswirkung auf die Sterblichkeit ist dagegen gering; verglichen mit gleichaltrigen Gesunden versterben maximal 2% mehr Asthmatiker. 1995 verstarben 5.546 Menschen in Deutschland an Asthma und dessen Folgen, 4.750 im Westen und 796 im Osten. Etwa 75% der Verstorbenen waren über 65 Jahre alt. Über einen längeren Zeitraum betrachtet ging im Westen wie im Osten die Asthmasterblichkeit zurück, im Osten allerdings deutlich langsamer als im Westen. Die Sterberate lag 1995 in Deutschland bei 6,8 pro 100.000 Einwohner, im Westen bei 7,2 und im Osten bei 5,1. Damit ist die Asthmasterblichkeit im internationalen Vergleich trotz rückläufiger Zahlen weiterhin hoch ¹²⁸.

1.2 Protektive Faktoren - Die Hygiene Hypothese

Die genaue Ursache für die dramatisch ansteigende Prävalenz von atopischen Erkrankungen in den letzten Jahrzehnten konnte trotz intensiver Forschungsbemühungen noch immer nicht hinreichend geklärt werden. In epidemiologischen Untersuchungen wurde gezeigt, dass ein Zusammenhang zwischen dem enormen Anstieg von allergischen Erkrankungen und dem modernen westlichen Lebensstil besteht. Dieser Zusammenhang wurde erstmals 1989 in der „Hygiene Hypothese“ von Strachan beschrieben ¹³⁰, in der postuliert wird, dass das moderne Hygieneverhalten zu einer relativen Sterilisation in den industrialisierten Ländern geführt hat. Dadurch hat sich die Exposition zu bakteriellen und viralen Antigenen verringert, wodurch deren Potential, hemmenden Einfluss auf allergische Reaktionen auszuüben, reduziert wird ⁸.

Seit der Aufstellung dieser Hypothese gab es viele Studien, die dieses Konzept unterstützt haben ^{46,114}. Die Unterschiede zwischen den alten und neuen Bundesländern, beziehungsweise der Anstieg der Prävalenz der allergischen Erkrankungen im ehemaligen Ostdeutschland nach der Wiedervereinigung, spiegeln die Anpassung an den moderneren Lebensstil Westdeutschlands wider ⁵⁶. Eine epidemiologische Beobachtung aus Schweden beschäftigte sich mit einem Zusammenhang zwischen der Haltung von Haustieren und der Entstehung von allergischen Erkrankungen. Hier wurden Schulkinder,

die in ihren ersten Lebensjahren Haustiere besessen hatten, mit Kindern ohne Haustiere verglichen und auf Sensibilisierungen und manifeste Allergien untersucht. Die Ergebnisse lassen vermuten, dass die Exposition von Haustieren während der Kindheit einen protektiven Effekt auf die Allergieentwicklung im späteren Leben haben könnte⁵⁹. In einer weiteren Studie von Strachan et al. konnte eine Assoziation zwischen der Anzahl älterer Geschwister und der Entwicklung von allergischen Erkrankungen nachgewiesen werden: je größer die Anzahl älterer Geschwister, desto geringer war das Risiko für Heuschnupfen, atopisches Ekzem und respiratorische Allergien. Dieser so genannte Geschwister-Effekt ist auf höhere Infektionsraten zwischen den Geschwistern zurückzuführen und steht ebenfalls in Einklang mit der Hauptaussage der Hygiene Hypothese¹³¹. Ebenso wurde bei Kindern, die Kindergärten und Tagesstätten besuchten, gefunden, dass diese eine geringere Wahrscheinlichkeit für die Entwicklung von Asthma haben²⁵. Einige Studien haben einen Zusammenhang zwischen dem individuellen Lebensstil und dem Auftreten allergischer Erkrankungen untersucht: so zeigte eine Studie von Alm et al., dass Kinder aus Familien mit anthroposophischen Lebensstil eine geringere Atopieprävalenz aufwiesen³.

Aus verschiedenen Studien geht hervor, dass die mikrobielle Exposition auf Bauernhöfen mit einem erniedrigten Risiko für die Entwicklung allergischer Erkrankungen einhergeht. In diesem Kontext zeigte die SCARPOL Studie aus der Schweiz, dass Kinder, die in ein bäuerliches Milieu hineingeboren worden waren und dort aufwuchsen, ein um 50% verringertes Risiko gegenüber Kontrollgruppen hatten, allergische Erkrankungen zu entwickeln¹⁹. Eine weitere Studie aus Bayern zeigte zudem, dass vor allem für die Kinder, die auf Bauernhöfen mit Nutztierhaltung und Viehzucht, ein verringertes Atopierisiko bestand¹⁴³. Dies konnte durch eine finnische Studie bestätigt werden⁷². In der ALEX Studie wurden diese Beobachtungen über das Leben und Aufwachsen in bäuerlichem Milieu bestätigt und ausgebaut: man fand in den Untersuchungen heraus, dass bei sehr früher oder sogar pränataler Exposition mit der bäuerlichen Umwelt das Auftreten von Asthma und Allergien bei Kindern signifikant vermindert war. Kinder, die sich in Ställen aufhielten oder deren Mütter bereits während der Schwangerschaft täglich mit Nutztieren auf dem Bauernhof in Kontakt getreten waren, hatten eine lang anhaltende „Immunität“ gegen Asthma entwickelt²⁰.

Neben diesen Beobachtungen fand man ernährungsabhängige Faktoren, die das Atopierisiko beeinflussen. Erhöhter Konsum von unpasteurisierter Milch oder von ungesättigten Fettsäuren war mit einem vermindertem Atopierisiko assoziiert^{34,69,115}.

Jedoch nicht alle Studien bestätigen die Hygienehypothese. Bei Großstadtkindern aus den USA, hauptsächlich aus sozial benachteiligten Familien, fanden sich trotz schlechter hygienischer Verhältnisse hohe Asthma-Prävalenzen¹⁴⁷.

1.3 Molekulare Mechanismen

Allergien treten auf, wenn der Kontakt mit bestimmten Antigenen nicht zu einer normalen Immunisierung, sondern zu einer überschießenden Immunantwort führt. Antigene, die eine allergische Reaktion hervorrufen, werden Allergene genannt; dabei handelt es sich um harmlose Umweltantigene, wie Pollen, Hausstaubmilben oder Milchproteine. Bei entsprechend veranlagten Menschen, so genannten Atopikern, kann der Kontakt mit Allergenen eine allergische Reaktion hervorrufen. Diese wird nach Coombs und Gell in vier Typen eingeteilt, wobei die Typen I-III eine humorale Immunantwort beschreiben, während Typ IV eine zellvermittelte Reaktion darstellt¹¹³. Diese Arbeit behandelt die häufigste und klinisch bedeutsamste Form der Allergie, die Typ I Sofortreaktion.

1.3.1 Die allergische Reaktion

Die Typ I Reaktion (Reaktion vom Soforttyp) entsteht auf der Grundlage spezifischer IgE-Antikörper, die mit Allergenen interagieren und Zellen des Immunsystems aktivieren. Die Reaktion wird in zwei Phasen eingeteilt, eine Initial- oder Sensibilisierungsphase und eine Effektorphase (Abb. 1.1). Diese beiden Phasen treten meist gleichzeitig auf.

Sensibilisierungsphase

Nach Aufnahme des Allergens, meist über die Haut, den Gastrointestinaltrakt oder das respiratorische Epithel, wird das Allergen von antigenpräsentierenden Zellen (APC) aufgenommen und über MHC-II Moleküle T-Lymphozyten präsentiert. Letztere interagieren über Oberflächensignale und Zytokine, insbesondere IL-4, IL-5 und IL-13, mit B-Lymphozyten und stimulieren durch diese Interaktion die Differenzierung der B-Lymphozyten zu IgE-produzierenden Plasmazellen¹¹³.

Freies IgE bindet in der Folge an hochaffine Fcε-Rezeptoren auf Mastzellen und basophilen Granulozyten. Der Organismus ist nun gegen das betreffende Allergen sensibilisiert, es kommt jedoch noch zu keiner allergischen Reaktion⁶.

Effektorphase

Die Effektorphase wird in eine Früh- und eine Spätphase unterteilt. Trifft der sensibilisierte Organismus erneut mit dem entsprechenden Allergen zusammen, kommt es zu einer Kreuzvernetzung der Fcε-Rezeptoren über die gebundenen IgE. Durch diese Kreuzvernetzung werden die sekretorischen Zellen aktiviert und geben in der Frühphase der Effektorphase den Inhalt ihrer Granula durch Exozytose an die Umgebung ab. In den Granula befinden sich verschiedene Entzündungsmediatoren. Zu ihnen gehören Histamin, ein kurzlebiges, vasoaktives Amin, welches Gefäßpermeabilität, Vasodilatation und gastrointestinale Peristaltik steigert, und Ödembildung, Rötung und erhöhte Sekretbildung bewirkt, und Proteoglykane sowie Prostaglandine, welche eine Bronchokonstriktion hervorrufen. Interleukine (IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, TNF-α) leiten durch Opsonierung von Basophilen und Eosinophilen die Spätphase der allergischen Reaktion ein^{6,70}.

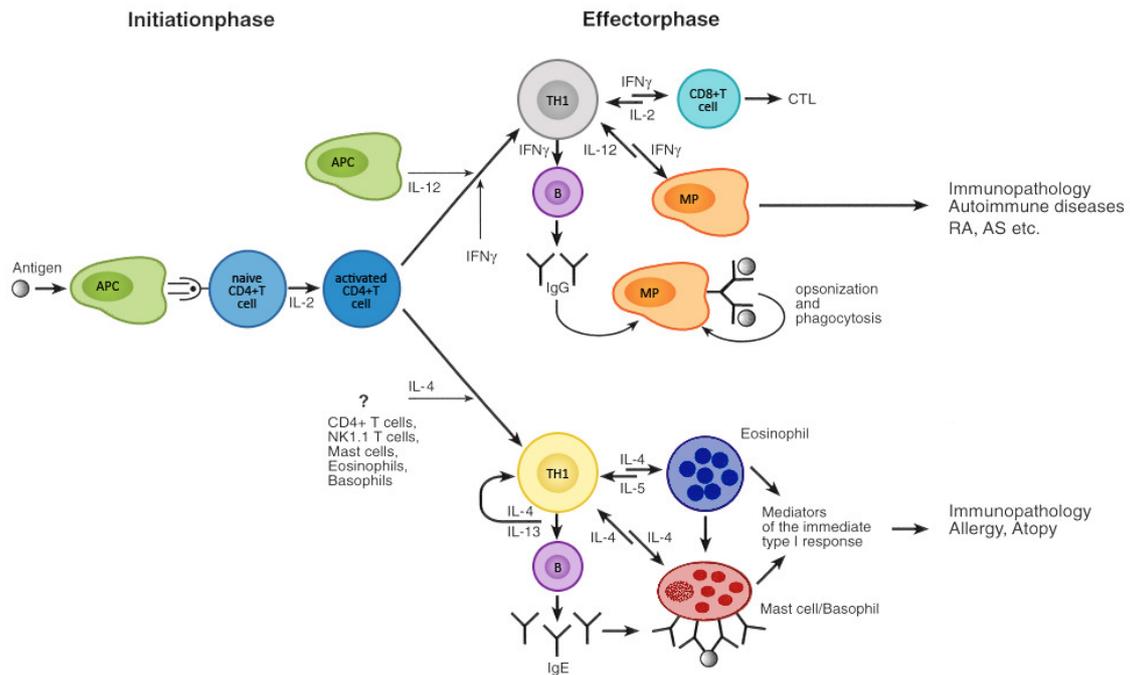


Abbildung 1.1: Schematische Darstellung einer allergischen Reaktion Typ I ³²

1.3.2 Das spezifische (adaptive) Immunsystem

Die molekularen, immunmodulatorischen Mechanismen, die zu dieser überschießenden Immunantwort führen, konnten bisher trotz intensiver Forschungsansätze nicht hinreichend geklärt werden. Eine Schlüsselrolle scheint T-Helfer-Lymphozyten (CD4+ T-Zellen) zuzukommen. Naive CD4+ T-Zellen (TH-0 Zellen) können zu TH-1 oder TH-2 Zellen differenzieren. Es wird angenommen, dass eine mangelnde TH-1 Antwort und somit eine gesteigerte TH-2 Antwort ein grundlegender Mechanismus der Allergieentstehung sind ¹¹³. TH-2 Zellen stimulieren durch verschiedene Zytokine wie IL-4, IL-5, IL-9 und IL-13 den Isotypenswitch der B-Lymphozyten und damit die IgE-Produktion ^{22,40}. Bei einem atopisch veranlagten Menschen dominieren TH-2-Lymphozyten. TH-1 Zellen produzieren hingegen IFN- γ , welches die zelluläre Immunantwort stimuliert und die Bildung von TH-2 Zellen inhibiert ¹²⁰.

1.3.3 Das unspezifische (erworbene) Immunsystem

Im Gegensatz zu Lymphozyten, die mit hochspezifischen Rezeptoren spezifisches Antigen erkennen, interagieren Zellen des angeborenen Immunsystems, wie dendritische Zellen, auf so genannte „pathogen associated moleculare patterns“ (PAMP) über „pattern recognition receptors“ (PRR).

Bei PAMPs handelt es sich um potentiell pathogene mikrobielle Oberflächenbestandteile, die häufig bei Viren, Bakterien oder Pilzen vorkommen. Unter den PRRs sind „Toll-Like-Receptors“ (TLR) die bekannteste Gruppe⁸⁷. Bis heute wurden zehn humane TLRs und verschiedene korrespondierende PAMPs identifiziert.

Zu den PAMPs werden auch Endotoxine gezählt. Endotoxine sind Bestandteile der äußeren Zellwand gramnegativer Bakterien. Aufgereinigt werden sie als Lipopolysaccharide (LPS) bezeichnet. Die biologische Aktivität des Endotoxins ist nicht an die lebende Bakterienzelle gebunden. Endotoxin interagiert mit TLR-4 und stimuliert die Produktion proinflammatorischer Zytokine wie TNF- α , Typ I Interferonen, IL-1, IL-6, IL-10 und IL-12 von antigenpräsentierenden Zellen^{121,122}. Diese Zytokine aktivieren naive CD4+ Zellen zur Differenzierung in TH-1-Zellen^{61,119}.

Bei verbesserten hygienischen Verhältnissen und einer damit verbundenen, relativen Sterilisation der Umwelt in westlichen Ländern ist es denkbar, dass diese beschriebene Stimulation durch PAMPs ausbleibt oder nur in geringerem Umfang erfolgt. Demzufolge würden weniger TH-1 Zellen und vermehrt TH-2 Zellen gebildet und die Entwicklung eines atopischen Phänotyps begünstigt⁹⁶.

Damit ist - in Bezug auf die Entstehungsmechanismen von Allergien - eine Brücke geschlagen zwischen dem angeborenem, unspezifischem Immunsystem (Aktivierung antigenpräsentierender Zellen mittels PAMPs über PRRs) und dem erworbenen, spezifischen Immunsystem (Differenzierung naiver CD4+ T-Zellen zu TH-2-Zellen).

1.3.4 regulatorische T-Zellen (T-reg)

Einige neuere Studien beschreiben einen weiteren potentiellen Mechanismus, der das TH-1/TH-2-Gleichgewicht reguliert. Dieser beruht auf verschiedenen regulatorischen T-Zellen (Treg)^{118,152}. Diese Zellen üben eine immunsuppressive Wirkung über Zytokine, wie IL-10, TGF- β und kostimulatorische Moleküle wie CTLA4 (CD152) oder GITR (Glukose-induzierter TNF Receptor), aus⁹⁷. Kommt es durch einen Mangel oder eine Fehlfunktion von Treg-Zellen dazu, dass die Treg-vermittelte Suppression auf die Aktivierung von TH-2-Zellen ausbleibt, könnte die Entstehung atopischer Erkrankungen begünstigt werden¹²⁹.

1.4 Immunglobulin E (IgE)

Prausnitz und Küstner beschrieben 1921 erstmals die Existenz eines humanen Serumfaktors, der mit Allergenen reagiert. Heute wissen wir, dass es sich um den Antikörper IgE handelt, der 1967 von Ishizaka et al. beschrieben wurde ¹¹. IgE-Antikörper sind Glykoproteine, bestehend aus zwei identischen schweren und leichten Polypeptidketten. Diese H-Ketten (heavy) und L-Ketten (light) sind über symmetrisch angeordnete Disulfid-Brücken miteinander verbunden. Durch die Ketten wird eine Antigenbindungsstelle und eine konstante Fc-Region gebildet, über die IgE Moleküle an Oberflächenrezeptoren von Effektorzellen binden (Abb.1.2).

Neben allergischen Erkrankungen können erhöhte IgE-Werte durch eine Vielzahl verschiedener Krankheitsbilder verursacht sein. Als typisches Beispiel sind parasitäre Infektionen zu nennen ¹⁵⁰.

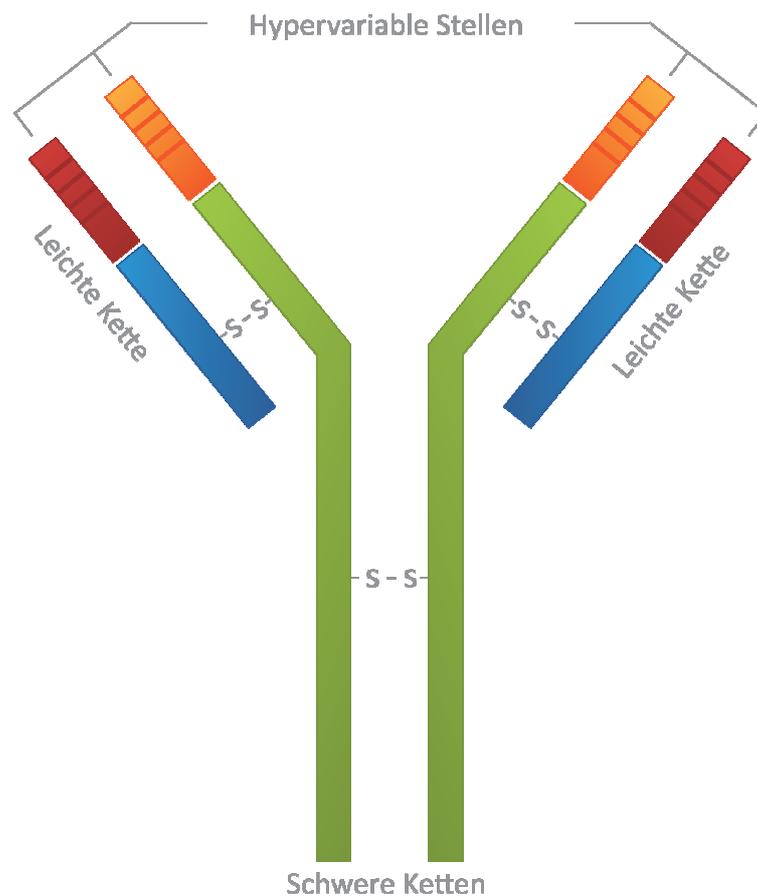


Abbildung 1.2: humanes Immunglobulin E (- S - S- : Disulfidbrücken)

1.5 Ziel der Arbeit

Die immer größer werdende Rolle und die dramatische Zunahme allergischer Erkrankungen, aber vor allem der individuelle Leidensdruck und der damit verbundene Verlust der Lebensqualität verdeutlichen, wie wichtig es für die Zukunft ist, ein klares Verständnis über die genauen Entstehungsmechanismen der allergischen Erkrankungen zu erlangen. Durch diese neuen Erkenntnisse kann der Trend der letzten Jahre durch gezielte therapeutische und präventive Interventionen unterbrochen werden.

Epidemiologische Forschungsansätze bieten zum einen die Möglichkeit, den bisherigen Wissensstand durch Erkennen der krankheitsauslösenden Faktoren deutlich zu verbessern, zum anderen sind sie eine wichtige Grundlage für experimentelle Forschungsansätze. Die bisherige Datenlage liefert klare Hinweise über einen inversen Zusammenhang zwischen atopischen Erkrankungen und dem Aufwachsen in landwirtschaftlicher Umgebung. Vor allem in den ersten Lebensjahren nach der Geburt, in denen sich das menschliche Immunsystem entscheidend ausbildet, scheint das Bauernhofleben die Allergieentwicklung protektiv beeinflussen zu können. Welchen Einfluss das bäuerliche Milieu bereits während der Schwangerschaft auf die Entwicklung eines allergischen Phänotyps hat, wurde bisher nur in wenigen Studien untersucht.

Diese Arbeit soll daher zeigen, ob sich die IgE-Profile im Nabelschnurblut solcher „geschützten“ Bauernkinder unterscheiden von denen solcher Kinder, deren Mütter während der Schwangerschaft keinen direkten Kontakt zu Bauernhöfen hatten. Bekannt ist, dass Kinder von Eltern mit allergischen Erkrankungen anfälliger sind für die Entwicklung einer Allergie. Deshalb soll in dieser Arbeit zusätzlich untersucht werden, inwieweit sich die neonatalen Sensibilisierungsmuster von denen der Eltern unterscheiden.

Die vorliegende Arbeit hatte daher folgende Ziele:

- 1. Beurteilung von Nabelschnurblut-IgE-Profilen in Bezug auf eine potentielle intrauterine Sensibilisierung**
- 2. Erfassung einer potentiellen Korrelation zwischen neonatalen und mütterlichen/väterlichen Sensibilisierungsmustern**
- 3. Vergleich des IgE-Profiles in Nabelschnurblut in einer Bauern- und einer Kontrollgruppe**

2. Material und Methoden

2.1 Studiendesign und -population

Im Rahmen der PASTURE Studie (Protection against Allergy – Study in Rural Environment) wurden in fünf ländlichen Gebieten in Deutschland, in der Schweiz, in Österreich, in Finnland und in Frankreich schwangere Frauen im dritten Trimenon identifiziert. Lebten oder arbeiteten diese schwangeren Frauen auf Bauernhöfen oder wohnten sie in kleinen Dörfern in ländlicher Umgebung, wurden sie zur Teilnahme an der Studie eingeladen. Nachdem der Kontakt zu den schwangeren Frauen aufgenommen worden war, mussten diese einen Rekrutierungsfragebogen ausfüllen, um die Eignung zur Studie zu prüfen. Waren die Befragten geeignet und willigten zur Teilnahme ein, erfolgte die Rekrutierung und Einteilung in zwei Kohorten, eine Bauerngruppe und eine Kontrollgruppe.

Bei der PASTURE Studie handelt es sich um eine multizentrische, prospektive Kohortenstudie ¹⁴⁴. Das Gesamtziel dieser Studie besteht darin, den Einfluss der Exposition zu verschiedenen mikrobiellen Produkten auf die Entstehung von Allergien durch ein prospektives Studiendesign in ländlicher Umwelt in Europa zu beurteilen und die immunologischen sowie genetischen Mechanismen, die den individuellen Reaktionen zu diesen Antigenen zugrunde liegen, zu untersuchen. Um diesem Ziel nachzugehen, wurden Blutproben der Eltern und der Kinder zum Zeitpunkt der Geburt, nach dem vollendetem ersten Lebensjahr und - noch ausstehend - im Alter von 4,5 und 6 Jahren auf spezifische IgE-Antikörper, DNA zur Bestimmung genetischer Polymorphismen, RNA zur Beurteilung der Expression von Genen wie TLRs, Zellkulturstimulationsüberstände zur Bestimmung des Zytokinmusters, Hausstaubproben, Kuhmilch- und Muttermilchproben untersucht.

2.2 Kohortenkriterien, Teilnahmebedingungen, Betreuung

2.2.1 Bauerngruppe

Der Bauerngruppe wurden diejenigen Schwangeren zugeordnet, die zum Zeitpunkt der Rekrutierung auf einem Bauernhof mit Tierhaltung lebten und dort entweder als Voll- oder Halbzzeitkräfte arbeiteten. Alternativ wurden diejenigen Schwangeren in die Bauerngruppe eingeteilt, die nur als Mieter auf dem Bauernhof lebten und nicht an der landwirtschaftlichen Arbeit beteiligt waren. Wenn die Familie bis zur Geburt umgezogen

war, wurde sie nachträglich der Kontrollgruppe zugeordnet. Um zu viele Subgruppenanalysen zu vermeiden, wurden genaue Kriterien für die Bauerngruppe definiert. Zu diesen Kriterien gehörte unter anderem, dass es sich um so genannte traditionelle Bauernhöfe handelte. Landwirtschaftliche Betriebe, die nur mit Getreideanbau aber ohne Tierhaltung wirtschafteten, wurden beispielsweise ausgeschlossen.

2.2.2 Kontrollgruppe

Die Familien der Kontrollgruppe lebten in denselben Gegenden wie diejenigen der Bauerngruppe, hatten jedoch keinen direkten Kontakt zu Bauernhöfen. Sie wurden in denselben Kliniken rekrutiert. Um Unterschiede in anderen Lebensstilfaktoren zu reduzieren, wurden keine Kliniken aus größeren Städten (zum Beispiel München) gewählt. Die Städte, aus denen die Familien der Kontrollgruppe stammten, waren nicht größer als 30.000 Einwohner. Zudem wurden kleine Städte mit großen industriellen Fabriken ausgeschlossen. Familien, bei denen entweder die Mutter oder Vater zur Arbeit in große Städte pendelten, wurden ebenfalls ausgeschlossen.

2.2.4 Ausschlusskriterien

Generell wurden aus der Studie ausgeschlossen:

- Frauen unter 18 Jahren
- Zwillingschwangerschaften oder bereits in die Studie eingeschlossene Geschwister
- Hausgeburten (außer Deutschland)
- Schwangere, bei denen ein Umzug aus dem Rekrutierungsgebiet anstand
- Familien ohne Telefonanschluss
- Unzureichende Sprachkenntnisse der jeweiligen Landessprache
- Mütter oder Väter, die in ländlichen Regionen leben aber täglich in großen Städten arbeiten
- Frühgeburten vor der 37. SSW
- Genetische Krankheiten wie Down Syndrom

2.2.5 Betreuung

Während der letzten Schwangerschaftswochen wurde den Familien ein erster Hausbesuch abgestattet. Hierbei wurde ein Gespräch mit den Müttern geführt, in dem Lebensstilfaktoren und eine mögliche Allergianamnese der Mutter erhoben wurden. Ein besonderes Augenmerk der Fragen über Lebensstil und Umwelt lag auf der Beurteilung von jeglichem Kontakt zu landwirtschaftlicher Umwelt, insbesondere im Hinblick auf Kontakt zu Nutztier.

Die Fragebögen wurden von der PASTURE Study Group entwickelt. Diese orientierte sich an Fragebögen der ISAAC⁴, ALEX¹¹⁵ und PARSIFAL Studie¹, wie auch am ATS Fragebogen⁴¹ zur Beurteilung des respiratorischen Gesundheitszustandes der Eltern.

2.3 Studienorte

2.3.1 Basel

Die Region um Basel liegt im Nordosten der Schweiz. Vier administrative Distrikte sind involviert: Kanton Appenzell Innerrhoden, Kanton Appenzell Außerrhoden, Kanton St. Gallen und Kanton Glarnerland. Diese Kantone liegen alle im Voralpenland und haben eine relevante Menge an Landwirtschaft und Viehzucht und nur sehr wenig industrielle Produktionsstätten.

Acht Kliniken sind in die Studie eingeschlossen, die alle in Städten mit weniger als 5000 bis 10000 Einwohnern in einer Höhe von 400 bis 800 Metern liegen. Die Studienpopulation besteht hauptsächlich aus in dörflicher Umgebung lebenden Menschen.

2.3.2 Besançon

Franche-Comté ist eine im Mittelgebirge liegende Region (mit Höhen von 200m bis 1200m). Sie liegt im Osten Frankreichs. Die Einwohnerzahl beträgt dort 1.200.000 Einwohner. In dieser Region befinden sich vier Départements: Doubs, Jura, Haute-Saône und Territoire Belfort. Die Rekrutierung der Schwangeren wurde durch ein spezielles, für Landwirte/-innen versicherndes Gesundheitsversicherungssystem gewährleistet (Mutualité Sociale Agricole, MSA). Fast alle Landwirte in dieser Region arbeiten mit Milchkühen. Obwohl die Anzahl der Landwirte in den letzten 40 Jahren stark abgenommen hat, bleibt diese Zahl seit ein paar Jahren konstant. Neben den in der Landwirtschaft Erwerbstätigen arbeiten die meisten in Besançon und weiteren kleinen umliegenden Städten.

2.3.3 Kuopio

Der Studienort besteht aus drei administrativen Gesundheitsbezirken (Pohjois-Savo, Pohjois-Karjala und Keski-Suomi) im Osten Finnlands. Das Krankenhaus jedes Bezirks nimmt an der Studie teil. Auch ein kleines Krankenhaus in Pohjois-Savo ist involviert. Die Kliniken sind in Städten von 20000 bis 90000 Einwohnern, die alle von kleinen Dörfern umgeben sind. Die natürliche Umgebung ist bewaldet und es gibt einige Seen. Die Anzahl an Bauernhöfen nimmt dort ab.

2.3.4 München

Die Studienregion besteht aus drei Bezirken, Bad Tölz/Wolfratshausen, Weilheim/Schongau und Starnberg. Innerhalb der Studienregion waren sieben Kliniken in Städten von 13.000 bis 17.000 Einwohnern involviert. In der gesamten Studienregion pendelt eine relevante Anzahl an Einwohnern zur Arbeit nach München. Die Studienregion liegt im Voralpenland. Die Anzahl der landwirtschaftlichen Betriebe nimmt aus wirtschaftlichen Gründen kontinuierlich ab. Viele der Bauernhöfe haben zusätzliche Einkommensquellen wie Ferienappartements.

2.3.5 Salzburg

Die Studienregion liegt im Nordwesten Österreichs. Sie besteht aus den Bezirken Braunau, Flaugau, Tennengau und Pongau. Die Flächen dieser Bezirke erstrecken sich über das Voralpenland, die Voralpen und die Hochalpen. 360.000 Einwohner leben in dieser Region in Höhen zwischen 300m und 1000m. Zusammen existieren 11.000 Bauernhöfe. Die meisten betreiben Ackerbau und Viehzucht. Fünf Krankenhäuser gehören zu dieser Studienregion, die alle in Städten mit Einwohnerzahlen zwischen 3.000 und 16.000 liegen. Eine dieser Kliniken ist in Salzburg, weil viele Frauen aus der umliegenden Gegend dort ihre Kinder zur Welt bringen. Trotzdem wird aus Salzburg selbst keine Familie rekrutiert.



Abbildung 2.1: Geografische Standpunkte der Studienorte

2.4 Messung von spezifischem IgE

Die Serum Proben für die Messung der spezifischen IgE-Antikörper wurden während oder kurz nach der Geburt von den Eltern und aus der Nabelschnur des Neugeborenen gewonnen. Das Blut wurde innerhalb von 27 Stunden nach Abnahme zentrifugiert. Aliquots wurden bei -20°C in den Labors der jeweiligen Zentren gelagert. Jeweils ein Aliquot wurde an das Zentrallabor nach Marburg geschickt, während die restlichen für weitere Analysen in den Zentrallabors der einzelnen Zentren aufbewahrt wurden. In Marburg wurden Messungen auf 13 inhalative und 7 Nahrungsmittelallergene mit Hilfe des Allergy Screen test panel for Atopy (Mediwiss Analytic) durchgeführt.

Tabelle 2.1: Allergene (Allergy Screen Test – Mediwiss Analytic)

Saisonal	Ganzjährig	Nahrungsmittel
Erle	<i>D. pteronyssimus</i>	Eiweiß
Birkenpollen	<i>D. farinae</i>	Kuhmilch
Haselnusspollen	Katzenhaar	Erdnuss
Gräserpollen	Hundehaar	Haselnuss
Roggen	Pferdehaar	Karotte
Beifuß		Weizenmehl
Wegerich		Sojabohne
Alternaria		

2.4.1 Testmethoden

Der Allergy Screen Test ist ein Immunoblot zur semiquantitativen Bestimmung des zirkulierenden allergenspezifischen Immunglobulins der Klasse E (IgE) in humanem Serum¹⁸.

2.4.2 Testprinzip

An die Oberfläche von Nitrozellulosemembranen sind spezielle Allergene gebunden. Diese Nitrozellulosemembranen befinden sich in einem Reaktionstrog. In diesen Reaktionstrog wird das Patienten Serum pipettiert und bei Raumtemperatur inkubiert. Dabei reagieren die allergenspezifischen IgE Antikörper mit dem Allergen und werden so über das Allergen an die Nitrozellulosemembranen gebunden. Nicht gebundenes Material wird durch Waschen entfernt. Danach erfolgt die Zugabe eines mit Biotin gekoppelten Anti-Human-IgE Antikörpers. Dieser bindet an das jeweilige spezifische IgE aus den ersten Inkubationen in den Testfeldern. Nicht gebundene Detektorantikörper werden durch Waschen entfernt. Anschließend erfolgt die Zugabe eines mit alkalischer Phosphatase konjugierten Streptavidins. Dieses bindet an das Biotin aus der zweiten Inkubation in den Testfeldern und an die Positivkontrolle. Nicht gebundenes Streptavidinkonjugat wird durch Waschen entfernt. Nach der Zugabe einer Farbstofflösung (Bromo-Chloro-Indolylphosphat und Nitroblautetrazolium) erfolgt eine enzymatische Farbreaktion der alkalischen Phosphatase mit Bildung von Präzipitaten auf

den Teststreifen im Sinne einer spezifischen Reaktion. Die Färbung ist direkt proportional zu dem Gehalt spezifischer Antikörper der Serumprobe. Die Auswertung erfolgt nach Vollständiger Trocknung des Teststreifens im Information Manager. Dabei handelt es sich um eine Charge-Coupled-Device-Kamera (CCD), die ein Foto des Streifens erstellt (Abb. 2.2) . Die Software des Info Managers analysiert die Grauwerte der Streifen und gruppiert sie in eine gespeicherte Standardkurve ein (Abb. 2.3). Es werden Klassen berechnet, die einen Bezug zum spezifischen IgE Gehalt der Probe haben. Ebenfalls ist eine visuelle Eingruppierung der Farbentwicklung möglich.

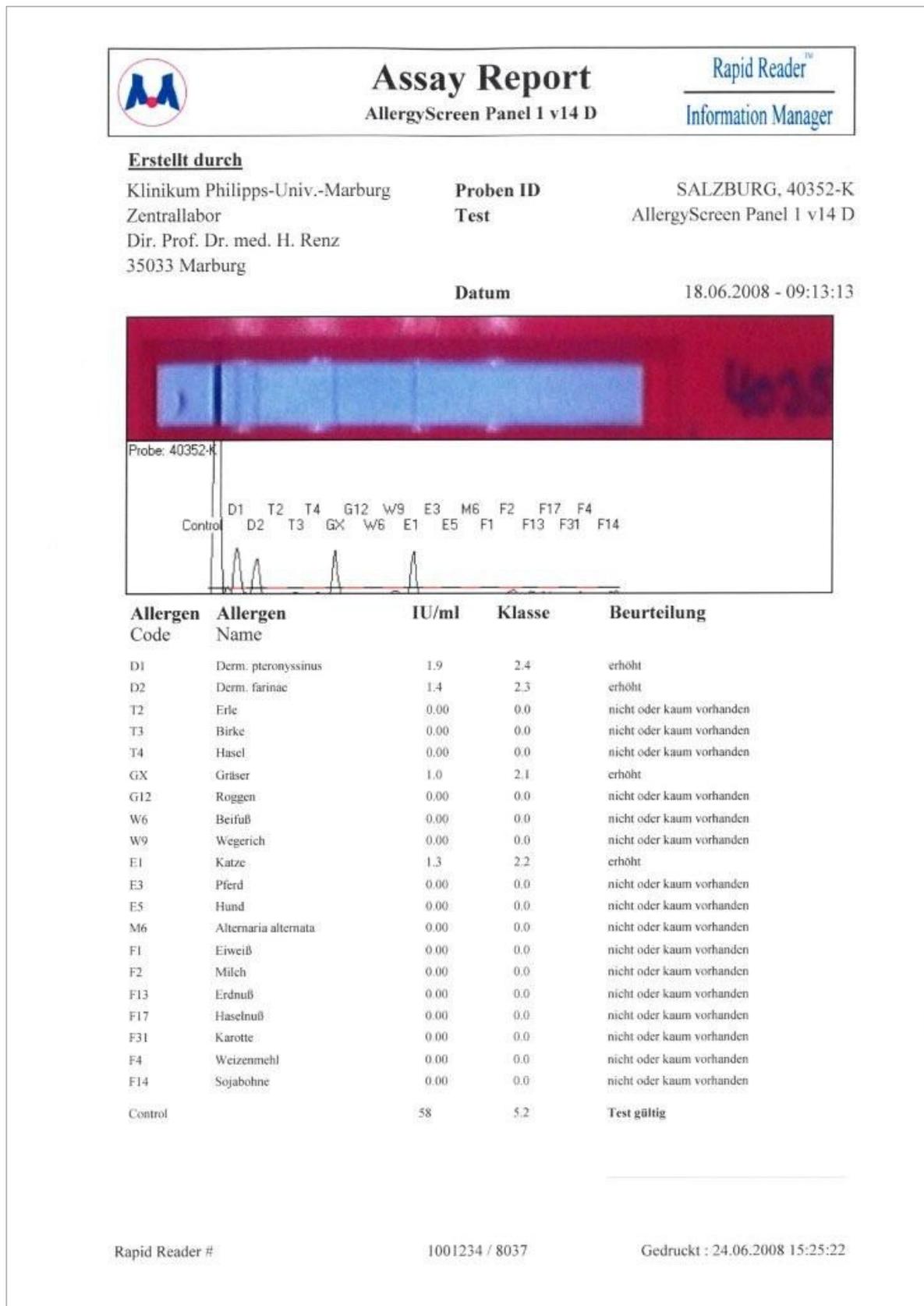


Abbildung 2.2: Rapid Reader, computerunterstützte Auswertung eines Testpanels. Ausdruck einer Auswertung eines Testpanels. Zu erkennen ist ein Testpanel mit mehreren positiven Banden, einer Positiv Kontrolle und einer nicht-erkennbaren Negativ Kontrolle. Zusätzlich sind die einzelnen Allergene und die gegebenenfalls entsprechend erhöhten spezifischen IgE-Antikörper in IU/ml und der Eingruppierung in Klassen angegeben.

2.4.3 Lagerung der Proben

Der Allergy Screen ist für die Untersuchung humaner Serumproben entwickelt worden. Das durch Venenpunktion gewonnene Blut wurde nach der Gerinnung (30-40min) durch Zentrifugieren für 10 min bei 4000g behandelt und das Serum gewonnen. Die Lagerung der Proben erfolgte durch Aufbewahrung bei -20°C oder kälter. Wiederholtes Auftauen und Einfrieren wurde vermieden.

2.4.4 Testdurchführung

Wir benutzten für die Abarbeitung der Proben den Tecan ProfiBlot 2in1. Dabei wurden die Streifen automatisch gewaschen und die Reagenzienlösungen automatisch pipettiert. Nur das Serum musste manuell pipettiert werden (250 µl). Nach Abschluss der Abarbeitung im ProfiBlot 2in1 wurden die Membranen mit fließendem Wasser abgespült und anschließend getrocknet.

2.4.5 Serenbefundung

Die Farbintensität auf den Testfeldern ist direkt proportional zu der Menge an spezifischen IgE-Antikörpern im Serum des Patienten und für das jeweilige Allergen. Die quantitative Auswertung erfolgte mittels des InformationsManagers. Dabei handelt es sich um eine CCD Kamera und eine Software. Die Software (1v4 und 1v14, Information Manager, MATEST, Münsingen) evaluiert die optische Dichte jeder Bande und berechnet daraus das Oberflächenintegral der Peaks. Die optische Dichte wurde auf eine Standardkurve aufgetragen, um die spezifischen IgE-Konzentrationen in der Probe zu bestimmen (Abb. 2.3). Die Kurve wurde aus einer logistischen Dosis-Wirkungsfunktion der optischen Dichte (Ordinate) vs. spezifischem IgE gegen gx4 Grasspollen (Pharmacia) (Abzisse) festgelegt.

$$X = \text{IU/ml}$$

$$Y = (A1 - A2)/(1 + (x/x_0)^p) + A2$$

Die ermittelten Werte wurden für die bessere Interpretation auf linearer Basis in 10 Subklassen gruppiert (z.B. Klasse 2 in 2,0-2,9).

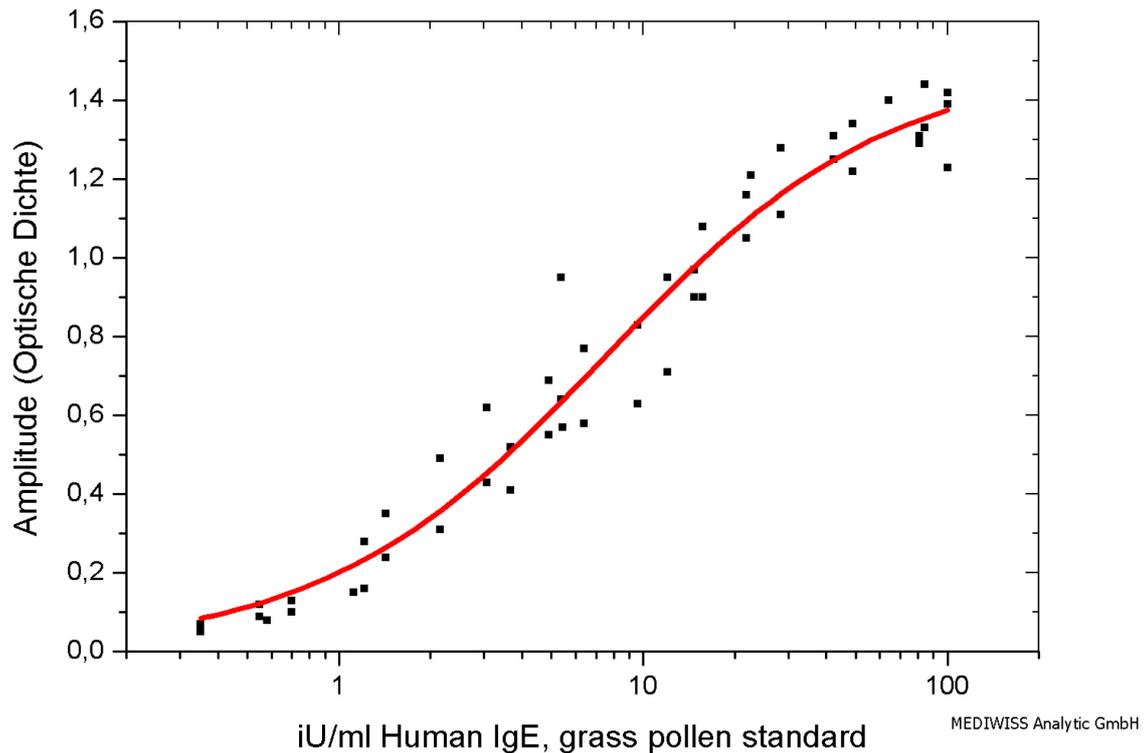


Abbildung 2.3: Die Kurve ist eine logistische Dosis-Wirkungsfunktion: optische Dichte (Y-Achse) gegen spezifische Pharmacia gx4 Grass Pollen IgE (X-Achse) (CAP).

2.5 Qualitätskontrolle

Für die Qualitätskontrolle befinden sich auf jedem Teststreifen eine Positiv- und eine Negativkontrolle. Diese dienen der Überprüfung der ordnungsgemäßen Testdurchführung. Findet sich im Testfeld der Positivkontrolle keine Anfärbung, so ist der Test nicht valide. Die Positivkontrolle sollte > Klasse 2,5 (>3,0 U/l) sein.

Zur Qualitätssicherung der Seren wurden diese auf Kontamination durch maternales Blut überprüft, indem 60 IgE-positive Nabelschnurblutproben mittels Immunturbidimetrie auf IgA-Antikörper untersucht wurden. IgA kann die Plazenta während der Schwangerschaft nicht überwinden. Ist dennoch IgA in fetalem Blut nachweisbar, spricht dies für eine stattgefundenen Kontamination mit mütterlichem Blut, zum Beispiel bei der Geburt. Die turbidimetrische Reaktion wurde in einem Hitachi 917 Analyzer (Roche, Basel, Schweiz) mit einem Transmissionslicht von einer Wellenlänge von 340nm quantifiziert. Proben, deren IgA-Werte höher waren als 32 µg/ml, wurden als kontaminiert eingestuft²⁸.

Zur weiteren Qualitätskontrolle wurde das Testverfahren mit anderen in der Allergiediagnostik herkömmlichen Testverfahren überprüft. Dabei fanden wir eine gute Übereinstimmung mit dem Haut Prick Test und dem *in vitro* CAP System (Pharmacia, Freiburg) (Tab. 2.2).

Tabelle 2.2: Übereinstimmung mit Skin Prick Test und CAP

Allergen	Sensitivität (in % bezogen auf SPT)	Spezifität (in % bezogen auf SPT)	Übereinstimmung AS zu SPT (in %)	Übereinstimmung AS zu CAP (in %)	Übereinstimmung CAP zu SPT (in %)
D1(n=124)	97,8	83,5	88,7	93,2	89,8
D2(n=124)	91,8	84	87	88,4	89,6
T3(n=123)	98,3	87,1	92,7	92,5	94,1
GX(n=119)	98,6	82,6	92,4	90,1	88,4
F1(n=30)	100	90	93,3	76,6	83,3
F2(n=35)	85,7	96,4	94,3	77,15	77,15
F14(n=19)	100	87,5	94,7	100	94,7
F17(n=34)	91,3	100	94,1	97	85,3

Legende: SPT = Skin Prick Test, AS = Allergy Screen

D1= *D. pteronyssimus*, D2= *D. farinae*, T3= Birkenpollen, GX= Gräserpollen, F2= Kuhmilch, F17= Haselnuss, F14= Soja

Des Weiteren wurden zwei verschiedene Softwareversionen (1v4 und 1v14) (Information Manager, MATEST, Münsingen) verglichen. Die Softwareversion 1v4 befundet spezifische IgE-Werte als positiv bei einem unteren Grenzwert von 0,35 IU/ml, die Softwareversion 1v14 hingegen bei einem unteren Grenzwert von 0,2 IU/ml. Für jedes der beiden Verfahren führten wir Intra-Assay Untersuchungen zur Bestimmung des Variationskoeffizienten auf Testungenaugigkeiten durch. Dabei überprüften wir verschiedene Serumproben auf spezifische IgE-Antikörper gegen acht Allergene (Tab. 2.3). Die Variationskoeffizienten, die mittels der Softwareversion 1v4 ermittelt wurden, waren relativ hoch, während diese unter Einbezug niedrigerer IgE-Konzentrationen bei einem unteren Grenzwert von 0,2 IU/ml von 38%, 32% und 22% auf 11%, 20% und 13% für Haselnuss-, Sojabohne- und Kuhmilch-Allergene dramatisch verbessert werden konnten⁵⁸.

Tabelle 2.3: Intra-Assay Kontrolle (n = 10) auf Testungenauigkeiten; Vergleich zweier Softwareversionen

Allergen	Variationskoeffizient (Mittelwert) Softwareversion 1v4	Variationskoeffizient (Mittelwert) Softwareversion 1v14
D1	3% (3,8)	4% (3,8)
D2	3% (4,1)	5% (4,1)
T3	2% (3,2)	3% (3,2)
GX	6% (4,8)	6% (4,8)
F1	3% (3,06)	4% (3,06)
F2	33% (0,8)	7% (1,3)
F14	32% (1,1)	20% (1,3)
F17	38% (1,2)	11% (1,5)

D1= *D. pteronyssimus*, D2= *D. farinae*, T3= Birkenpollen, GX= Gräserpollen, F2= Kuhmilch, F17= Haselnuss, F14= Soja

2.6 Statistische Analyse

Die statistische Analyse wurde mit SAS 9.1.3 (The SAS Institute, Cary, NC, USA) durchgeführt. p-Werte < 0,05 und < 0,001 wurden als signifikant und hochsignifikant definiert. Spezifische IgE-Werte wurden ab dem Grenzwert von 0,2 IU/ml dichotomisiert. Eine Sensitivitätsanalyse bei einem höheren Grenzwert von 0,35 IU/ml wurde ebenfalls untersucht. Neben spezifischen IgE-Antikörpern gegen einzelne Allergene, wurden zudem Kombinationen/Gruppen spezifischer IgE-Antikörper definiert: IgE gegen saisonale Allergene, IgE gegen ganzjährig auftretende Allergene, IgE gegen inhalative Allergene und IgE gegen Nahrungsmittelallergene.

Zur Ermittlung einer potentiellen Korrelation zwischen elterlichen und neonatalen IgE-Werten berechneten wir den Rangkorrelationskoeffizienten (r) nach Spearman. Dabei handelt es sich um ein parameterfreies Maß für die Korrelation. Das heißt der Rangkorrelationskoeffizient (r) misst, wie gut eine beliebige monotone Funktion den Zusammenhang zwischen zwei Variablen beschreiben kann, ohne irgendwelche Annahmen über die Wahrscheinlichkeitsverteilung der Variablen zu machen ⁹.

3. Ergebnisse

Bei der PASTURE – Studie (Protection against Allergy – Study in rural environments) handelt es sich um eine multizentrische, prospektive Kohortenstudie. Nabelschnurblut sowie mütterliches/väterliches Blut wurde in fünf europäischen Ländern (Deutschland, Schweiz, Österreich, Finnland, Frankreich) gewonnen¹⁴⁴.

3.1 Studienpopulation

Zunächst wurde die Studienpopulation erfasst (Abb. 3.1). Insgesamt nahmen nach Ausschluss einzelner Familien anhand verschiedener Kriterien 933 Familien an der Studie teil, von denen 503 Familien der Kontrollgruppe und 430 Familien der Bauerngruppe zugeteilt wurden. Von jeder Familie stand jeweils eine Blutprobe des Neonaten, der Mutter und des Vaters zur Ermittlung der IgE-Antikörper zur Verfügung.

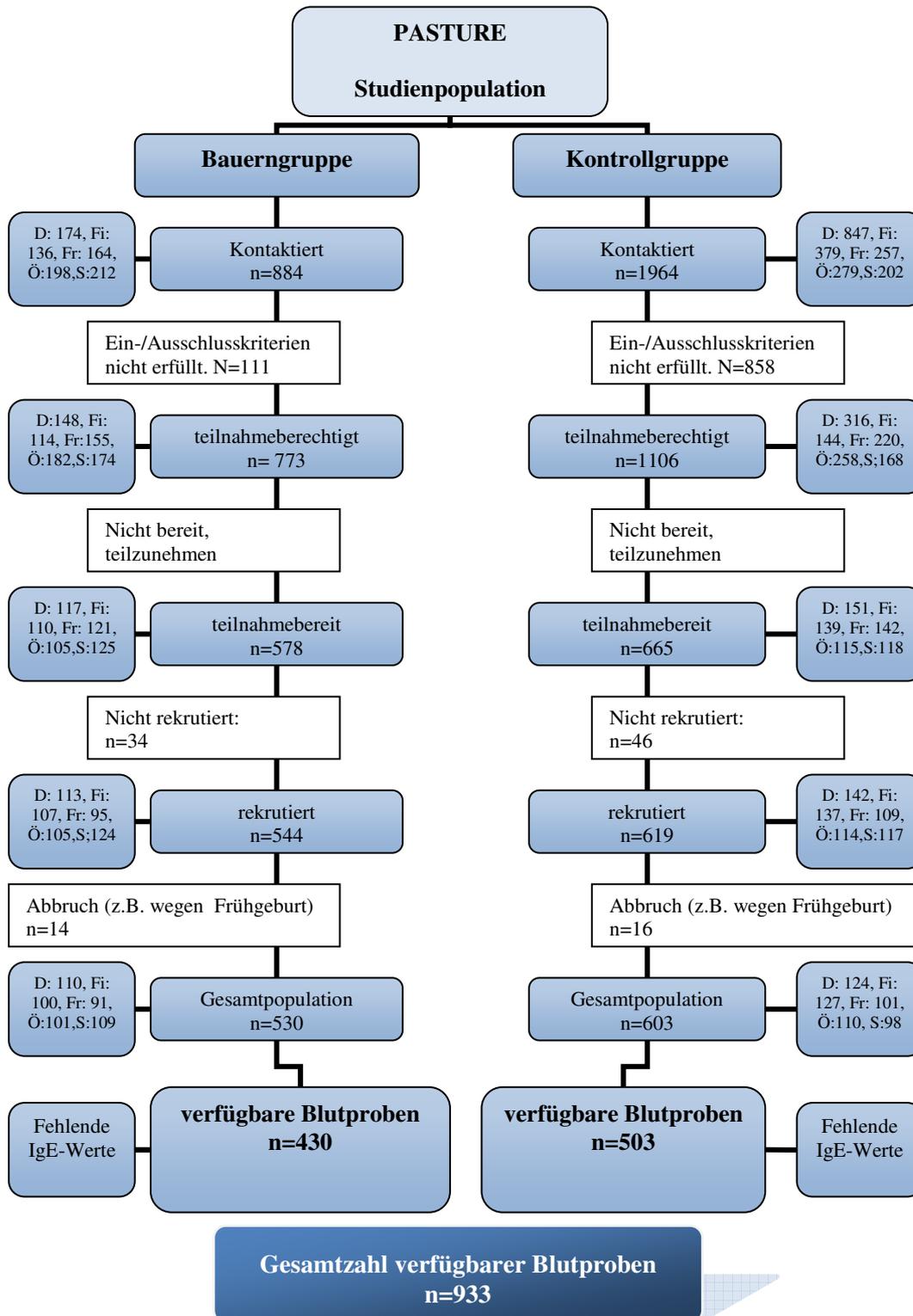


Abbildung 3.1: Studienpopulation. Durch die Ausschlusskriterien, Teilnahmeberechtigung, Teilnahmebereitschaft und weitere Faktoren ergab sich die Gesamtzahl der an der Studie teilnehmenden Familien und somit der verfügbaren Blutproben. Jede Zahlenangabe bezieht sich schlussendlich auf jeweils 3 Blutproben von Mutter, Vater und Kind. (n = Anzahl der Familien/Blutproben; D = Deutschland, Fi = Finnland, Fr = Frankreich, Ö = Österreich, S = Schweiz).

3.2 Häufigkeitsverteilungen von Neugeborenen mit erhöhten IgE-Werten

Initial wurde untersucht, ob die Neugeborenen erhöhte IgE Werte aufwiesen. Mittels eines Immunoblots zur semiquantitativen Bestimmung des zirkulierenden allergenspezifischen Immunglobulins der Klasse E (IgE) in humanem Serum konnten 20 verschiedene Allergene nachgewiesen werden (Tab. 2.1). Sobald die IgE-Konzentration in den Serumproben den Grenzwert von 0,2 IU/l überschritt, wurden diese als positiv bewertet.

Von allen untersuchten 933 neonatalen Blutproben waren insgesamt 224 positiv (24%) gegen mindestens eins der untersuchten Allergene. In der Kontrollgruppe waren 119 neonatale Blutproben positiv (24%) und in der Bauerngruppe 105 Blutproben (24%) (Abb.3.2). Die Prävalenzen zwischen weiblichen und männlichen Neugeborenen unterschieden sich nicht signifikant.

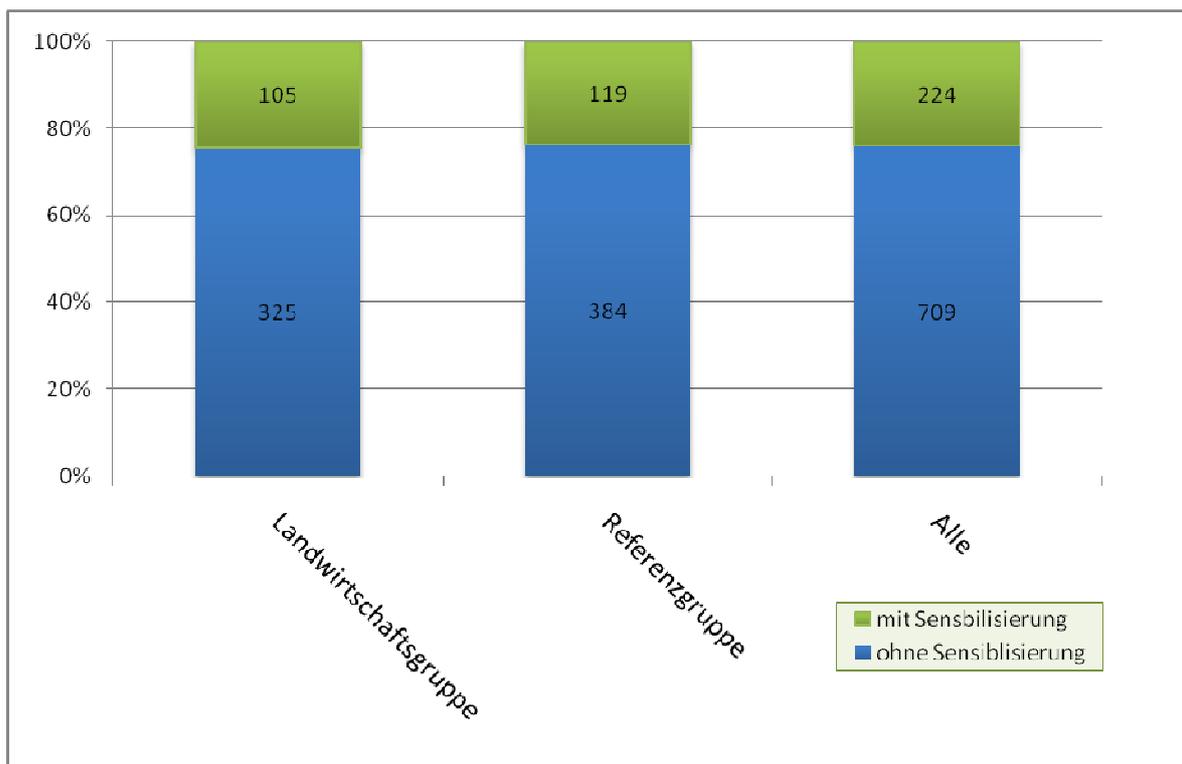


Abbildung 3.2: Absolute Anzahl (Zahl in Balken) und relativer, auf die Gesamtzahl aller Neonaten bezogener Häufigkeitsanteil aller Kinder mit positiven IgE-Antikörpern gegen mindestens ein Allergen (als positiv gewertet bei $\geq 0,2$ IU/l).

Zur besseren Beurteilbarkeit der ermittelten Ergebnisse, wurden zusätzlich die Anzahl aller Neonaten mit positiven IgE-Werten gegenüber den verschiedenen Gruppierungen von Allergenen unterschieden. Zunächst wurde in zwei Gruppen unterteilt, erstens in die Gruppe mit erhöhten IgE-Werten gegen inhalative Allergene und zweitens in die Gruppe mit erhöhten IgE-Werten gegen Nahrungsmittelallergene. Die erste Gruppe wurde noch weiter unterteilt in ganzjährig auftretende Allergene sowie saisonal, also nur zu einer bestimmten Jahreszeit auftretende Allergene. Die Verteilungshäufigkeiten aller Neonaten mit positiven IgE-Werten gegen diese Untergruppierungen zeigte signifikante Unterschiede zwischen der Bauern- und der Kontrollgruppe (Abb. 3.3).

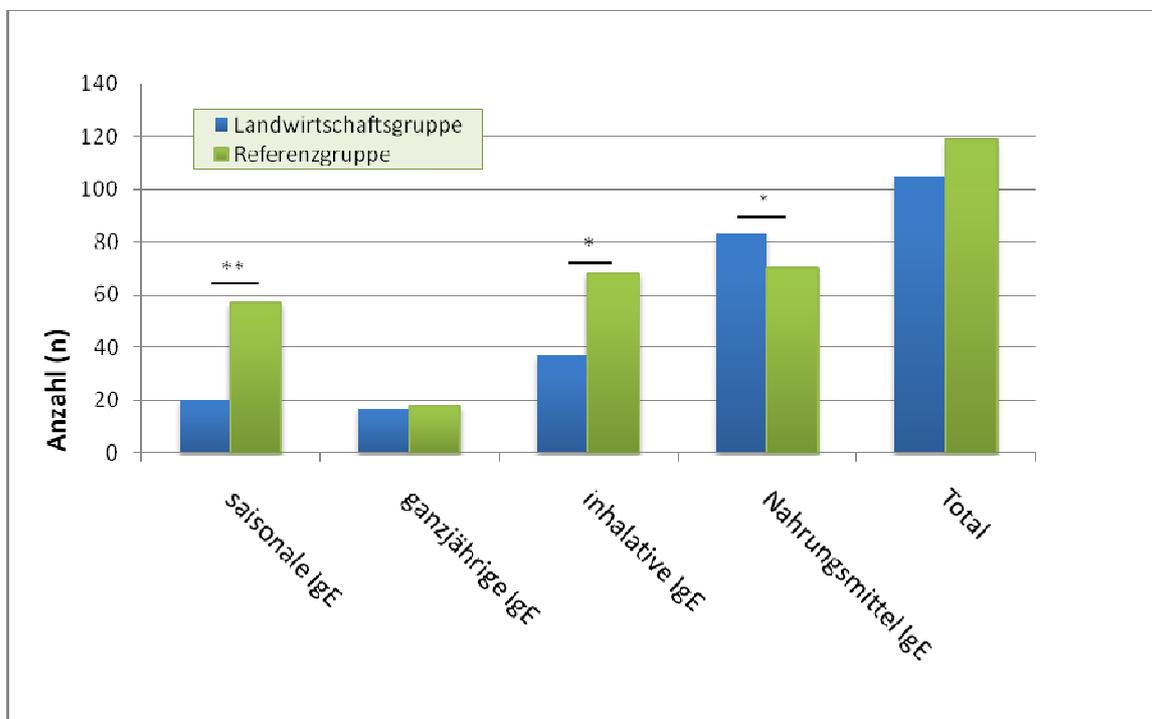


Abbildung 3.3 Anzahl von Neonaten mit positiven IgE Werten gegen verschiedene Allergengruppen in der Bauern- und der Kontrollgruppe (n = Anzahl aller Neonaten/Blutproben; * $p \leq 0,05$; (als positiv gewertet bei $\geq 0,2$ IU/l).

Die Anzahl von Neonaten, die gegen Nahrungsmittelallergene erhöhte IgE-Werte aufwiesen, war in der Bauerngruppe signifikant höher ($p = 0,033$) als in der Kontrollgruppe, während die Neonaten, die gegen inhalative Allergene sensibilisiert waren, in der Kontrollgruppe signifikant häufiger ($p = 0,022$) betroffen waren.

Die weitere Untergruppierung der IgE-Werte gegen inhalative Allergene in ganzjährig und saisonal vorkommende Allergene zeigte, dass Kinder aus der Kontrollgruppe

hochsignifikant ($p < 0,001$) häufiger gegen saisonal auftretende Allergene sensibilisiert waren, als Kinder aus der Bauerngruppe.

Im nächsten Schritt wurden die erhobenen Daten weiter differenziert, indem die allergenspezifischen IgE-Werte untersucht wurden (Tab. 3.1).

Tabelle 3.1 Häufigkeitsverteilung der Neugeborenen positiven IgE-Werten

IgE gegen	Positive Kinder	%	Positive Kinder Bauerngruppe	%	Positive Kinder Kontrollgruppe	%	p-Wert
Erle	6	1	2	0	4	1	0,692
Birkenpollen	10	1	4	1	6	1	0,76
Haselnusspollen	33	4	13	3	20	4	0,48
Gräser	36	4	5	1	31	6	<0,001
Roggen	7	1	0	0	7	1	0,017
Beifuß	2	0	1	0	1	0	1
Wegerich	0	0	0	0	0	0	
Alternaria	2	0	0	0	2	0	0,503
Saisonal	77	8	20	5	57	11	<0,001
<i>D.peteronyssimus</i>	12	1	3	1	9	2	0,158
<i>D. farinae</i>	2	0	0	0	2	0	0,503
Katzenhaar	8	1	3	1	5	1	0,732
Pferdehaar	8	1	5	1	3	1	0,482
Hundehaar	14	2	10	2	4	1	0,063
Ganzjährig	35	4	17	4	18	4	0,836
Alle inhalativen	105	11	37	9	68	14	0,022
Hühnereiweiß	36	4	22	5	14	3	0,087
Kuhmilch	71	8	42	10	29	6	0,025
Erdnuss	8	1	5	1	3	1	0,482
Haselnuss	43	5	24	6	19	4	0,212
Karotte	3	0	1	0	2	0	1
Weizenmehl	18	2	10	2	8	2	0,478
Soja	64	7	34	8	30	6	0,246
Nahrungsmittel	153	16	83	19	70	14	0,033
Gesamt	224	24	105	24	119	24	0,818

Aus dieser Untersuchung ging hervor, dass Neonaten aus der Kontrollgruppe signifikant häufiger gegen die saisonal auftretenden Allergene Gräser ($p < 0,001$) und Roggenpollen ($p = 0,017$) sensibilisiert waren. Im Gegensatz dazu war die Anzahl der Neugeborenen aus der Bauerngruppe, die gegen Kuhmilch erhöhte IgE-Werte aufwiesen, signifikant ($p = 0,025$) höher als in der Kontrollgruppe.

Im nächsten Schritt wurde untersucht, ob sich die Kontroll- und Bauerngruppe in der Anzahl koexistierender Sensibilisierungen unterscheiden (Tab. 3.2). Hierfür wurde die Anzahl an Neugeborenen in beiden Gruppen ermittelt, die positive IgE-Werte gegen mehrere Allergene gleichzeitig aufwiesen, wobei signifikante Unterschiede nicht nachgewiesen werden konnten. Auch die Analyse nur innerhalb der Neugeborenen, die gegen saisonal auftretende Allergene oder Nahrungsmittelallergene Sensibilisierungen aufwiesen, ergab keine signifikanten Unterschiede (Tab. 3.3, 3.4).

Tabelle 3.2 Anzahl koexistierender Sensibilisierungen

Anzahl der Sensibilisierungen	Bauerngruppe		Kontrollgruppe		Gesamt	
	n	%	n	%	n	%
0	325	75,58	384	76,34	709	75,99
1	61	14,19	76	15,11	137	14,68
2	27	6,28	25	4,97	52	5,57
3	8	1,86	9	1,79	17	1,82
4	3	0,70	4	0,80	7	0,75
5	3	0,70	3	0,60	6	0,64
6	3	0,70	0	0	3	0,32
7	0	0	1	0,20	1	0,11
8	0	0	1	0,20	1	0,11
Total	430	100	503	100	933	100

Tabelle 3.3: Anzahl von Neonaten mit koexistierenden Sensibilisierungen gegen Nahrungsmittelallergene

Anzahl der Sensibilisierungen n	Bauerngruppe		Kontrollgruppe		Gesamt	
	n	%	n	%	n	%
0	393	91,40	435	86,48	828	88,75
1	31	7,21	55	10,93	86	9,22
2	4	0,93	6	1,19	10	1,07
3	1	0,23	4	0,80	5	0,54
4	1	0,23	2	0,40	3	0,32
7	0	0	1	0,20	1	0,11
Total	430	100	503	100	933	100

Tabelle 3.4 Anzahl von Neonaten mit koexistierenden Sensibilisierungen gegen inhalative Allergene

Anzahl der Sensibilisierungen n	Bauerngruppe		Kontrollgruppe		Gesamt	
	n	%	n	%	n	%
0	347	80,70	433	86,08	780	83,60
1	46	10,70	46	9,15	92	9,86
2	27	6,28	16	3,18	43	4,61
3	5	1,16	5	0,99	10	1,07
4	2	0,47	3	0,60	5	0,54
5	3	0,70	0	0,00	3	0,32
Total	430	100	503	100	933	100

3.3 Häufigkeitsverteilung von Eltern mit positiven IgE-Werten

Neben der Häufigkeitsverteilung IgE-positiver Neonaten, wurde die Anzahl IgE-positiver Eltern untersucht. Zum einen wollten wir damit typische Sensibilisierungsmuster im Hinblick auf die jeweilige Zuordnung zur Bauernbeziehungsweise Kontrollgruppe detektieren, zum anderen war dieser Schritt notwendig, um in einem weiteren Schritt eine potentielle Korrelation zwischen elterlichen und neonatalen Sensibilisierungsmustern beurteilen zu können.

Insgesamt waren 728 Mütter (68%) gegen mindestens ein Allergen sensibilisiert, davon in der Bauerngruppe 330 (66%) und in der Kontrollgruppe 398 (71%) (Abb.3.4). Der Unterschied zwischen beiden Gruppen war nicht signifikant ($p > 0,05$).

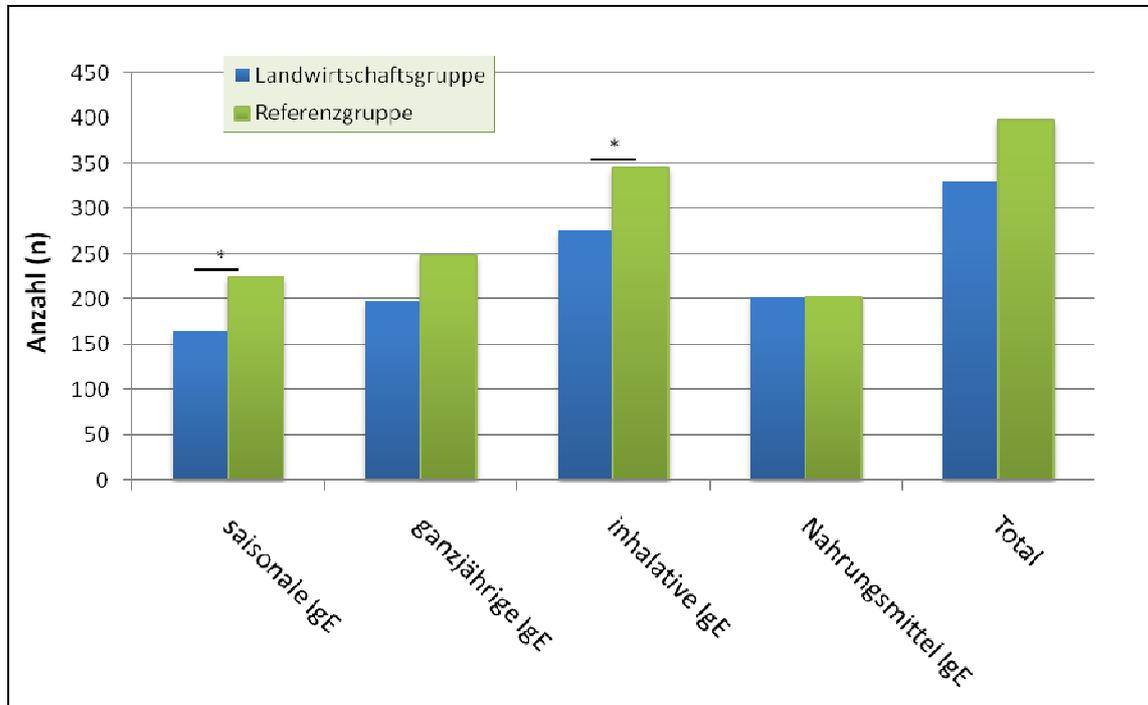


Abbildung 3.4: Anzahl von Müttern mit positiven IgE Werten gegen verschiedene Allergengruppen in der Bauern- und der Kontrollgruppe (n = Anzahl aller Neonaten/Blutproben; * $p \leq 0,05$) (als positiv gewertet bei $\geq 0,2$ IU/l).

Dagegen wiesen Mütter aus der Kontrollgruppe signifikant häufiger positive IgE-Werte gegen inhalative Allergene und gegen saisonal auftretende, inhalative Allergene auf (Abb. 3.4).

Zusätzlich differenzierten wir unsere Untersuchungen, indem wir die Anzahl von Müttern mit positiven, allergenspezifischen IgE-Werten ermittelten.

Tabelle 3.5: Anzahl von Müttern mit positivem IgE

IgE gegen	Positive Mütter	%	Positive Mütter Bauerngruppe	%	Positive Mütter Kontrollgruppe	%	p
Erle	202	19	86	17	116	21	0,159
Birkenpollen	189	18	75	15	114	20	0,024
Haselnusspollen	225	21	102	20	123	22	0,548
Gräser	255	24	96	19	159	28	<0,001
Roggen	272	26	121	24	151	27	0,325
Beifuss	81	8	34	7	47	8	0,356
Wegerich	44	4	24	5	20	4	0,356
Alternaria	15	1	3	1	12	2	0,038
<i>D.peteronyssimus</i>	176	17	70	14	106	19	0,032
<i>D. farinae</i>	179	17	80	16	99	18	0,511
Katzenhaar	157	15	75	15	82	15	0,931
Pferdehaar	47	4	24	5	23	4	0,655
Hundehaar	252	24	121	24	131	23	0,773
Hühnereiweiß	76	7	42	8	34	6	0,154
Kuhmilch	145	14	78	16	67	12	0,090
Erdnuss	80	8	44	9	36	6	0,163
Haselnuss	171	16	88	18	83	15	0,242
Karotte	125	12	65	13	60	11	0,254
Weizenmehl	92	9	50	10	42	7	0,157
Soja	146	14	70	14	76	14	0,859
Gesamt	728	68	330	66	398	71	0,086

Dabei wurde deutlich, dass Mütter aus der Kontrollgruppe signifikant häufiger gegen die inhalativen Allergene Gräser ($p < 0,001$) und Birkenpollen ($p = 0,024$) sensibilisiert waren. Die Anzahl von Müttern, die erhöhte IgE-Werte gegen die einzelnen Nahrungsmittelallergene aufwiesen, unterschied sich zwischen den beiden Gruppen nicht signifikant.

Die Anzahl der Väter mit positiven IgE-Werten gegen alle ermittelten Allergene unterschied sich nicht signifikant (Abb.3.5). Insgesamt waren 665 Väter (68%) sensibilisiert, davon 304 (66%) aus der Bauerngruppe und 361 (70%) aus der Kontrollgruppe. Bei der weiteren Einteilung der Allergene fiel auf, dass hochsignifikant

mehr Väter aus der Kontrollgruppe ($p < 0,001$) gegen inhalative und insbesondere gegen die saisonal auftretenden Allergene sensibilisiert waren. Bei IgE-Antikörpern gegen die Nahrungsmittelallergene konnten keine signifikanten Häufigkeitsunterschiede beobachtet werden.

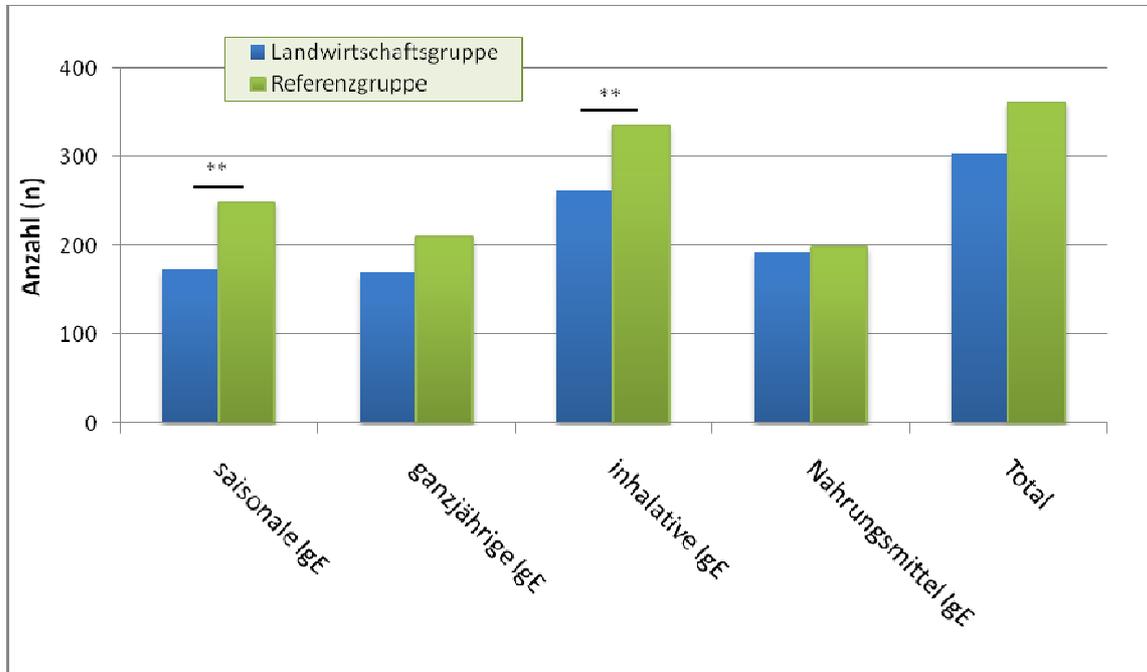


Abbildung 3.5 Anzahl von Vätern mit positiven IgE Werten gegen verschiedene Allergengruppen in der Bauern- und der Kontrollgruppe (n = Anzahl aller Neonaten/Blutproben; * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,001$) (als positiv gewertet bei $\geq 0,2$ IU/l).

Auch bei den Vätern ermittelten wir die IgE-Werte gegen die einzelnen Allergene (= allergenspezifische IgE-Antikörper). Es zeigte sich, dass Väter aus der Kontrollgruppe gegen die saisonal auftretenden Allergene Erle ($p = 0,048$), Birkenpollen ($p = 0,005$) und Gräser ($p < 0,001$) signifikant häufiger sensibilisiert waren. Gegen ganzjährig auftretende inhalative Allergene und gegen Nahrungsmittelallergene konnten bei den Vätern hingegen keine signifikanten Häufigkeitsunterschiede beobachtet werden (Tab. 3.6).

Tabelle 3.6: Anzahl von Vätern mit Sensibilisierungen gegen alle untersuchten Allergene

IgE gegen	Positive Väter	%	Positive Väter Bauerngruppe	%	Positive Väter Kontrollgruppe	%	p
Erle	251	26	105	23	146	28	0,048
Birkenpollen	232	24	91	20	141	27	0,005
Haselnusspollen	264	27	117	25	147	29	0,249
Gräser	306	31	116	25	190	37	<0,001
Roggen	357	36	155	33	202	39	0,063
Beifuss	98	10	46	10	52	10	1,000
Wegerich	70	7	31	7	39	8	0,621
Alternaria	11	1	3	1	8	2	0,231
<i>D.peteronyssimus</i>	152	16	60	13	92	18	0,034
<i>D. farinae</i>	188	19	78	17	110	21	0,074
Katzenhaar	128	13	50	11	78	15	0,046
Pferdehaar	35	4	17	4	18	3	1,000
Hundehaar	153	16	71	15	82	16	0,860
Hühnereiweiß	40	4	16	3	24	5	0,419
Kuhmilch	132	13	60	13	72	14	0,641
Erdnuss	105	11	56	12	49	10	0,215
Haselnuss	180	18	94	20	86	17	0,161
Karotte	209	21	110	24	99	19	0,101
Weizenmehl	130	13	68	15	62	12	0,258
Soja	144	15	66	14	78	15	0,718
Gesamt	665	68	304	66	361	70	0,132

3.4 Korrelation zwischen elterlichen und neonatalen Sensibilisierungsmustern

Um einen Einfluss der mütterlichen/väterlichen Sensibilisierungsmuster auf diejenigen der Neonaten zu untersuchen, wurden neonatale und elterliche IgE-Werte miteinander korreliert (Tab. 3.7).

Tabelle 3.7: Korrelation neonatale und elterliche IgE-Werte

IgE gegen		Korrelation (r) mit Mutter	p- Wert	Korrelation (r) mit Vater	p- Wert
Saisonal	Erle	0,10	0,002 **	-0,05	0,157
	Birkenpollen	0,12	<0,001 **	0,02	0,618
	Haselnusspollen	0,06	0,055 +	-0,04	0,300
	Gräser	0,18	<0,001 **	0,13	<0,001 **
	Roggen	0,06	0,056 +	-0,01	0,708
	Beifuss	0,08	0,021 *	-0,02	0,645
	Wegerich				
	Alternaria	-0,01	0,866	0,00	0,889
	Gesamt	0,10	0,004 **	0,06	0,075 +
Ganzjährig	<i>D.peteronyssimus</i>	0,06	0,089 +	0,04	0,263
	<i>D. farinae</i>	0,04	0,220	0,04	0,250
	Katzenhaar	0,09	0,005 **	0,01	0,883
	Pferdehaar	0,04	0,268	-0,02	0,584
	Hundehaar	0,16	<0,001 **	-0,03	0,392
	Gesamt	0,14	<0,001 **	0,04	0,204
Nahrungsmittel	Hühnereiweiß	0,64	<0,001 **	0,02	0,523
	Kuhmilch	0,49	<0,001 **	0,02	0,490
	Erdnuss	0,27	<0,001 **	0,01	0,798
	Haselnuss	0,33	<0,001 **	0,00	0,949
	Karotte	-0,02	0,546	-0,02	0,475
	Weizenmehl	0,16	<0,001 **	-0,03	0,382
	Soja	0,42	<0,001 **	0,06	0,075 +
	Gesamt	0,37	<0,001 **	-0,05	0,149
Gesamt		0,19	<0,001 **	0,00	0,926

r = Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman; +p borderline Signifikanz; *p < 0.01; **p < 0.001).

Die Nabelschnurblut IgE-Werte wurden quantitativ mit den korrespondierenden mütterlichen IgE-Titern gegen die Allergene, bei denen beide, sowohl die Mutter als auch das Kind positive IgE-Werte aufwiesen, korreliert. Die neonatalen IgE-Werte waren in 30% bis 100% höher als die der mütterlichen IgE-Werte, abhängig von den jeweiligen Allergenen. Zudem zeigte sich eine positive Korrelation zwischen den spezifischen IgE-Antikörpern gegen Hühnereiweiß ($r = 0,64$) und Kuhmilch ($r = 0,49$) in mütterlichem Blut und Nabelschnurblut. Obwohl Neonaten aus der Bauerngruppe signifikant häufiger gegen Nahrungsmittelallergene sensibilisiert waren als Neonaten aus der Kontrollgruppe und Neonaten aus der Kontrollgruppe signifikant häufiger gegen inhalative Allergene, konnte die Korrelation in beiden Gruppen gleichermaßen nachgewiesen werden.

Aufgrund zu vieler Nullwerte bei den Vater-Kind-Paaren, konnte hierbei eine potentielle Korrelation nicht beurteilt werden. Eine Ausnahme stellten 11 Vater Kind Paare mit erhöhten IgE-Werten gegen Gräser Pollen dar, bei denen jedoch keine Korrelation detektiert werden konnte ($r = -0,03$, $p=0,93$). Die Korrelation wurde anhand des Korrelationskoeffizienten (r) nach Spearman (positiver linearer Zusammenhang) berechnet.

Abb. 3.6, 3.7 und 3.8 zeigen graphisch die oben beschriebene lineare Korrelation der Mutter-Kind-Paare mit erhöhtem IgE gegen Kuhmilch und Hühnerei in der Bauern- und Kontrollgruppe.

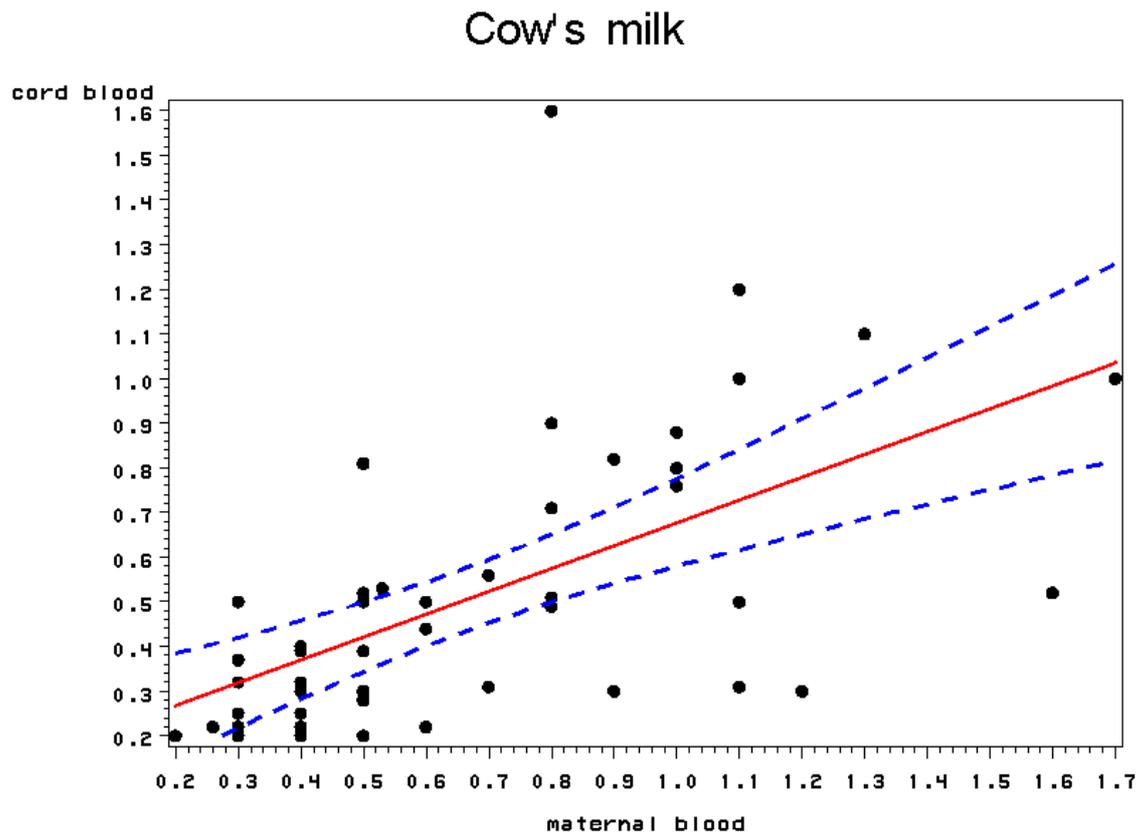


Abbildung 3.6: graphische Darstellung der Korrelation solcher Mutter-Kind-Paare mit erhöhtem IgE gegen Kuhmilchallergene. Einheiten beider Achsen [IU/l].

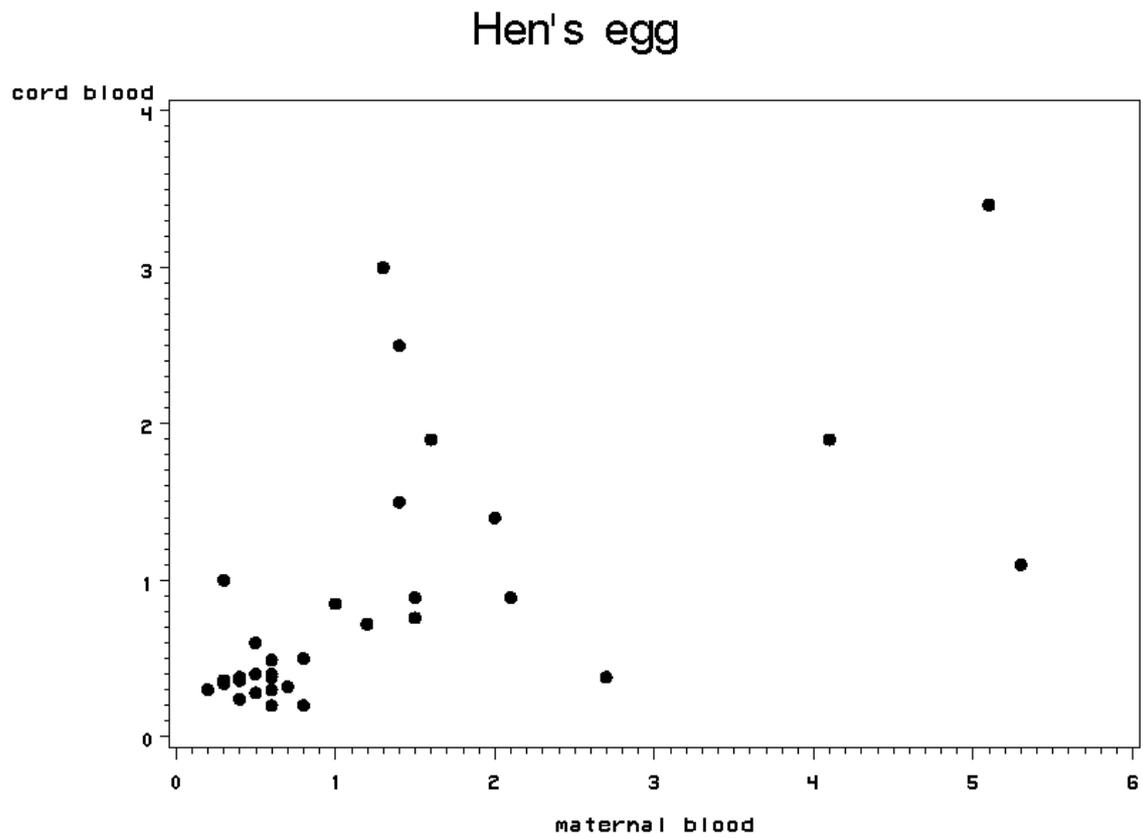


Abbildung 3.7: graphische Darstellung der Korrelation solcher Mutter-Kind-Paare mit erhöhtem IgE gegen Hühnereiallergene. Einheiten beider Achsen [IU/l].

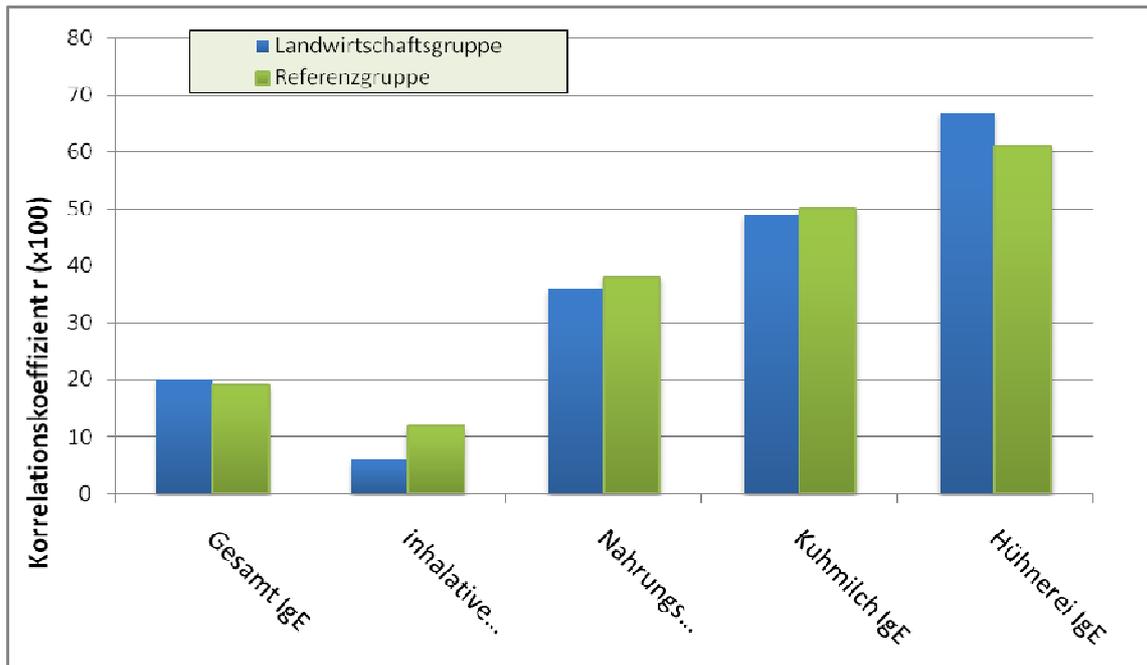


Abbildung 3.8 Korrelation (Korrelationskoeffizient (r) nach Spearman) mütterlicher und neonataler IgE-Werte der Bauern- und Kontrollgruppe)

3.5 IgA-Antikörper in Nabelschnurblut

Um eine potentielle Kontamination auszuschließen, wurden IgA-Werte in 60 IgE-positiven, zufällig ausgesuchten Nabelschnurblutproben bestimmt. In 57 von den 60 Proben (95%) konnten keine IgA-Antikörper über dem Grenzwert von $32\mu\text{g/ml}$ detektiert werden. Zum weiteren Ausschluss einer Kontamination untersuchten wir sieben Mutter-Kind Paare mit positiven IgE-Werten gegen dasselbe Allergen. Bei dieser Untersuchung waren alle der untersuchten Nabelschnurblutproben IgA-negativ.

4. Diskussion

Ziel der vorliegenden Studie war es, allergenspezifische Immunglobuline der Klasse E im Nabelschnurblut von Kindern aus einer Bauern- und einer Kontrollgruppe miteinander zu vergleichen. Außerdem wurden neonatale Sensibilisierungsmuster mit mütterlichen und väterlichen Sensibilisierungsmustern korreliert, um Rückschlüsse auf eine potentielle Assoziation zwischen neonatalen und elterlichen IgE-Mustern zu ziehen und in diesem Zusammenhang eine potentielle intrauterine Sensibilisierung zu beurteilen.

Die Anzahl an Neonaten mit erhöhten IgE-Antikörpern in Nabelschnurblut ergab in beiden Gruppen keinen signifikanten Unterschied. Die Verteilung der verschiedenen untersuchten spezifischen IgE-Antikörper gegen zwanzig verbreitete Nahrungsmittelallergene und inhalative Allergene zeigte jedoch unterschiedliche Sensibilisierungsmuster in beiden Gruppen: Kinder aus der Kontrollgruppe waren signifikant häufiger gegen inhalative, saisonal auftretende Allergene sensibilisiert, während Kinder der Bauerngruppe signifikant häufiger erhöhte IgE-Werte gegen Nahrungsmittelallergene aufwiesen.

Bei der Beurteilung potentieller Zusammenhänge zwischen neonatalen und mütterlichen/väterlichen Sensibilisierungsmustern fanden wir eine positive Korrelation zwischen mütterlichen und neonatalen IgE-Antikörpern gegen Hühnerei- und Kuhmilchallergene. Diese war in beiden Gruppen - sowohl der Bauern- als auch der Kontrollgruppe - vorhanden. Keine Übereinstimmung konnte dagegen zwischen väterlichen und neonatalen IgE-Profilen eruiert werden.

4.1 Klinische Wertigkeit erhöhter IgE Werte in Nabelschnurblut

Atopie und allergische Erkrankungen stehen in einem engen Zusammenhang mit erhöhten Serum IgE-Werten. Neben der Hypersensibilisierung gegenüber vielfältigen Allergenen kann eine IgE-Erhöhung im Serum Ausdruck verschiedener anderer Erkrankungen sein, ein typisches Beispiel sind parasitäre Erkrankungen¹⁵⁰.

Bereits vor über 20 Jahren wurden IgE-Antikörper in Nabelschnurblut auf ihren prädiktiven Aussagewert in Bezug auf die Entstehung von Asthma und allergischen

Erkrankungen im weiteren Lebensverlauf untersucht^{21,28}. Der Nachweis von IgE-Antikörpern im Nabelschnurblut als Risikofaktor oder Prädiktor für die Entstehung allergischer Erkrankungen wurde seither kontrovers diskutiert. In einigen Studien wurde die Bestimmung von IgE-Konzentrationen in Nabelschnurblut als sinnvolle Untersuchung zur Risikoabschätzung einer allergischen Erkrankung postuliert. Die Empfehlung zu dieser Untersuchung wurde mit der Zeit wegen niedriger prädiktiver Aussagekraft jedoch wieder verlassen^{2,36,39,52,60,141}. Bis heute gilt zumindest, dass erhöhte IgE-Werte zusammen mit einer positiven Atopieanamnese der Eltern als Prädiktor für die Entwicklung allergischer Erkrankungen eine hohe Aussagekraft besitzen^{43,49,73,89,92,98,136,145}.

Ein Problem bei der Beurteilung von Nabelschnurblut IgE-Antikörpern war, dass sich die Ergebnisse der Studien durch verschiedene Untersuchungsmethoden nicht miteinander vergleichen ließen. Eine der Einschränkungen bestand darin, dass der Follow-Up Zeitraum bis zur möglichen Manifestation einer allergischen Erkrankung zu kurz gewählt wurde, und somit eine spätere Manifestation von allergischen Erkrankungen nicht erfasst oder ausgeschlossen werden konnte. Außerdem wurde in vielen Studien nur die Konzentration an Gesamt-IgE bestimmt und nicht die an allergenspezifischen IgE-Antikörpern. In den letzten Jahren wird der Untersuchung von allergenspezifischem Nabelschnurblut IgE wieder mehr Aufmerksamkeit gewidmet^{123,125}. In neueren Arbeiten erhofft man sich dadurch jedoch eher einen besseren Einblick in die immunmodulatorischen Mechanismen während der fetalen Periode, weniger geht es um die Risikoabschätzung für die Entwicklung allergischer Erkrankungen.

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich zunächst mit der Untersuchung allergenspezifischer IgE-Antikörper in Nabelschnurblut im Hinblick auf eine bereits pränatal stattgefundenene Sensibilisierung. Hierbei sollen Fragen nach der Herkunft der IgE-Antikörper im Nabelschnurblut geklärt und potentielle Übereinstimmungen der IgE-Profile von Eltern und Neonaten untersucht werden.

Nicht zuletzt soll die Definition der Grenzwerte betrachtet werden, bei denen ein Testergebnis als positiv oder negativ gilt. Die Grenzwerte wurden in vorliegenden Untersuchungen unterschiedlich angesetzt, was Auswirkungen auf die Sensitivität, Spezifität und die prädiktiven Werte hat^{54,73,141}. Seit den 1970er Jahren ist der

Grenzwert der RAST-Klassen üblicherweise bei 0,35 IU/ml festgelegt, so auch bei den neueren *in vitro* Testmethoden. Dieser Wert ist altersunabhängig. Um jedoch IgE Antworten in einer sehr frühen Lebensphase detektieren zu können, ist es notwendig, IgE bereits in sehr niedrigen Konzentrationen zu erfassen, da in der Postnatalperiode typischerweise nur sehr niedrige IgE-Konzentrationen auftreten. Wir setzten daher den Grenzwert für IgE in der vorliegenden Studie auf 0,2 U/ml herab. Dadurch können die Variationskoeffizienten (von 38%, 32% und 22% auf 11%, 20% und 13% bei IgE-Antikörpern gegen Haselnuss, Sojabohne und Kuhmilch verbessert werden⁵⁸.

4.2 Das neonatale Immunsystem und IgE

Für das Verständnis der frühen Mechanismen bei der Allergieentstehung ist entscheidend, dass alle Neugeborenen bei Geburt ein TH-2 Zytokinmuster aufweisen^{75,108}. Bereits während der Schwangerschaft verschiebt sich das TH-1/TH-2-Gleichgewicht der Mutter zugunsten der TH-2-Lymphozyten^{80,103,148}. Dieser Mechanismus ist sinnvoll, weil der Fetus wie ein klassisches Allotransplantat mit HLA-Antigenmuster der Mutter, aber auch des Vaters, von der maternalen zytotoxischen TH-1-Immunantwort abgestoßen werden könnte¹³⁸. Eine komplikationsfreie Schwangerschaft und das Ausbleiben eines Aborts hängt somit unter anderem von einer hohen Toleranz des Immunsystems seitens der Mutter ab^{86,93,111,138}. Die mütterliche TH-2 dominierte Zytokinproduktion übt wahrscheinlich einen Einfluss auf die fetale Immunreaktivität in Richtung TH-2-Zytokinproduktion aus^{57,138}. Offenbar wird das initiale TH-2-Zytokinmuster bei Neonaten, die keine Atopie entwickeln, während der ersten zwei Lebensjahre regulativ abgeschaltet¹⁵³. Im Gegensatz dazu persistiert in verstärkter Weise das initiale TH-2 Zytokinmuster über den 18. Lebensmonat hinaus bei solchen Neonaten, die in diesem Zeitraum eine atopische Erkrankung entwickeln^{74,78,108,109,135,139,146}. Wenn das TH-1/TH-2 Gleichgewicht beim neonatalen Immunsystem physiologischerweise auf Seiten der TH-2-Lymphozyten liegt und dadurch eine humorale Antwort getriggert wird, sind erhöhte IgE-Werte kritisch zu beurteilen, denn diese charakterisieren demnach nicht notwendigerweise einen atopischen Phänotyp, sondern haben im Rahmen der mütterlichen und fetalen Immuninteraktion unter anderem zu einer komplikationsfreien Schwangerschaft beigetragen¹³².

Viele Studien haben sich mit den immunmodulatorischen Interaktionen zwischen Mutter und Kind und daraus resultierenden Sensibilisierungen der Kinder beschäftigt. So konnte schon 1983 durch Jarrett et al. im Rattenmodell gezeigt werden, dass diaplazentar übertragene maternale IgG-Antikörper zu niedrigeren IgE-Konzentrationen bei den Abkömmlingen führten⁶⁴. Uthoff et al. zeigten bei den Abkömmlingen immunsupprimierter Mäuse, die präkonzeptionell passiv gegen Ovalbumin sensibilisiert worden waren, eine Erniedrigung der IgE-Antikörper bei postnataler Exposition gegen Ovalbumin, bedingt durch eine IgG1-Antigen-Komplex vermittelte Hemmung des Isotypenswitches der B-Zellen und daraus resultierender, verminderter IgE-Produktion. Wurden die Abkömmlinge dagegen postnatal einem anderen Antigen exponiert, zeigten sie erhöhte IgE-Konzentrationen im Blut¹³⁸. Dieser zweite Effekt war durch eine mangelnde Inhibition durch IFN- γ auf die CD4+ TH-2-Zellen gekennzeichnet. Weitere Studien fanden ähnliche Ergebnisse^{44,45,142}. Hierdurch wird deutlich, dass viele immunmodulatorische Mechanismen einen stimulierenden oder inhibierenden Einfluss auf Nabelschnurblut IgE-Konzentrationen ausüben können.

4.3 Herkunft von Nabelschnurblut-IgE-Antikörpern

Die postnatale Periode ist normalerweise durch sehr niedrige IgE-Werte gekennzeichnet, da mütterliches IgE die Plazenta nicht überwinden kann und der Fetus nur eine sehr niedrige Eigenproduktion an IgE hat⁷. Eine potentielle Erklärung für erhöhte IgE-Werte in Nabelschnurblut beruht auf der Annahme, dass neonatales Blut mit mütterlichem zum Beispiel während des Geburtvorgangs kontaminiert wird und so IgE-Antikörper ins Nabelschnurblut übertragen werden. Viele Studien führten erhöhte IgE-Konzentrationen im Blut auf diesen Mechanismus zurück^{12,53,55,127}. Bonnelykke et al. beschrieben zuletzt, dass eine Sensibilisierung gegen Allergene nicht *in utero* stattfindet, sondern dass erhöhtes allergenspezifisches Nabelschnurblut-IgE auf eine Kontamination mit mütterlichem Blut zurückzuführen ist und nur zeitlich begrenzt nachweisbar ist¹⁶. Eine solche Kontamination spricht jedoch gegen die Beteiligung des fetalen Immunsystems in Zusammenhang mit erhöhtem, allergenspezifischem IgE in Nabelschnurblut. In der vorliegenden Arbeit wurden daher folgende Untersuchungen durchgeführt, um eine Kontamination auszuschließen:

- 1) Zum Ausschluss einer Kontamination gilt die gleichzeitige Bestimmung von IgA als anerkannte Methode ^{28,100}. Erhöhte IgA-Werte in Nabelschnurblut sind ein Indikator für eine Kontamination, da IgA-Antikörper nicht plazentagängig sind und vom Feten nicht produziert werden. In unserer Arbeit untersuchten wir 60 zufällig ausgewählte IgE-positive Proben auf IgA. In den 60 Proben fanden wir nur in dreien IgA-Werte größer als 32µg/ml, die damit über den höchsten beschriebenen Grenzwerten für IgA in Nabelschnurblut lagen ^{50,79,92,100}. Somit konnten wir in 57 von 60 Fällen (95%) eine Kontamination mit mütterlichem Blut ausschließen.
- 2) Zum weiteren Ausschluss einer Kontamination untersuchten wir sieben Mutter-Kind Paare mit positiven IgE-Werten gegen dasselbe Allergen. Bei dieser Untersuchung waren alle Nabelschnurblutproben IgA-negativ.
- 3) Zudem bietet IgE selbst ein Argument gegen mütterliche Kontamination: Bei bis zu 60% der IgE-positiven Nabelschnurblutproben waren die mütterlichen Proben für das jeweilige Allergen negativ. Diese Neugeborenen können ihr spezifisches IgE nicht auf dem Weg der perinatalen Kontamination von der Mutter erhalten haben.
- 4) Außerdem fanden wir in 199 Nabelschnurblutproben höhere IgE-Werte als bei der Mutter.
- 5) Zuletzt überprüften wir übereinstimmende IgE-Werte bei Mutter-Kind-Paaren und fanden, dass nur bei sehr wenigen selektiven Allergenen eine Übereinstimmung der Ergebnisse bestand. Unter diesen IgE-positiven Mutter-Kind-Paaren war die positive Korrelation einzig auf Nahrungsmittelallergene beschränkt. Wenn jedoch eine potentiell stattgefundenene mütterliche Kontamination eine Verfälschung unserer Ergebnisse darstellen würde, würde diese das Gesamtspektrum aller gemessenen Allergene betreffen.

Unsere Hypothese fordert, dass die gefundenen erhöhten IgE-Werte in neonatalem Blut in Zusammenhang stehen mit einem allergischen Phänotyp, der im weiteren Verlauf bei den heranwachsenden Kindern zum Auftreten manifester, allergischer Erkrankungen führen könnte. Die durchgeführten Untersuchungen lassen es wahrscheinlich erscheinen, dass die erhöhten IgE-Antikörper in neonatalem Blut auf eine bereits *in utero* stattgefundenene Eigenproduktion des Feten zurückzuführen sind. Nach *in vitro*-Stimulation mit IL-4 konnten neonatale B-Zellen IgE freisetzen ¹⁰¹. Demnach können erhöhte IgE-Werte im Nabelschnurblut aus der Eigenproduktion des Neonaten während

der fetalen Periode resultieren^{36,107,150}. Hierzu ist der Fetus ab der 12. Schwangerschaftswoche fähig⁹⁰.

4.4 Korrelation zwischen neonatalen und elterlichen Sensibilisierungsmustern

Anhand des Rangkorrelationskoeffizienten r nach Spearman wurden in der vorliegenden Arbeit lineare Zusammenhänge zwischen neonatalen und mütterlichen/väterlichen Sensibilisierungsmustern ermittelt. Hierbei zeigte sich eine positive Korrelation zwischen den spezifischen IgE-Antikörpern gegen Hühnereiweiß ($r = 0,64$) und Kuhmilch ($r = 0,49$) in mütterlichem Blut und Nabelschnurblut. Obwohl Neonaten aus der Bauerngruppe signifikant häufiger gegen Nahrungsmittelallergene sensibilisiert waren als Neonaten aus der Kontrollgruppe, konnte die Korrelation in beiden Gruppen gleichermaßen nachgewiesen werden. Ein Zusammenhang zwischen väterlichen und neonatalen IgE-Mustern bestand nicht.

Viele Studien haben einen Zusammenhang zwischen Atopieanamnese der Eltern und spezifischem Nabelschnurblut-IgE festgestellt^{12,14,51,65,71,85,117,126}. Diesem Zusammenhang wird jedoch häufig eine Verfälschung durch die Fragebögen entgegengesetzt, bei deren Bearbeitung es zu Fehlinterpretationen scheinbarer Allergiesymptome wie beispielsweise intrinsisches Asthma bronchiale, seborrhoische Dermatitis oder vasomotorische Rhinitis kommen konnte.

Wenige Studien haben jedoch bisher einen Zusammenhang zwischen IgE-Werten aus elterlichem Blut und aus Nabelschnurblut untersucht^{13,81-84,99,127,132}. Durch Scirica et al. wurde beispielsweise gezeigt, dass alle Neonaten, deren Mütter Gesamt-IgE-Werte über 115 U/ml aufwiesen, selbst erhöhte IgE-Werte in Nabelschnurblut aufwiesen¹²⁵. In einer Studie von Liu et. al. fand man, dass erhöhtes mütterliches Gesamt-IgE mit erhöhtem neonatalen Gesamt-IgE korrelierte. Dieses Ergebnis war mit einer Spezifität von 83% und einer Sensitivität von 34% für die Prädiktion von atopischen Erkrankungen von herausragender Bedeutung⁸⁴. Alle diese Studien bestätigen das Ergebnis der vorliegenden Arbeit, nämlich einer Korrelation mütterlicher mit neonatalen, nicht aber väterlicher mit neonatalen Sensibilisierungsmustern^{82,84,125}.

In der vorliegenden Arbeit wurden diese Zusammenhänge jedoch nicht auf Grundlage von Gesamt-IgE, sondern – noch einen Schritt weiter – bei allergenspezifischen IgE-Antikörpern gefunden. Diese Assoziation wurde bislang nur in sehr wenigen Studien untersucht:

Lin et al. zeigten, dass IgE-Antikörper gegen Hundehaare im mütterlichen Blut auch in Nabelschnurblut in erhöhter Konzentration zu finden waren ⁸¹. In einer Studie von Bertino et al. wurde ermittelt, dass eine Sensibilisierung der Mutter gegen Kuhmilchproteine erhöhte IgE-Werte gegen dieselben Antigene im Nabelschnurblut nach sich zog. Von den 52 Blutproben der Mütter waren 25 IgE-positiv. 19 neonatale Blutproben von diesen 25 Müttern mit spezifischen IgE-Antikörpern gegen Kuhmilchproteine waren ebenfalls IgE-positiv gegen dieselben Allergene. Darüber hinaus zeigt diese Studie, dass alle Nabelschnurblutproben von Neugeborenen IgE-negativer Mütter ebenfalls IgE-negativ waren und dass ein enger Zusammenhang zwischen mütterlichen und neonatalen IgE-Mustern gegen Kuhmilchproteine beobachtet wurde ¹³. Die Studie bestätigte auch das in der vorliegenden Arbeit gefundene Ergebnis einer positiven Korrelation erhöhter spezifischer IgE-Werte im Blut der Mutter und im Nabelschnurblut des Kindes gegen Kuhmilchproteine und Antigene aus Hühnerei.

Sucht man nach Erklärungsansätzen für die bisherigen, auch in der vorliegenden Arbeit gefundenen Daten einer maternalen/fetalen Assoziation, ist ein mütterlichen Erbgang auf Chromosom 11 oder anderen Genloci als eine vieler Möglichkeiten denkbar ^{15,31,76,104}.

Eine weitere Erklärung für diese Zusammenhänge mütterlicher und neonataler Sensibilisierungsmuster stützt sich auf die so genannte „IgE-vermittelte antigenspezifische Fokussierung“: diese resultiert aus dem transamniotischen Transfer von mütterlichen IgE-Antikörpern. Diese im Fruchtwasser befindlichen IgE-Antikörper werden vom Feten verschluckt ^{67,68,106,137}. Die Anwesenheit spezifischer IgE-Antikörper ermöglicht eine Konzentrierung und Fokussierung der Antigene/Allergene via IgE-Rezeptoren (zum Beispiel CD23 oder FcεRI) auf antigenpräsentierenden Zellen ^{91,105}. Die vom Feten verschluckten intakten IgE-Antikörper binden an diese Rezeptoren im GALT oder MALT (gut/mucosa associated lymphatic tissue). Kommen diese nun mit den passenden Allergenen, deren diaplazentärer Transfer unumstritten ist ^{24,35,62,133,134,140}, in Kontakt und erhöhen die lokale Konzentration durch Fokussierung ^{91,105}, bildet der Fetus via Antigenpräsentation an die T-Zellen selbst spezifische IgE-Antikörper gegen diese Allergene ¹³. Dieser Weg war evolutionsbedingt vielleicht ein wichtiger Bestandteil in der sofortigen postnatalen Abwehr von Parasiten-Infektionen und könnte heute mit der Entwicklung atopischer Erkrankungen in Zusammenhang stehen ¹³⁷.

Dieser Erklärungsansatz für erhöhte spezifische IgE-Antikörper gegen die Nahrungsmittelallergene Kuhmilch und Hühnerei sowohl bei der Mutter als auch beim

Feten setzt die gleichzeitige Anwesenheit von Allergenen im mütterlichen Blut, deren diaplazentarer Transfer in die fetale Zirkulation^{133,134}, IgE-Transfer ins Fruchtwasser und die Kompetenz des fetalen lymphatischen Gewebes, eine antigenspezifische Antwort in Form einer Produktion spezifischer IgE-Antikörper gegen das betreffende Allergen zu generieren, voraus. Die Fähigkeit zur Eigenproduktion von spezifischen IgE-Antikörpern besitzt der Fetus ab dem zweiten Trimenon^{66,67}. Diese Hypothese erklärt jedoch nicht abschließend, warum die gefundene Korrelation nicht gegenüber allen untersuchten, spezifischen IgE-Antikörpern auftritt. Ein potentieller Mechanismus, der unsere Ergebnisse erklären könnte, beruht auf der Theorie, dass die Quantität von Allergenen in mütterlichem Blut mit konsekutivem Übergang in die fetale Zirkulation eine entscheidende Rolle spielt:

Somit könnte der Ort der Allergenaufnahme via Respirations- bzw. Gastrointestinaltrakt die Quantität der in die mütterliche Zirkulation gelangenden Allergene beeinflussen: Chehade et al. postulierten, dass die Allergendosis von Nahrungsmittelallergenen, die über die gastrointestinale Schleimhaut resorbiert werden, deutlich höher ist als die inhalativer Allergene²⁹. Denkbar wäre, dass deutlich geringere Dosen inhalativer, pulmonal resorbierter Allergene in die maternale Zirkulation gelangen^{92,134}. Im Gegensatz dazu sind die Expositionsdosen von Nahrungsmittelallergenen, zum Beispiel von Milch oder Milchprodukten, die ins maternale Blut gelangen höher. Diese erhöhte mütterliche Blutkonzentration von Nahrungsmittelallergenen könnte auch die intrauterine Exposition des Feten durch diaplazentaren oder transamniotischen Transfer der Allergene erhöhen⁶² (Abb. 4.1).

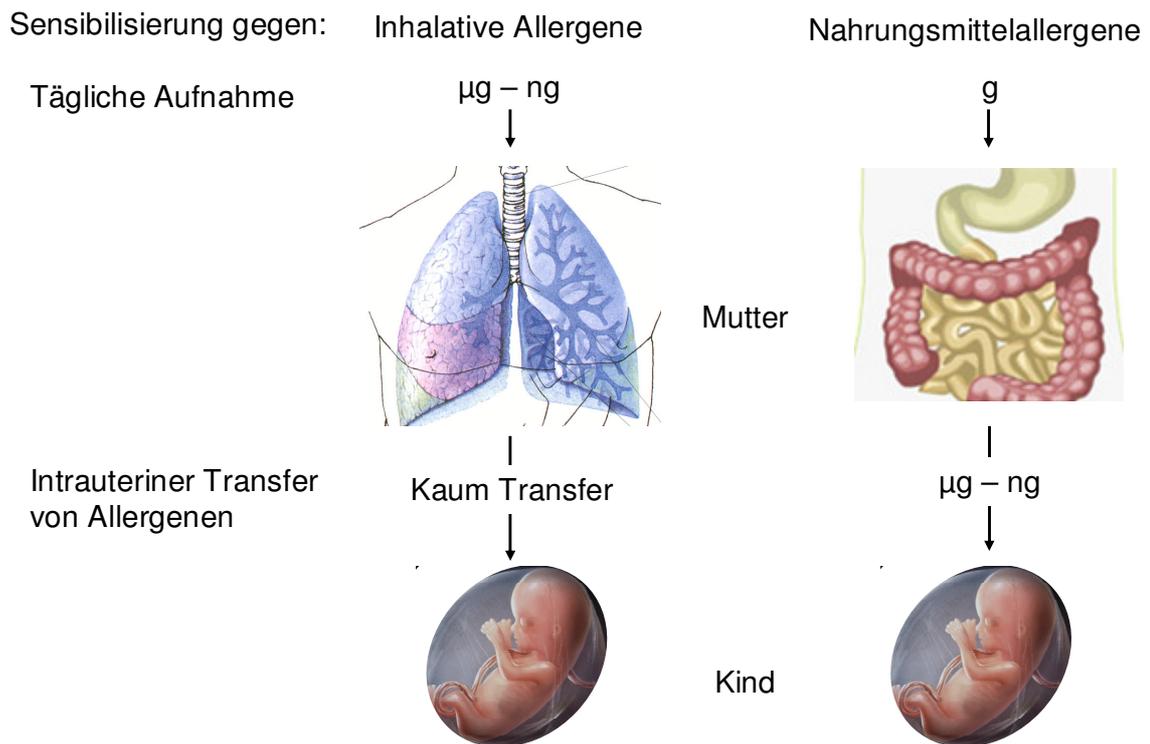


Abbildung 4.1: inhalative versus gastrointestinale Allergenaufnahme und deren Einfluss auf den diaplazentaren Allergentransfer.

Diese Theorie könnte erklären, dass vornehmlich Nahrungsmittelallergene in die fetale Zirkulation gelangen und dort eine Immunantwort mittels Produktion von IgE-Antikörpern auslösen. Offen bleibt, warum keine IgE-Antworten gegen weitere Nahrungsmittelallergene detektierbar waren. Eine einfache Begründung hierfür beruht auf der Überlegung, dass es sich gerade bei Kuhmilch und Hühnerei um Grundnahrungsmittel handelt, die in deutlich höherer Menge konsumiert werden als die weiteren untersuchten Nahrungsmittelallergene.

Da aus den vielen Forschungsbemühungen, die sich mit Atopie und allergischen Erkrankungen auseinandersetzen, hervorgeht, dass es sich bei der Pathogenese von Sensibilisierungen und manifesten allergischen Erkrankungen um äußerst komplexe und multifaktorielle Mechanismen handelt, ist diese Hypothese nur als ein Baustein dieser vielfältigen Mechanismen in Betracht zu ziehen.

Zusammenfassend bilden die hier ermittelten Daten eine gute Übersicht über potentielle, fetomaternale Atopie-Zusammenhänge, die in vielerlei Hinsicht in Einklang mit den bisherigen Studien stehen^{28,92}. Trotzdem bleibt das Thema „Sensibilisierung *in utero*“ ein spekulatives und kontrovers diskutiertes Feld in der Allergieforschung, da die genauen Mechanismen und der Effekt der intrauterinen IgE-Produktion noch immer weitestgehend unbekannt sind. Zukünftige Follow-Up Untersuchungen dieser großen Kohortenpopulation werden genauer beleuchten, ob die Detektion allergenspezifischer IgE-Antikörper zum Zeitpunkt der Geburt nur ein vorübergehendes Phänomen darstellt oder mit der Entwicklung eines allergischen Phänotyps in Zusammenhang gebracht werden kann. Aus immunregulatorischer Sicht weisen unsere Ergebnisse jedoch deutlich darauf hin, dass Maturation und Programmierung des Immunsystems bereits pränatal beginnen. Welchen Einfluss diese Mechanismen auf die Ausbildung des Immunsystems und die Entstehung allergischer Erkrankungen haben, wird zukünftig Gegenstand weiterer Untersuchungen der PASTURE-Studie sein.

4.5 Der Bauerneffekt

Epidemiologische Studien haben gezeigt, dass Kinder, die auf traditionellen Bauernhöfen aufwachsen, ein reduziertes Risiko für die Entstehung von Sensibilisierungen und allergischen Erkrankungen gegenüber denjenigen Kindern haben, die in urbanen Gegenden leben^{19,72,116,143}. Darüber hinaus ist bekannt, dass eine Exposition gegenüber Stalltieren - besonders in der frühen Kindheit - das Risiko für atopische Erkrankungen verringert^{110,115}. Diese Beobachtungen führten auf der Grundlage der Hygiene Hypothese zu der Theorie des Bauerneffektes, dessen genaues Verständnis in den letzten Jahren zunehmend Interesse erweckt hat und Gegenstand von Forschungsbemühungen geworden ist.

Die Idee des Bauerneffektes beruht auf der Annahme, dass auf Bauernhöfen ein weites Spektrum und hohe Konzentrationen von mikrobiellen Bestandteilen zu finden sind. Am besten beschrieben ist der Effekt des Endotoxins Lipopolysaccharid (LPS). Eine Reihe epidemiologischer Studien haben einen inversen Zusammenhang zwischen der Entwicklung allergischer Erkrankungen und vermehrter Exposition mit LPS gefunden^{17,20,47}. Gerhold et al. konnten zudem im Mausmodell nachweisen, dass bei lokaler wie systemischer LPS-Applikation mit darauf folgender Sensibilisierung mit

Ovalbumin die IgE-Produktion sowie eine TH-2 Antwort supprimiert wurde⁴⁸. Neben LPS wurden weitere mikrobielle Bestandteile, die einen allergeprotektiven Effekt aufweisen, erforscht. Darunter finden sich CpG-Oligonukleotide¹⁰, Lipoproteine und Lipoglykane¹²⁴, Zymosan und Peptidoglykan¹⁴⁹ und weitere. All diese Stoffe finden sich vermehrt in landwirtschaftlicher Umgebung.

Es ist jedoch ebenso bemerkenswert, dass eine Reihe von Studien keine signifikanten Zusammenhänge zwischen Asthma bronchiale und dem Heranwachsen auf einem Bauernhof nachweisen konnten^{19,30,42,77,112,151}. Einige Studien beschrieben sogar eine positive Assoziation^{33,88}.

Frühere Studien, die den Bauereffekt beschrieben haben, führten ausschließlich Untersuchungen auf der Grundlage eines retrospektiven Studiendesigns durch: Kinder und Erwachsene mit allergischen Erkrankungen wurden retrospektiv auf mögliche Einflüsse der bäuerlichen Umgebung in der frühen Kindheit untersucht. Die aktuelle Diskussion über die Entstehungsmechanismen von Krankheiten des atopischen Formenkreises beschäftigt sich jedoch zunehmend mit der Ausbildung des Immunsystems *in utero*. Bis heute gibt es noch keine Studien, die allergenspezifisches IgE in Nabelschnurblut in Zusammenhang mit Einflüssen landwirtschaftlicher Umwelt untersucht haben. Im Rahmen der PASTURE-Studie sind diese Untersuchungen auf Grundlage eines longitudinalen, prospektiven Studiendesigns geplant und werden in der vorliegenden Arbeit als erster Teilschritt beschrieben:

Unsere Ergebnisse zeigen, dass 24 % aller Neonaten erhöhte IgE-Werte aufweisen, davon 24,4 % in der Bauerngruppe und 23,7 % in der Kontrollgruppe. Unerwartet ist dabei der hohe Anteil an Neonaten mit Sensibilisierungen gegenüber Nahrungsmittelallergenen. Kinder aus der Kontrollgruppe sind hingegen signifikant häufiger gegen die saisonal auftretenden Allergene, insbesondere gegen Gräserpollen und Roggenpollen sensibilisiert. Ein signifikanter Häufigkeitsunterschied sensibilisierter Neonaten gegen ganzjährig auftretende Allergene bestand jedoch nicht.

Frühere Studien bestätigen unsere Ergebnisse: Braun-Fahrländer et al. fanden bei 6-15-Jährigen einen inversen Zusammenhang zwischen der Exposition gegenüber landwirtschaftlichen Umgebung und dem Auftreten respiratorischer, allergischer Erkrankungen, wie Heuschnupfen oder Asthma¹⁹. Von Ehrenstein et al. bestätigten diese

Ergebnisse bei 5-7-Jährigen ¹⁴³. Auch Riedler et al. zeigten, dass bei 1-5 Jährigen weniger häufig respiratorische, allergische Erkrankungen auftraten, wenn die Kinder vor Vollendung ihres ersten Lebensjahrs Tierställen exponiert waren und unpasteurisierte Milch tranken ¹¹⁵. Ege et. al. beschrieben ähnliche Funde ³⁷.

Alle diese Studien beschreiben retrospektiv eine inverse Assoziation zwischen pränataler Exposition gegenüber bäuerlicher Umgebung und dem Auftreten atopischer Sensibilisierungen und allergischer Erkrankungen. Die vorliegende Arbeit demonstriert, dass die pränatale Exposition gegenüber landwirtschaftlicher Umwelt bereits zum Zeitpunkt der Geburt zu allergenspezifischen Sensibilisierungsmustern beim Neonaten geführt hat. Unsere Ergebnisse erlauben keine Vorhersage, ob die Neugeborenen eine den erhöhten spezifischen IgE-Werten entsprechende allergische Erkrankung entwickeln werden. Es bleibt außerdem fraglich, ob die erhöhten IgE-Werte bestehen bleiben oder ob es sich nur um ein vorübergehendes Phänomen im Nabelschnurblut des Neugeborenen handelt ¹⁶. Weiterhin bleibt zu untersuchen, welche Einflüsse in der Bauern- und Kontrollgruppe zu den hier gefundenen Sensibilisierungsmustern in Nabelschnurblut geführt haben könnten.

Sowohl das Ausmaß als auch das zeitliche Fenster pränataler Expositionen gegenüber einigen der untersuchten Allergene (saisonal auftretende Allergene und Nahrungsmittelallergene), jedoch nicht gegenüber allen untersuchten Allergenen (ganzjährig auftretende Allergene) können demnach eine Rolle bei der Entwicklung allergischer Sensibilisierungen *in utero* spielen. Die signifikant häufigere Sensibilisierung gegen saisonal auftretende Allergene in der Kontrollgruppe unterstreicht die Theorie des Bauerneffekts. Folgeuntersuchungen im Rahmen der PASTURE-Studie werden den Bauerneffekt in Bezug auf die Reifung des Immunsystems und die Manifestation allergischer Erkrankungen genauer beleuchten.

5. Literaturverzeichnis

1. Alfvén T, Braun-Fahrlander C, Brunekreef B, von Mutius E, Riedler J, Scheynius A et al. Allergic diseases and atopic sensitization in children related to farming and anthroposophic lifestyle--the PARSIFAL study. *Allergy* 2006; 61(4):414-21.
2. Allam JP, Zivanovic O, Berg C, Gembruch U, Bieber T, Novak N. In search for predictive factors for atopy in human cord blood. *Allergy* 2005; 60(6):743-50.
3. Alm JS, Swartz J, Lilja G, Scheynius A, Pershagen G. Atopy in children of families with an anthroposophic lifestyle. *Lancet* 1999; 353(9163):1485-8.
4. Asher MI, Keil U, Anderson HR, Beasley R, Crane J, Martinez F et al. International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC): rationale and methods. *Eur Respir J* 1995; 8(3):483-91.
5. Asher MI, Montefort S, Björkstén B, Lai CK, Strachan DP, Weiland SK et al. Worldwide time trends in the prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and eczema in childhood: ISAAC Phases One and Three repeat multicountry cross-sectional surveys. *Lancet* 2006; 368(9537):733-43.
6. Averbeck M, Gebhardt C, Emmrich F, Treudler R, Simon JC. Immunologic principles of allergic disease. *J Dtsch Dermatol Ges* 2007; 5(11):1015-128.
7. Avrech OM, Samra Z, Lazarovich Z, Caspi E, Jacobovich A, Sompolinsky D. Efficacy of the placental barrier for immunoglobulins: correlations between maternal, paternal and fetal immunoglobulin levels. *Int Arch Allergy Immunol* 1994; 103(2):160-5.
8. Bach JF. The effect of infections on susceptibility to autoimmune and allergic diseases. *N Engl J Med* 2002; 347(12):911-20.
9. Bamberg G, Baur F, Krapp M. Statistik. Oldenbourg Wissensch.Vlg; Auflage: 13. überarbeitete Auflage, 2006.
10. Banerjee B, Kelly KJ, Fink JN, Henderson JD Jr, Bansal NK, Kurup VP. Modulation of airway inflammation by immunostimulatory CpG oligodeoxynucleotides in a murine model of allergic aspergillosis. *Infect Immun* 2004; 72(10):6087-694.
11. Bennich HH, Ishizaka K, Johansson SG, Rowe DS, Stanworth DR, Terry WD. Immunoglobulin E: a new class of human immunoglobulin. *Immunology* 1968; 15(3):323-34.
12. Bergmann RL, Schulz J, Gunther S, Dudenhausen JW, Bergmann KE, Bauer CP et al. Determinants of cord-blood IgE concentrations in 6401 German neonates. *Allergy* 1995; 50(1):65-71.
13. Bertino E, Bisson C, Martano C, Coscia A, Fabris C, Monti G et al. Relationship between maternal- and fetal-specific IgE. *Pediatr Allergy Immunol* 2006; 17(7):484-8.

14. Bjerke T, Hedegaard M, Henriksen TB, Nielsen BW, Schiøtz PO. Several genetic and environmental factors influence cord blood IgE concentration. *Pediatr Allergy Immunol* 1994; 5(2):88-94.
15. Blumenthal MN. The role of genetics in the development of asthma and atopy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2005; 5(2):141-15.
16. Bonnelykke K, Phipps CB, Bisgaard H. Sensitization does not develop in utero. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 121(3):646-51.
17. Bottcher MF, Björkstén B, Gustafson S, Voor T, Jenmalm MC. Endotoxin levels in Estonian and Swedish house dust and atopy in infancy. *Clin Exp Allergy* 2003; 33(3):295-300.
18. Bousquet J, Chané P, Chanal I, Michel FB. Comparison between RAST and Pharmacia CAP system: a new automated specific IgE assay. *J Allergy Clin Immunol* 1990; 85(6):1039-143.
19. Braun-Fahrlander C, Gassner M, Grize L, Neu U, Sennhauser FH, Varonier HS et al. Prevalence of hay fever and allergic sensitization in farmer's children and their peers living in the same rural community. SCARPOL team. Swiss Study on Childhood Allergy and Respiratory Symptoms with Respect to Air Pollution. *Clin Exp Allergy* 1999; 29(1):28-34.
20. Braun-Fahrlander C, Riedler J, Herz U, Eder W, Waser M, Grize L et al. Environmental exposure to endotoxin and its relation to asthma in school-age children. *N Engl J Med* 2002; 347(12):869-77.
21. Businco L, Marchetti F, Pellegrini G, Perlini R. Predictive value of cord blood IgE levels in 'at-risk' newborn babies and influence of type of feeding. *Clin Allergy* 1983; 13(6):503-58.
22. Busse WW, Rosenwasser LJ. Mechanisms of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111(3 Suppl):S799-804.
23. Butland BK, Strachan DP, Anderson HR. The home environment and asthma symptoms in childhood: two population based case-control studies 13 years apart. *Thorax* 1997; 52(7):618-24.
24. Casas R, Björkstén B. Detection of Fel d 1-immunoglobulin G immune complexes in cord blood and sera from allergic and non-allergic mothers. *Pediatr Allergy Immunol* 2001; 12(2):59-64.
25. Celedon JC, Wright RJ, Litonjua AA, Sredl D, Ryan L, Weiss ST et al. Day care attendance in early life, maternal history of asthma, and asthma at the age of 6 years. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 167(9):1239-43.
26. Center for Disease Control NCfHS. Allergies/Hay Fever. <http://www.cdc.gov/nchs/> 2007.
27. Center for Disease Control NCfHS. Asthma Prevalence, Health Care Use and Mortality, 2002. <http://www.cdc.gov/nchs/> ; 2007.

28. Chandra RK, Puri S, Cheema PS. Predictive value of cord blood IgE in the development of atopic disease and role of breast-feeding in its prevention. *Clin Allergy* 1985; 15(6):517-22.
29. Chehade M, Mayer L. Oral tolerance and its relation to food hypersensitivities. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 115(1):3-12; quiz 13.
30. Chrischilles E, Ahrens R, Kuehl A, Kelly K, Thorne P, Burmeister L et al. Asthma prevalence and morbidity among rural Iowa schoolchildren. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 113(1):66-71.
31. Cookson W. The immunogenetics of asthma and eczema: a new focus on the epithelium. *Nat Rev Immunol* 2004; 4(12):978-88.
32. Daser A. Untersuchungen zur Beteiligung zellulärer und genetischer Mechanismen bei Immunregulation und -modulation. 2000
33. Downs SH, Marks GB, Mitakakis TZ, Leuppi JD, Car NG, Peat JK. Having lived on a farm and protection against allergic diseases in Australia. *Clin Exp Allergy* 2001; 31(4):570-5.
34. Dunder T, Kuikka L, Turtinen J, Rasanen L, Uhari M. Diet, serum fatty acids, and atopic diseases in childhood. *Allergy* 2001; 56(5):425-48.
35. Edelbauer M, Loibichler C, Nentwich I, Gerstmayr M, Urbanek R, Szepefalusi Z. Maternally delivered nutritive allergens in cord blood and in placental tissue of term and preterm neonates. *Clin Exp Allergy* 2004; 34(2):189-93.
36. Edenharter G, Bergmann RL, Bergmann KE, Wahn V, Forster J, Zepp F et al. Cord blood-IgE as risk factor and predictor for atopic diseases. *Clin Exp Allergy* 1998; 28(6):671-68.
37. Ege MJ, Bieli C, Frei R, van Strien RT, Riedler J, Ublagger E et al. Prenatal farm exposure is related to the expression of receptors of the innate immunity and to atopic sensitization in school-age children. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 117(4):817-23.
38. Ege MJ, Herzum I, Buchele G, Krauss-Etschmann S, Lauener RP, Roponen M et al. Prenatal exposure to a farm environment modifies atopic sensitization at birth. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 122(2):407-44.
39. Eiriksson TH, Sigurgeirsson B, Ardal B, Sigfusson A, Valdimarsson H. Cord blood IgE levels are influenced by gestational age but do not predict allergic manifestations in infants. *Pediatr Allergy Immunol* 1994; 5(1):5-10.
40. Farrar JD, Asnagli H, Murphy KM. T helper subset development: roles of instruction, selection, and transcription. *J Clin Invest* 2002; 109(4):431-45.
41. Ferris BG. Epidemiology Standardization Project (American Thoracic Society). *Am Rev Respir Dis* 1978; 118(6 Pt 2):1-120.

42. Filipiak B, Heinrich J, Schafer T, Ring J, Wichmann HE. Farming, rural lifestyle and atopy in adults from southern Germany--results from the MONICA/KORA study Augsburg. *Clin Exp Allergy* 2001; 31(12):1829-38.
43. Furuhashi M, Sugiura K, Katsumata Y, Oda H, Murase Y, Imai N. Cord blood IgE against milk and egg antigens. *Biol Neonate* 1997; 72(4):210-25.
44. Fusaro AE, Brito CA, Victor JR, Rigato PO, Goldoni AL, Duarte AJ et al. Maternal-fetal interaction: preconception immunization in mice prevents neonatal sensitization induced by allergen exposure during pregnancy and breastfeeding. *Immunology* 2007.
45. Fusaro AE, Maciel M, Victor JR, Oliveira CR, Duarte AJ, Sato MN. Influence of maternal murine immunization with Dermatophagoides pteronyssinus extract on the type I hypersensitivity response in offspring. *Int Arch Allergy Immunol* 2002; 127(3):208-16.
46. Garn H, Renz H. Epidemiological and immunological evidence for the hygiene hypothesis. *Immunobiology* 2007; 212(6):441-52.
47. Gereda JE, Leung DY, Liu AH. Levels of environmental endotoxin and prevalence of atopic disease. *JAMA* 2000; 284(13):1652-3.
48. Gerhold K, Blumchen K, Bock A, Seib C, Stock P, Kallinich T et al. Endotoxins prevent murine IgE production, T(H)2 immune responses, and development of airway eosinophilia but not airway hyperreactivity. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 110(1):110-16.
49. Halken S. Early sensitisation and development of allergic airway disease - risk factors and predictors. *Paediatr Respir Rev* 2003; 4(2):128-34.
50. Halonen M, Stern D, Lyle S, Wright A, Taussig L, Martinez FD. Relationship of total serum IgE levels in cord and 9-month sera of infants. *Clin Exp Allergy* 1991; 21(2):235-41.
51. Halonen M, Stern D, Taussig LM, Wright A, Ray CG, Martinez FD. The predictive relationship between serum IgE levels at birth and subsequent incidences of lower respiratory illnesses and eczema in infants. *Am Rev Respir Dis* 1992; 146(4):866-70.
52. Hansen LG, Halken S, Host A, Moller K, Osterballe O. Prediction of allergy from family history and cord blood IgE levels. A follow-up at the age of 5 years. Cord blood IgE. IV. *Pediatr Allergy Immunol* 1993; 4(1):34-40.
53. Hansen LG, Host A, Halken S, Holmskov A, Husby S, Lassen LB et al. Cord blood IgE. I. IgE screening in 2814 newborn children. *Allergy* 1992; 47(4 Pt 2):391-6.
54. Hansen LG, Host A, Halken S, Holmskov A, Husby S, Lassen LB et al. Cord blood IgE. II. Prediction of atopic disease. A follow-up at the age of 18 months. *Allergy* 1992; 47(4 Pt 2):397-403.

55. Haus M, Heese HD, Weinberg EG, Potter PC, Hall JM, Malherbe D. The influence of ethnicity, an atopic family history, and maternal ascariasis on cord blood serum IgE concentrations. *J Allergy Clin Immunol* 1988-1989; 82(2):179-89.
56. Heinrich J, Hoelscher B, Frye C, Meyer I, Wjst M, Wichmann HE. Trends in prevalence of atopic diseases and allergic sensitization in children in Eastern Germany. *Eur Respir J* 2002; 19(6):1040-106.
57. Herz U, Ahrens B, Scheffold A, Joachim R, Radbruch A, Renz H. Impact of in utero Th2 immunity on T cell deviation and subsequent immediate-type hypersensitivity in the neonate. *Eur J Immunol* 2000; 30(2):714-78.
58. Herzum I, Blumer N, Kersten W, Renz H. Diagnostic and analytical performance of a screening panel for allergy. *Clin Chem Lab Med* 2005; 43(9):963-6.
59. Hesselmar B, Aberg N, Aberg B, Eriksson B, Bjorksten B. Does early exposure to cat or dog protect against later allergy development? *Clin Exp Allergy* 1999; 29(5):611-67.
60. Hide DW, Arshad SH, Twiselton R, Stevens M. Cord serum IgE: an insensitive method for prediction of atopy. *Clin Exp Allergy* 1991; 21(6):739-43.
61. Hilkens CM, Kalinski P, de Boer M, Kapsenberg ML. Human dendritic cells require exogenous interleukin-12-inducing factors to direct the development of naive T-helper cells toward the Th1 phenotype. *Blood* 1997; 90(5):1920-196.
62. Holloway JA, Warner JO, Vance GH, Diaper ND, Warner JA, Jones CA. Detection of house-dust-mite allergen in amniotic fluid and umbilical-cord blood. *Lancet* 2000; 356(9245):1900-192.
63. ISAAC Study Group. Worldwide variations in the prevalence of asthma symptoms: the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). *Eur Respir J* 1998; 12(2):315-35.
64. Jarrett EE, Hall E. IgE suppression by maternal IgG. *Immunology* 1983; 48(1):49-58.
65. Johnson CC, Ownby DR, Peterson EL. Parental history of atopic disease and concentration of cord blood IgE. *Clin Exp Allergy* 1996; 26(6):624-69.
66. Jones AC, Miles EA, Warner JO, Colwell BM, Bryant TN, Warner JA. Fetal peripheral blood mononuclear cell proliferative responses to mitogenic and allergenic stimuli during gestation. *Pediatr Allergy Immunol* 1996; 7(3):109-16.
67. Jones CA, Vance GH, Power LL, Pender SL, Macdonald TT, Warner JO. Costimulatory molecules in the developing human gastrointestinal tract: a pathway for fetal allergen priming. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 108(2):235-41.
68. Jones CA, Warner JA, Warner JO. Fetal swallowing of IgE. *Lancet* 1998; 351(9119):1859.
69. Kankaanpaa P, Sutas Y, Salminen S, Lichtenstein A, Isolauri E. Dietary fatty acids and allergy. *Ann Med* 1999; 31(4):282-7.

70. Kay AB. Allergy and allergic diseases. Second of two parts. *N Engl J Med* 2001; 344(2):109-13.
71. Kerkhof M, Wijga A, Smit HA, de Jongste JC, Aalberse RC, Brunekreef B et al. The effect of prenatal exposure on total IgE at birth and sensitization at twelve months and four years of age: The PIAMA study. *Pediatr Allergy Immunol* 2005; 16(1):10-8.
72. Kilpelainen M, Terho EO, Helenius H, Koskenvuo M. Farm environment in childhood prevents the development of allergies. *Clin Exp Allergy* 2000; 30(2):201-28.
73. Kjellman NI, Croner S. Cord blood IgE determination for allergy prediction--a follow-up to seven years of age in 1,651 children. *Ann Allergy* 1984; 53(2):167-71.
74. Kondo N, Kobayashi Y, Shinoda S, Takenaka R, Teramoto T, Kaneko H et al. Reduced interferon gamma production by antigen-stimulated cord blood mononuclear cells is a risk factor of allergic disorders--6-year follow-up study. *Clin Exp Allergy* 1998; 28(11):1340-4.
75. Kopp MV, Zehle C, Pichler J, Szepefalusi Z, Moseler M, Deichmann K et al. Allergen-specific T cell reactivity in cord blood: the influence of maternal cytokine production. *Clin Exp Allergy* 2001; 31(10):1536-43.
76. Kurz T, Altmueller J, Strauch K, Ruschendorf F, Heinzmann A, Moffatt MF et al. A genome-wide screen on the genetics of atopy in a multiethnic European population reveals a major atopy locus on chromosome 3q21.3. *Allergy* 2005; 60(2):192-9.
77. Leynaert B, Neukirch C, Jarvis D, Chinn S, Burney P, Neukirch F. Does living on a farm during childhood protect against asthma, allergic rhinitis, and atopy in adulthood? *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164(10 Pt 1):1829-34.
78. Liao SY, Liao TN, Chiang BL, Huang MS, Chen CC, Chou CC et al. Decreased production of IFN gamma and increased production of IL-6 by cord blood mononuclear cells of newborns with a high risk of allergy. *Clin Exp Allergy* 1996; 26(4):397-405.
79. Lilja G, Johansson SG, Kusoffsky E, Oman H. IgE levels in cord blood and at 4-5 days of age: relation to clinical symptoms of atopic disease up to 18 months of age. *Allergy* 1990; 45(6):436-44.
80. Lin H, Mosmann TR, Guilbert L, Tuntipopipat S, Wegmann TG. Synthesis of T helper 2-type cytokines at the maternal-fetal interface. *J Immunol* 1993; 151(9):4562-473.
81. Lin YC, Wen HJ, Lee YL, Guo YL. Are maternal psychosocial factors associated with cord immunoglobulin E in addition to family atopic history and mother immunoglobulin E? *Clin Exp Allergy* 2004; 34(4):548-54.
82. Litonjua AA, Carey VJ, Burge HA, Weiss ST, Gold DR. Parental history and the risk for childhood asthma. Does mother confer more risk than father? *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158(1):176-81.

83. Liu CA, Wang CL, Chuang H, Ou CY, Hsu TY, Yang KD. Prediction of elevated cord blood IgE levels by maternal IgE levels, and the neonate's gender and gestational age. *Chang Gung Med J* 2003; 26(8):561-59.
84. Liu CA, Wang CL, Chuang H, Ou CY, Hsu TY, Yang KD. Prenatal prediction of infant atopy by maternal but not paternal total IgE levels. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 112(5):899-904.
85. Magnusson CG. Cord serum IgE in relation to family history and as predictor of atopic disease in early infancy. *Allergy* 1988; 43(4):241-51.
86. Makhseed M, Raghupathy R, Azizieh F, Al-Azemi MM, Hassan NA, Bandar A. Mitogen-induced cytokine responses of maternal peripheral blood lymphocytes indicate a differential Th-type bias in normal pregnancy and pregnancy failure. *Am J Reprod Immunol* 1999; 42(5):273-81.
87. Medzhitov R. Toll-like receptors and innate immunity. *Nat Rev Immunol* 2001; 1(2):135-45.
88. Merchant JA, Naleway AL, Svendsen ER, Kelly KM, Burmeister LF, Stromquist AM et al. Asthma and farm exposures in a cohort of rural Iowa children. *Environ Health Perspect* 2005; 113(3):350-36.
89. Michel FB, Bousquet J, Greillier P, Robinet-Levy M, Coulomb Y. Comparison of cord blood immunoglobulin E concentrations and maternal allergy for the prediction of atopic diseases in infancy. *J Allergy Clin Immunol* 1980; 65(6):422-30.
90. Miller DL, Hiravonen T, Gitlin D. Synthesis of IgE by the human conceptus. *J Allergy Clin Immunol* 1973; 52(3):182-8.
91. Mudde GC, Bheekha R, Bruijnzeel-Koomen CA. Consequences of IgE/CD23-mediated antigen presentation in allergy. *Immunol Today* 1995; 16(8):380-3.
92. Nambu M, Shintaku N, Ohta S. Relationship between cord blood level of IgE specific for *Dermatophagoides pteronyssinus* and allergic manifestations in infancy. *Biol Neonate* 2003; 83(2):102-16.
93. Ng SC, Gilman-Sachs A, Thaker P, Beaman KD, Beer AE, Kwak-Kim J. Expression of intracellular Th1 and Th2 cytokines in women with recurrent spontaneous abortion, implantation failures after IVF/ET or normal pregnancy. *Am J Reprod Immunol* 2002; 48(2):77-86.
94. Nicolai T, von Mutius E. Respiratory hypersensitivity and environmental factors: East and West Germany. *Toxicol Lett* 1996; 86(2-3):105-13.
95. Nowak D, Heinrich J, Jorres R, Wassmer G, Berger J, Beck E et al. Prevalence of respiratory symptoms, bronchial hyperresponsiveness and atopy among adults: west and east Germany. *Eur Respir J* 1996; 9(12):2541-52.
96. O'Garra A, Arai N. The molecular basis of T helper 1 and T helper 2 cell differentiation. *Trends Cell Biol* 2000; 10(12):542-50.

97. O'Garra A, Vieira P. Regulatory T cells and mechanisms of immune system control. *Nat Med* 2004; 10(8):801-85.
98. Odelram H, Bjorksten B, Leander E, Kjellman NI. Predictors of atopy in newborn babies. *Allergy* 1995; 50(7):585-92.
99. Oryszczyn MP, Annesi-Maesano I, Campagna D, Sahuquillo J, Huel G, Kauffmann F. Head circumference at birth and maternal factors related to cord blood total IgE. *Clin Exp Allergy* 1999; 29(3):334-41.
100. Ownby DR, McCullough J, Johnson CC, Peterson EL. Evaluation of IgA measurements as a method for detecting maternal blood contamination of cord blood samples. *Pediatr Allergy Immunol* 1996; 7(3):125-19.
101. Pastorelli G, Rousset F, Pene J, Peronne C, Roncarolo MG, Tovo PA et al. 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* 1990; 82(1):114-19.
102. Pfefferle PI, Sel S, Johannes Ege M, Buchele G, Blumer N, Krauss-Etschmann S et al. Cord blood allergen-specific IgE is associated with reduced IFN-gamma production by cord blood cells: The Protection against Allergy-Study in Rural Environments (PASTURE) study. *J Allergy Clin Immunol* 2008.
103. Piccinni MP, Romagnani S. Regulation of fetal allograft survival by a hormone-controlled Th1- and Th2-type cytokines. *Immunol Res* 1996; 15(2):141-50.
104. Pillai SG, Chiano MN, White NJ, Speer M, Barnes KC, Carlsen K et al. A genome-wide search for linkage to asthma phenotypes in the genetics of asthma international network families: evidence for a major susceptibility locus on chromosome 2p. *Eur J Hum Genet* 2006; 14(3):307-16.
105. Pirron U, Schlunck T, Prinz JC, Rieber EP. IgE-dependent antigen focusing by human B lymphocytes is mediated by the low-affinity receptor for IgE. *Eur J Immunol* 1990; 20(7):1547-51.
106. Prescott SL, Jones CA. Cord blood memory responses: are we being naive? *Clin Exp Allergy* 2001; 31(11):1653-166.
107. Prescott SL, Macaubas C, Holt BJ, Smallacombe TB, Loh R, Sly PD et al. Transplacental priming of the human immune system to environmental allergens: universal skewing of initial T cell responses toward the Th2 cytokine profile. *J Immunol* 1998; 160(10):4730-477.
108. Prescott SL, Macaubas C, Smallacombe T, Holt BJ, Sly PD, Holt PG. Development of allergen-specific T-cell memory in atopic and normal children. *Lancet* 1999; 353(9148):196-200.
109. Prescott SL, Macaubas C, Yabuhara A, Venaille TJ, Holt BJ, Habre W et al. Developing patterns of T cell memory to environmental allergens in the first two years of life. *Int Arch Allergy Immunol* 1997; 113(1-3):75-9.

110. Radon K, Windstetter D, Eckart J, Dressel H, Leitritz L, Reichert J et al. Farming exposure in childhood, exposure to markers of infections and the development of atopy in rural subjects. *Clin Exp Allergy* 2004; 34(8):1178-183.
111. Raghupathy R. Pregnancy: success and failure within the Th1/Th2/Th3 paradigm. *Semin Immunol* 2001; 13(4):219-27.
112. Remes ST, Koskela HO, Iivanainen K, Pekkanen J. Allergen-specific sensitization in asthma and allergic diseases in children: the study on farmers' and non-farmers' children. *Clin Exp Allergy* 2005; 35(2):160-6.
113. Renz H. *Integrative Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin*. de Gruyter Verlag, 2003.
114. Renz H, Blumer N, Virna S, Sel S, Garn H. The immunological basis of the hygiene hypothesis. *Chem Immunol Allergy* 2006; 91:30-48.(30-48).
115. Riedler J, Braun-Fahrlander C, Eder W, Schreuer M, Waser M, Maisch S et al. Exposure to farming in early life and development of asthma and allergy: a cross-sectional survey. *Lancet* 2001; 358(9288):1129-133.
116. Riedler J, Eder W, Oberfeld G, Schreuer M. Austrian children living on a farm have less hay fever, asthma and allergic sensitization. *Clin Exp Allergy* 2000; 30(2):194-200.
117. Rivas MA, Bone J, Rituerto B, Alonso JP, Franco Y, Guallar A et al. Cord blood IGE versus family history as atopic predictors in the newborn. *Acta Paediatr* 1994; 83(12):1308-139.
118. Robinson DS, Larche M, Durham SR. Tregs and allergic disease. *J Clin Invest* 2004; 114(10):1389-197.
119. Romagnani S. Induction of TH1 and TH2 responses: a key role for the 'natural' immune response? *Immunol Today* 1992; 13(10):379-81.
120. Romagnani S. Immunologic influences on allergy and the TH1/TH2 balance. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 113(3):395-400.
121. Sabroe I, Parker LC, Wilson AG, Whyte MK, Dower SK. Toll-like receptors: their role in allergy and non-allergic inflammatory disease. *Clin Exp Allergy* 2002; 32(7):984-99.
122. Sabroe I, Read RC, Whyte MK, Dockrell DH, Vogel SN, Dower SK. Toll-like receptors in health and disease: complex questions remain. *J Immunol* 2003; 171(4):1630-165.
123. Sadeghnejad A, Karmaus W, Davis S, Kurukulaaratchy RJ, Matthews S, Arshad SH. Raised cord serum immunoglobulin E increases the risk of allergic sensitisation at ages 4 and 10 and asthma at age 10. *Thorax* 2004; 59(11):936-42.
124. Sayers I, Severn W, Scanga CB, Hudson J, Le Gros G, Harper JL. Suppression of allergic airway disease using mycobacterial lipoglycans. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 114(2):302-39.

125. Scirica CV, Gold DR, Ryan L, Abulkerim H, Celedon JC, Platts-Mills TA et al. Predictors of cord blood IgE levels in children at risk for asthma and atopy. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 119(1):81-8.
126. Shah S, Bapat MM. Parental history of allergy, maternal serum IgE & cord serum IgE. *Indian J Med Sci* 2006; 60(1):13-8.
127. Shirakawa T, Morimoto K, Sasaki S, Taniguchi K, Motonaga M, Akahori W et al. Effect of maternal lifestyle on cord blood IgE factor. *Eur J Epidemiol* 1997; 13(4):395-402.
128. Statistisches Bundesamt GdB. Spezialbericht Allergien, 2000. Gesundheitsberichterstattung des Bundes. 2006.
129. Stock P, DeKruyff RH, Umetsu DT. Inhibition of the allergic response by regulatory T cells. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2006; 6(1):12-6.
130. Strachan DP. Hay fever, hygiene, and household size. *BMJ* 1989; 299(6710):1259-160.
131. Strachan DP. Allergy and family size: a riddle worth solving. *Clin Exp Allergy* 1997; 27(3):235-26.
132. Sverremark Ekstrom E, Nilsson C, Holmlund U, van der Ploeg I, Sandstedt B, Lilja G et al. IgE is expressed on, but not produced by, fetal cells in the human placenta irrespective of maternal atopy. *Clin Exp Immunol* 2002; 127(2):274-82.
133. Szepefalusi Z, Loibichler C, Hanel-Dekan S, Dehlink E, Gerstmayr M, Pichler J et al. Most of diaplacentally transferred allergen is retained in the placenta. *Clin Exp Allergy* 2006; 36(9):1130-117.
134. Szepefalusi Z, Loibichler C, Pichler J, Reisenberger K, Ebner C, Urbanek R. Direct evidence for transplacental allergen transfer. *Pediatr Res* 2000; 48(3):404-47.
135. Tang ML, Kemp AS, Thorburn J, Hill DJ. Reduced interferon-gamma secretion in neonates and subsequent atopy. *Lancet* 1994; 344(8928):983-5.
136. Tariq SM, Arshad SH, Matthews SM, Hakim EA. Elevated cord serum IgE increases the risk of aeroallergen sensitization without increasing respiratory allergic symptoms in early childhood. *Clin Exp Allergy* 1999; 29(8):1042-108.
137. Thornton CA, Holloway JA, Popplewell EJ, Shute JK, Boughton J, Warner JO. Fetal exposure to intact immunoglobulin E occurs via the gastrointestinal tract. *Clin Exp Allergy* 2003; 33(3):306-11.
138. Uthoff H, Spenner A, Reckelkamm W, Ahrens B, Wolk G, Hackler R et al. Critical role of preconceptional immunization for protective and nonpathological specific immunity in murine neonates. *J Immunol* 2003; 171(7):3485-392.
139. van der Velden VH, Laan MP, Baert MR, de Waal Malefyt R, Neijens HJ, Savelkoul HF. Selective development of a strong Th2 cytokine profile in high-risk children who develop atopy: risk factors and regulatory role of IFN-gamma, IL-4 and IL-10. *Clin Exp Allergy* 2001; 31(7):997-1006.

140. Vance GH, Lewis SA, Grimshaw KE, Wood PJ, Briggs RA, Thornton CA et al. Exposure of the fetus and infant to hens' egg ovalbumin via the placenta and breast milk in relation to maternal intake of dietary egg. *Clin Exp Allergy* 2005; 35(10):1318-26.
141. Varonier HS, Lacourt GC, Assimacopoulos A. Cord serum IgE and early detection of the atopic phenotype: suitable for routine screening? *Eur J Pediatr* 1991; 150(12):844-86.
142. Victor JR Jr, Fusaro AE, Duarte AJ, Sato MN. Preconception maternal immunization to dust mite inhibits the type I hypersensitivity response of offspring. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111(2):269-77.
143. Von Ehrenstein OS, von Mutius E, Illi S, Baumann L, Bohm O, von Kries R. Reduced risk of hay fever and asthma among children of farmers. *Clin Exp Allergy* 2000; 30(2):187-93.
144. von Mutius E, Schmid S. The PASTURE project: EU support for the improvement of knowledge about risk factors and preventive factors for atopy in Europe. *Allergy* 2006; 61(4):407-13.
145. Wahn U, Bergmann RL, Nickel R. Early life markers of atopy and asthma. *Clin Exp Allergy* 1998; 28 Suppl 1:20-1;discussion 32-6.
146. Warner JA, Miles EA, Jones AC, Quint DJ, Colwell BM, Warner JO. Is deficiency of interferon gamma production by allergen triggered cord blood cells a predictor of atopic eczema? *Clin Exp Allergy* 1994; 24(5):423-30.
147. Webber MP, Carpinello KE, Oruwariye T, Appel DK. Prevalence of asthma and asthma-like symptoms in inner-city elementary schoolchildren. *Pediatr Pulmonol* 2002; 34(2):105-11.
148. Wegmann TG, Lin H, Guilbert L, Mosmann TR. Bidirectional cytokine interactions in the maternal-fetal relationship: is successful pregnancy a TH2 phenomenon? *Immunol Today* 1993; 14(7):353-36.
149. Weigt H, Muhlradt PF, Larbig M, Krug N, Braun A. The Toll-like receptor-2/6 agonist macrophage-activating lipopeptide-2 cooperates with IFN-gamma to reverse the Th2 skew in an in vitro allergy model. *J Immunol* 2004; 172(10):6080-6.
150. Weil GJ, Hussain R, Kumaraswami V, Tripathy SP, Phillips KS, Ottesen EA. Prenatal allergic sensitization to helminth antigens in offspring of parasite-infected mothers. *J Clin Invest* 1983; 71(5):1124-119.
151. Wickens K, Lane JM, Fitzharris P, Siebers R, Riley G, Douwes J et al. Farm residence and exposures and the risk of allergic diseases in New Zealand children. *Allergy* 2002; 57(12):1171-119.
152. Xystrakis E, Boswell SE, Hawrylowicz CM. T regulatory cells and the control of allergic disease. *Expert Opin Biol Ther* 2006; 6(2):121-33.

153. Yabuhara A, Macaubas C, Prescott SL, Venaille TJ, Holt BJ, Habre W et al. TH2-polarized immunological memory to inhalant allergens in atopics is established during infancy and early childhood. *Clin Exp Allergy* 1997; 27(11):1261-129.

6. Abkürzungsverzeichnis

ALEX	Allergie und Endotoxin Studie
APC	Antigenpräsentierende Zellen
CCD	charge coupled device
DNA	Desoxyribonukleinsäure
Fc	Fragment Crystalline
GBE	Gesundheitsberichterstattung des Bundes
GKV	Gesetzliche Krankenversicherung
IFN	Interferon
IgA	Immunglobulin der Klasse A
IgE	Immunglobulin der Klasse E
IL	Interleukin
ISAAC	Internationial Study of Asthma and Allergy in Childhood
LPS	Lipopolysaccharid
MHC	Major Histocompatibility Complex
PAMP	Pathogen associated molecular pattern
PARSIFAL	Prevention of allergy risk factors for sensitisation in children related to farming and anthroposophic lifestyle
PASTURE	Protectection against allergy – study in rural areas
PRR	Pathogen recognition receptor
RAST	Radio Allergen Sorbent Test
RNA	Ribonikleinsäure
SSW	Schwangerschaftswoche
TH	T-Helfer Zellen
TLR	Toll like receptor
TNF	Tumor Nekrosefaktor
Treg	Regulatorische T-Zellen

7. Abbildungsverzeichnis/Tabellenverzeichnis

	Seite
Abb. 1.1: Schematische Darstellung einer allergischen Reaktion Typ I	08
Abb. 1.2: humanes Immunglobulin der Klasse E	10
Abb. 2.1: Geografische Standpunkte der Studienorte	16
Abb. 2.2: Rapid Reader, Auswertung eines Testpanels	19
Abb. 2.3: Logistische Dosis-Wirkungsfunktion: optische Dichte (Y-Achse) gegen spezifische Pharmacia gx4 Grass Pollen IgE (X-Achse) (CAP).	21
Abb. 3.1: Studienpopulation: Ausschlusskriterien, Teilnahmeberechtigung, Teilnahmebereitschaft, Gesamtpopulation	25
Abb. 3.2: Häufigkeitsanteil aller Kinder mit positiven IgE-Antikörpern gegen mindestens ein Allergen (als positiv gewertet bei $\geq 0,2$ IU/l).	26
Abb. 3.3: Anzahl von Neonaten mit positiven IgE Werten gegen verschiedene Allergengruppen in der Bauern- und der Kontrollgruppe	27
Abb. 3.4: Anzahl von Müttern mit positiven IgE Werten gegen verschiedene Allergengruppen in der Bauern- und der	31
Abb. 3.5: Anzahl von Vätern mit positiven IgE Werten gegen verschiedene Allergengruppen in der Bauern- und der Kontrollgruppe	33
Abb. 3.6: Korrelation maternaler und neonataler IgE-Antikörperkonzentrationen gegen Kuhmilchallergene	36

Abb. 3.7:	Korrelation maternalen und neonatalen IgE-Antikörperkonzentrationen gegen Hühnereiallergene	37
Abb. 3.8:	Korrelation (Korrelationskoeffizient nach Spearman) mütterlicher und neonataler IgE-Werte der Bauern- und Kontrollgruppe	38
Abb. 4.1:	inhalative und gastrointestinale Allergenaufnahme: Einfluss auf den diaplazentaren Allergentransfer	47
<hr/>		
Tab. 2.1:	Allergene (Allergy Screen Test – Mediwiss Analytic)	17
Tab. 2.2:	Übereinstimmung mit Skin Prick Test und CAP	22
Tab. 2.3:	Intra-Assay Kontrolle (n = 10) auf Testungenauigkeiten; Vergleich zweier Softwareversionen	23
Tab. 3.1:	Häufigkeitsverteilung der Neugeborenen positiven IgE-Werten	28
Tab. 3.2:	Anzahl koexistierender Sensibilisierungen	29
Tab. 3.3:	Anzahl von Neonaten mit koexistierenden Sensibilisierungen gegen Nahrungsmittelallergene	30
Tab. 3.4:	Anzahl von Neonaten mit koexistierenden Sensibilisierungen gegen inhalative Allergene	30
Tab. 3.5:	Anzahl von Müttern mit positivem IgE	32
Tab. 3.6:	Anzahl von Vätern mit Sensibilisierungen gegen alle untersuchten Allergene	34
Tab. 3.7:	Korrelation neonataler und elterlicher IgE-Werte	35

8. Zusammenfassung

Die Prävalenz von Krankheiten des atopischen Formenkreises hat in den letzten Jahrzehnten in den westlichen Ländern dramatisch zugenommen. Neben der gesundheitsökonomischen Bedeutung führen allergische Erkrankungen durch ihren chronischen Verlauf zu hohem individuellen Leidensdruck und hohen Einbußen der Lebensqualität. Trotz intensiver Forschungsbemühungen konnten die Entstehungsmechanismen noch nicht hinreichend geklärt werden, so dass kausale Therapieansätze und Präventionsstrategien bislang wenig Anwendung finden.

Ein viel diskutierter Erklärungsansatz ist die so genannte Hygiene Hypothese. Sie beruht auf der Annahme eines Zusammenhangs zwischen dem enormen Anstieg allergischer Erkrankungen und einem modernen westlichen Lebensstil mit übertriebenem Hygieneverhalten. Dies führt zu einer relativen Sterilisation der Umwelt und einer verminderten Exposition gegenüber mikrobiellen Antigenen. Dadurch soll es zur Entwicklung eines modulierten Immunsystems kommen, es reagiert auf harmlose Umweltantigene, so genannte Allergene, mit einer überschießenden Immunantwort. Auf der Hygiene Hypothese basierend wurde der so genannte Bauerneffekt postuliert: Kinder, die auf Bauernhöfen aufwuchsen, entwickelten weniger häufig allergische Erkrankungen als Kinder aus urbanen Regionen. Zur Stützung dieser Hypothese wurde eine multizentrische prospektive Kohortenstudie aufgelegt, die PASTURE-Studie (protection against allergies - study in rural areas). Im Rahmen dieser Studie wurden in der vorliegenden Arbeit Nabelschnurblutproben von Neugeborenen einer ruralen Population auf allergenspezifisches IgE gegen 20 verschiedene Allergene (inhalative Allergene und Nahrungsmittelallergene) in einer Bauern- und einer Kontrollgruppe bestimmt. Dadurch wurde die Möglichkeit geschaffen, den Bauerneffekt in Bezug auf eine bereits intrauterin stattgefundenene Sensibilisierung zu untersuchen und zu beurteilen. Darüber hinaus hatte die vorliegende Arbeit das Ziel, eine potentielle Korrelation von mütterlichen und väterlichen Sensibilisierungsmustern mit neonatalen zu untersuchen.

Von den insgesamt 933 untersuchten Nabelschnurblutproben wurden bei 24% erhöhte IgE-Werte gefunden. Zwischen der Bauern- und der Kontrollgruppe gab es keine signifikanten Häufigkeitsunterschiede. Allerdings wiesen die Nabelschnurblutproben aus der Kontrollgruppe signifikant häufiger erhöhte IgE-Werte gegen saisonal auftretende Allergene (Gräser, Roggen) auf, während sich in der Bauerngruppe bei signifikant mehr Kindern erhöhte IgE-Werte gegen Nahrungsmittelallergene (Kuhmilch) fanden. Außerdem konnte eine positive Korrelation zwischen mütterlichen und neonatalen Sensibilisierungsmustern gegen die Nahrungsmittelallergene Hühnerei und Kuhmilch

ermittelt werden. Dieser Befund war sowohl in der Bauern- als auch in der Kontrollgruppe nachweisbar. Eine Korrelation zwischen väterlichen und neonatalen Sensibilisierungsmustern bestand nicht.

Allergische Sensibilisierung *in utero* ist ein kontrovers diskutiertes Gebiet der Allergieforschung. Dabei ist unter anderem die Herkunft von Nabelschnurblut-IgE nicht unumstritten. Einige Studien postulieren, dass IgE-Antikörper in Nabelschnurblut eine Kontamination mit mütterlichem Blut als Ursache haben. In der vorliegenden Arbeit konnte eine solche Kontamination durch verschiedene Analysen ausgeschlossen werden, unter anderem durch die Abwesenheit von maternalen IgA-Antikörpern in Nabelschnurblut. Demnach resultieren allergenspezifische IgE-Antikörper wahrscheinlich aus der Eigenproduktion des Feten.

Viele Studien, die den Bauerneffekt beschrieben haben, beleuchteten retrospektiv eine Exposition gegenüber bäuerlicher Umwelt in Bezug auf das Vorhandensein allergischer Sensibilisierungen oder manifester allergischer Erkrankungen. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit deuten erstmals darauf hin, dass diese Effekte einer pränatalen Exposition mit dem Nachweis allergenspezifischer Nabelschnurblut IgE-Antikörper bereits zum Zeitpunkt der Geburt vorliegen. Unerwartet war in diesem Zusammenhang die hohe Anzahl an Neonaten aus der Bauerngruppe mit erhöhten IgE-Werten gegen Nahrungsmittelallergene. Ein Erklärungsansatz für die vorliegende fetomaternale Korrelation allergenspezifischer IgE-Antikörper stützt sich auf die so genannte „IgE-vermittelte antigenspezifische Fokussierung“: Transamniotischer IgE-Transfer und IgE-vermittelte Fokussierung von Allergenen, die diaplazentar in die fetale Zirkulation gelangen, induzieren eine fetale Immunantwort in Form einer allergischen Sensibilisierung. Ob die Anwesenheit von IgE-Antikörpern in Nabelschnurblut nur ein vorübergehendes Phänomen darstellt oder mit der Entstehung von allergischen Erkrankungen assoziiert ist, bleibt umstritten. Aus immunregulatorischer Sicht weisen die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit jedoch deutlich darauf hin, dass die Maturation und Programmierung des Immunsystems bereits pränatal beginnen. Festzuhalten ist, dass die Entstehung von Atopie und Allergie ein multifaktorielles Geschehen darstellt, welches weiterhin intensiver Forschungsanstrengungen bedarf, um die einzelnen Mechanismen im Detail zu verstehen. Im Rahmen des Gesamtprojektes der PASTURE-Studie wird sich künftig zeigen, welche Bedeutung den in der vorliegenden Arbeit gefundenen, allergenspezifischen Nabelschnurblut-IgE-Antikörpern in Bezug auf die Entwicklung allergischer Erkrankungen zukommt.

9. Verzeichnis akademischer Lehrer

Meine akademischen Lehrer waren die Damen und Herren Professoren bzw. Privat-Dozenten in Marburg:

Aumüller, Barth, Basler, Bauer, Baum, Becker, Berger, Bien, Cetin, Czubayko, Daut, Dietrich, Feuser, Görg, Gress, Grimm, Griss, Gotzen, Hertel, Herzum, Hoffmann, Hoyer, Kaltenborn, Kann, Klose, Krieg, Kretschmer, Lill, Löffler, Löffler, Maisch, Mandrek, Meyer, Moll, Mutters, Mueller, Müller, Oertel, Neubauer, Renz, Remschmidt, Richter, Röhm, Rothmund, Rößer, Ruchholtz, Schäfer, Vogelmeier, Wagner, Weihe, Werner, Westermann. Wulf.

In Bern: Beck, Siebenrock,

In Kapstadt: Manie

10. Danksagung

Die vorliegende Dissertationsarbeit wurde in der Abteilung für Klinische Chemie und Molekulare Diagnostik der Universitätskliniken Giessen und Marburg, Standort Marburg, Philipps Universität Marburg unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. med. Harald Renz angefertigt.

Herrn Prof. Dr. Harald Renz möchte ich für die ausgezeichnete Betreuung, sowie für die Möglichkeit, die Dissertationsarbeit in seiner Abteilung durchführen zu lassen, danken. Insbesondere bei den letzten Schritten vor der Einreichung der Dissertation konnte ich mir seiner vielfältigen Unterstützung durch immerwährende Diskussionsbereitschaft, Anregungen und konstruktiven Kritik sicher sein.

Des Weiteren gilt mein Dank Frau Dr. Ileana Herzum für die ausgezeichnete Betreuung und Hilfe bei der Einarbeitung in die praktische Arbeit und die inhaltlichen Aspekte, sowie Herrn Dr. Sel, der mir bei der Niederschrift der Arbeit behilflich zur Seite stand.

Herrn Dr. Markus Ege aus München möchte ich für die Hilfe bei der statistischen Auswertung der Ergebnisse danken. Auch Frau Dr. Gabriele Köllisch und Frau Dr. Petra Pfefferle gilt mein Dank für Anregung und Korrekturen. Meiner Cousine Maren Exner möchte ich für die Unterstützung bei der Erstellung der Graphiken und Abbildungen danken.

Herzlichen Dank auch den Medizinisch Technischen Assistentinnen und Assistenten der Abteilung für die freundliche Aufnahme und stetige Hilfe im Labor.

Dem internationalen Team der PASTURE Studie danke ich für die Aufstellung des gesamten PASTURE-Projektes.

Nicht zuletzt gilt meinen Eltern, meinen Geschwistern, insbesondere meiner Schwester Katharina, meiner Freundin Dorothee Quast, die sich alle trotz beruflicher Belastung die Mühe gemacht haben, mich zu unterstützen und zu motivieren, großer Dank.

11. Verzeichnis der über die Arbeit entstandenen Veröffentlichungen

- (1) Pfefferle PI, Sel S, Johannes Ege M, Buchele G, Blumer N, Krauss-Etschmann S, Herzum I, **Albers CE**, Lauener RP, Roponen M, Hirvonen MR, Vuitton DA, Riedler J, Brunekreef B, Dalphin JC, Braun-Fahrländer C, Pekkanen J, von Mutius E, Renz H.

Cord blood allergen-specific IgE is associated with reduced IFN-gamma production by cord blood cells: The Protection against Allergy-Study in Rural Environments (PASTURE) study.

Journal of Allergy and Clinical Immunology, 122(4):711-6., 2008.

- (2) Ege MJ, Herzum I, Buchele G, Krauss-Etschmann S, Lauener RP, Roponen M, Hyvarinen A, Vuitton DA, Riedler J, Brunekreef B, Dalphin JC, Braun-Fahrländer C, Pekkanen J, Renz H, von Mutius E.

Prenatal exposure to a farm environment modifies atopic sensitization at birth.

Journal of Allergy and Clinical Immunology 122: 407-44., 2008.