

**Aus der Medizinischen Universitätsklinik und Poliklinik  
(Department) Tübingen  
Abteilung Innere Medizin VII Tropenmedizin  
(Schwerpunkt: Institut für Tropenmedizin, Reisemedizin,  
Humanparasitologie)  
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. P. Kremsner**

**Einfluss einer allergischen Sensibilisierung und  
parasitären Infektion bei Müttern auf die allergen- und  
antigenspezifische Immunreaktivität der Neugeborenen**

**Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät  
der Eberhard-Karls-Universität  
zu Tübingen**

**vorgelegt von  
Christina Maria Mußler  
aus  
Filderstadt**

**2010**

Dekan: Professor Dr. I. B. Autenrieth

1. Berichterstatter: Professor Dr. P. Soboslay

2. Berichterstatter: Professor Dr. T. Orlikowsky

---

## Inhaltsverzeichnis

<b>1. Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1 Allergie	2
1.2 Parasiten	3
1.3 Immunabwehr	4
1.4 Immunreaktivität bei Allergien	8
1.5 Immunantwort auf Parasiten	9
1.6 Parasiten und Allergie	10
1.7 Immunreaktivität während der Schwangerschaft	11
1.8 Modulation der fetalen Immunreaktivität bei Infektion und Allergie der Mutter	12
1.9 Fragestellung und Zielsetzung der Arbeit	13
<b>2. Material und Methoden</b>	<b>15</b>
2.1 Untersuchungsgebiet und Probanden	15
2.2 Ablauf der Studie und Probengewinnung	16
2.3 Zellisolierung	17
2.4 Zellkulturansatz	18
2.5 Parasitenantigen- und Allergenlösungen	18
2.6 Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)	19
2.6.1 Zytokin-ELISA	19
2.6.2 Chemokin-ELISA	20
2.6.3 Auswertung der OD-Werte	20
2.6.4 Verwendete Puffer	20
2.7 Serologische Untersuchungen	21
2.7.1 Bestimmung der Plasma-Antikörperreaktivität mittels ELISA	21
2.7.2 Bestimmung von allergenspezifischem IgE mittels ELISA	22
2.7.3 Bestimmung des serologischen Status	22
2.7.4 Sensitivität und Spezifität	23
2.8 Parasitologische Untersuchungen	23
2.9 Auswertung und Statistik	23
2.10 Einteilung der Gruppen	24
2.11 Materialien	24

2.11.1 Verbrauchsmaterialien	24
2.11.2 Geräte	26
<b>3. Ergebnisse</b>	<b>27</b>
<hr/>	
3.1 Altersverteilung, Geburtenanzahl und gesundheitlicher Zustand der Mütter	27
3.2 Infektionsstatus der Mütter	28
3.2.1 Parasitologische Untersuchungen	28
3.2.2 Serologische Untersuchungen	29
3.2.2.1 Antikörperreaktivität auf Parasitenantigene	29
3.2.2.2 Antikörperreaktivität auf Allergene	30
3.2.2.3 Sensitivität und Spezifität	30
3.3 Chemokinsekretion bei Neugeborenen	31
3.3.1 Epithelial Neutrophil-activating Protein 78 (ENA-78)	31
3.3.2 Interleukin 8 (IL-8)	34
3.3.3 Monocyte Chemoattractant Protein 1 (MCP-1)	35
3.3.4 Macrophage Inflammatory Protein 1 $\alpha$ (MIP-1 $\alpha$ )	37
3.3.5 Macrophage Inflammatory Protein 1 $\beta$ (MIP-1 $\beta$ )	39
3.3.6 Thymus and Activation Regulated Chemokine (TARC)	40
3.3.7 Macrophage-derived Chemoattractant (MDC)	42
3.4 Chemokinsekretion bei Müttern	44
3.5 Vergleich der Chemokinsekretion bei Neugeborenen und deren Müttern	47
3.6 Kinetik der neonatalen Chemokinsekretion	50
3.7 Korrelationsanalyse der Chemokinsekretion	53
3.8 Logistische Regressionsanalyse der Chemokinsekretion	56
3.9 Zytokinsekretion	58
3.9.1 Interferon $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )	58
3.9.2 Interleukin 10 (IL-10)	60
3.10 Vergleich der Zytokinsekretion bei Neugeborenen und deren Müttern	62
3.11 Kinetik der neonatalen Zytokinsekretion	64
<b>4. Diskussion</b>	<b>65</b>
<hr/>	
4.1 Parasitologische Untersuchungen	65
4.2 Serologische Untersuchungen	66
4.3 Chemokinsekretion	69

4.3.1 Epithelial Neutrophil-activating Protein 78 (ENA-78)	69
4.3.2 Interleukin 8 (IL-8)	70
4.3.3 Monocyte Chemoattractant Protein 1 (MCP-1)	71
4.3.4 Macrophage Inflammatory Protein 1 $\alpha$ (MIP-1 $\alpha$ )	73
4.3.5 Macrophage Inflammatory Protein 1 $\beta$ (MIP-1 $\beta$ )	74
4.3.6 Thymus and Activation Regulated Chemokine (TARC)	75
4.3.7 Macrophage-derived Chemoattractant (MDC)	76
4.4 Vergleich der Chemokinsekretion bei Neugeborenen und deren Müttern	77
4.5 Kinetik der neonatalen Chemokinsekretion	78
4.6 Korrelationen der Chemokinsekretion	78
4.7 Zytokinsekretion	79
4.7.1 Interferon $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )	79
4.7.2 Interleukin 10 (IL-10)	81
4.8 Vergleich der Zytokinsekretion bei Neugeborenen und deren Müttern	82
4.9 Kinetik der neonatalen Zytokinsekretion	83
<b>5. Zusammenfassung</b>	<b>84</b>
<hr/>	
<b>6. Summary</b>	<b>87</b>
<hr/>	
<b>7. Literaturverzeichnis</b>	<b>89</b>
<hr/>	
<b>8. Anhang</b>	<b>106</b>
<hr/>	

---

## Verwendete Abkürzungen

Af	<i>Aspergillus fumigatus</i>
Amp	Amphotericin
APC	Antigen Presenting Cells
Asc	<i>Ascaris lumbricoides</i>
BSA	Bovines Serumalbumin
Ca	<i>Candida albicans</i>
CD	Cluster of Differentiation
CHR	Centre Hospitalier Régional
COPD	Chronic Obstructive Pulmonary Disease
Df	<i>Dermatophagoides farinae</i>
Dp	<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>
Eh	<i>Entamoeba histolytica</i>
EIA/RIA	Enzyme Immuno Assay/ Radio Immuno Assay
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
ENA-78	Epithelial Neutrophil-activating Protein 78
FCS	Fetal Calf Serum
fn	Falsch-negativ
fp	Falsch-positiv
GTC	Guanidinisoithiocyanat
HRP	Horse Radish Peroxidase
IFN- $\gamma$	Interferon- $\gamma$
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
MCP-1	Monocyte Chemoattractant Protein 1
MDC	Macrophage-derived Chemoattractant
MHC	Major Histocompatibility Complex
MIP-1 $\alpha,\beta$	Macrophage Inflammatory Protein 1 $\alpha,\beta$
n	Stichprobenanzahl
neg	Negativ
NK-Zellen	Natürliche Killerzellen
OCP	Onchocerciasis Control Programme
OD	Optische Dichte

Ov	<i>Onchocerca volvulus</i>
PBMC	Peripheral Blood Mononuclear Cells
PBS	Phosphat Buffered Saline
Pen	Penicillin
Pf	<i>Plasmodium falciparum</i>
pNPP	Para-Nitrophenyl-Phosphat
pos	Positiv
RPMI	Zellkulturmedium „Roswell Park Memorial Institute“
rpm	Revolutions per minute
RT	Raumtemperatur
SA	Streptavidin
Sm	<i>Schistosoma mansoni</i>
Strep	Streptomycin
TARC	Thymus and Activation Regulated Chemokine
Th0,1,2,3	T-Helferzelle vom Typ 0,1,2,3
TMB	Tetramethyl-Benzidin
TNF- $\alpha$	Tumor-Nekrose-Faktor $\alpha$
Treg	Regulatorische T-Zelle
Tween-20	Polyoxyethylenesorbitan-Monolaurate
TZR	T-Zell-Rezeptor
UCBC	Umbilical Cord Blood Cells
WHO	World Health Organization

## 1. Einleitung

In den westlichen Industrieländern wird in den letzten Jahrzehnten eine stark zunehmende Prävalenz allergischer Erkrankungen beobachtet (*Peat et al., 1994, von Mutius, 1994*). In ländlichen Gebieten der dritten Welt, in welchen die Infektionslast der Bevölkerung durch bakterielle und parasitäre Erreger sehr hoch ist, stellen Allergien hingegen bislang nur ein geringes Gesundheitsproblem dar (*Yemaneberhan et al., 2004, ISAAC, 1998*). In den vergangenen Jahrzehnten ist jedoch auch in den Entwicklungsländern eine Zunahme der allergischen Erkrankungen bei der städtischen und wohlhabenden Bevölkerung mit gehobenem Hygienestand und abnehmendem Infektionsdruck durch Pathogene zu beobachten (*Yemaneberhan et al., 2004, Westritschnig et al., 2003, Addo-Yobo et al., 2001, Nyan et al., 2001, Ng'ang'a et al., 1998, Nurse et al., 1997*).

Es ist bekannt, dass eine parasitäre Belastung der Mutter während der Schwangerschaft das Immunsystem des Kindes bereits pränatal aktivieren und prägen kann (*Pit et al., 2000, Soboslay et al., 1999, Steel et al., 1994, Hightower et al., 1993*). Bereits *in utero* können Bakterien, Viren und Parasiten oder deren Antigene diaplazentar von der Mutter auf den Fetus übertragen werden (*Holloway et al., 2000, King et al., 1998, Prescott et al., 1998, Carlier & Truyens, 1995, Eberhard et al., 1993*). Dieser pränatale Kontakt mit einem Pathogen kann ein Risikofaktor für eine erhöhte Empfänglichkeit des Nachwuchses für Infektionen sein und zu einer höheren Parasitenlast im Falle einer späteren Infektion führen (*Kirch et al., 2003, Elson et al., 1996*). Auf der anderen Seite gibt es Hinweise, dass der pränatale Kontakt mit Parasitenantigenen vor klinischen Symptomen nach einer parasitären Infektion im späteren Leben schützt (*Klei et al., 1986, Lammie et al., 1991*). Auch auf die Ausprägung von Allergien scheint der pränatale Kontakt mit Parasitenantigenen einen supprimierenden Effekt zu haben (*Bashir et al., 2002, Braun-Fahrländer et al., 2002, van den Biggelaar et al., 2000*).

Eine allergische Sensibilisierung der Mutter kann ebenfalls Auswirkungen auf die allergenspezifische Immunreaktivität der Nachkommen im späteren Leben haben (*Herz et al., 2001, Hamada et al., 2000*). Jedoch ist bisher nicht bekannt, ob eine allergische Sensibilisierung der Mutter nicht nur die Ausprägung von Allergien



sondern auch die Inzidenz und den Krankheitsverlauf von parasitären Infektionen der Nachkommen beeinflusst.

Der Einfluss einer parasitären Infektion und allergischen Sensibilisierung der Mutter während der Schwangerschaft auf die sowohl parasitenantigen- als auch allergenspezifische Immunantwort der Nachkommen ist zurzeit Gegenstand kontroverser Diskussionen und bisher nur unzureichend untersucht (*Hamada et al., 2003, Kihlström et al., 2003, Miller et al., 2001, Prescott et al., 1998*).

## 1.1 Allergie

Im Jahre 1906 formulierte der österreichische Pädiater Baron Clemens von Pirquet eine Bezeichnung für die von ihm beobachtete „veränderte Immunantwort“ seiner Patienten gegen bestimmte harmlose Substanzen nach den griechischen Begriffen  $\acute{\alpha}\lambda\lambda\omicron\varsigma$  (allos) = anders/verändert und  $\acute{\epsilon}\rho\gamma\omicron\nu$  (ergon) = Energie/Antwort, die „Allergie“ (*Cohen, 2002, Silverstein, 2000*). Der Begriff Allergie umfasst heute ein weites Spektrum inadäquater Immunreaktionen unterschiedlicher Ausprägung: allergische Rhinokonjunktivitis, atopische Dermatitis, Nahrungsmittelallergie, akute Nesselsucht, Anaphylaxie, Asthma bronchiale und viele mehr. Letzteres wird aufgrund abweichender Immunmechanismen jedoch zunehmend separat betrachtet (*Ramsey & Celedón, 2005*).

Am Anfang der Pathogenese einer allergischen Erkrankung steht die allergenspezifische IgE-Bildung, die allergische Sensibilisierung. Bei wiederholtem Allergenkontakt wird eine spezifische Immunreaktion in Gang gesetzt, die letztlich die Grundlage für die Ausbildung des klinischen Phänotyps „Allergie“ bildet. Dieser Phänotyp ist charakterisiert durch die Ausprägung einer Entzündungsreaktion, an der unterschiedliche Zellkomponenten des Immunsystems beteiligt sind.

Wir verstehen heute allergische Erkrankungen als das Resultat einer komplexen Interaktion zwischen genetischer Prädisposition und Faktoren aus Umwelt und Lebensweise (Art und Ausmaß der Allergenexposition, Ernährung, Infekte, Luftschadstoffe, Konsumverhalten), die gemeinsam in eine immunologische Fehlregulation münden (*von Mutius, 1999, Renz, 1999*).

Zu den Substanzen, welche eine allergische Reaktionen auslösen, gehören Inhalationsallergene wie Pollen, Tierallergene, Milbenkot (z. B. der Mehlstaubmilbe *Dermatophagoides farinae* und Hausstaubmilbe *Dermatophagoides pteronyssinus*) und Schimmelpilz (z. B. *Aspergillus fumigatus*), aber auch Ingestionsallergene

(Nahrungsmittel, Medikamente), Injektionsallergene (Insektengift, Medikamente) und Kontaktallergene (Lau & Wahn, 1999).

## 1.2 Parasiten

Infektionen mit protozoischen und metazoischen Parasiten gehören zu den weltweit häufigsten Erkrankungen. In Westafrika kommen protozoische Erreger wie *Entamoeba histolytica*, *Plasmodium falciparum*, *Trichomonas intestinalis* und *Giardia lamblia* sowie metazoische Parasiten wie *Schistosoma spec.*, *Ascaris lumbricoides*, *Onchocerca volvulus* und Hakenwürmer endemisch vor.

Der Erreger der Amöbenruhr (Amöbiasis), *Entamoeba histolytica*, stellt vor allem in Regionen mit geringem Hygienestandard ein großes gesundheitliches Problem dar. Die Infektion erfolgt durch orale Aufnahme der Zysten. Im Dickdarm schlüpfen aus der Zyste die Trophozoiten, die sich durch Zweiteilung vermehren und wiederum Zysten bilden können, welche mit dem Stuhl ausgeschieden werden. Die gewebsinvasive Magnaform verursacht lokale Gewebeschäden der Darmwand mit blutigen Durchfällen (Que & Reed, 2000), wobei es in schweren Fällen zur hämatogenen Streuung und Besiedlung anderer Organe kommt (Dönges, 1988).

*Giardia lamblia* ist ein einzelliger Dünndarmparasit, der beim Menschen eine Enteritis verursacht. Die mit dem Stuhl ausgeschiedenen, infektiösen Zysten werden mit Lebensmitteln und Trinkwasser verbreitet und wieder aufgenommen. Die Infektion ist nicht invasiv und verläuft oft asymptomatisch. Es kann jedoch zu Übelkeit, Diarrhoe, Malabsorption und Steatorrhoe kommen (Hof & Dörries, 2005).

Trichomonaden sind mehrgeißelige, birnenförmige Protozoen. *Trichomonas intestinalis* kommt besonders in warmen Ländern vor, wo er mit einer Häufigkeit um 10% vor allem bei Kindern im Kolon nachgewiesen werden kann. Klinische Symptome werden nicht beschrieben (Hof & Dörries, 2005).

*Plasmodium falciparum* ist der Erreger der in Westafrika holoendemisch vorkommenden und jährlich in der ganzen Welt über 1 Millionen Todesopfer fordernden Malaria tropica (WHO, 2005). Die Klinik ist durch hohes Fieber, Schüttelfrost und in schweren Fällen durch eine Invasion der Plasmodien in das Gehirn (cerebrale Malaria) mit nachfolgenden tödlichen Mikrozirkulationsstörungen gekennzeichnet (Lou et al, 2001). Die Infektion erfolgt durch einen Stich der weiblichen Mücke der Gattung *Anopheles*, dem Hauptwirt der Plasmodien.

Die Bilharziose oder Schistosomiasis ist eine chronische Infektionserkrankung verursacht durch den Trematoden *Schistosoma spec.*, dessen Hauptzwischenwirt die Süßwasserschnecke der Gattung *Biomphalaria* ist. Das Krankheitsbild der Bilharziose umfasst eine vorübergehende lokale Dermatitis, gefolgt von Fieber, Ödemen, Diarrhoe, Hepatosplenomegalie und Schwäche. Weltweit zeigen ca. 120 der 200 Millionen infizierten Personen solche Symptome. Jährlich sterben 20 000 Menschen an den Folgen der Infektion wie z.B. einem anaphylaktischen Schock in der akuten Phase und einer Schädigung von Leber und Milz nach Verschleppung der Eier (WHO, 2005, van der Werf et al., 2003).

Der Spulwurm *Ascaris lumbricoides* ist mit ca. 1 Milliarde Infestationen einer der weltweit häufigsten humanpathogenen Helminthen (Hof & Dörries, 2005). Er kommt vor allem in ländlichen Gebieten mit niedrigem hygienischem Standard vor und verursacht die Ascariose mit den Symptomen Pneumonie, Fieber, Koliken und Erbrechen. Der klassische Weg einer Infektion erfolgt durch orale Aufnahme der *Ascaris*-Eier mit Gemüse oder Trinkwasser.

Ancylostomatidae oder Hakenwürmer sind 0,7-1,8 cm lange Nematoden, in deren Mundöffnung haken- oder plattenartige Fortsätze (*ankylos*: krumm) ausgebildet sind. Von humanpathogener Bedeutung sind *Ancylostoma duodenale* und *Necator americanus* (Hof & Dörries, 2005). Ihre Verbreitung beschränkt sich heute auf tropische und subtropische Regionen. Die Zahl der mit Hakenwürmern infestierten Personen wird weltweit auf ca. 1,3 Milliarden geschätzt (Crompton, 1999). Die adulten Würmer leben im Dünndarm und verletzen mit ihren Mundhaken die Mucosa des Darms um Blut aufzunehmen. Blutverlust und damit einhergehende Eisenmangelanämie sowie Verdauungsstörungen, Appetitlosigkeit und Gewichtsverlust sind vorrangige Symptome der Ancylostomatidose (Pawlowski et al., 2001).

Die Filarieninfektion Onchozerkose oder „Flussblindheit“ wird durch den Nematoden *Onchocerca volvulus* verursacht. Die infektiösen Larven werden von der Kriebelmücke *Simulium spec.* auf den Menschen übertragen. Die adulten Würmer siedeln sich in Knäueln im subkutanen Bindegewebe an, schädigen durch Auslösen einer Entzündung das umliegende Wirtsgewebe und produzieren Mikrofilarien. Die Mikrofilarien dringen in die Kutis ein und verteilen sich über Jahre hinweg im Körper. Die Entzündung im Auge, die durch wandernde Mikrofilarien ausgelöst wird, kann zur Erblindung führen.

### 1.3 Immunabwehr

Das Immunsystem dient dem Erkennen und der Eliminierung von in den Körper eingedrungenen Pathogenen sowie krankhaft veränderten körpereigenen Zellen. Man unterscheidet zwischen der angeborenen, unspezifischen und der erworbenen, spezifischen Immunantwort.

Die konstitutionelle, unspezifische zelluläre Abwehr dient dem ersten Schutz vor Pathogenen und besteht aus Makrophagen, Granulozyten und natürlichen Killerzellen (*Delves & Roitt, 2000*). Diese Zellen induzieren nach ihrer Aktivierung durch eingedrungene Pathogene eine lokale Entzündungsreaktion mittels der Ausschüttung von Zytokinen und Chemokinen und beseitigen die Antigene durch Phagozytose.

Das immunologische Gedächtnis der erworbenen bzw. adaptiven Immunantwort beruht auf der, nach Erstkontakt mit dem Pathogen induzierten, klonalen Selektion von Lymphozyten mit antigenspezifischen Rezeptoren und Antikörpern. Bei einer erneuten Infektion mit dem gleichen Pathogen kann der Organismus durch eine schnellere und effektivere Erkennung und Eliminierung der Pathogene geschützt werden.

Die Gruppe der für die spezifische Immunabwehr wichtigen Lymphozyten setzt sich aus zwei Zelltypen zusammen: Die B-Zellen, deren Reifung im Knochenmark stattfindet, sezernieren nach Aktivierung spezifische Immunglobuline, die gegen extrazelluläre Pathogene gerichtet sind. Die T-Zellen reifen im Thymus und haben Rezeptoren, die auf antigenpräsentierenden Zellen (APC) exprimierte Peptidfragmente von intrazellulären Pathogenen, welche durch den Major Histocompatibility Complex (MHC) präsentiert werden, erkennen können.

Man unterscheidet zwei unterschiedliche T-Zelltypen: die zytotoxischen T-Zellen ( $CD8^+$ -Zellen) und die T-Helferzellen ( $CD4^+$ -Zellen) (*Delves & Roitt, 2000*). Die T-Helferzellen aktivieren Makrophagen und B-Zellen über die Ausschüttung von Zytokinen und Chemokinen und sind somit sowohl für die humorale als auch die zellvermittelte spezifische Immunantwort wichtig.

Zytokine sind Proteine, die von verschiedenen Zellen freigesetzt werden und als Mediatoren autokrin, parakrin und endokrin durch Bindung an spezifische Rezeptoren das Verhalten von Zellen beeinflussen können.

Zu den Mediatoren, die in der frühen Phase der Entzündung freigesetzt und vor allem der angeborenen Immunantwort zugeordnet werden, gehören die Chemokine.

Der Name „Chemokin“ steht für die Bezeichnung chemotaktische Zytokine und bezeichnet eine Klasse von mehr als 30 Proteinen (8-12kD). Diese Entzündungsmediatoren werden vor allem von Leukozyten sezerniert und können immunkompetente Zellen, vor allem Leukozyten, Monozyten und neutrophile und eosinophile Granulozyten, durch eine gerichtete Chemotaxis zur Quelle der Entzündung, locken (*Oliveira & Lukacs, 2003, Christopherson & Hromas, 2001, Baggiolini et al., 1997*). Auch an der T-Zelldifferenzierung sind Chemokine beteiligt (*Luther & Cyster, 2001*). Die Chemokine werden aufgrund ihrer Aminosäurestruktur in vier Klassen eingeteilt: Die CXC-Chemokine, die CC-Chemokine, die C-Chemokine und die CX<sub>3</sub>C-Chemokine (*Zlotnik & Yoshie, 2000*). Sie können an unterschiedliche Chemokinrezeptoren binden, wobei an einen Rezeptor auch mehrere Chemokine binden können. Die in dieser Arbeit behandelten Chemokine sind:

Klasse	Chemokin	Abk.	Systemat. Name	Rezeptor
CXC	Epithelial Neutrophil-activating Protein 78	ENA-78	CXCL 5	CXCR1, 2
CXC	Interleukin 8	IL-8	CXCL 8	CXCR1, 2
CC	Monocyte Chemoattractant Protein 1	MCP-1	CCL 2	CCR2B
CC	Macrophage Inflammatory Protein 1 $\alpha$	MIP-1 $\alpha$	CCL 3	CCR1, 3, 5
CC	Macrophage Inflammatory Protein 1 $\beta$	MIP-1 $\beta$	CCL 4	CCR1, 3, 5
CC	Thymus and Activation Regulated Chemokine	TARC	CCL 17	CCR4
CC	Macrophage-derived Chemoattractant	MDC	CCL 22	CCR4

**Tab. 1:** Die in dieser Studie untersuchten Chemokine.

Mosmann et al. (*Mosmann & Coffmann, 1989*) haben 1989 eine Unterscheidung der T-Helferzellen gemäß ihrer Zytokinproduktion in zwei Subpopulationen vorgeschlagen: T-Helferzellen Typ 1 (Th1) und T-Helferzellen Typ 2 (Th2). Alle T-Helferzellen entwickeln sich aus naiven Th0-Zellen (Abb.1), die sich nach Aktivierung und in Abhängigkeit vom vorherrschenden Zytokinemilieu in Th1- oder Th2-Zellen differenzieren (*Spellberg & Edwards, 2001, Renz, 1999, Seder & Paul, 1994*).

Th1-Zellen zeichnen sich durch Sekretion der Zytokine IFN- $\gamma$ , IL-2 und IL-12 aus und sind wesentlich für intrazelluläre, zytotoxische Immunreaktionen, Virusabwehr, Tumorabwehr und Abort verantwortlich. Bei den für die extrazelluläre Parasitenabwehr und Vermittlung der allergischen Reaktion zuständigen Th2-Zellen findet man eine Sekretion der Zytokine IL-4, IL-5, IL-10 und IL-13 (Renz, 1999, Del Prete et al., 1994). Da z.B. die Th2-typischen Zytokine IL-10 und IL-13 auch von Th1-Zellen gebildet werden (de Waal Malefyt et al., 1995, Yssel et al., 1992), wurde die Definition, welcher Gruppe eine T-Helferzelle zugeordnet wird, anhand der Produktion von IL-4 (Th2) und IFN- $\gamma$  (Th1) vorgenommen (Spellberg & Edwards, 2000).

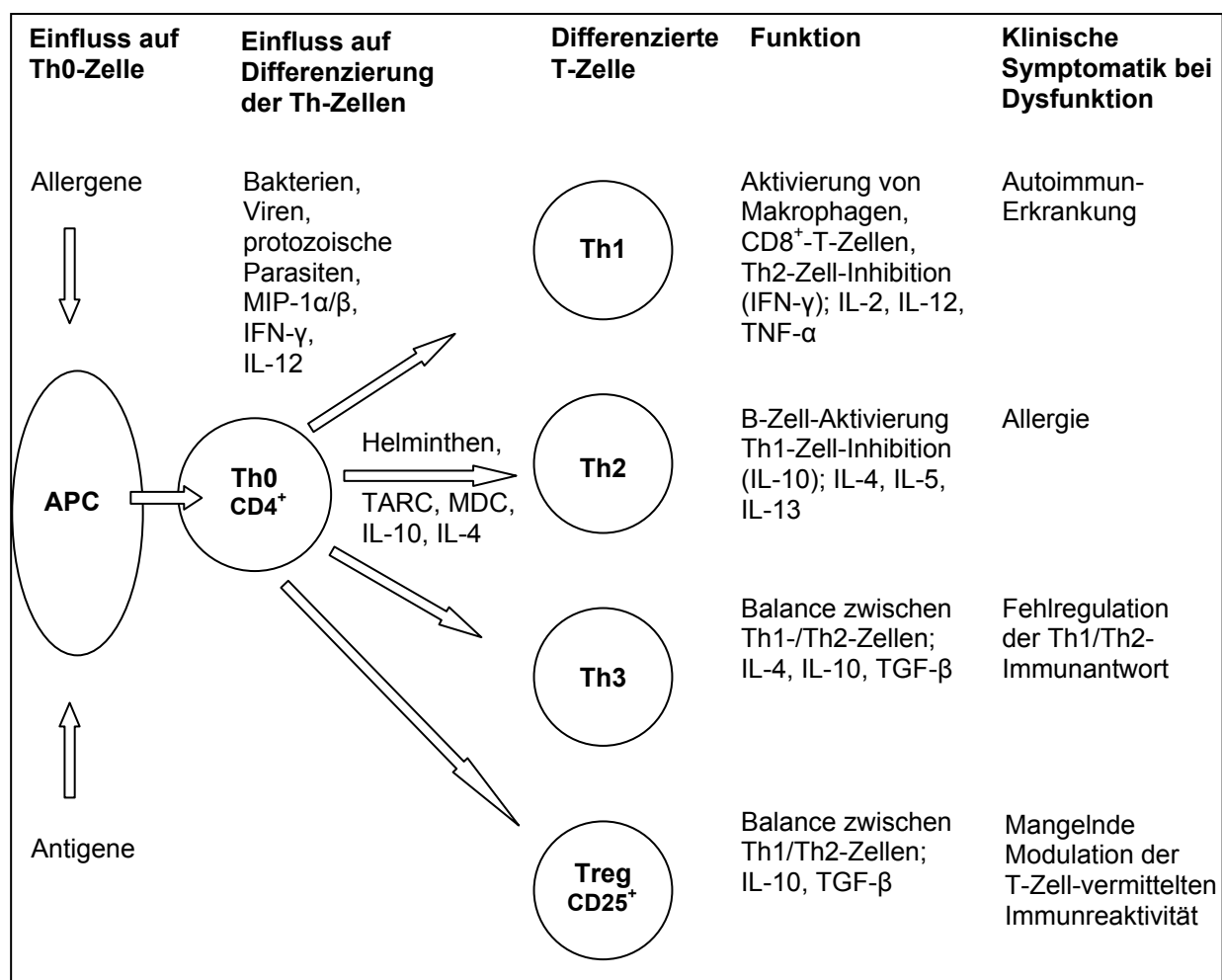


Abb. 1: Schematische Skizze der T-Zelldifferenzierung

Auch den Chemokinen wird eine Bedeutung in der T-Zellpolarisierung in Th1- und Th2-Immunantwort zugeschrieben. So wurde eine Induktion der Produktion von IL-12 und IFN- $\gamma$  durch MIP-1 $\alpha$  und IL-4 durch MCP-1 beschrieben (Luther & Cyster, 2001). Die Th1- und Th2-Effektorzellen stehen *in vivo* in ständiger Wechselwirkung miteinander: Das Th1-Zytokin IFN- $\gamma$  ist ein wesentlicher Inhibitor von Th2-Zellen

(Gajewski & Fitch, 1988) und umgekehrt kann IL-4, das von Th2-Zellen produziert wird, hemmend auf Th1-Zellen wirken (Ito et al., 1999, Renz, 1999). Während einer Infektion können sowohl Th1- als auch Th2-Zytokine sezerniert werden (Pit et al., 2001).

Eine weitere Gruppe von T-Zellen sind die regulatorischen T-Lymphozyten, aus deren Vielfalt zwei wichtige Zelltypen genannt werden sollen: Die Th3-Zellen, welche TGF- $\beta$ , IL-4 und IL-10 bilden (Weiner, 2001) und die regulatorischen CD4<sup>+</sup>-, CD25<sup>+</sup>- T-Zellen (Treg), welche ebenfalls IL-10 und TGF- $\beta$  produzieren (Roncarolo et al., 2003). Sowohl die Th3- als auch die Treg-Zellen können antigenspezifische Reaktionen des Immunsystems regulieren und unterdrücken (Maizels et al., 2004, Fehervari & Sakaguchi, 2004).

Den Treg-Zellen wird zunehmend eine wichtige Rolle in der Balance zwischen einer Th1- und Th2-Immunantwort zugeschrieben (Ling et al., 2004). So wurde sowohl eine Th1-Entgleisung im Sinne einer Autoimmunantwort als auch eine Th2-Deviation, welche zu einer Allergie führen kann, in Zusammenhang mit einer verminderten Produktion der regulatorischen Zytokine IL-10 und TGF- $\beta$  beobachtet (Chai et al., 2005, Roncarolo et al., 2003).

Nachdem die Erreger die äußeren Barrieren des Organismus (Haut, Schleimhäute etc.) passiert haben, werden sie von immunkompetenten APC phagozytiert und in Fragmenten, die im Rahmen der lysosomalen Degradation entstanden sind, an MHC-Molekülen auf der Zelloberfläche präsentiert. Die APC wandern daraufhin in die lokalen Lymphknoten und präsentieren den dort ruhenden T-Zellen die prozessierten Antigene. Die komplementäre Erkennungsstruktur für den MHC-Peptid-Komplex ist auf der Seite der T-Zellen der T-Zell-Rezeptor (TZR). Finden sich kompatible MHC- und TZR-Reaktionspartner so wird die T-Zell-Aktivierung in Gang gesetzt. Es erfolgt die Differenzierung der naiven Th0-Zellen in die verschiedenen Effektorpopulationen, den Th1-, Th2-, Th3- und Treg-Zellen.

#### **1.4 Immunreaktivität bei Allergien**

Bei der Allergie folgt auf einen klinisch stummen Erstkontakt mit einem Allergen bei wiederholtem Kontakt mit dem gleichen Allergen eine überschießende Immunreaktion. Durch diese Entzündungsreaktion, die gegen das vermeintliche Pathogen gerichtet ist, kann der Organismus gravierend geschädigt werden.

Im Fall einer allergischen Sensibilisierung wird bei Erstkontakt durch Th2-Zellen mittels IL-4, IL-5 und IL-13 und spezifischen Liganden (CD40) eine vermehrte Bildung von spezifischen IgE-Antikörpern durch B-Zellen induziert. IFN- $\gamma$ -produzierende proinflammatorische Th1-Zellen können diese IgE-Bildung hemmen. Bei erneutem Allergenkontakt kommt es zur Kreuzvernetzung des auf Mastzellen gebundenen IgE, die eine sofortige Freisetzung von Mediatoren wie Histamin, Leukotriene, Prostaglandine und Thromboxan nach sich zieht und zu den typischen Allergiemechanismen führt: Vasodilatation, Permeabilitätssteigerung, Spasmen der glatten Muskulatur etc.

Obwohl viel über die zu einer allergischen Erkrankung führenden immunologischen Prozesse bekannt ist, ist noch nicht vollständig verstanden, warum es nur in einzelnen Fällen zur Ausprägung einer Allergie kommt.

### **1.5 Immunantwort auf Parasiten**

Parasitäre Infektionen können je nach Art des Parasiten und Dauer der Infektion sowohl eine Modulation als auch eine Suppression des Immunsystems und eine Polarisierung der spezifischen zellulären Immunantwort des Wirts in eine Th1- bzw. Th2-typische Immunantwort herbeiführen (*Que et al., 2003, Fox et al., 2000, Wang & Chadee, 1995, Actor et al., 1993*). Ziel der Modulation der Wirtsimmunantwort durch den Parasiten ist es, eine antiinflammatorische, anerge Umgebung zu schaffen, die dem Überleben und der Vermehrung des Parasiten dient aber gleichzeitig auch das Fortbestehen des unentbehrlichen Wirtes sichert (*Maizels et al., 2004*). Der Säugetier-Wirt reagiert auf die große Bandbreite der unterschiedlichen Helminthen-Spezies – bis auf wenige Ausnahmen – mit einer stereotypen Immunantwort (*Maizels et al., 1993*).

Eine Infektion mit metazoischen Parasiten, wie z.B. Hakenwürmer oder *O. volvulus*, geht mit einer spezifischen zellulären Immunantwort durch Aktivierung der Th2-Zellen und Induktion von Eosinophilie, Mastozytose und erhöhtem IgE einher (*Yazdanbakhsh et al., 2001, Holländer, 1999, Soboslay et al., 1997, Lüder et al., 1996, Maizels et al., 1993, Pearce et al., 1991*). Bei Helminthen-Infektionen wurde eine erhöhte Produktion der Zytokine IL-4, IL-5, IL-10 und IL-13 beschrieben, wobei IL-10 eine den Wirt schützende und damit den Parasiten angreifende Th1-Reaktivität hemmt und auf diese Weise für den Parasiten vorteilhaft ist (*Mosmann & Moore, 1991, Sher et al., 1991*).



Bei Infektionen mit protozoischen Parasiten hingegen wird die Ausbildung einer zytotoxischen T-Zell-Antwort und die Aktivierung von T-Helferzellen vom Typ 1, deren Zytokinproduktion in Makrophagen eine gesteigerte Mikrobizidie stimuliert, beobachtet (*Que et al., 2003, Mosmann & Sad, 1996, Belosevic & Daniels, 1992, Williams et al., 1992*).

Nicht nur die Parasitenspezies, sondern auch variierende Entwicklungsstadien des Parasiten, das Alter des Wirts zum Zeitpunkt der Infektion und die Häufigkeit der Infektionen mit einem oder mehreren Parasiten beeinflussen die Ausprägung der Immunantwort (*Kirch et al., 2003, Scott et al., 2001, Woolhouse & Hagan, 1999, Campell & Chadee, 1997, Lawrence et al., 1994*). Für den Fall einer Infektion mit *Schistosoma mansoni* wurde gezeigt, dass sowohl eine Th1-typische Immunreaktivität am Anfang der Infektion als auch eine Th2-typische Immunreaktivität im späten Infektionsstadium zu beobachten ist (*Pearce et al., 1991*).

### **1.6 Parasiten und Allergie**

Die Zunahme von allergischen Erkrankungen in den wohlhabenden Industrieländern bei sinkender Infektionslast der Bevölkerung wird mit einer mangelnden immunologischen Auseinandersetzung mit bakteriellen und parasitären Antigenen in Verbindung gebracht (*Cooper et al., 2003, Yazdanbakhsh et al., 2002, Prescott, 2001, Warner, 1999, Nurse et al., 1997, Martinez et al., 1995, Gerrard et al., 1976*). Bereits 1989 wies Strachan in seiner „Hygiene Hypothese“ auf den Rückgang der bakteriellen Infektionsbelastung im Kindesalter in den westlichen Industrienationen hin. Als Folge nannte er eine ausbleibende Aktivierung des kindlichen Immunsystems und damit die Unfähigkeit zur adäquaten Immunantwort nach späterem Kontakt mit harmlosen Substanzen wie den Allergenen. Später setzte sich das Th1/Th2-Paradigma als Erklärung der Hygiene Hypothese durch: Eine fehlende Th1-Zell-Stimulation und -Reifung durch mangelnde Infektionslast in frühen Lebensjahren führt zu einer Th2-Zell-Überreaktivität und damit einer allergischen Symptomatik (*Maizels et al., 2004, Sheikh & Strachan, 2004, Mosman & Coffman, 1989*). Diese Hypothese konnte jedoch folgende zwei Beobachtungen nicht erklären: Erstens nimmt die Prävalenz Th1-Zell-vermittelter Autoimmunerkrankungen gemeinsam mit den Th2-Zell-vermittelten Allergien zu. Zweitens beobachtet man in tropischen Ländern mit hoher Prävalenz Th2-Zell-stimulierender Helmintheninfektionen eine sehr niedrige Allergien-Inzidenz (*Wilson & Maizels,*

2004). Van den Biggelaar et al. machten 2000 folgende entscheidende Entdeckung: Mit *Schistosoma* infizierte Kinder zeigten bei Allergietests sehr viel seltener eine positive Reaktivität als nicht infizierte. Dies deutet daraufhin, dass eine Th2-Polarisation induzierende Parasiteninfektion einer Th2-Zell-assoziierten allergologischen Pathologie entgegenwirken kann (Smiths et al., 2005, Bashir et al., 2002). Mehrere Autoren betonen in diesem Zusammenhang die Rolle des regulatorischen Zytokins IL-10 (Mangan et al., 2004, Maizels et al., 2004, Wohlleben et al., 2004, Yazdanbakhsh et al., 2001, van den Biggelaar et al., 2000). Heute zeichnet sich immer deutlicher eine Abwendung von dem relativ simplizistischen Modell einer Th1/Th2-Fehlsteuerung als Erklärung für die beobachtete Assoziation zwischen sinkender Infektionslast und steigender Allergieinzidenz ab (Romagnani, 2004, Sheikh & Strachan, 2004). Die Rollen von regulatorischen T-Zellen und Zytokinen wie IL-10 rücken zunehmend in den Mittelpunkt der Diskussion um den immunologischen Hintergrund der Hygiene Hypothese (Maizels et al., 2004, Sheikh & Strachan, 2004, Yazdanbakhsh et al., 2002, Maloy & Powrie, 2001, Wills-Karp et al., 2001).

### **1.7 Immunreaktivität während der Schwangerschaft**

Eine generelle Suppression der mütterlichen zellulären Immunantwort und eine Th2-Polarisierung des Zytokinmilieus sind wichtige Bedingungen einer erfolgreichen Schwangerschaft (Szekeres-Bartho, 2002, Makhseed, 2001, Prescott et al., 1998, Raghupathy, 1997, Wegmann et al., 1993, Lin et al., 1993, Hegde, 1991). Um eine Abstoßung durch das mütterliche Immunsystem zu verhindern werden von den Feten, verschiedene Proteine (z.B.  $\alpha$ -Fetoprotein) sezerniert, welche die immunologische Reaktivität der Mutter supprimieren (Renz, 1999, Simpson et al., 1993, Holmes & Simpson, 1992, Vanderpuye et al., 1992). Ebenso wird vermehrt IL-10 gebildet, das eine maternale zellvermittelte Th1-Immunreaktion unterdrückt (Moreau, 1999, Renz, 1999). Ein Mechanismus des mütterlichen Organismus zum Erhalt der Schwangerschaft besteht darin, dass die Th1-Zell-Effektorfunktion zu einem großen Teil unter Einfluss des Hormons Progesteron herunterreguliert wird (Raghupathy, 2001, Renz, 1999, Wegmann et al., 1993). Jedoch häufen sich in den letzten Jahren die Zweifel daran, dass eine vollständige Th2-Polarisierung des Zytokinprofils für eine erfolgreiche Schwangerschaft notwendig ist, da z.B. dem Th1-Zytokin IL-12 gehäuft eine wichtige Rolle im Schwangerschaftserhalt zugeschrieben

wurde (Sacks et al., 2003, Chaouat et al., 2003, Zenclussen et al., 2002, Ashkar et al., 2000, Pit et al., 2000, Soboslay et al., 1999).

### **1.8 Modulation der fetalen Immunreaktivität bei Infektion und Allergie der Mutter**

Das kindliche Immunsystem beginnt bereits pränatal mit der Reifung und Differenzierung und wird durch das intrauterine Milieu geprägt (Holt & Jones, 2000, Renz, 1999, Jones et al., 1996). Das neonatale Immunsystem ist zunächst noch Th2-polarisiert (Prescott et al., 1998), kann jedoch unter bestimmten Umständen eine der adulten ähnliche Th1-Aktivität erreichen (Adkins, 2000). Im gesunden Kind entwickelt sich in den ersten Lebensjahren eine ausbalancierte Th1/Th2-Immunaktivität.

Immunepidemiologische Untersuchungen haben gezeigt, dass parasitäre Infektionen während der Schwangerschaft die Immunkompetenz der Nachkommen verändern können (Kirch et al., 2004, Rasheed, 1994). Ebenso gibt es Belege für den Einfluss einer allergischen Sensibilisierung der Mutter auf die allergenspezifische Immunreaktivität der Neugeborenen (Herz et al., 2001, Hamada et al., 2000). Bereits während der Schwangerschaft werden parasitäre, bakterielle und virale Antigene und Allergene diaplazentar von der Mutter auf den Fetus übertragen (Holloway et al., 2000, Szepfalusi et al., 2000, Prescott et al., 1998). Die Nachkommen von infizierten Müttern werden auf diese Weise *in utero* infiziert und immunologisch sensibilisiert (Kihlstrom et al., 2003, Pit et al., 2000, Soboslay et al., 1999, King et al., 1998, Elson et al., 1996, Weil et al., 1983, Lewert & Mandlowitz, 1969). So lassen sich bereits im Nabelschnurblut allergen- und antigenreaktive T-Zellen detektieren (Kirch et al., 2004, Renz, 1999).

Diese pränatale Immunsensibilisierung kann dazu führen, dass eine pränatal induzierte Toleranz des Feten postnatal eine höhere Parasitenlast und chronische Infektionen des Neugeborenen durch eine verminderte Abwehrreaktivität begünstigt (Soboslay et al., 1999, Elson et al., 1996, Carlier & Truyens, 1995, Steel et al., 1994, Hightower et al., 1993, Lammie, 1991, Klei et al., 1986, Lewert & Mandlowitz, 1969).

## 1.9 Fragestellung und Zielsetzung der Arbeit

Eine parasitäre Infektion der Mutter während der Schwangerschaft kann durch eine diaplazentare Übertragung von parasitären, bakteriellen und viralen Antigenen bereits *in utero* die Reifung des fetalen Immunsystems beeinflussen (Pit et al., 2000, Soboslay et al., 1999, Prescott et al., 1998, Steel et al., 1994, Hightower et al., 1993). Ein pränataler Kontakt mit einem parasitären Pathogen kann ein Risikofaktor für eine erhöhte Empfänglichkeit für parasitäre Infektionen sein und zu einer höheren Parasitenlast im Falle einer Infektion im späteren Leben führen (Kirch et al., 2003, Elson et al., 1996). Des Weiteren gibt es Hinweise, dass der pränatale Kontakt mit Parasitenantigenen durch spezifische Toleranzinduktion vor klinischen Symptomen nach einer parasitären Infektion im späteren Leben schützt (Klei et al., 1986, Lammie et al., 1991). Auch auf die Ausprägung von Allergien scheint der pränatale Kontakt mit Parasitenantigenen einen supprimierenden Effekt zu haben (Bashir et al., 2002, Braun-Fahrländer et al., 2002, van den Biggelaar et al., 2000). Des Weiteren ist bekannt, dass eine allergische Sensibilisierung der Mutter bedeutet, dass die Nachkommen mit erhöhter Wahrscheinlichkeit ebenfalls Allergien entwickeln (Herz et al., 2001, Hamada et al., 2000, Renz, 1999). Ob eine allergische Sensibilisierung der Mütter jedoch auf die parasitenantigenspezifische Immunreaktivität der Neugeborenen einen Einfluss hat, ist bisher nur unzureichend untersucht.

In dieser Studie sollten die Auswirkungen einer parasitären Infektion und allergischen Sensibilisierung bei Müttern auf die allergen- und parasitenantigenspezifische zelluläre Chemokin- und Zytokinproduktion der Neugeborenen und deren Mütter untersucht werden. Hierfür wurden in einem für Parasiten endemischen Gebiet, der Zentralregion der westafrikanischen Republik Togo, folgende Untersuchungen durchgeführt: Mononukleäre Nabelschnurblutzellen (UCBC) und mononukleäre Zellen des peripheren Blutes (PBMC) der Mütter wurden isoliert und *in vitro* mit Parasitenantigenen und Allergenen stimuliert. Es wurde mit Antigen von *Schistosoma mansoni*, *Entamoeba histolytica*, *Plasmodium falciparum*, *Onchocerca volvulus* und *Ascaris lumbricoides* und Allergen von *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae*, *Candida albicans* und *Aspergillus fumigatus* stimuliert. Die allergen- und antigenspezifische Sekretion der Chemokine ENA-78, IL-8, MCP-1, MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , TARC und MDC und Zytokine IFN- $\gamma$  und IL-10 bei UCBC der Neugeborenen und PBMC der Mütter wurde quantifiziert. Der

Infektions- und Allergiestatus der Mütter wurde mit parasitologischen und serologischen Untersuchungen ermittelt und die Mütter und deren Neugeborenen entsprechend dem mütterlichen Infektionsstatus in die jeweils Status-positiven bzw. Status-negativen Gruppen eingeteilt.

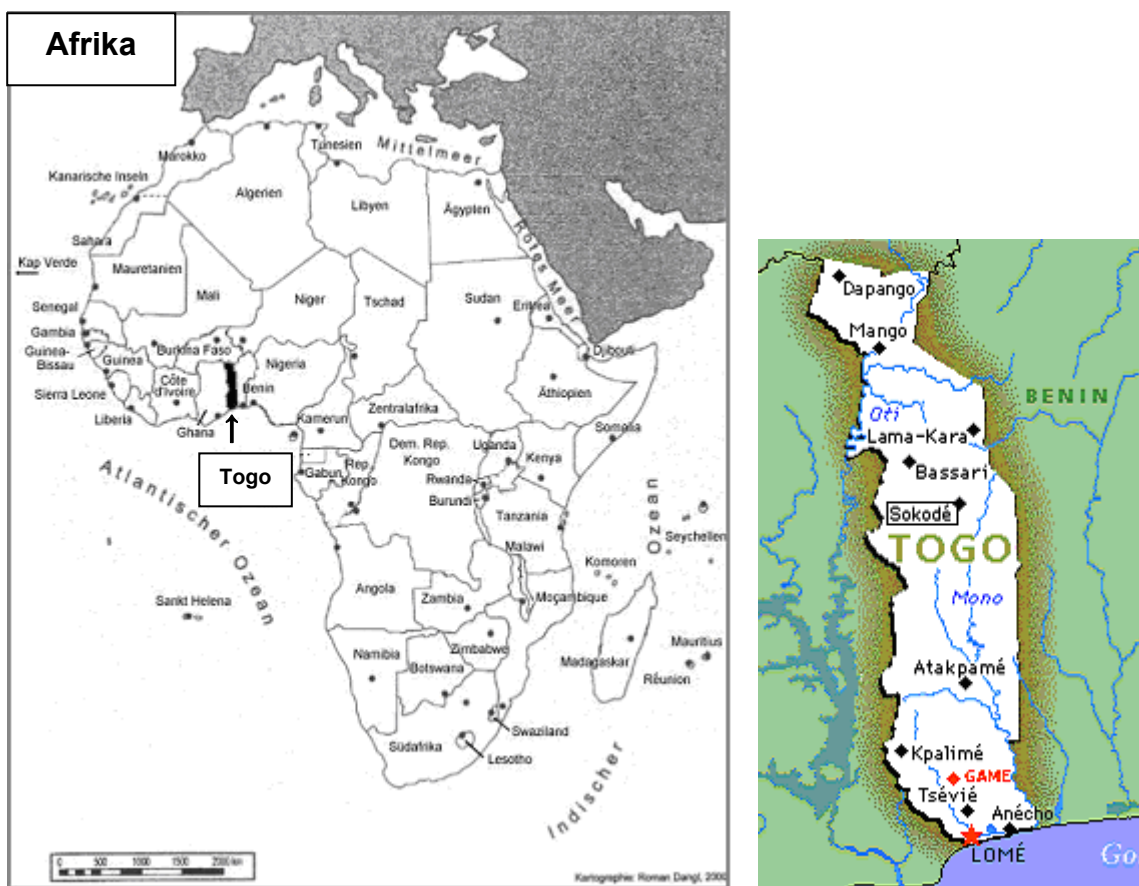
Die allergen- und parasitenantigenspezifische Sekretion der Chemokine ENA-78, IL-8, MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , TARC und MDC und der Zytokine IFN- $\gamma$  und IL-10 bei UCBC der Neugeborenen und PBMC der Mütter wurde unter den drei folgenden Gesichtspunkten untersucht:

1. Gibt es einen Unterschied in der Sekretion bei Allergen-sensibilisierten Müttern und nicht sensibilisierten Müttern und deren Neugeborenen?
2. Gibt es einen Unterschied in der Sekretion bei Helminthen-infizierten und nicht infizierten Müttern und deren Neugeborenen?
3. Gibt es einen Unterschied in der Sekretion bei Protozoen-infizierten und nicht infizierten Müttern und deren Neugeborenen?

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Untersuchungsgebiet und Probanden

Die vorliegende Studie wurde am „Centre Hospitalier de la Région Centrale“ (CHR), dem Regionalkrankenhaus in Sokodé, Togo durchgeführt (Abb.2). Der westafrikanische Staat Togo liegt in der tropischen Klimazone und beherbergt etwa 5 Millionen TogoerInnen aus 40 verschiedenen Ethnien. Sokodé liegt ca. 350 Kilometer nördlich der Landeshauptstadt Lomé und ist mit einer Bevölkerung von etwa 70.000 Einwohnern die Hauptstadt der Zentralregion.



**Abb. 2:** Aufsichtskarte von Afrika und der Republik Togo.

An der Studie nahmen insgesamt 137 Neugeborene aus Sokodé und der Umgebung teil. Von 65 dieser 137 Neugeborenen konnten die Mütter für eine weiterführende Teilnahme an den Untersuchungen gewonnen werden. Die Datenerhebung wurde im Referenzlabor der Universität Tübingen, das dem CHR in Sokodé angegliedert ist, durchgeführt.

Alle Mütter wurden vom medizinischen Personal über Ziel und Ablauf der Untersuchungen aufgeklärt. Es wurden nur bei Einverständniserklärung der Mütter bei den Neugeborenen und ihnen selbst Blutproben entnommen.

Für diese Untersuchungen lagen sowohl eine „Autorisation“ des Gesundheitsministeriums in Lomé als auch eine Genehmigung durch die Ethikkommission des Universitätsklinikums Tübingen vor.

## **2.2 Ablauf der Studie und Probengewinnung**

Die Mütter wurden schon während der Schwangerenvorsorge über die Risiken einer parasitären Infektion während der Schwangerschaft aufgeklärt. Bei der Geburt wurden 20-40 ml des Nabelschnurblutes, eine Gewebeprobe der Plazenta und ein kleines Stück der Nabelschnur entnommen. Des Weiteren wurden Name, Alter, Geburtenanzahl und die Adresse der Frauen von den Hebammen notiert. Das Vollblut wurde in heparinisierten Röhrchen aufgenommen und sofort im Labor weiterverarbeitet. Etwa drei Monate nach der Niederkunft wurden die Frauen zu einer Nachuntersuchung eingeladen. Es wurden 9 ml Blut abgenommen und Stuhl- und Urinproben der Mütter untersucht. Im Falle einer Infektion wurde den Müttern eine medikamentöse Behandlung gemäß den Richtlinien des togoischen Gesundheitsministeriums zugeführt.

### 2.3 Zellisolierung

Periphere mononukleäre Blutzellen (PBMC) der Mütter und Nabelschnurblutzellen (UCBC) der Neugeborenen wurden mittels Ficoll-Dichtegradientenzentrifugation isoliert. Nachdem das Blut abgenommen und in sterilen Heparin-Röhrchen aufgefangen worden war, wurde es wie folgt weiterverarbeitet:

- Das Vollblut wurde 1:2 mit Waschmedium (RPMI 1640, 1 % Antibiotika: Pen/Strep/Amp) verdünnt.
- Je 3 ml Ficoll wurden mit 9 ml des verdünnten Bluts in sterilen 12 ml-Falcon-Röhrchen überschichtet.
- Die Proben wurden für 35 min mit 1100 rpm zentrifugiert, womit eine Phasen-Auftrennung aufgrund von unterschiedlichen Dichtegradienten erreicht wurde: eine Fraktion mit Erythrozyten und Granulozyten, die PBMC bzw. UCBC, die Ficoll-Phase sowie das Plasma (1:2 mit Waschmedium verdünnt).
- Die PBMC bzw. UCBC wurden per Transferpipette mit der Ficoll-Phase in 12 ml-Röhrchen überführt und mit Waschmedium aufgefüllt.
- Waschen der PBMC bzw. UCBC durch Zentrifugation für 15 min mit 1400 rpm.
- Es wurden 1,6 ml Plasma und 800 µl Granulozyten und Erythrozyten in Cryo-Röhrchen für weitere Untersuchungen eingefroren. Die Erythrozyten wurden 1:2 mit Guanidinisothiocyanat (GTC) versetzt.
- Nach dem Zentrifugieren wurde das Waschmedium abgegossen, die Zell- Pellets resuspendiert und die Röhrchen erneut mit Waschmedium aufgefüllt und wiederum für 15 min mit 1400 rpm zentrifugiert.
- Der Waschvorgang wurde ein drittes Mal wiederholt.
- Nach Abschütten des Waschmediums wurden die Zellen in 2ml Zellkulturmedium (RPMI 1640, 1 % Antibiotika Pen/Strep/Amp, 5 % Fetal Calf Serum) aufgenommen.
- Für die Bestimmung der Zellzahl wurden 10 µl der Probe 1:5 mit Waschmedium verdünnt und mit Trypanblau (1:2 Verdünnung) angefärbt. Anschließend wurden die UCBC bzw. PBMC unter dem Mikroskop mit Hilfe einer Neubauer Zählkammer ausgezählt.
- Die Zellsuspension wurde mit Zellkulturmedium auf die Konzentration von  $1 \times 10^7$  Zellen/ml eingestellt.



## 2.4 Zellkulturansatz

- Eine 48-Well Zellkulturplatte wurde je Well mit 1 ml UCBC- bzw. 0,5 ml PBMC-Zellsuspension gefüllt. Zum Schutz vor Verdunstung während der Inkubation wurden die äußeren Wells mit Waschmedium gefüllt.
- Zu den UCBC wurden 5 µl Allergen/Antigen pro Well gegeben bzw. zu den PBMC 2,5 µl Antigen/Allergen und bei 37° C, gesättigter Luftfeuchtigkeit und 5 % CO<sub>2</sub> inkubiert. Ein Zellansatz wurde je Inkubationsdauer als unstimulierte Kontrolle (*Baseline*) mitgeführt.
- In Abhängigkeit der Zellzahl wurden Zellkulturansätze beginnend bei 24 über 48 und 72 bis zu 96 Stunden durchgeführt.
- Nach Inkubation wurden die Ansätze in Eppendorfcups überführt und mit 1400 rpm für 2 min zentrifugiert.
- Die Überstände wurden vom Zellpellet abgenommen, in Monoblöcke gegeben und bei -20° C eingefroren.
- Die Pellets wurde in 250 µl GTC resuspendiert und eingefroren.

## 2.5 Parasitenantigen- und Allergenlösungen

Folgende Parasitenantigene und Allergene wurden verwendet:

Allergene	Konzentration (µg/ml)
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i> -Antigen (Dp)	9,8
<i>Dermatophagoides farinae</i> -Antigen (Df)	8,2
<i>Candida albicans</i> -Antigen (Ca)	6,9
<i>Aspergillus fumigatus</i> -Antigen (Af)	6,0
Parasitenantigene	Konzentration (µg/ml)
<i>Entamoeba histolytica</i> -Antigen (Eh)	10
<i>Plasmodium falciparum</i> -Antigen (Pf)	2,2
<i>Onchocerca volvulus</i> -Antigen (Ov)	15,4
<i>Ascaris lumbricoides</i> -Antigen (Asc)	30,3
<i>Schistosoma mansoni</i> -Antigen (Sm)	4,6

**Tab. 2:** Verwendete Parasitenantigen und Allergene

Die verwendeten Antigen- und Allergenlösungen waren von vorangegangenen Studien bereits im Labor vorhanden und konnten freundlicherweise übernommen werden.

## 2.6 Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Zum quantitativen Nachweis von Zytokinen und Chemokinen in den Zellkulturüberständen wurde der indirekte Enzyme-linked Immunosorbent Assay (Sandwich-ELISA) angewandt.

### 2.6.1 Zytokin-ELISA

Mittels ELISA wurden folgende Zytokine in den Zellkulturüberständen quantifiziert: IFN- $\gamma$  und IL-10.

- Beschichten von 96-Well-Mikrotiterplatten (EIA/RIA) mit spezifischen Fänger-Antikörpern gegen das zu untersuchende Zytokin: 50  $\mu$ l der Verdünnung pro Well. Verdünnung mit Beschichtungspuffer A: IL-10 = 1:200; IFN- $\gamma$  = 1:100.
- Inkubation über Nacht bei 4° C.
- Nach Abschütten des Antikörpers und Ausklopfen der Platten wurden die freien Bindungsstellen mit Blockierlösung (PBS/5 % BSA) blockiert: 75  $\mu$ l pro Well für zwei Stunden bei RT.
- Waschen der Platten mit Waschpuffer (4x).
- Zugabe von 35  $\mu$ l der Zellkulturüberstände bzw. des Standards pro Well. Vom Standard wurde eine Doppelbestimmung durchgeführt. Die Standardreihen hatten eine Ausgangskonzentration von 5000 pg/ml und wurden in 1:2-Verdünnungsstufen bis auf 71 pg/ml mit PBS/5 % BSA verdünnt. Als Nullwert wurde PBS/5 % BSA verwendet.
- Zugabe von 15  $\mu$ l SA-HRP-konjugiertem Detektor-Antikörper je Well. Verdünnung der Detektor-Antikörper für IL-10 und IFN- $\gamma$  1:11 mit Blockierlösung.
- Inkubation für zwei Stunden bei RT.
- Waschen der Platten mit Waschpuffer (4x).
- Zugabe von 50  $\mu$ l pro Well TMB (Peroxidase Substrate) 1:2 mit Peroxide Solution (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) versetzt.
- Nach erfolgtem Farbumschlag wurde die Reaktion mit 1 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> abgestoppt.
- Photometrische Messung bei 450 nm.

### 2.6.2 Chemokin-ELISA

Folgende Chemokine wurden in den Zellkulturüberständen quantitativ mittels ELISA gemessen: ENA-78, IL-8, MCP-1, MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , TARC und MDC.

Das Verfahren des Chemokin-ELISA war mit dem Zytokin-ELISA (2.6.1) beinahe identisch. Folgende Abweichungen waren zu beachten:

- Die Verdünnung der Fänger-Antikörper mit PBS war bei allen Chemokinen 1:250.
- Zur 1:250-Verdünnung der Detektor-Antikörper wurde die Blockierlösung verwendet.
- Da der Detektor-Antikörper des Chemokin-ELISA nicht wie in 2.6.1 mit SA-HRP konjugiert war, wurde nach Abwaschen des Antikörpers 50 µl pro Well HRP-konjugiertes Streptavidin zugegeben und für eine Stunde bei RT inkubiert. Das SA-HRP war 1:200 mit Blockierlösung verdünnt.

### **2.6.3 Auswertung der OD-Werte**

Um die OD-Werte in pg/ml umrechnen zu können, wurde aus den Doppelbestimmungen des Standards der Mittelwert ausgerechnet, davon der Mittelwert der Nullwerte abgezogen und die Standardkurve mit zugehöriger Regressionsgerade und –gleichung ermittelt. In diese Gleichung wurden die gemessenen OD-Werte eingesetzt und in pg/ml umgerechnet.

### **2.6.4 Verwendete Puffer**

#### **Beschichtungspuffer A (PBS):**

1 PBS-Tablette (Phosphat Buffered Saline Tablets, SIGMA) in 200 ml destilliertem Wasser gelöst; pH 7,4. 1 Liter PBS enthielt: 8,0 g NaCl; 1,42 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; 0,2 g KCl; 0,2 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ .

#### **Beschichtungspuffer B (Bicarbonat, 0,1M):**

Bestandteile auf einen Liter destilliertes Wasser: 4,3 g  $\text{NaHCO}_3$ , 5,3 g  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ .

Der pH-Wert betrug 9,4.

#### **Blockierlösung (PBS/ 5% BSA):**

Zu 50 ml des Beschichtungspuffers A (PBS) wurde 5 % Bovines Serum Albumin (BSA) gegeben.

#### **Waschpuffer:**

In 1 Liter destilliertem Wasser waren gelöst: 8 g NaCl; 1,42 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ; 0,2 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ; 0,2 g KCl; 50 µl TWEEN-20.

## 2.7 Serologische Untersuchungen

### 2.7.1 Bestimmung der Plasma-Antikörperreaktivität mittels ELISA

- EIA/RIA-Platten wurden mit 50 µl Antigen bzw. Allergen zu 5 µg/ml mit 0,1 M Bikarbonat (Beschichtungspuffer B) verdünnt beschichtet.
- Folgende Immunglobulin-Subklassen wurden für die untersuchten Antigene bei Müttern und Neugeborenen bestimmt:

Parasitenantigen	Ig bei Müttern	Ig bei Neugeborenen
<i>Entamoeba histolytica</i> -Antigen	IgA	IgG <sub>3</sub>
<i>Plasmodium falciparum</i> -Antigen	IgG <sub>4</sub>	IgG <sub>4</sub>
<i>Schistosoma mansoni</i> -Antigen	IgA	IgG <sub>3</sub>
<i>Ascaris lumbricoides</i> -Antigen	IgG <sub>3</sub>	IgG <sub>3</sub>
<i>Onchocerca volvulus</i> -Antigen	IgG <sub>1</sub>	IgG <sub>1</sub>

**Tab. 3:** Die zur Bestimmung der Plasma-Antikörperreaktivität verwendeten Immunglobulin-Subklassen (Ig).

- Inkubation über Nacht bei 4° C.
- Abschütten und anschließendes Blockieren der Platten mit 75 µl Blockierlösung pro Well für zwei Stunden bei RT.
- Viermaliges Waschen der Platten mit Waschpuffer.
- Die 1:20 mit PBC/5 % BSA verdünnten Plasmaproben wurden aufgetragen, 50 µl pro Well in Doppelbestimmung mit einem Leerwert (PBS/5 % BSA).
- Inkubation für 2 Stunden bei RT; Ausklopfen und Waschen der Platten (4x).
- Die mit PBS verdünnten Detektor-Antikörper (Tab. 4) wurden mit 50 µl pro Well aufgetragen. Wenn vorhanden wurde ein Biotin-konjugierter Anti-human Detektor-Antikörper verwendet, sonst wurden Alkalische Phosphatase-Konjugate eingesetzt.
- Bei den AP-konjugierten Detektor-Antikörpern wurde nach zweistündiger Inkubation bei RT 50 µl Substratlösung para-Nitrophenyl-Phosphat (pNPP) pro Well aufgetragen und eine kinetische Messung der Farbreaktion durch Einlesen der Platten im 15 min-Takt und Messung bei 405 nm durchgeführt.
- Bei den Biotin-konjugierten Anti-human Detektor-Antikörpern wurde nach zwei Stunden Inkubation bei RT SA-HRP in Verdünnung 1:2000 zu 50 µl pro Well aufgetragen. Nach 30 min Inkubation bei RT wurde das Substrat TMB 1:2 mit der Peroxidase Solution verdünnt und zu 50 µl pro Well aufgetragen. Nach erfolgter

Farbreaktion wurde mit Schwefelsäure, 50 µl pro Well, die Reaktion gestoppt und die optische Dichte im Photometer bei 450 nm gemessen.

Immunglobulin	Verdünnung
Anti-human IgG <sub>1</sub> -AP/Biotin konjugiert	1:500
Anti-human IgG <sub>2</sub> -AP/Biotin konjugiert	1:500
Anti-human IgG <sub>3</sub> -AP konjugiert	1:500
Anti-human IgG <sub>4</sub> -AP konjugiert	1:500
Anti-human IgA-AP konjugiert	1:10 000

**Tab. 4:** Die zur Bestimmung der Plasma-Antikörperreaktivität verwendeten Immunglobulin-Subklassen und die jeweilige Verdünnung der Detektor-Antikörper. Die Subklassen IgG<sub>1</sub> und IgG<sub>2</sub> wurden sowohl mit Alkalischer Phosphatase (AP) als auch mit Biotin konjugiert verwendet.

### 2.7.2 Bestimmung von allergenspezifischem IgE mittels ELISA

Die Messung des allergenspezifischen IgE im Plasma der Mütter wurde ebenfalls mit einem Sandwich-ELISA durchgeführt. Der spezifische IgE-Nachweis wurde für die Allergene *D. farinae*, *D. pteronyssinus*, *Candida albicans* und *A. fumigatus* durchgeführt. Hierfür wurden Allergen-Scheiben (Spez. IgE-ELISA, ALLERGOPHARMA) eingesetzt. Anstatt an den Rand der Wells wie in 2.7.1 waren die Allergene an den Scheiben gebunden. Die übrigen Arbeitsschritte waren mit den Vorgängen des ELISA für antigenspezifische Antikörper (s. 2.7.1) identisch.

### 2.7.3 Bestimmung des serologischen Status

Anhand der gemessenen OD-Werte wurden die Probanden in drei Gruppen eingeteilt: sero-positiv, sero-grenzwertig und sero-negativ. Hierzu wurde der Grenzwert für den Status sero-negativ definiert: der Mittelwert der fünf niedrigsten OD-Werte wurde je Platte ermittelt und mit der fünffachen Standardabweichung dieser fünf Werte addiert. Als Grenzwert für sero-positive Proben wurden zu dem unteren Grenzwert 0,15 OD-Einheiten addiert. Alle Werte die zwischen den zwei definierten Grenzwerten lagen wurden als sero-grenzwertig eingestuft und in der Auswertung nicht berücksichtigt.

### 2.7.4 Sensitivität und Spezifität

Mit Hilfe der Ergebnisse der parasitologischen Untersuchungen der Stuhl- und Urinproben der Mütter konnte die Spezifität und Sensitivität der serologischen Untersuchung für *E. histolytica* und *S. mansoni* berechnet werden. Dafür wurden die serologischen Ergebnisse im Vergleich zu der Parasitologie als richtig-negativ (rn), falsch-negativ (fn), richtig-positiv (rp) und falsch-positiv (fp) bewertet und die Sensitivität bzw. Spezifität wie folgt berechnet:

$$\text{Sensitivität} = (rn/rn + fp) * 100$$

$$\text{Spezifität} = (rp/rp + fn) * 100$$

### 2.8 Parasitologische Untersuchungen

Die Stuhl- und Urinproben von 65 Müttern wurden von medizinisch-technischen Laborassistenten des CHR auf protozoische und metazoische Darmparasiten hin untersucht. Die Stuhlproben wurden zunächst nativ und nachfolgend mit der Kato-Katz-Methode (*Katz, 1972*) behandelt und unter dem Mikroskop auf Protozoen und Helminthen-Eier und -Larven hin geprüft. Die Urinproben wurden zentrifugiert und das Sediment mikroskopisch auf Eier von *S. haematobium* untersucht.

### 2.9 Auswertung und Statistik

Für die statistische Auswertung wurden die PC-Programme JMP 5.0 und Microsoft Excel verwendet. Für den statistischen Nachweis signifikanter Unterschiede zweier Gruppen wurde ein nicht-parametrischer Wilcoxon-Test durchgeführt. Des Weiteren wurden eine Korrelationsanalyse und eine logistische Regressionsanalyse der Chemokinproduktionen durchgeführt. Das Signifikanzniveau sowie die Anzahl der erfassten Versuchansätze wurden in der Darstellung der einzelnen Ergebnisse angegeben. Als signifikant unterschiedlich wurden Werte mit  $p \leq 0,05$  gewertet.

### 2.10 Einteilung der Gruppen

Die nachfolgend aufgeführte Gruppeneinteilung wurden bei der Analyse der Chemokin- und Zytokinproduktion der Probanden dazu verwendet, die unterschiedlichen allergen- und antigenspezifischen zellimmunologischen Reaktionen bei Müttern und Neugeborenen bei unterschiedlichem Allergiestatus bzw. Infektionsstatus der Mütter aufzuzeigen.

Die Mütter und ihre Neugeborenen wurden entsprechend dem Allergie- bzw. Infektionsstatus der Mütter in die jeweiligen Status-positiven bzw. Status-negativen Gruppen eingeteilt:

1. Allergisch sensibilisierte und nicht sensibilisierte Mütter und deren Neugeborene.
2. Helminthen-infizierte und Helminthen-negative Mütter und deren Neugeborene.
3. Protozoen-infizierte und Protozoen-negative Mütter und deren Neugeborene.

Für die Definition des Allergie- bzw. Infektionsstatus der Mütter wurden folgende Daten herangezogen: Der Status der allergischen Sensibilisierung der Mütter wurde anhand des spezifischen IgE-Nachweises für *D. farinae* und *D. pteronyssinus* festgestellt (s. 3.2.2.2). Der Infektionsstatus der Mütter mit Helminthen wurde anhand der Daten aus den Ergebnissen der parasitologischen Stuhl- und Urinuntersuchungen und der parasitenspezifischen Antikörperreaktivität der Mütter bestimmt (s. 3.2.1 und 3.2.2.1). Aufgrund der geringen Spezifität und Sensitivität der serologischen Untersuchungen (s. 3.2.2.3), wurden für die Zuteilung der Mütter zu den Gruppen Protozoen-positiv und –negativ nur die Ergebnisse der Parasitologie als Auswahlkriterium verwendet (s. 3.2.1).

## 2.11 Materialien

### 2.11.1 Verbrauchsmaterialien

ALLERGOPHARMA (Reinbek)

Allergen Discs M5, Spez. IgE-ELISA, Konserv.: 0,02 Natriumazid

BIOSOURCE (Nivelles, Belgium)

Anti-human IL-10- und IFN- $\gamma$ -Flexia Coating-Antikörper, biotiniert

Anti-human IL-10- und IFN- $\gamma$ -Flexia Detection-Antikörper

IL-10- und IFN- $\gamma$ -STANDARD

HRP-koniugiertes Streptavidin Cytoset Kit

COSTAR (Corning Incorporated, Corning, NY 14831, USA)

EIA/RIA-Plate, 96-well, Flat botom, High Binding Polystarene

EIA/RIA-Plate, 48-well, Flat Botom, Tissue Culture Treated, Non-Polystyrene

EPPENDORF (Hamburg)

Reaktionsgefäße „Safe-Lock“ 0,5 ml und 1,5 ml

Pipettenspitzen-Combitip plus 5 ml und 0,5 ml

GIBCO (Invitrogen Corporation, Neuseeland)

RPMI 1640 Zellkulturmedium, mit 25 mM Hepes-Puffer und L-Glutamine

GREINER BIO-ONE GMBH (Frickenhausen)

12 ml Polystyrolröhrchen

200 µl und 1000 µl Pipettenspitzen

MERCK (Darmstadt)

Chemikalien

NUNC (Wiesbaden)

Cryo Tubes Vials, 1,8 ml

PIERCE (Rockford, USA)

Peroxidase Substrate (TMB)

Peroxide Solution

R&D SYSTEMS (Mineapolis, USA)

Human MDC, MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , TARC, IL-8, MCP-1, ENA-78 Capture- Ak

Human MDC, MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , TARC, IL-8, MCP-1, ENA-78 Detection- Ak

ROCHE (Mannheim)

RNA/DNA Stabilization Reagent for Blood/Bone Marrow

ROTH (Karlsruhe)

Schwefelsäure, 0,5 mol/l, 1N-Lösung und andere Chemikalien

SEROMED (Biochrom AG, Berlin)

Biocoll Separating Solution (Ficoll)

Fetal Calf Serum (FCS)

Trypanblau (0,5%)

SIGMA (St. Louis, USA)

Antibiotic Antimycotic, 10 000 U Penicillin, 10 mg Streptomycin, 25 µg

Amphotericin B

Phosphat Buffered Saline Tablets (PBS, pH 7,4)

Bovines Serumalbumin (BSA)

p-Nitrophenyl Phosphate Tablets (pNPP)

Polyoxyethylenesorbitan Monolaurate (Tween 20)

ZYMED (California, USA)

AP-Mouse Anti-Human IgG1, IgG2, IgG3, IgG4

Biotin-Mouse Anti-Human IgG1, IgG2

Anti-Human IgA



### **2.11.2 Geräte**

BIO-TEK INSTRUMENTS

Microplate Autoreader EL 311, Spektralphotometer

EPPENDORF GERÄTEBAU (Hamburg)

Zentrifuge 5415C

FORMA SCIENTIFIC Inc. (Marietta, USA)

Water-Jacked-Incubator, Model 3164

HERAEUS HOLDING INSTRUMENTS GmbH (Fellbach)

Hera Safe, Sterilbank

HETTICH (Tuttlingen)

Zentrifuge Typ 1400

NUNC (Roskilde, Dänemark)

Nunc-Immunowash 12

### 3. Ergebnisse

#### 3.1 Altersverteilung, Geburtenanzahl und gesundheitlicher Zustand der Mütter

In der vorliegenden Studie wurden 65 Mütter im Alter von 15 bis 42 Jahren untersucht. Zum Zeitpunkt der Studie hatten die Mütter ihre 1. bis 10. Geburt. Im Durchschnitt war es die 2. bis 3. Geburt. Für 30,8% der Mütter war es die erste Geburt (Abb. 3A).

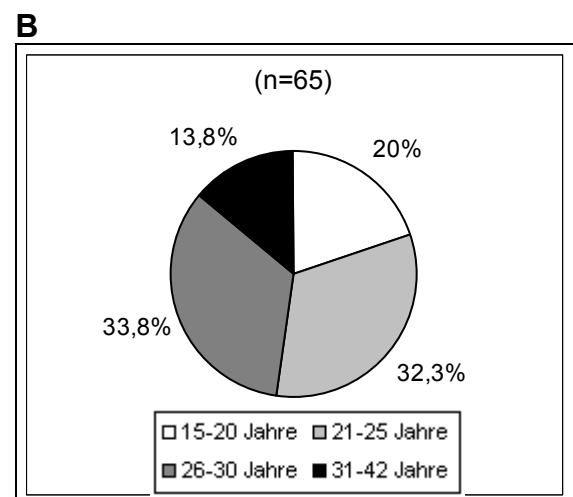
Der Anteil der 26-30jährigen Mütter lag mit 33,8% am höchsten, dicht gefolgt von den 21-25jährigen mit 32,3%. Die 15-20 Jahre alten Mütter waren mit einem Anteil von 20% und die 31-42jährigen mit 13,8% vertreten (Abb. 3B). Der Altersdurchschnitt lag bei 26,6 Jahren.

Von den 137 Geburten, bei denen Nabelschnurblut entnommen wurde, waren 8 Totgeburten. 19 werdende Mütter hatten zum Zeitpunkt der Geburt Fieber ( $>38^{\circ}$ ). Vier Mütter gebaren Zwillinge.

48% (66) der Neugeborenen waren weiblichen, 51% (69) männlichen Geschlechts. Bei 2 Neugeborenen lag keine Angabe zum Geschlecht vor.

**A**

Geburt	Mütter	Anteil (%) (n=65)
1.	20	30,8
2.	15	23,1
3.	18	27,7
4.	6	9,2
5.	2	3,1
6.	3	4,6
10.	1	1,5



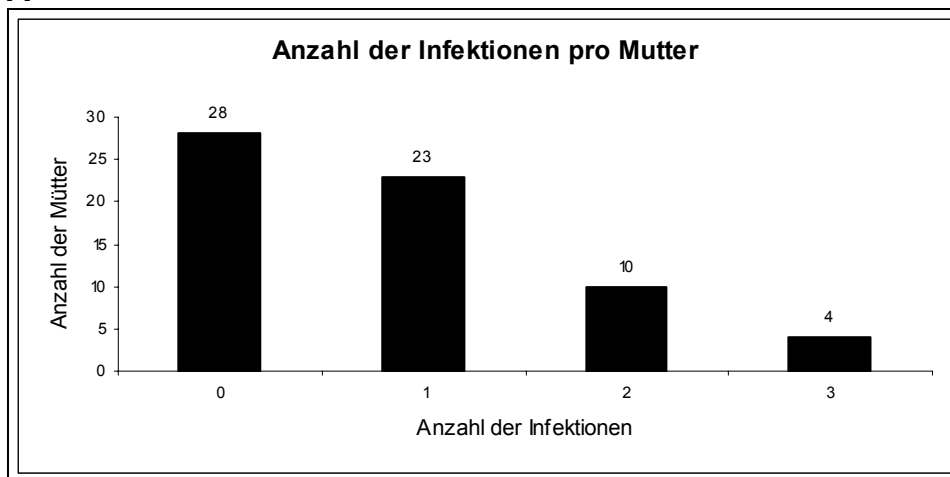
**Abb. 3:** Anzahl der Geburten der Mütter (A). Altersverteilung der Mütter (B).

## 3.2 Infektionsstatus der Mütter

### 3.2.1 Parasitologische Untersuchungen

Anhand der Stuhl- und Urinproben wurde mikroskopisch die momentane Parasitenlast bestimmt. Von 65 waren 37 Mütter (56,9%) mit Parasiten infiziert. Davon waren 34 (52,3%) mit protozoischen Parasiten wie *E. histolytica*, *G. lamblia* und/oder *T. intestinalis* infiziert (Abb. 4). Bei 3 (4,6%) Müttern wurde eine Infektion mit metazoischen Parasiten wie den Helminthen *A. duodenale* und *S. mansoni* festgestellt. Bei 28 Müttern (43,1%) wurden keine parasitären Infektionen diagnostiziert. 35,3% (23) der Mütter waren einfach, 15,3% (10) doppelt und 6% (4) dreifach mit Parasiten belastet (Abb. 4).

**A**



**B**

Parasit	Anzahl infizierter Mütter (n = 65)	Anteil infizierter Mütter (%)
<b>Protozoen</b> (insgesamt)	34	52,3
<i>E. histolytica</i>	28	43,0
<i>G. lamblia</i>	4	6,1
<i>T. intestinalis</i>	20	30,7
<b>Helminthen</b> (insgesamt)	3	4,6
<i>A. duodenale</i>	2	3,0
<i>S. mansoni</i>	1	1,5
<i>S. haematobium</i>	0	0
<b>Ohne Befund</b>	28	43

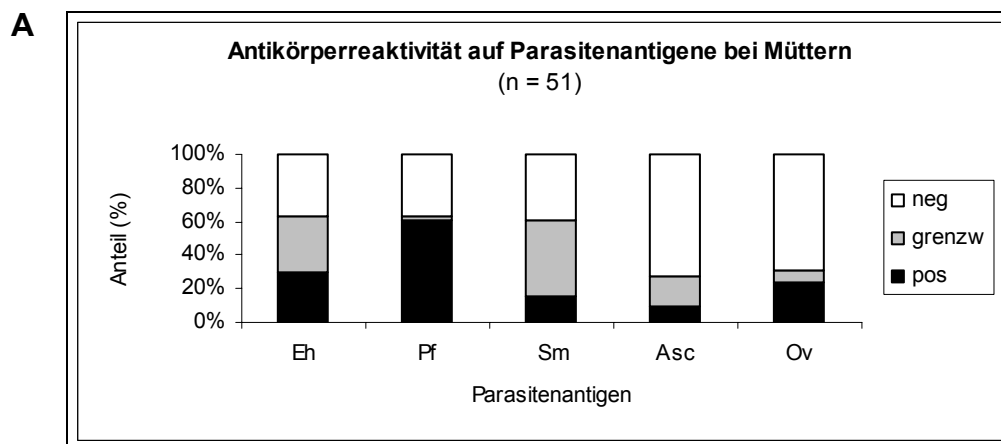
**Abb. 4:** (A) Anzahl der Mütter ohne (0), mit einfachen (1), zweifachen (2) und dreifachen (3) Infektionen. (B) Häufigkeit parasitärer Infektionen, nachgewiesen in Stuhl- und Urinproben bei Müttern (n = 65). Die Analyse der Stuhl- und Urinproben erfolgte für die Protozoen *E. histolytica*, *G. lamblia*, *T. intestinalis* und die Helminthen *A. duodenale* und *S. mansoni* und *S. haematobium*.

### 3.2.2 Serologische Untersuchungen

Die spezifische Antikörperreaktivität der Mütter und Neugeborenen gegen Antigene von *E. histolytica*, *P. falciparum*, *S. mansoni*, *A. lumbricoides*, *O. volvulus* und Allergene von *D. pteronyssinus*, *D. farinae*, *A. fumigatus* und *C. albicans* wurde untersucht.

#### 3.2.2.1 Antikörperreaktivität auf Parasitenantigene

60,8% der 51 auf Antikörperreaktivität gegen Parasitenantigene untersuchten Mütter zeigten eine IgG<sub>4</sub>-positive Reaktion gegen *P. falciparum*-Antigen. 29,4% reagierten serologisch-positiv gegen Antigen des Erregers der Amöbenruhr *E. histolytica*, 23,5% gegen Antigen der Filarie *O. volvulus* und 15,7% gegen Antigen des Erregers der Darmbilharziose *S. mansoni* (Abb. 5).



#### B

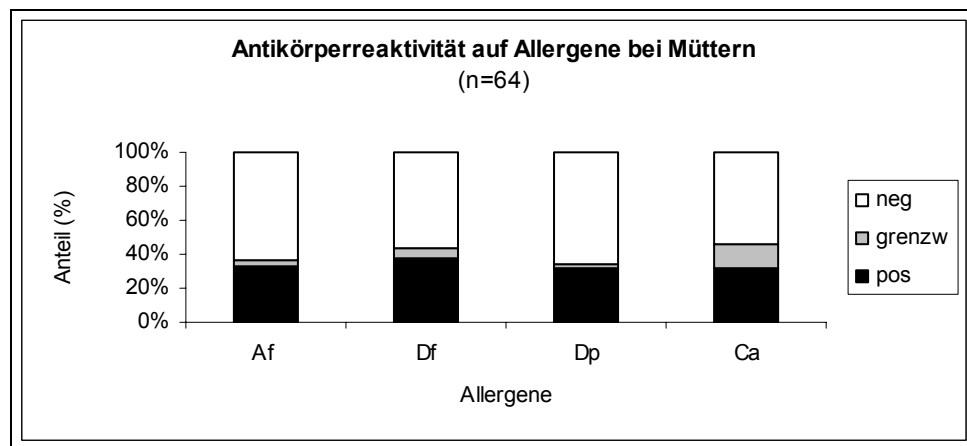
Antigen	Immunglobulin	negativ	grenzwertig	positiv
<i>E. histolytica</i>	IgA	19 (37,3%)	17 (33,3%)	15 (29,4%)
<i>P. falciparum</i>	IgG <sub>4</sub>	19 (37,3%)	1 (2%)	31 (60,8%)
<i>S. mansoni</i>	IgA	20 (39,2%)	23 (45,1%)	8 (15,7%)
<i>A. lumbricoides</i>	IgG <sub>3</sub>	37 (72,5%)	9 (17,6%)	5 (9,8%)
<i>O. volvulus</i>	IgG <sub>1</sub>	35 (68,6%)	4 (7,8%)	12 (23,5%)

**Abb. 5:** (A und B) Antikörperreaktivität der Mütter (n=51) auf protozoische und metazoische Parasitenantigene von *O. volvulus* (Ov), *A. lumbricoides* (Asc), *S. mansoni* (Sm), *E. histolytica* (Eh) und *P. falciparum* (Pf).

### 3.2.2.2 Antikörperreaktivität auf Allergene

Die allergenspezifische IgE-Reaktivität wurde bei 64 Müttern gemessen. Die Mehrheit der Mütter zeigte keine Antikörperreaktivität gegen Allergen von *A. fumigatus* (64,0%), *D. farinae* (56,2%), *D. pteronyssinus* (65,6%) und *C. albicans* (54,6%). 32,8% der Mütter reagierten gegen *A. fumigatus* mit einer IgE-Produktion. Bei 37,5% der Mütter wurde gegen *D. farinae* und bei 31,2% gegen *D. pteronyssinus* eine spezifische Antikörperreaktivität festgestellt. Nach Zugabe von *C. albicans*-Allergenen zeigten 20 (31,2%) Mütter eine spezifische IgE-Reaktivität (Abb. 6).

**A**



**B**

Allergen	IgE- negativ	IgE- grenzwertig	IgE- positiv
<i>A. fumigatus</i>	41 (64,0%)	2 (3,1%)	21 (32,8%)
<i>D. farinae</i>	36 (56,2%)	4 (6,2%)	24 (37,5%)
<i>D. pteronyssinus</i>	42 (65,6%)	2 (3,1%)	20 (31,2%)
<i>C. albicans</i>	35 (54,6%)	9 (14,0%)	20 (31,2%)

**Abb. 6:** (A und B) Antikörperreaktivität (IgE) der Mütter auf Allergene von *A. fumigatus* (Af), *D. farinae* (Df), *D. pteronyssinus* (Dp) und *C. albicans* (Ca).

### 3.2.2.3 Sensitivität und Spezifität

Die serologischen Untersuchungen wurden anhand der parasitologischen Ergebnisse für *E. histolytica* und *S. mansoni* auf ihre Sensitivität und Spezifität hin überprüft. Die Sensitivität und Spezifität der Antigen-ELISA waren deutlich unterschiedlich: Für *E. histolytica* ergaben sich eine Sensitivität von 41,1% und eine Spezifität von 50%. Für *S. mansoni* wurden eine Sensitivität von 100% und eine Spezifität von 72,4% festgestellt.

### 3.3 Chemokinsekretion bei Neugeborenen

Es wurde die allergen- und parasitenantigenspezifische Chemokinsekretion bei UCBC der Neugeborenen untersucht. Die Neugeborenen wurden entsprechend dem mütterlichen Infektions- bzw. Allergiestatus in die jeweils positiven und negativen Gruppen eingeteilt. Daraufhin wurden die Chemokinprofile zwischen den Gruppen verglichen. Gezeigt werden jeweils die Spontansekretion und die Ansätze mit einzelnen Stimulationen, die einen deutlichen Unterschied in der Chemokinsekretion aufwiesen. Bei allen anderen Ansätzen war entweder kein Unterschied zu finden, der Unterschied nicht signifikant oder die Stichprobe zu klein.

#### 3.3.1 Epithelial Neutrophil-activating Protein 78 (ENA-78)

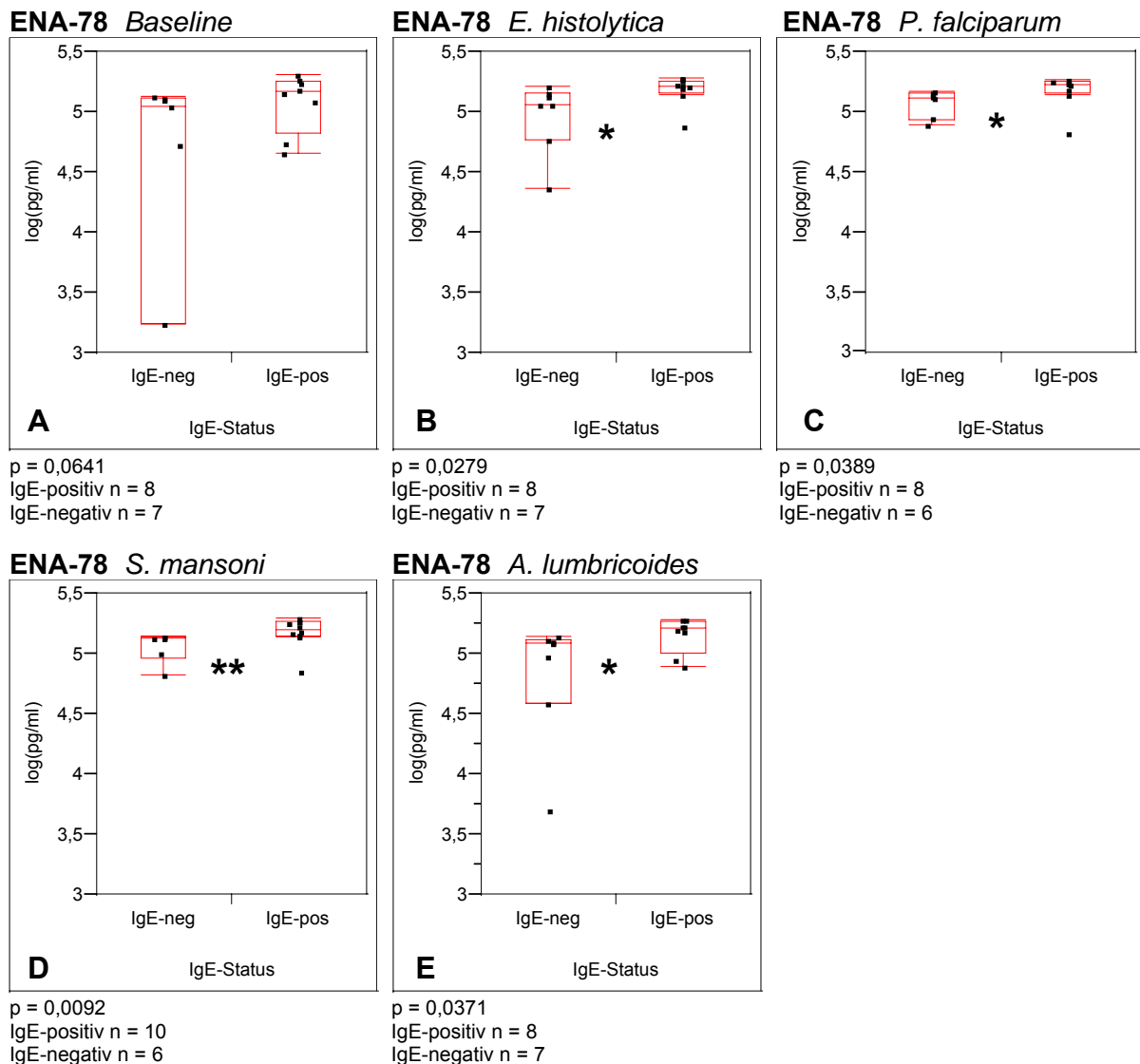
##### a) ENA-78-Sekretion bei Neugeborenen allergisch sensibilisierter Mütter

Die Sekretion des Chemokins ENA-78 der UCBC lag bei Neugeborenen von allergisch sensibilisierten Müttern nach *in vitro* Stimulation für 24 Stunden mit Antigen von *E. histolytica*, *P. falciparum*, *S. mansoni* und *A. lumbricoides* signifikant über den Konzentrationen der Neugeborenen nicht sensibilisierter Mütter (Abb. 7B-E). Die Untersuchung der ENA-78-Sekretion von UCBC nach Zusammenfassung der Allergen- und Antigenstimulationen ergab eine signifikant erhöhte Sekretion bei Neugeborenen allergisch sensibilisierter Mütter im Vergleich zu Neugeborenen nicht sensibilisierter Mütter (s. Anhang 31A).

##### b) ENA-78-Sekretion bei Neugeborenen Helminthen-infizierter Mütter

Die ENA-78-Sekretion von UCBC nach *in vitro* Stimulation mit dem Allergen *C. albicans* sowie Antigen von *A. lumbricoides*, *P. falciparum* und *S. mansoni* war bei Neugeborenen Helminthen-infizierter Mütter signifikant höher als bei Neugeborenen Helminthen-negativer Mütter (Abb. 8B-E). Auch im unstimulierten Zellkulturansatz wurde bei Neugeborenen Helminthen-infizierter Mütter eine signifikant höhere ENA-78-Sekretion gemessen (Abb. 8A).

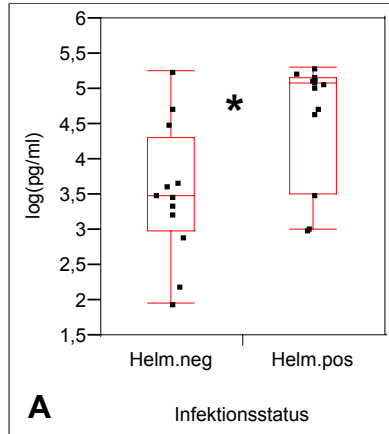
Der Vergleich der neonatalen ENA-78-Sekretion nach Zusammenfassung der Allergen- und Antigenstimulationen ergab eine signifikant erhöhte Sekretion bei Neugeborenen von Helminthen-infizierten Müttern im Vergleich zu Neugeborenen nicht infizierter Mütter (s. Anhang 33A).



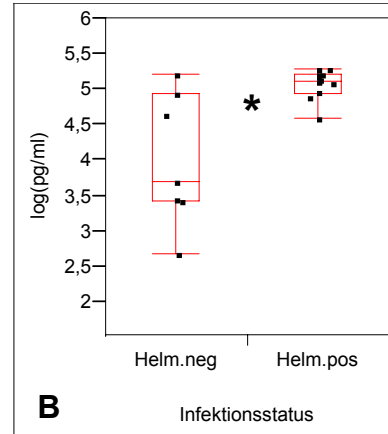
**Abb. 7:** ENA-78-Sekretion (log(pg/ml)) bei UCBC von Neugeborenen allergisch sensibilisierter (IgE-pos) und nicht sensibilisierter Mütter (IgE-neg) nach *in vitro* Stimulation (24h) mit Antigenen von *E. histolytica* (B), *P. falciparum* (C), *S. mansoni* (D) und *A. lumbricoides* (E). In Abb. A ist die Spontansekretion nach 24 Stunden gezeigt. Signifikante Unterschiede sind für  $p \leq 0,05$  als \* und für  $p \leq 0,01$  als \*\* angegeben.

### c) ENA-78-Sekretion bei Neugeborenen Protozoen-infizierter Mütter

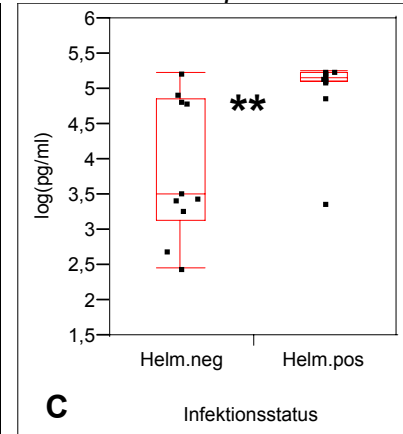
Die Sekretion des Chemokins ENA-78 bei UCBC war nach Stimulation mit Allergen von *C. albicans* und *D. farinae* bei Neugeborenen Protozoen-infizierter im Gegensatz zu Neugeborenen nicht infizierter Mütter signifikant erhöht (Abb. 8G,H). Der Vergleich der neonatalen ENA-78-Sekretion nach Zusammenfassung der Allergen- und Antigenstimulationen ergab eine signifikant erhöhte Sekretion bei Neugeborenen Protozoen-infizierter Mütter im Vergleich zu Neugeborenen nicht infizierter Mütter (s. Anhang 35A).

**ENA-78 Baseline**

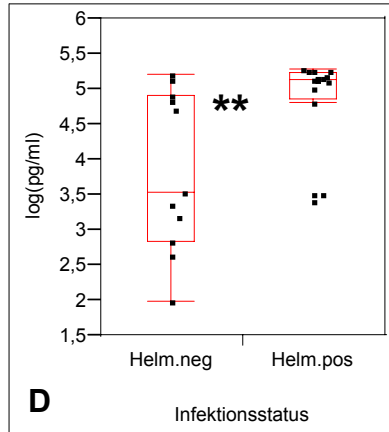
$p = 0,0359$   
 Helminthen-positiv  $n = 15$   
 Helminthen-negativ  $n = 12$

**ENA-78 *A. lumbricoides***

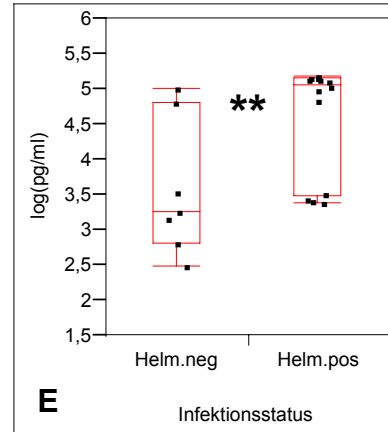
$p = 0,0393$   
 Helminthen-positiv  $n = 13$   
 Helminthen-negativ  $n = 7$

**ENA-78 *P. falciparum***

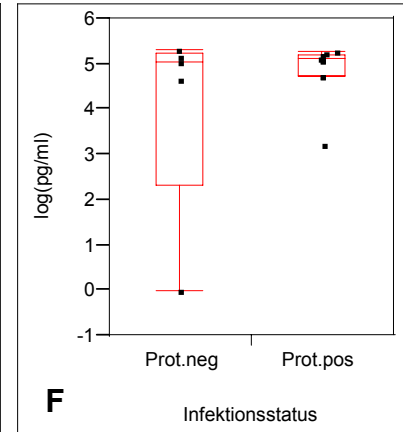
$p = 0,003$   
 Helminthen-positiv  $n = 12$   
 Helminthen-negativ  $n = 10$

**ENA-78 *S. mansoni***

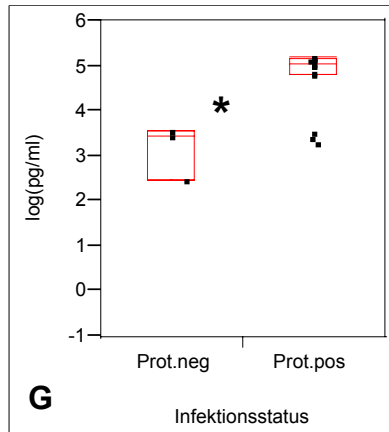
$p = 0,0057$   
 Helminthen-positiv  $n = 16$   
 Helminthen-negativ  $n = 11$

**ENA-78 *C. albicans***

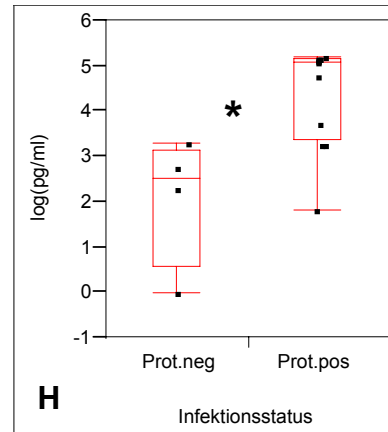
$p = 0,009$   
 Helminthen-positiv  $n = 14$   
 Helminthen-negativ  $n = 7$

**ENA-78 Baseline**

$p = 0,6242$   
 Protozoen-positiv  $n = 10$   
 Protozoen-negativ  $n = 5$

**ENA-78 *C. albicans***

$p = 0,0382$   
 Protozoen-positiv  $n = 15$   
 Protozoen-negativ  $n = 3$

**ENA-78 *D. farinae***

$p = 0,0212$   
 Protozoen-positiv  $n = 12$   
 Protozoen-negativ  $n = 4$

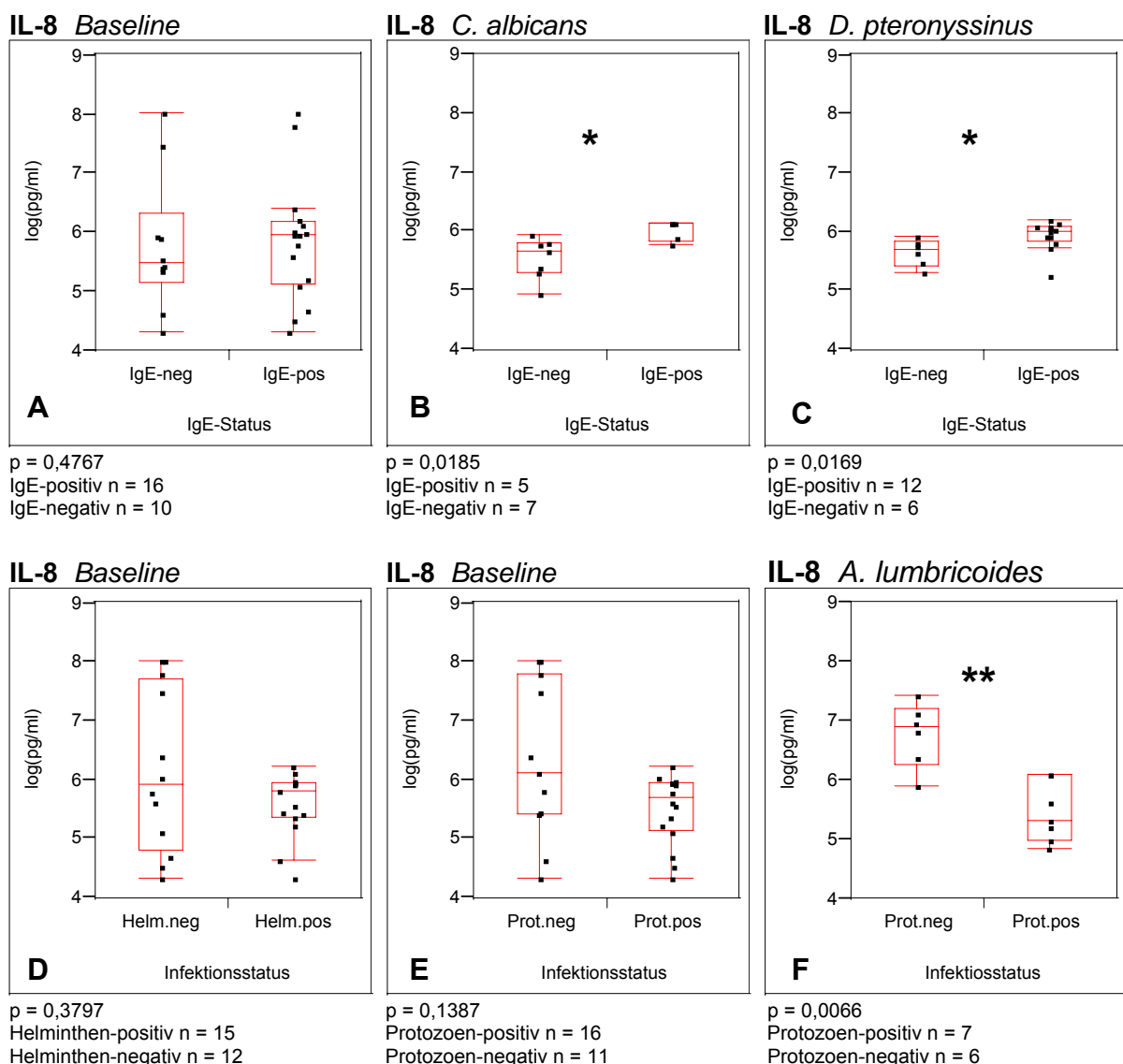
**Abb. 8:** ENA-78-Sekretion (log(pg/ml)) der UCBC Neugeborener von Helminthen-infizierten (Helm.pos) und Helminthen-negativen (Helm.neg) bzw. Protozoen-infizierten (Prot.pos) und Protozoen-negativen (Prot.neg) Müttern spontan (A, F) und nach Stimulation (24h) mit *A. lumbricoides* (B), *P. falciparum* (C), *S. mansoni* (D), *C. albicans* (E, G) und *D. farinae* (H). Signifikante Unterschiede sind für  $p \leq 0,05$  als \* bzw. für  $p \leq 0,01$  als \*\* angegeben.



### 3.3.2 Interleukin 8 (IL-8)

#### a) IL-8-Sekretion bei Neugeborenen allergisch sensibilisierter Mütter

Das proinflammatorische Chemokin IL-8 wurde bei Neugeborenen, deren Mütter zum Zeitpunkt der Geburt allergisch sensibilisiert waren, nach 24-stündiger Stimulation mit Allergen von *C. albicans* und *D. pteronyssinus*, in signifikant erhöhten Konzentrationen gebildet (Abb. 9B, C). Die Analyse der IL-8-Sekretion nach Zusammenfassung der Allergen- und Antigenstimulationen ergab eine signifikant erhöhte Sekretion bei Neugeborenen allergisch sensibilisierter im Vergleich zu Neugeborenen nicht sensibilisierter Mütter (s. Anhang 31B).



**Abb. 9:** IL-8-Sekretion (log(pg/ml)) der UCBC Neugeborener von allergisch sensibilisierten (IgE-pos) und nicht sensibilisierten (IgE-neg), Helminthen-infizierten (Helm.pos) und Helminthen-negativen (Helm.neg) und Protozoen-infizierten (Prot.pos) und nicht infizierten (Prot.neg) Müttern spontan (A, D, E) und nach *in vitro* Stimulation (24h) mit *C. albicans* (B), *D. pteronyssinus* (C) und *A. lumbricoides* (F). Signifikante Unterschiede sind für  $p \leq 0,05$  als \* und für  $p \leq 0,01$  als \*\* angegeben.

**b) IL-8-Sekretion bei Neugeborenen Helminthen-infizierter Mütter**

Es wurde in keinem der Versuchsansätze ein deutlicher Unterschied der IL-8-Sekretion bei Neugeborenen Helminthen-infizierter und nicht infizierter Mütter festgestellt (Abb. 9D).

**c) IL-8-Sekretion bei Neugeborenen Protozoen-infizierter Mütter**

IL-8 wurde nach Stimulation der UCBC mit Antigenen von *A. lumbricoides* in den Zellkulturüberständen der Neugeborenen von Protozoen-negativen Müttern im Vergleich zu den Neugeborenen von Protozoen-infizierten Müttern signifikant erhöht gemessen (Abb. 9F). Bei Untersuchung der IL-8-Sekretion nach Zusammenfassung der Allergen- und Antigenstimulationen wurde eine signifikant erniedrigte Sekretion bei Neugeborenen von Protozoen-infizierten Müttern im Vergleich zu Neugeborenen nicht infizierter Mütter festgestellt (s. Anhang 35B).

**3.3.3 Monocyte Chemoattractant Protein 1 (MCP-1)****a) MCP-1-Sekretion bei Neugeborenen allergisch sensibilisierter Mütter**

Die Sekretion von MCP-1 war nach 24 Stunden *in vitro* Stimulation mit Allergenen von *C. albicans* bei Neugeborenen allergisch sensibilisierter Mütter im Gegensatz zu Neugeborenen nicht sensibilisierter Mütter signifikant erhöht (Abb. 10B). Die neonatale MCP-1-Sekretion war, wenn die Allergen- und Antigenstimulationen zusammengenommen betrachtet wurden, bei Neugeborenen allergisch sensibilisierter Mütter im Vergleich zu Neugeborenen nicht sensibilisierter Mütter signifikant erhöht (s. Anhang 31C).

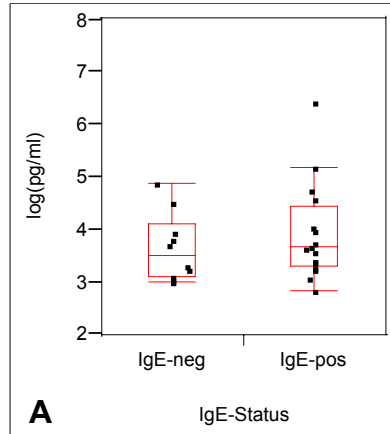
**b) MCP-1-Sekretion bei Neugeborenen Helminthen-infizierter Mütter**

MCP-1 wurde nach Stimulation der Nabelschnurblutzellen mit Antigenen von *S. mansoni* bei Neugeborenen von Helminthen-negativen Müttern im Vergleich zu Neugeborenen Helminthen-infizierter Mütter signifikant erhöht gemessen (Abb. 10D). Nach Zusammenfassung der Allergen- und Antigenstimulationen wurde bei Neugeborenen Helminthen-infizierter Mütter eine im Vergleich zu Neugeborenen nicht infizierter Mütter signifikant erniedrigte MCP-1-Sekretion festgestellt (s. Anhang 33C).

### c) MCP-1-Sekretion bei Neugeborenen Protozoen-infizierter Mütter

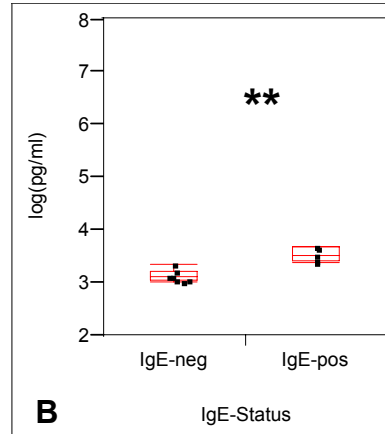
MCP-1 wurde sowohl nach *in vitro* Stimulation mit Antigenen von *P. falciparum* als auch mit Allergen von *C. albicans* bei Neugeborenen Protozoen-negativer Mütter signifikant vermehrt gebildet (Abb. 10F,G).

#### MCP-1 Baseline



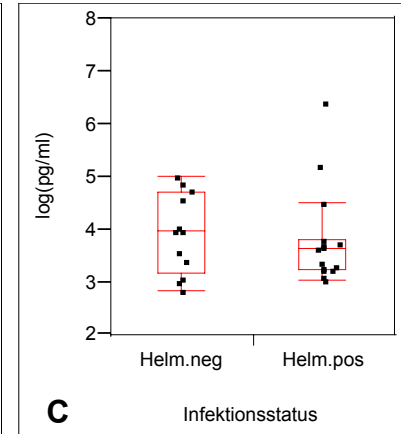
$p = 0,4292$   
IgE-positiv  $n = 16$   
IgE-negativ  $n = 10$

#### MCP-1 *C. albicans*



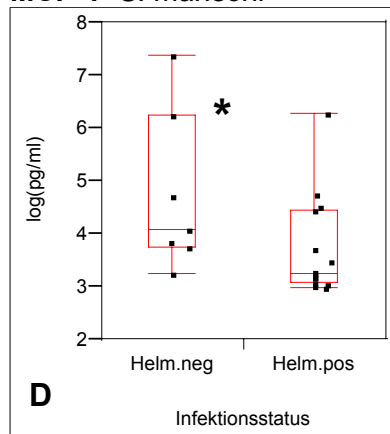
$p = 0,0045$   
IgE-positiv  $n = 5$   
Ige-negativ  $n = 7$

#### MCP-1 Baseline



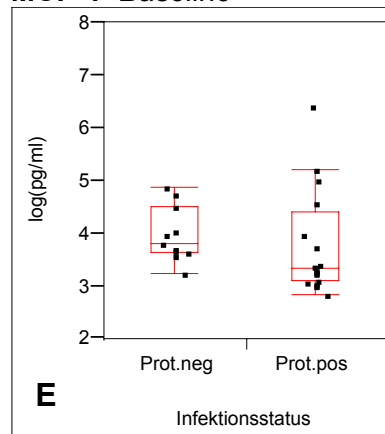
$p = 0,5259$   
Helminthen-positiv  $n = 15$   
Helminthen-negativ  $n = 12$

#### MCP-1 *S. mansoni*



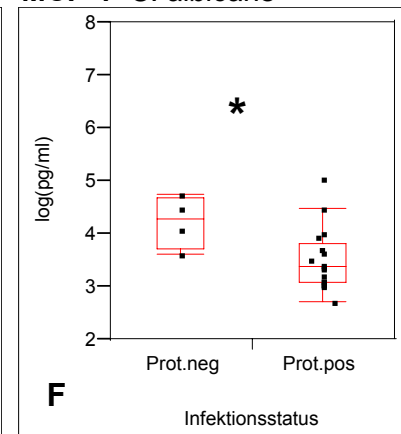
$p = 0,044$   
Helminthen-positiv  $n = 14$   
Helminthen-negativ  $n = 7$

#### MCP-1 Baseline



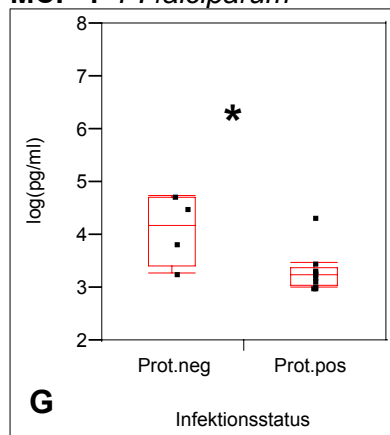
$p = 0,1388$   
Protozoen-positiv  $n = 16$   
Protozoen-negativ  $n = 11$

#### MCP-1 *C. albicans*



$p = 0,0316$   
Protozoen-positiv  $n = 17$   
Protozoen-negativ  $n = 4$

#### MCP-1 *P. falciparum*



$p = 0,0477$   
Protozoen-positiv  $n = 10$   
Protozoen-negativ  $n = 4$

**Abb. 10:** MCP-1-Sekretion (log(pg/ml)) der UCBC Neugeborener von allergisch sensibilisierten (IgE-pos) und nicht sensibilisierten (IgE-neg), Helminthen-infizierten (Helm.pos) und Helminthen-negativen (Helm.neg) und Protozoen-infizierten (Prot.pos) und nicht infizierten (Prot.neg) Müttern. Gezeigt ist die Sekretion der unstimulierten Ansätze (A, C, E) und nach *in vitro* Stimulation (24h) mit *C. albicans* (B, F), *S. mansoni* (D) und *P. falciparum* (G). Signifikante Unterschiede sind für  $p \leq 0,05$  als \* und für  $p \leq 0,01$  als \*\* angegeben.

Die Untersuchung der MCP-1-Sekretion nach Zusammenfassung der Allergen- und Antigenstimulationen ergab eine signifikant erniedrigte Sekretion bei Neugeborenen Protozoen-infizierter Mütter im Vergleich zu Neugeborenen nicht infizierter Mütter (s. Anhang 35C).

### **3.3.4 Macrophage Inflammatory Protein 1 $\alpha$ (MIP-1 $\alpha$ )**

#### **a) MIP-1 $\alpha$ -Sekretion bei Neugeborenen allergisch sensibilisierter Mütter**

Für MIP-1 $\alpha$  wurde nach Stimulation mit *C. albicans* eine signifikant erhöhte Sekretion bei UCBC von Neugeborenen, deren Mütter allergisch sensibilisiert waren, gemessen (Abb. 11B). Die neonatale MIP-1 $\alpha$ -Sekretion war, wenn die Allergen- und Antigenstimulationen zusammengenommen betrachtet wurden, bei Neugeborenen allergisch sensibilisierter Mütter im Vergleich zu Neugeborenen nicht sensibilisierter Mütter signifikant höher (s. Anhang 31D).

#### **b) MIP-1 $\alpha$ -Sekretion bei Neugeborenen Helminthen-infizierter Mütter**

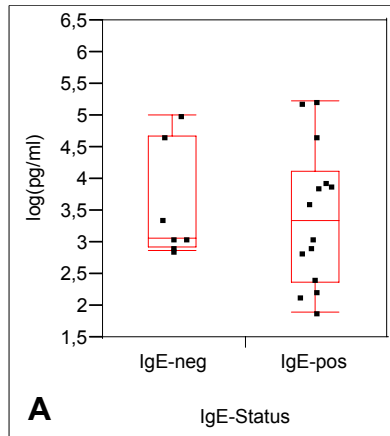
Die MIP-1 $\alpha$ -Sekretion der unstimulierten UCBC war bei Neugeborenen Helminthen-infizierter Mütter signifikant stärker als bei Neugeborenen Helminthen-negativer Mütter (Abb. 11C).

Die MIP-1 $\alpha$ -Sekretion war in der Gesamtheit der Allergen- und Antigenstimulationen bei Neugeborenen von Helminthen-infizierten Müttern im Vergleich zu Neugeborenen nicht infizierter Mütter signifikant erhöht (s. Anhang 33D).

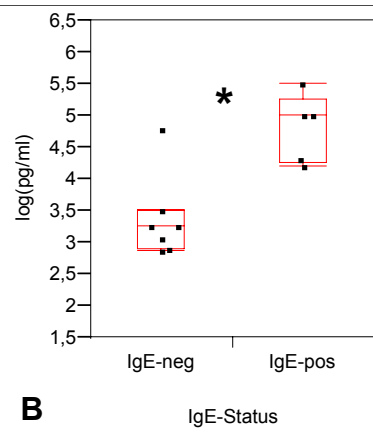
#### **c) MIP-1 $\alpha$ -Sekretion bei Neugeborenen Protozoen-infizierter Mütter**

Die Sekretion von MIP-1 $\alpha$  war nach Stimulation mit Antigen von *E. histolytica* bei Neugeborenen nicht infizierter Mütter signifikant erhöht (Abb. 11E).

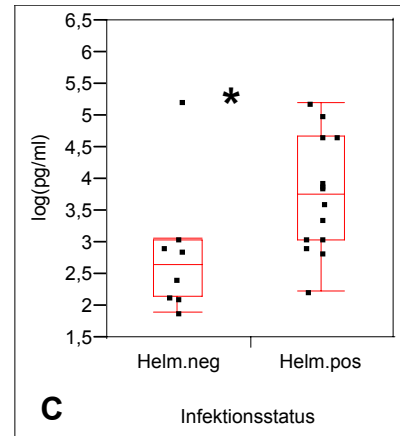
Nach Zusammenfassung der Allergen- und Antigenstimulationen wurde bei Neugeborenen Protozoen-infizierter Mütter eine im Vergleich zu Neugeborenen nicht infizierter Mütter signifikant verminderte MIP-1 $\alpha$ -Sekretion festgestellt (s. Anhang 35D).

**MIP-1 $\alpha$  Baseline**

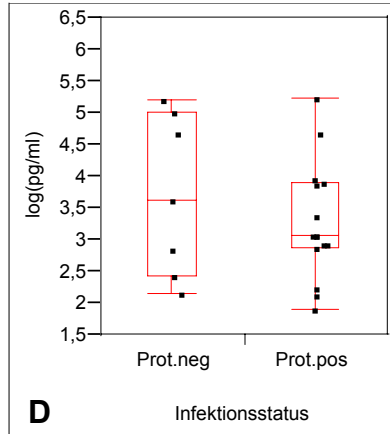
**A**  
 $p = 0,7091$   
 IgE-positiv  $n = 14$   
 IgE-negativ  $n = 7$

**MIP-1 $\alpha$  *C. albicans***

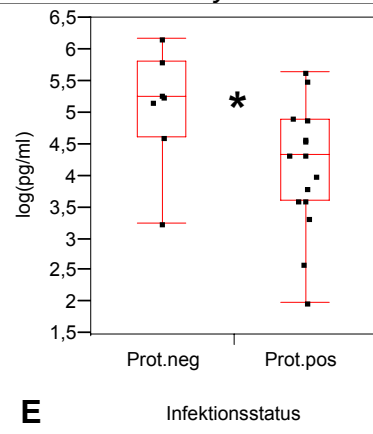
**B**  
 $p = 0,0118$   
 IgE-positiv  $n = 5$   
 IgE-negativ  $n = 7$

**MIP-1 $\alpha$  Baseline**

**C**  
 $p = 0,029$   
 Helminthen-positiv  $n = 14$   
 Helminthen-negativ  $n = 8$

**MIP-1 $\alpha$  Baseline**

**D**  
 $p = 0,5970$   
 Protozoen-positiv  $n = 12$   
 Protozoen-negativ  $n = 7$

**MIP-1 $\alpha$  *E. histolytica***

**E**  
 $p = 0,0376$   
 Protozoen-positiv  $n = 15$   
 Protozoen-negativ  $n = 7$

**Abb. 11:** MIP-1 $\alpha$ -Sekretion (log(pg/ml)) bei UCBC von Neugeborenen allergisch sensibilisierter (IgE-pos) und nicht sensibilisierter (IgE-neg), Helminthen-infizierter (Helm.pos) und Helminthen-negativer (Helm.neg) und Protozoen-infizierter (Prot.pos) und nicht infizierter (Prot.neg) Mütter. Gezeigt ist die Sekretion der unstimulierten Ansätze (A, C, D) und nach 24 Stunden *in vitro* Stimulation mit *C. albicans* (B) und *E. histolytica* (E). Signifikante Unterschiede sind für  $p \leq 0,05$  als \* angegeben.

### **3.3.5 Macrophage Inflammatory Protein 1 $\beta$ (MIP-1 $\beta$ )**

#### **a) MIP-1 $\beta$ -Sekretion bei Neugeborenen allergisch sensibilisierter Mütter**

Für die Sekretion von MIP-1 $\beta$  wurde in keinem der Versuchsansätze ein signifikanter Unterschied bei UCBC von Neugeborenen allergisch sensibilisierter und nicht sensibilisierter Mütter festgestellt (Abb. 12A).

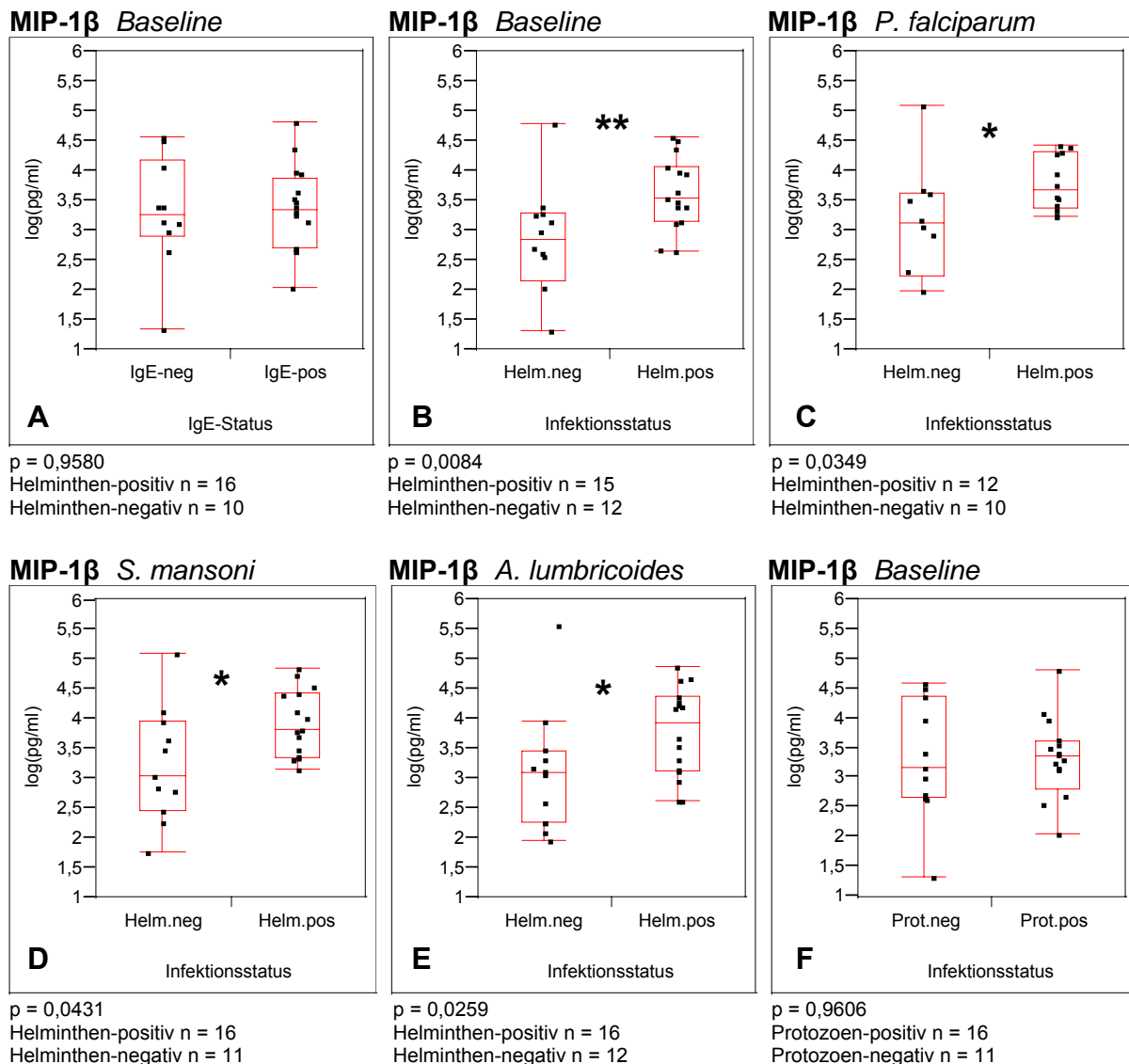
#### **b) MIP-1 $\beta$ -Sekretion bei Neugeborenen Helminthen-infizierter Mütter**

Die MIP-1 $\beta$ -Konzentration in den mit *P. falciparum*-, *S. mansoni*- und *A. lumbricoides*-Antigen stimulierten sowie in den unstimulierten Zellkulturen war bei Neugeborenen Helminthen-infizierter Mütter signifikant höher als bei den Neugeborenen Helminthen-negativer Mütter (Abb. 12B-E).

Bei Untersuchung der MIP-1 $\beta$ -Sekretion, nach Zusammenfassung der Allergen- und Antigenstimulationen, wurde eine signifikant erhöhte Sekretion bei Neugeborenen Helminthen-infizierter Mütter im Vergleich zu Neugeborenen nicht infizierter Mütter festgestellt (s. Anhang 33E).

#### **c) MIP-1 $\beta$ -Sekretion bei Neugeborenen Protozoen-infizierter Mütter**

Die Sekretion von MIP-1 $\beta$  war bei UCBC von Neugeborenen Protozoen-infizierter und nicht infizierter Mütter in keinem der Versuchsansätze deutlich unterschiedlich (Abb. 12F).



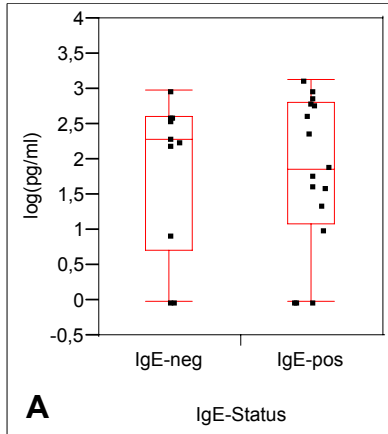
**Abb. 12:** MIP-1 $\beta$ -Sekretion (log(pg/ml)) bei UCBC von Neugeborenen von allergisch sensibilisierten (IgE-pos) und nicht sensibilisierten (IgE-neg), Helminthen-infizierten (Helm.pos) und Helminthen-negativen (Helm.neg) und Protozoen-infizierten (Prot.pos) und nicht infizierten (Prot.neg) Müttern. Gezeigt ist die Sekretion der unstimulierten Ansätze (A, B F) und nach *in vitro* Stimulation mit Antigenen von *P. falciparum* (C), *S. mansoni* (D) und *A. lumbricoides* (E). Die Stimulationszeiten von 24, 48, 72, 96 Stunden wurden zusammengefasst. Signifikante Unterschiede sind für  $p \leq 0,05$  als \* und für  $p \leq 0,01$  als \*\* angegeben.

### 3.3.6 Thymus and Activation Regulated Chemokine (TARC)

#### a) TARC-Sekretion bei Neugeborenen allergisch sensibilisierter Mütter

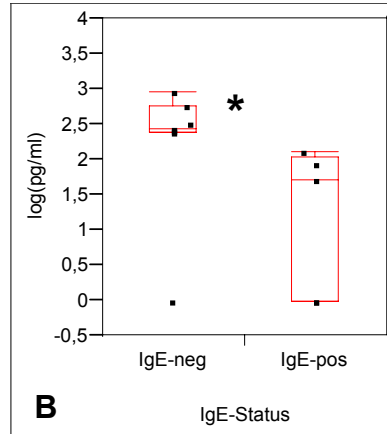
Die Sekretion des Chemokins TARC zeigte nach *in vitro* Stimulation mit *C. albicans* eine signifikant erhöhte Konzentration bei Neugeborenen von allergisch nicht sensibilisierten Müttern (Abb. 13B).

**TARC Baseline**



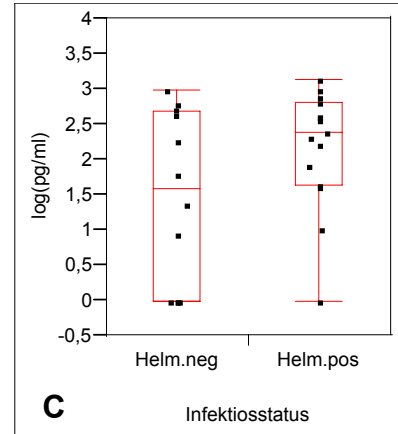
**A**  
 p = 0,9158  
 IgE-positiv n = 16  
 IgE-negativ n = 10

**TARC *C. albicans***



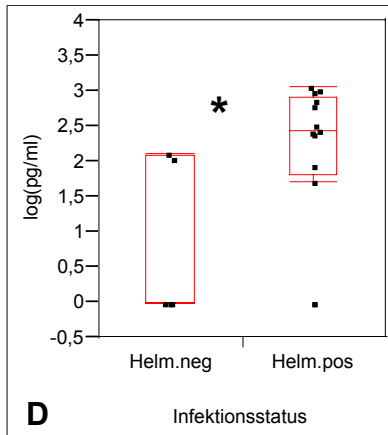
**B**  
 p = 0,0273  
 IgE-positiv n = 5  
 IgE-negativ n = 7

**TARC Baseline**



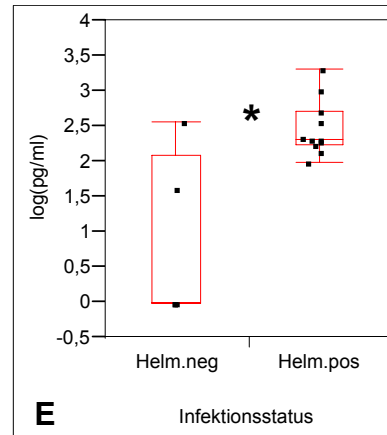
**C**  
 p = 0,1558  
 Helminthen-positiv n = 15  
 Helminthen-negativ n = 12

**TARC *C. albicans***



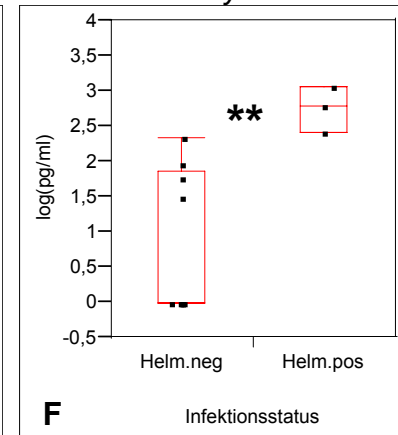
**D**  
 p = 0,0322  
 Helminthen-positiv n = 13  
 Helminthen-negativ n = 5

**TARC *D. farinae***



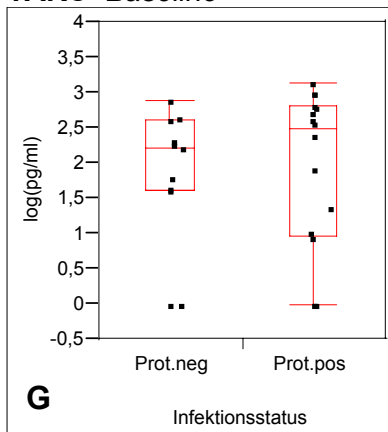
**E**  
 p = 0,0267  
 Helminthen-positiv n = 11  
 Helminthen-negativ n = 5

**TARC *E. histolytica***



**F**  
 p = 0,0096  
 Helminthen-positiv n = 3  
 Helminthen-negativ n = 9

**TARC Baseline**



**G**  
 p = 0,5199  
 Protozoen-positiv n = 16  
 Protozoen-negativ n = 11

**Abb. 13:** TARC-Sekretion (log(pg/ml)) der UCBC Neugeborener von allergisch sensibilisierten (IgE-pos) und nicht sensibilisierten (IgE-neg), Helminthen-infizierten (Helm.pos) und Helminthen-negativen (Helm.neg) und Protozoen-infizierten (Prot.pos) und nicht infizierten (Prot.neg) Müttern. Gezeigt ist die Sekretion der unstimulierten Ansätze (A, C, G) und nach *in vitro* Stimulation mit Allergen von *C. albicans* (B, D) und *D. farinae* (E) und Antigen von *E. histolytica* (F). Signifikante Unterschiede sind für  $p \leq 0,05$  als \* und für  $p \leq 0,01$  als \*\* angegeben.



**b) TARC-Sekretion bei Neugeborenen Helminthen-infizierter Mütter**

Die TARC-Sekretion nach Stimulation mit Allergen von *C. albicans* und *D. farinae* und Antigen von *E. histolytica* war bei Neugeborenen Helminthen-infizierter Mütter im Vergleich zu Neugeborenen Helminthen-negativer Mütter signifikant höher (Abb. 13D-F).

Die Analyse der TARC-Sekretion nach Zusammenfassung der Allergen- und Antigenstimulationen ergab eine signifikant erhöhte Sekretion bei Neugeborenen Helminthen-infizierter Mütter im Vergleich zu Neugeborenen nicht infizierter Mütter (s. Anhang 33G).

**c) TARC-Sekretion bei Neugeborenen Protozoen-infizierter Mütter**

Bei Untersuchung der TARC-Sekretion in Zusammenfassung der Allergen- und Antigenstimulationen wurde eine signifikant erhöhte Sekretion bei Neugeborenen von Protozoen-infizierten Müttern im Vergleich zu Neugeborenen nicht infizierter Mütter festgestellt (s. Anhang 35G).

**3.3.7 Macrophage-derived Chemoattractant (MDC)****a) MDC-Sekretion bei Neugeborenen allergisch sensibilisierter Mütter**

Es wurde in keinem der Versuchsansätze ein signifikanter Unterschied der MDC-Sekretion bei Neugeborenen Helminthen-infizierter und nicht infizierter Mütter festgestellt (Abb. 14A).

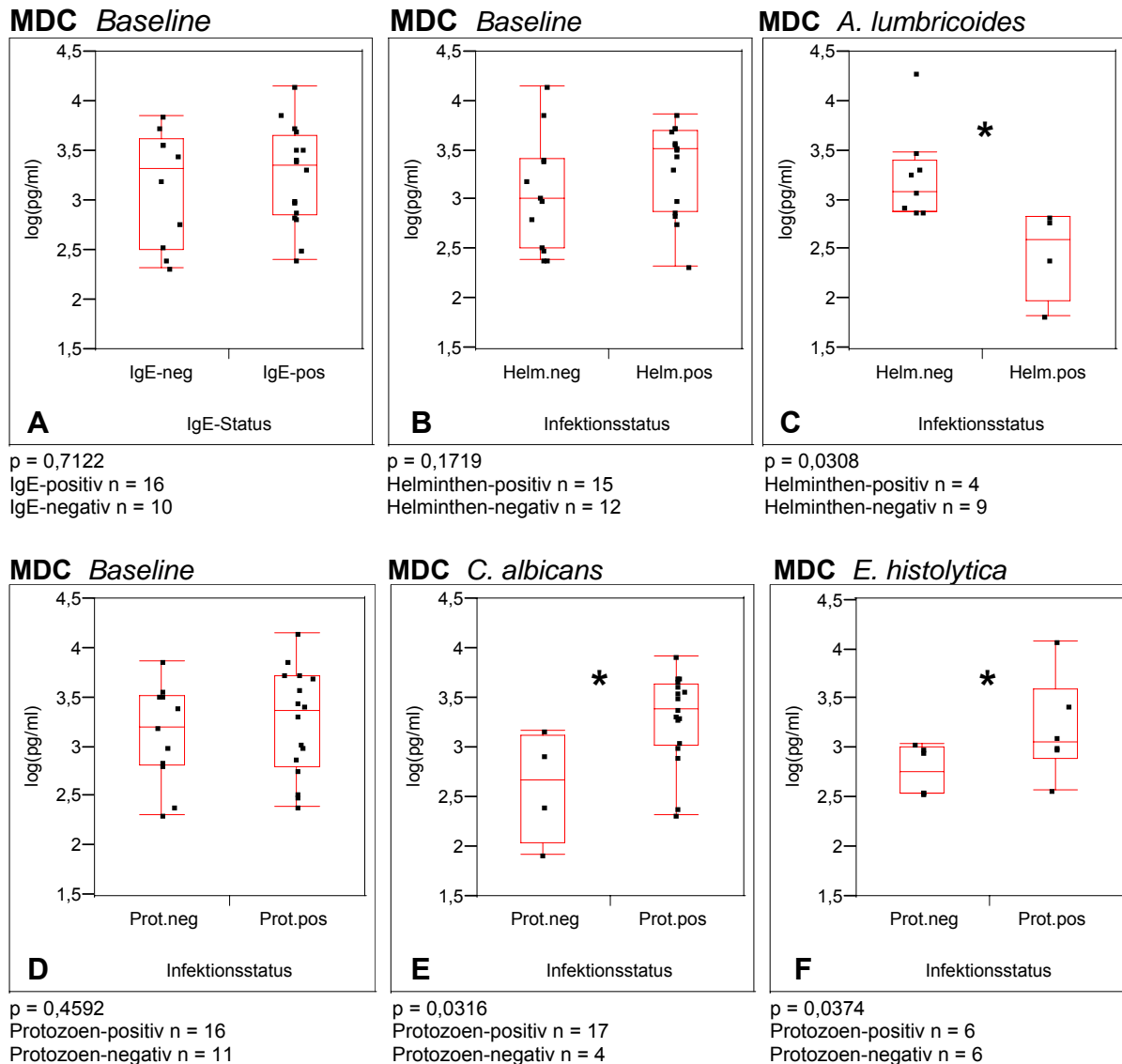
**b) MDC-Sekretion bei Neugeborenen Helminthen-infizierter Mütter**

MDC wurde nach Stimulation mit Antigen von *A. lumbricoides* bei Neugeborenen Helminthen-negativer Mütter in signifikant höheren Konzentrationen als bei Neugeborenen Helminthen-infizierter Mütter sezerniert (Abb. 14C).

Die neonatale MDC-Sekretion war, wenn die Allergen- und Antigenstimulationen zusammengenommen betrachtet wurden, bei Neugeborenen von Helminthen-infizierten Müttern im Vergleich zu Neugeborenen nicht infizierter Mütter signifikant erhöht (s. Anhang 33F).

### c) MDC-Sekretion bei Neugeborenen Protozoen-infizierter Mütter

Für MDC wurde nach Stimulation mit *C. albicans* und *E. histolytica* eine signifikant erhöhte Sekretion bei Neugeborenen Protozoen-infizierter Mütter festgestellt (Abb. 14E,F). Die MDC-Sekretion war in der Gesamtheit der Allergen- und Antigenstimulationen bei Neugeborenen Protozoen-infizierter Mütter im Vergleich zu Neugeborenen nicht infizierter Mütter signifikant erhöht (s. Anhang 35F).



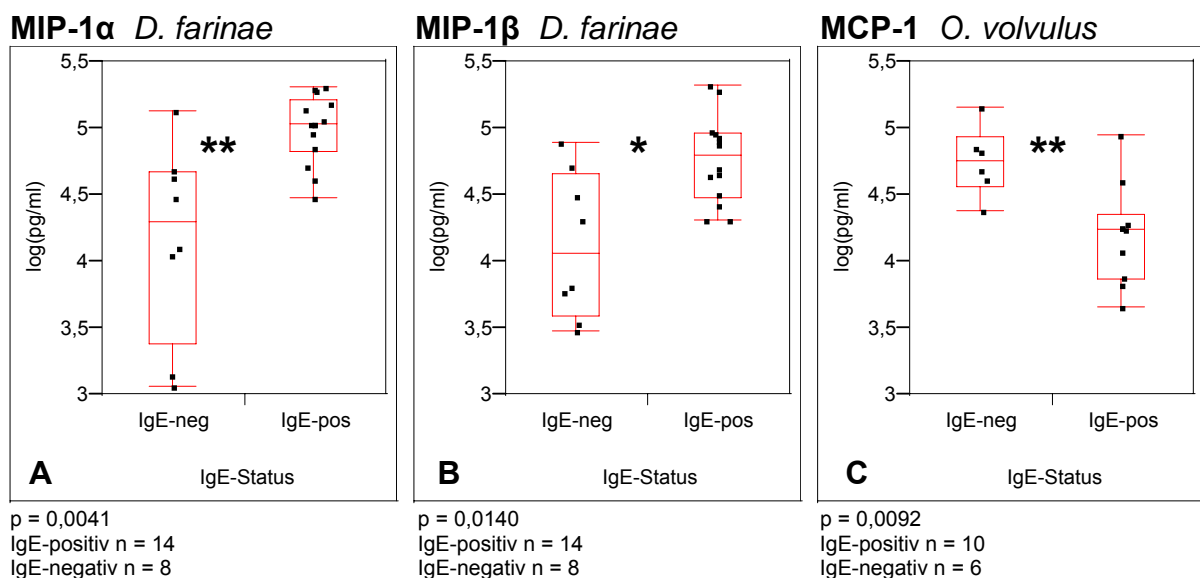
**Abb. 14:** MDC-Sekretion (log(pg/ml)) bei UCBC von Neugeborenen von allergisch sensibilisierten (IgE-pos) und nicht sensibilisierten (IgE-neg), Helminthen-infizierten (Helm.pos) und Helminthen-negativen (Helm.neg) und Protozoen-infizierten (Prot.pos) und nicht infizierten (Prot.neg) Müttern. Gezeigt ist die Sekretion der unstimulierten Ansätze (A, B, D) und nach *in vitro* Stimulation mit Antigenen von *A. lumbricoides* (C) und *E. histolytica* (F) und Allergen von *C. albicans* (E). In Abb. C und F sind die Stimulationszeiten von 48, 72, 96 bzw. in Abb. A, B, D, E 24, 48, 72, 96 Stunden zusammengefasst. Signifikante Unterschiede sind für  $p \leq 0,05$  als \* angegeben.

### 3.4 Chemokinsekretion bei Müttern

Es wurde die allergen- und parasitenantigenspezifische Chemokinsekretion der PBMC der Mütter untersucht. Die Mütter wurden entsprechend ihrem Infektions- bzw. Allergiestatus in die jeweils positiven und negativen Gruppen eingeteilt. Daraufhin wurden die Chemokinprofile zwischen den Gruppen verglichen. Gezeigt werden jeweils die Ansätze mit deutlichem Unterschied in der Chemokinsekretion. Bei allen anderen Ansätzen war entweder kein Unterschied zu finden, der Unterschied nicht signifikant oder die Stichprobe zu klein.

#### a) Chemokinsekretion allergisch sensibilisierter Mütter

In den Zellkulturüberständen der PBMC allergisch sensibilisierter Mütter wurde nach *in vitro* Stimulation für 48 Stunden mit Allergen von *D. farinae* eine im Vergleich zu nicht sensibilisierten Müttern signifikant erhöhte Sekretion von MIP-1 $\alpha$  und MIP-1 $\beta$  festgestellt (Abb. 15A,B). Für MCP-1 wurde eine signifikant erhöhte Konzentration bei den PBMC nicht allergisch sensibilisierter im Vergleich zu den allergisch sensibilisierten Müttern festgestellt (Abb. 15C).



**Abb. 15:** MIP-1 $\alpha$ -, MIP-1 $\beta$ - und MCP-1-Sekretion (log(pg/ml)) der PBMC von Müttern mit positiver (IgE-pos) und negativer (IgE-neg) allergenspezifischer IgE-Reaktivität nach *in vitro* Stimulation für 48 Stunden mit Allergen von (A,B) *D. farinae* (MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ ) und (C) Antigen von *O. volvulus* (MCP-1). Signifikante Unterschiede sind für  $p \leq 0,05$  als \* und für  $p \leq 0,01$  als \*\* angegeben.

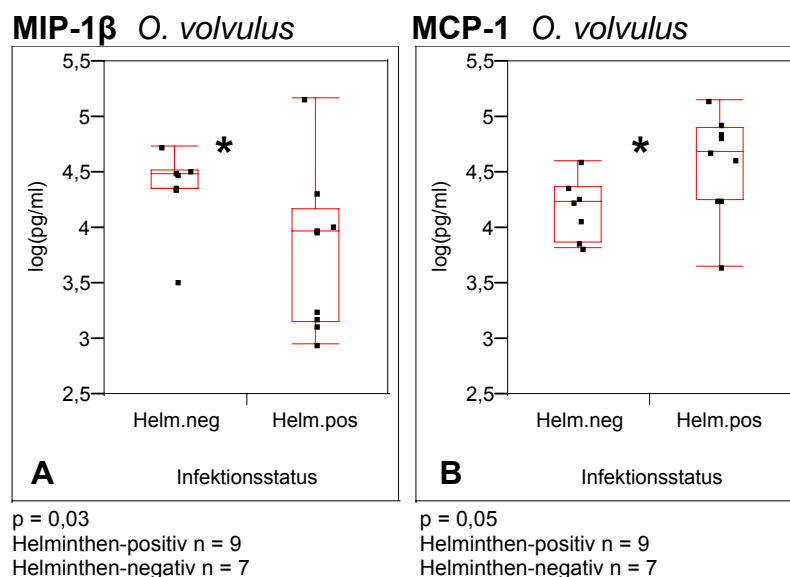
Die Untersuchung der Chemokinsekretion bei PBMC nach Zusammenfassung der Allergen- und Antigenstimulationen ergab für IL-8, MIP-1 $\alpha$  und MIP-1 $\beta$  eine signifikant erhöhte Sekretion der PBMC von allergisch sensibilisierten im Vergleich

zu nicht sensibilisierten Müttern (s. Anhang 32B, D, E). Für MCP-1 und TARC wurde eine signifikant erhöhte Sekretion der PBMC nicht allergisch sensibilisierter Mütter im Vergleich zu den PBMC allergisch sensibilisierter Mütter bestimmt (s. Anhang 32C, G).

### b) Chemokinsekretion Helminthen-infizierter Mütter

Die MIP-1 $\beta$ -Sekretion der PBMC von Helminthen-negativen Müttern war nach *in vitro* Stimulation mit Antigenen von *O. volvulus* im Vergleich zu Helminthen-infizierten Müttern signifikant erhöht (Abb. 16A). Für MCP-1 wurde eine signifikant erhöhte Sekretion bei PBMC von Helminthen-infizierten gegenüber nicht infizierten Müttern festgestellt (Abb. 16B).

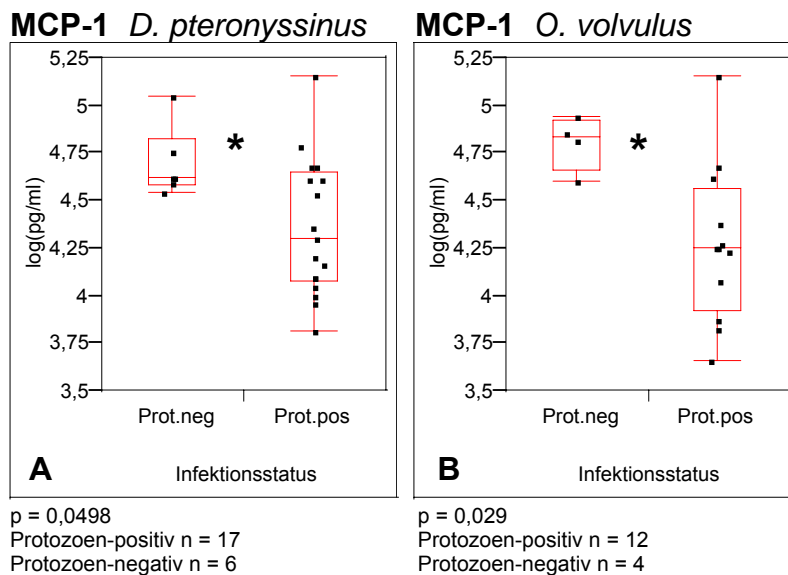
Die Untersuchung der Chemokinsekretion bei PBMC nach Zusammenfassung der Allergen- und Antigenstimulationen ergab für ENA-78 eine signifikant erniedrigte Sekretion bei Helminthen-infizierten Müttern im Vergleich zu nicht infizierten Müttern (s. Anhang 34A).



**Abb. 16:** MIP-1 $\beta$ - und MCP-1-Sekretion (log(pg/ml)) der PBMC von Helminthen-positiven (Helm.pos) und Helminthen-negativen (Helm.neg) Müttern. Die Stimulation der PBMC erfolgte mit Antigenen von *O. volvulus*. Die Chemokinsekretion wurde nach 48 Stunden Stimulationszeit gemessen. Signifikante Unterschiede sind für  $p \leq 0,05$  als \* angegeben.

### c) Chemokinsekretion Protozoen-infizierter Mütter

Das proinflammatorische Chemokin MCP-1 wurde nach 24 Stunden *in vitro* Stimulation mit Allergen von *D. pteronyssinus* von den PBMC Protozoen-negativer Mütter im Gegensatz zu den PBMC Protozoen-infizierter Mütter signifikant erhöht ausgeschüttet (Abb. 17A). Auch nach *in vitro* Stimulation der PBMC mit Antigen von *O. volvulus* wurde in den Zellkulturüberständen der Protozoen-negativen Mütter eine signifikant erhöhte MCP-1-Sekretion gemessen (Abb. 17B).



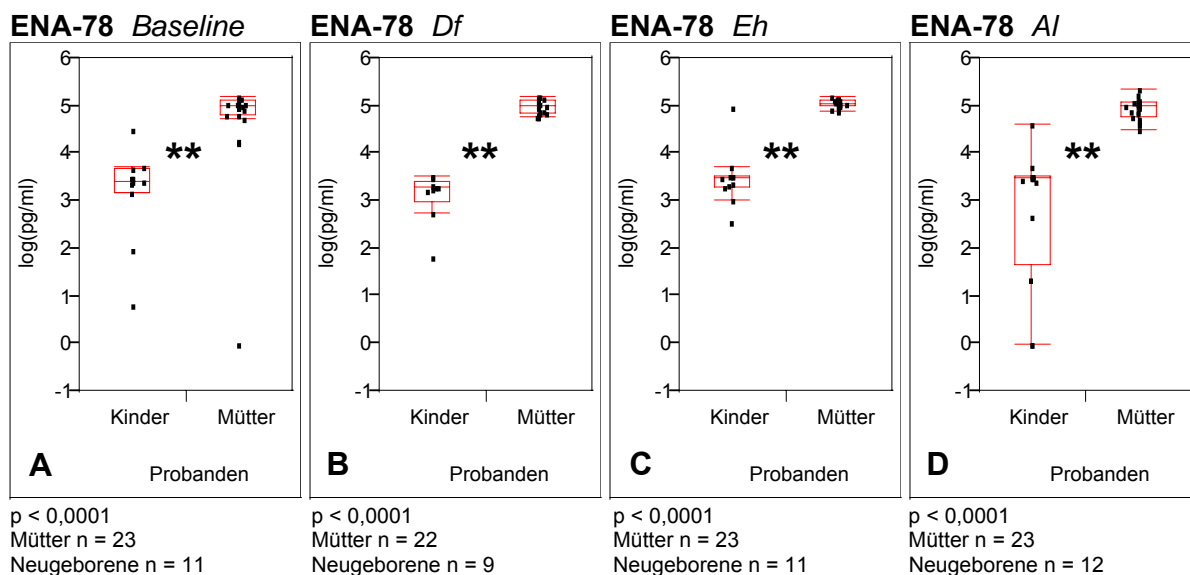
**Abb. 17:** MCP-1-Sekretion der PBMC (log(pg/ml)) Protozoen-infizierter (Prot.pos) und Protozoen-negativer (Prot.neg) Mütter nach *in vitro* Stimulation mit Allergen von *D. pteronyssinus* und Antigen von *O. volvulus*. Die Stimulationsdauer betrug 48 Stunden. Signifikante Unterschiede sind für  $p \leq 0,05$  als \* angegeben.

Bei Untersuchung der Chemokinsekretion bei PBMC nach Zusammenfassung der Allergen- und Antigenstimulationen wurde für MCP-1 eine signifikant erniedrigte Sekretion bei Protozoen-infizierten Müttern im Vergleich zu nicht infizierten Müttern festgestellt (s. Anhang 36C). Für MDC wurde eine signifikant erhöhte Sekretion bei PBMC von Protozoen-infizierten im Vergleich zu nicht infizierten Müttern bestimmt (s. Anhang 36F).

### 3.5 Vergleich der Chemokinsekretion bei Neugeborenen und deren Müttern

Die Chemokinsekretion der mütterlichen PBMC und der UCBC der Neugeborenen wurde für jedes Chemokin miteinander verglichen. Es wurden exemplarisch vier verschiedene Stimulationsbedingungen untersucht: Die Spontansekretion im unstimulierten Versuchsansatz, die Sekretion nach Stimulation mit einem Allergen (*D. farinae*) und die Sekretion nach Stimulation mit einem Helminthen-Antigen (*A. lumbricoides*) und einem Protozoen-Antigen (*E. histolytica*).

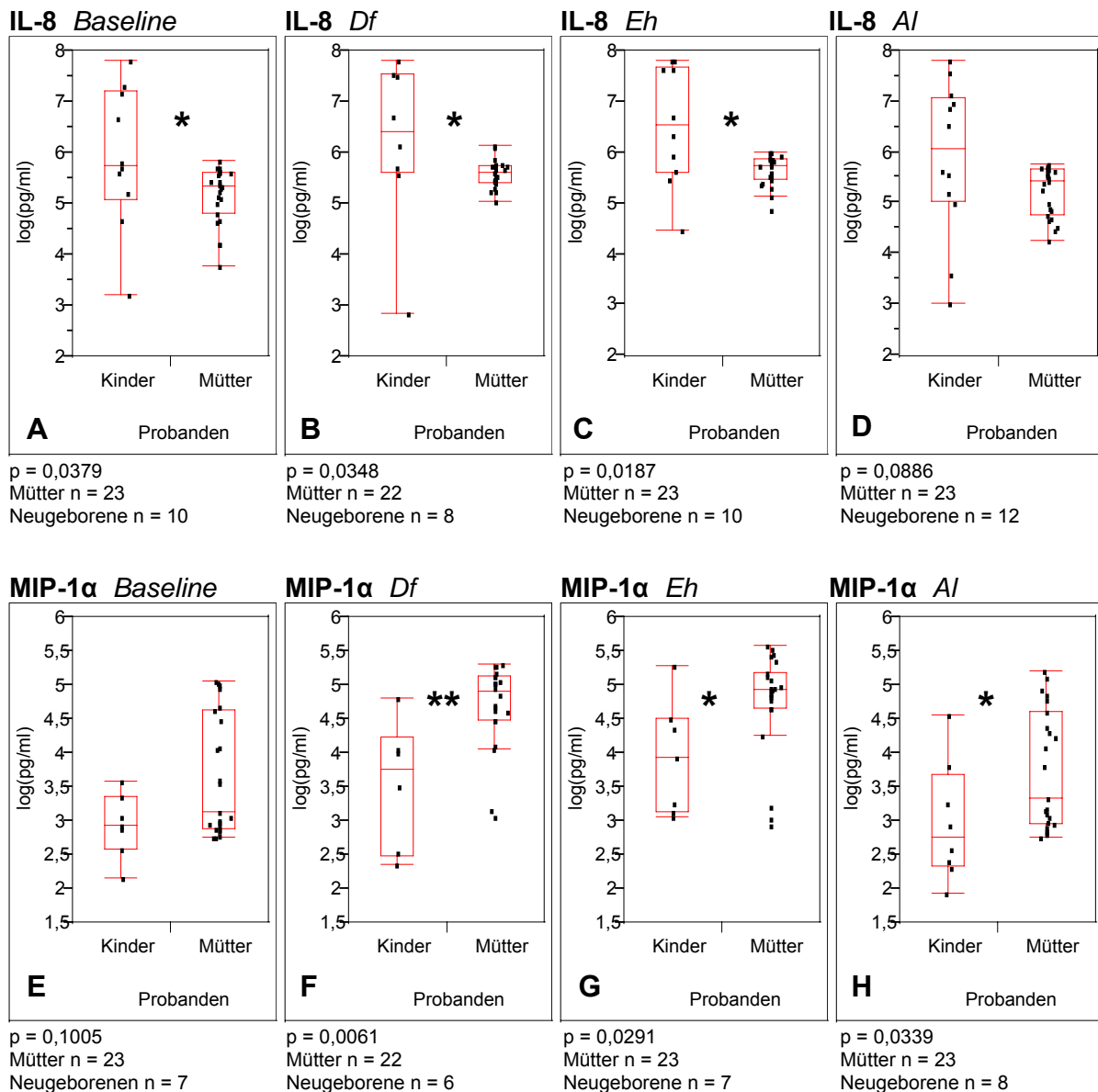
**ENA-78:** Die PBMC zeigten im Vergleich zu den UCBC nach Stimulation mit *D. farinae*, *E. histolytica*, *A. lumbricoides* und im unstimulierten Versuchsansatz eine signifikant erhöhte Sekretion von ENA-78 (Abb. 18).



**Abb. 18:** ENA-78-Sekretion (log(pg/ml)) von Neugeborenen (UCBC) und deren Müttern (PBMC) nach 48 Stunden (A) im unstimulierten Zellkulturansatz (Baseline) und (B-D) nach *in vitro* Stimulation mit Allergen von *D. farinae* (Df) und Antigen von *E. histolytica* (Eh) und *A. lumbricoides* (Al). Signifikante Unterschiede sind für  $p \leq 0,01$  als \*\* angegeben.

**IL-8:** Für IL-8 wurde nach *in vitro* Stimulation mit Allergen von *D. farinae* und Antigen von *E. histolytica* für eine Dauer von 48 Stunden und im unstimulierten Zellkulturansatz eine signifikant erhöhte Sekretion der UCBC im Vergleich zu den PBMC festgestellt (Abb. 19A-D).

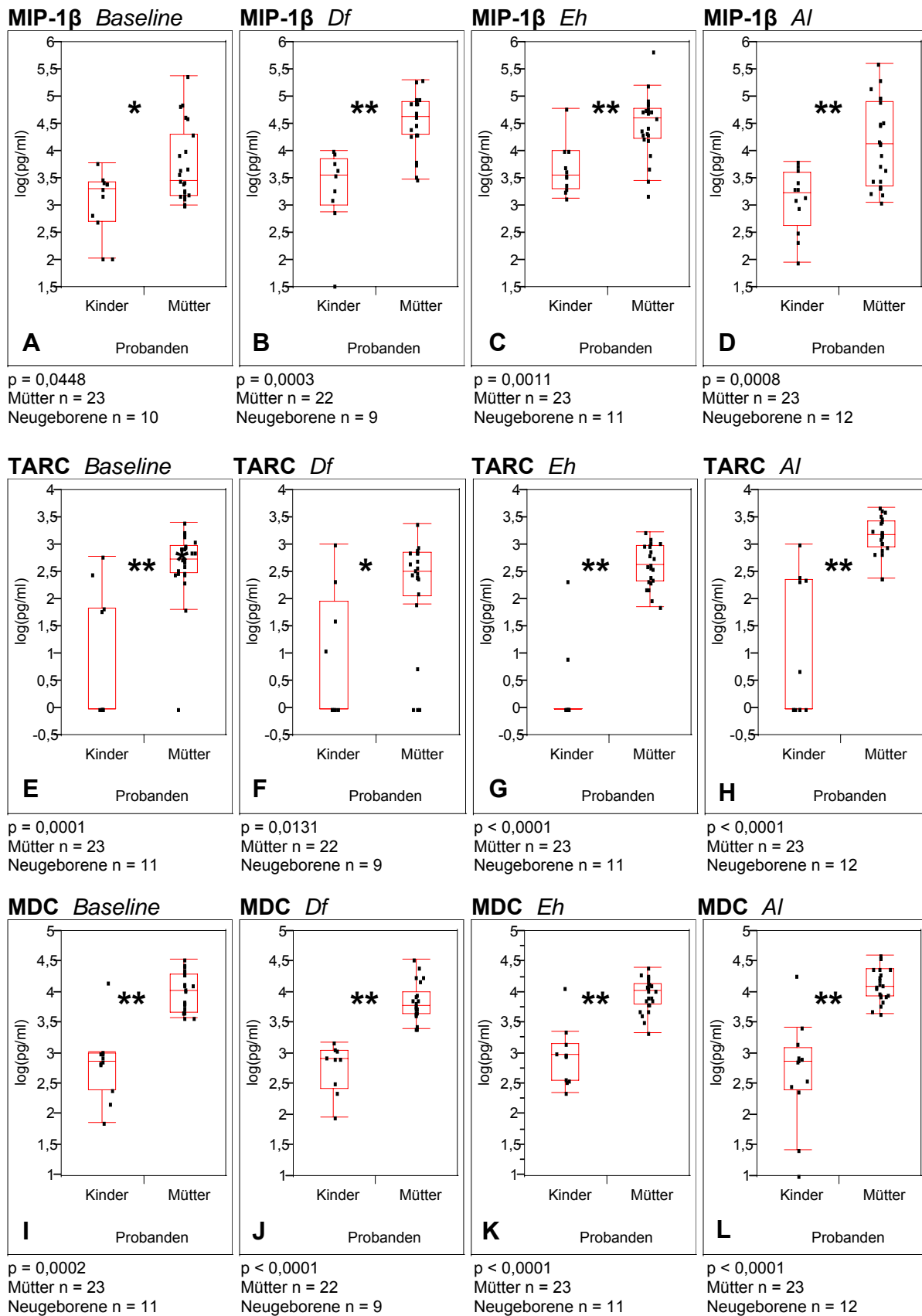
**MCP-1:** Der Vergleich der Sekretion des proinflammatorischen Chemokins MCP-1 bei PBMC und UCBC ergab keine signifikanten Abweichungen zwischen der mütterlichen und neonatalen Ausschüttung.



**Abb. 19:** IL-8- und MIP-1 $\alpha$ -Sekretion (log(pg/ml)) von Neugeborenen (UCBC) und deren Müttern (PBMC) nach 48 Stunden (A bzw. E) im unstimulierten Zellkulturansatz (Baseline) und (B-D bzw. F-H) nach *in vitro* Stimulation mit Allergen von *D. farinae* (Df) und Antigen von *E. histolytica* (Eh) und *A. lumbricoides* (AI). Signifikante Unterschiede sind für  $p \leq 0,05$  als \* und für  $p \leq 0,01$  als \*\* angegeben

**MIP-1 $\alpha$ :** Bei MIP-1 $\alpha$  war die Sekretion der PBMC nach Stimulation mit *D. farinae*, *E. histolytica* und *A. lumbricoides* signifikant gegenüber der Sekretion der UCBC erhöht (Abb. 19E-H).

**MIP-1 $\beta$ , TARC und MDC:** MIP-1 $\beta$ , TARC und MDC wurden nach Stimulation mit Allergen von *D. farinae* und Antigen von *E. histolytica* und *A. lumbricoides* und im unstimulierten Zellkulturansatz von den PBMC im Vergleich zu den UCBC in signifikant höheren Konzentrationen sezerniert (Abb. 20).



**Abb. 20:** MIP-1 $\beta$ -, TARC- und MDC-Sekretion (log(pg/ml)) von Neugeborenen (UCBC) und deren Müttern (PBMC) nach 48 Stunden (A, E, I) im unstimulierten Kulturansatz (Baseline) und (B-D, F-H, J-L) nach Stimulation mit Allergenen von *D. farinae* (Df) und Antigenen von *E. histolytica* (Eh) und *A. lumbricoides* (AI). Signifikante Unterschiede sind für  $p \leq 0,05$  als \* und für  $p \leq 0,01$  als \*\* angegeben.



### 3.6 Kinetik der neonatalen Chemokinsekretion

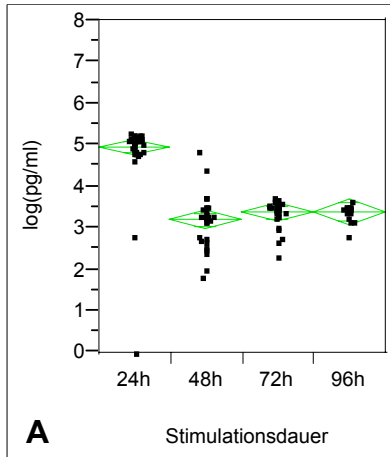
Für die Proben der Neugeborenen wurden Stimulationsansätze über 24, 48, 72 und 96 Stunden durchgeführt. Bei den mütterlichen PBMC konnte aufgrund der geringen Mengen an zur Verfügung stehendem Vollblut nur eine Stimulationsdauer von 48 Stunden untersucht werden. In Abb. 21 ist die Kinetik der neonatalen Chemokinsekretion für die Stimulationen mit Allergenen dargestellt. Abb. 22 zeigt die Kinetik der Versuchsansätze mit Parasitenantigen-Stimulationen.

#### a) Kinetik nach Stimulation mit Allergenen

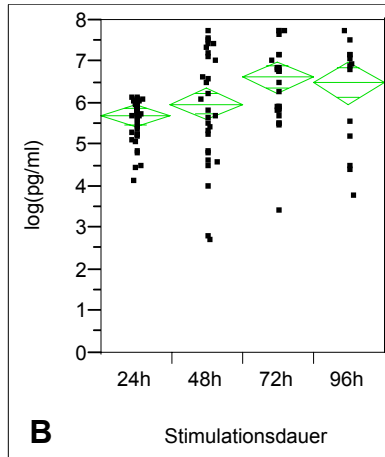
Die Stimulationsansätze mit den Allergenen *D. farinae*, *D. pteronyssinus*, *A. fumigatus* und *C. albicans* wurden je Chemokin zu jeweils einer Gruppe zusammengefasst. Die Sekretion der Chemokine ENA-78, MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$  und MDC zeigte bei 24 stündiger Stimulation mit Allergenen ihren Höhepunkt und nahm daraufhin kontinuierlich ab (Abb. 21A, D-F). Bei IL-8 hingegen stieg die Sekretion von 24 Stunden bis 72 Stunden kontinuierlich an (Abb. 21B). Der Verlauf der MCP-1-Sekretion stieg zwischen 24 und 96 Stunden Stimulationsdauer ein wenig an, zeigte jedoch eine unregelmäßige Zunahme und war z. B. nach 72 Stunden wieder leicht weniger als nach 48 Stunden (Abb. 21C). Die Sekretion von TARC zeigte nach einer Stimulationszeit von 72 bis 96 Stunden die höchsten Werte (Abb. 21G).

#### b) Kinetik nach Stimulation mit Parasitenantigenen

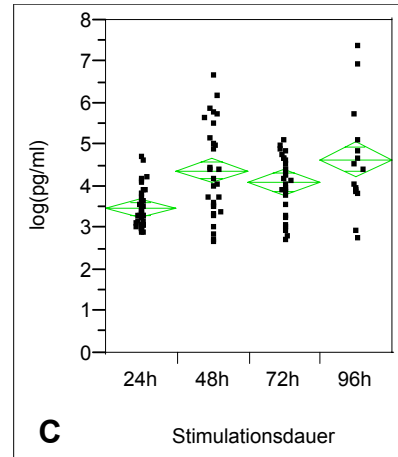
Die Stimulationsansätze mit den Antigenen *O. volvulus*, *S. mansoni*, *A. lumbricoides*, *E. histolytica* und *P. falciparum* wurden je Chemokin jeweils zu einer Gruppe zusammengefasst. Die Sekretion von ENA-78, MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$  und MDC hatte wie nach Stimulation mit Allergenen nach einer Stimulationsdauer von 24 Stunden ihr Maximum und nahm daraufhin ab (Abb. 22A, D-F). Der Verlauf der IL-8-Sekretion hingegen stieg von 24 bis 72 bzw. 96 Stunden Stimulationsdauer kontinuierlich an (Abb. 22B). Für MCP-1 wurden nach einer Stimulationszeit von 48 Stunden die höchsten Konzentrationen gemessen. Bei 24 Stunden und 72 bzw. 96 Stunden Stimulationsdauer lag die MCP-1-Sekretion unter den Werten von 48 Stunden (Abb. 22C). Die Sekretion von TARC zeigte nach einer Stimulationszeit von 72 Stunden die höchsten Werte (Abb. 22G).

**ENA-78**

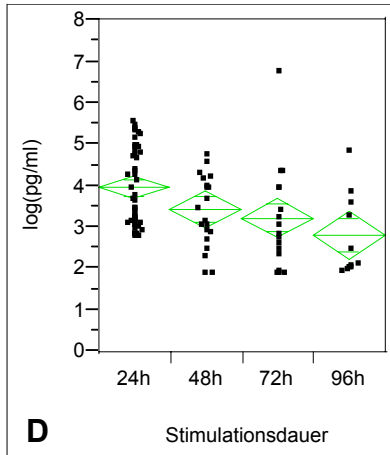
24 Stunden n = 53  
48 Stunden n = 30  
72 Stunden n = 29  
96 Stunden n = 15

**IL-8**

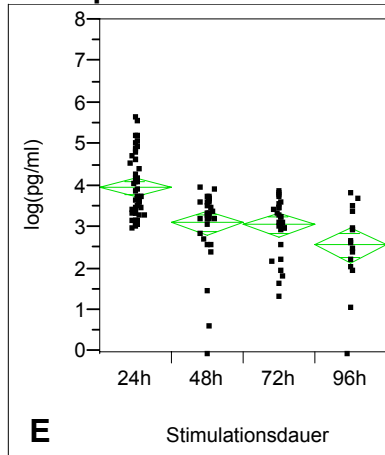
24 Stunden n = 53  
48 Stunden n = 30  
72 Stunden n = 29  
96 Stunden n = 15

**MCP-1**

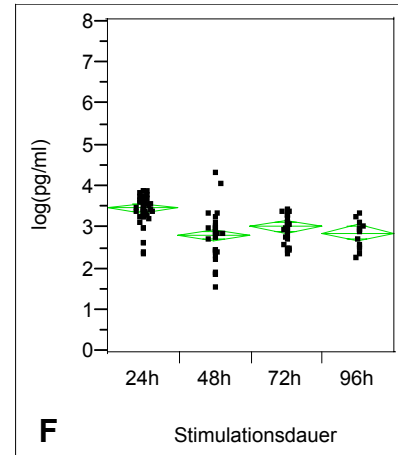
24 Stunden n = 53  
48 Stunden n = 30  
72 Stunden n = 29  
96 Stunden n = 15

**MIP-1 $\alpha$** 

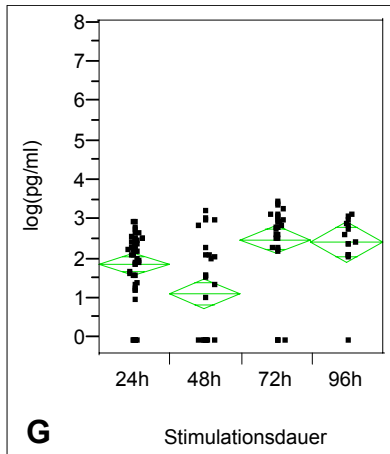
24 Stunden n = 53  
48 Stunden n = 20  
72 Stunden n = 17  
96 Stunden n = 11

**MIP-1 $\beta$** 

24 Stunden n = 53  
48 Stunden n = 30  
72 Stunden n = 29  
96 Stunden n = 15

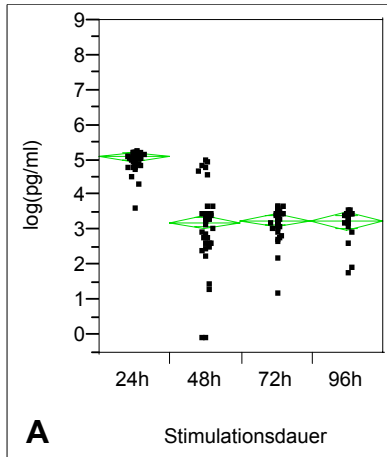
**MDC**

24 Stunden n = 53  
48 Stunden n = 30  
72 Stunden n = 29  
96 Stunden n = 15

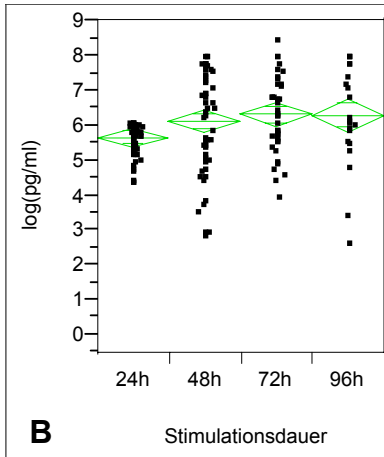
**TARC**

24 Stunden n = 53  
48 Stunden n = 30  
72 Stunden n = 29  
96 Stunden n = 15

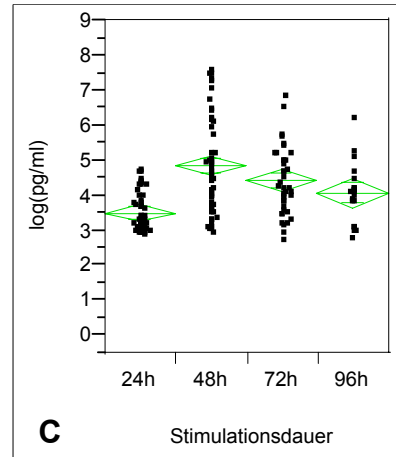
**Abb. 21:** Kinetik der zellulären Sekretion (log(pg/ml)) von ENA-78 (A), IL-8 (B), MCP-1 (C), MIP-1 $\alpha$  (D), MIP-1 $\beta$  (E), MDC (F) und TARC (G) bei UCBC von Neugeborenen. Es wurde mit Allergenen von *D. farinae*, *D. pteronyssinus*, *C. albicans* und *A. fumigatus* für die Dauer von 24, 48, 72 und 96 Stunden stimuliert. Die verschiedenen Allergen-Stimulationsansätze wurden zusammengefasst. Die Anzahl der jeweils dargestellten Versuchsansätze wurde mit n = x angegeben.

**ENA-78**

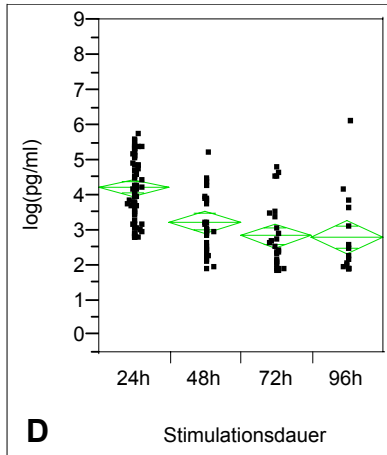
**A**  
 24 Stunden n = 67  
 48 Stunden n = 51  
 72 Stunden n = 40  
 96 Stunden n = 21

**IL-8**

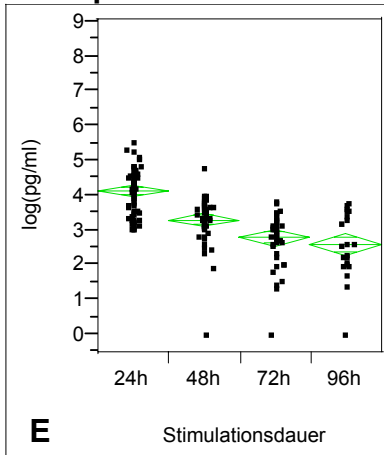
**B**  
 24 Stunden n = 67  
 48 Stunden n = 51  
 72 Stunden n = 40  
 96 Stunden n = 21

**MCP-1**

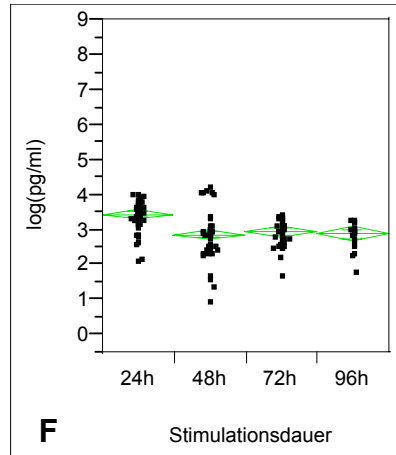
**C**  
 24 Stunden n = 67  
 48 Stunden n = 51  
 72 Stunden n = 40  
 96 Stunden n = 21

**MIP-1 $\alpha$** 

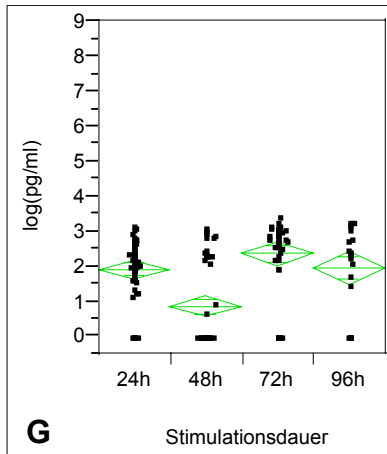
**D**  
 24 Stunden n = 67  
 48 Stunden n = 33  
 72 Stunden n = 27  
 96 Stunden n = 16

**MIP-1 $\beta$** 

**E**  
 24 Stunden n = 67  
 48 Stunden n = 51  
 72 Stunden n = 40  
 96 Stunden n = 21

**MDC**

**F**  
 24 Stunden n = 67  
 48 Stunden n = 51  
 72 Stunden n = 40  
 96 Stunden n = 21

**TARC**

**G**  
 24 Stunden n = 67  
 48 Stunden n = 51  
 72 Stunden n = 40  
 96 Stunden n = 21

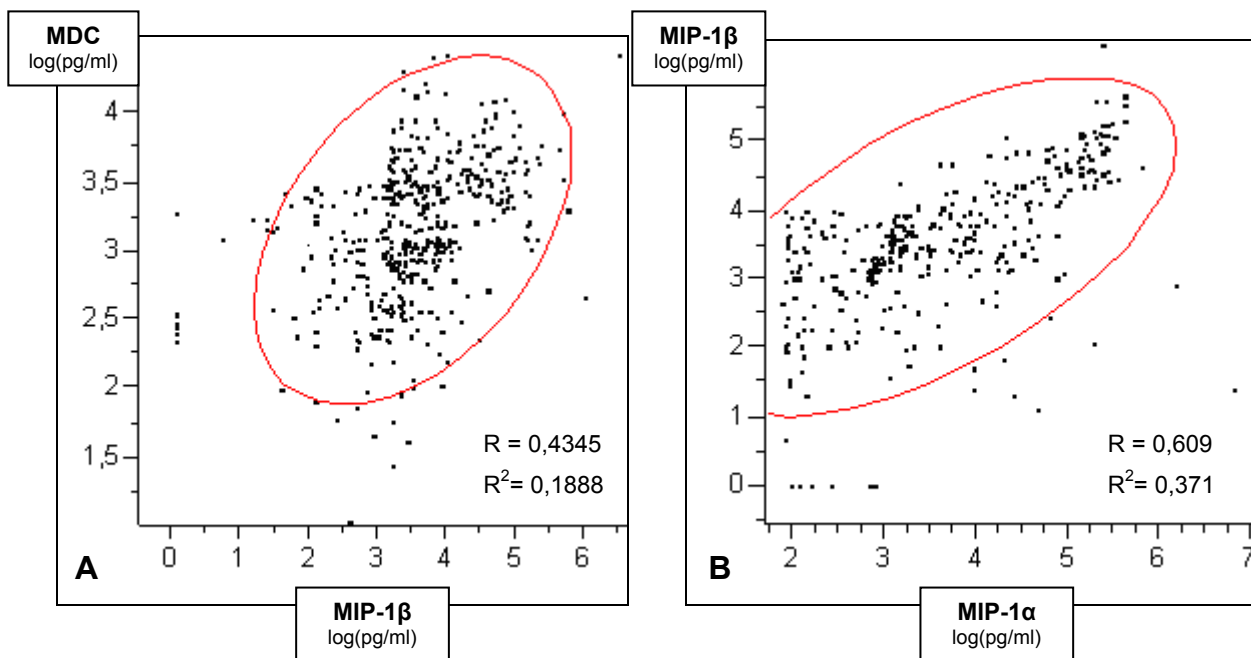
**Abb. 22:** Kinetik der zellulären Sekretion (log(pg/ml)) von ENA-78 (A), IL-8 (B), MCP-1 (C), MIP-1 $\alpha$  (D), MIP-1 $\beta$  (E), MDC (F) und TARC (G) bei UCBC von Neugeborenen. Es wurde mit Antigenen von *E. histolytica*, *P. falciparum*, *O. volvulus*, *A. lumbricoides* und *S. mansoni* für die Dauer von 24, 48, 72 und 96 Stunden stimuliert. Die verschiedenen Antigen-Stimulationsansätze wurden zusammengefasst. Die Anzahl der jeweils dargestellten Versuchsansätze wurde mit n = x angegeben.

### 3.7 Korrelationsanalyse der Chemokinsekretion

Die Sekretion der Chemokine MCP-1, IL-8, MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , MDC und TARC bei UCBC von Neugeborenen und PBMC von Müttern wurde auf eine mögliche Korrelation der Chemokine untereinander hin untersucht.

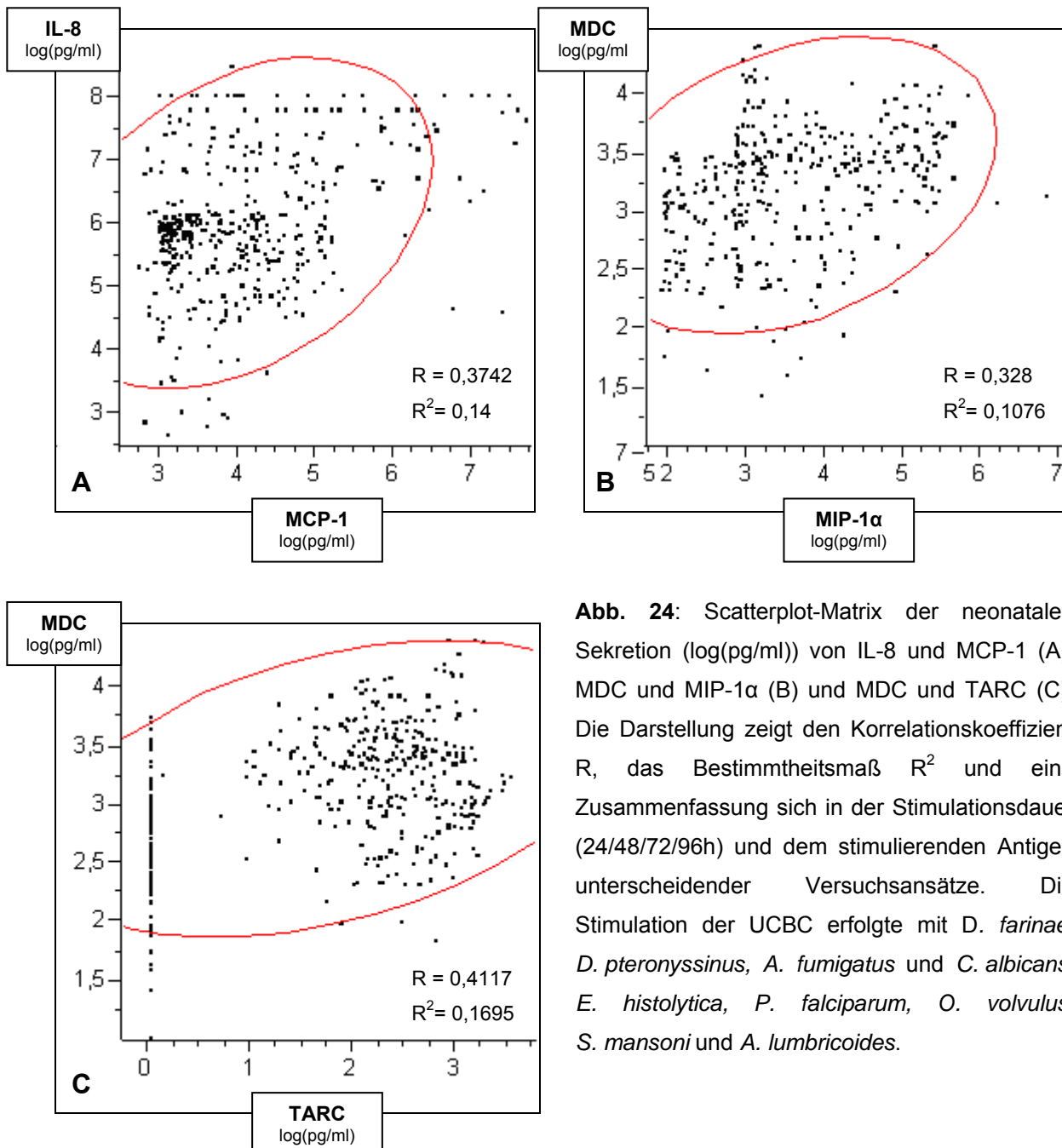
#### a) Korrelationen der Chemokinsekretion bei UCBC von Neugeborenen

Die MDC-Sekretion der UCBC korrelierte positiv ( $p < 10^{-5}$ ) mit der Sekretion von MIP-1 $\beta$  (Abb. 23A). Auch für die neonatale Sekretion von MIP-1 $\alpha$  und MIP-1 $\beta$  ließ sich mit  $p < 10^{-5}$  wie in Abb. 23B gezeigt eine positive Korrelation feststellen.



**Abb. 23:** Scatterplot-Matrix für die Korrelationsanalyse der neonatalen Sekretion (log(pg/ml)) von MDC und MIP-1 $\beta$  (A) und MIP-1 $\beta$  und MIP-1 $\alpha$  (B). Die Darstellung zeigt den Korrelationskoeffizient R, das Bestimmtheitsmaß  $R^2$  und eine Zusammenfassung sich in der Stimulationsdauer (24, 48, 72, 96 Stunden) und dem stimulierenden Antigen unterscheidender Versuchsansätze. Die Stimulation der UCBC erfolgte mit *D. farinae*, *D. pteronyssinus*, *A. fumigatus*, *C. albicans*, *E. histolytica*, *P. falciparum*, *O. volvulus*, *S. mansoni* und *A. lumbricoides*.

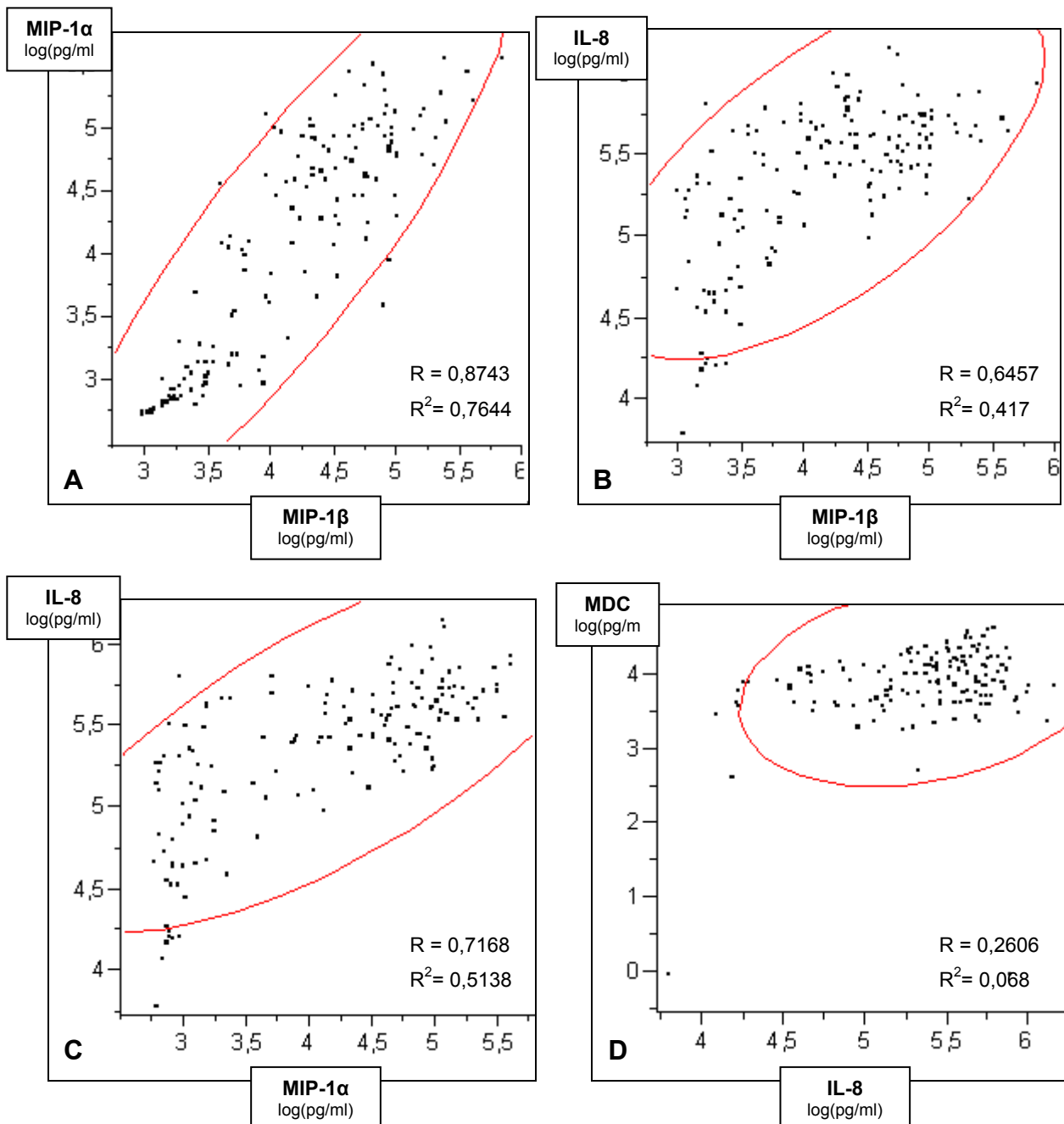
Das proinflammatorische Chemokin IL-8 wurde in positiver Korrelation ( $p < 10^{-5}$ ) mit MCP-1 gemessen, dem ebenfalls eine proinflammatorische Funktion zugeschrieben wird (Abb. 24A). Die Sekretion von MDC korrelierte mit  $p < 10^{-5}$  positiv mit der von MIP-1 $\alpha$  (Abb. 24B) und TARC (Abb. 24C).



**Abb. 24:** Scatterplot-Matrix der neonatalen Sekretion (log(pg/ml)) von IL-8 und MCP-1 (A), MDC und MIP-1 $\alpha$  (B) und MDC und TARC (C). Die Darstellung zeigt den Korrelationskoeffizient R, das Bestimmtheitsmaß  $R^2$  und eine Zusammenfassung sich in der Stimulationsdauer (24/48/72/96h) und dem stimulierenden Antigen unterscheidender Versuchsansätze. Die Stimulation der UCBC erfolgte mit *D. farinae*, *D. pteronyssinus*, *A. fumigatus* und *C. albicans*, *E. histolytica*, *P. falciparum*, *O. volvulus*, *S. mansoni* und *A. lumbricoides*.

### b) Korrelationen der Chemokinsekretion bei PBMC von Müttern

Die Analyse der mütterlichen Sekretion von MIP-1 $\alpha$  und MIP-1 $\beta$  ergab mit  $p < 10^{-5}$  eine positive Korrelation zwischen den beiden Chemokinen (Abb. 25A). Die IL-8-Sekretion der PBMC korrelierte positiv ( $p < 10^{-5}$ ) mit der Sekretion von MIP-1 $\beta$  (Abb. 25B) und MIP-1 $\alpha$  (Abb. 25C).



**Abb. 25:** Scatterplot-Matrix für die Korrelationsanalyse der Sekretionen (log(pg/ml)) von MIP-1 $\alpha$  und MIP-1 $\beta$  (A), IL-8 und MIP-1 $\beta$  (B), IL-8 und MIP-1 $\alpha$  (C) und MDC und IL-8 (D) bei PBMC. Gezeigt ist der Korrelationskoeffizient R, das Bestimmtheitsmaß R<sup>2</sup> und eine Zusammenfassung sich in der Stimulationsdauer (24/48/72/96h) und dem stimulierenden Antigen unterscheidender Versuchsansätze. Die Stimulation der PBMC erfolgte mit *D. farinae*, *D. pteronyssinus*, *A. fumigatus*, *C. albicans*, *E. histolytica*, *P. falciparum*, *O. volvulus*, *S. mansoni* und *A. lumbricoides*.

### 3.8 Logistische Regressionsanalyse der Chemokinsekretion

Die Chemokinsekretion der UCBC von Neugeborenen und PBMC von Müttern wurde einer logistischen Regressionsanalyse unterzogen. Als Einflussfaktoren wurden der Status der allergischen Sensibilisierung (IgE-Status) der Mütter, eine Infektion der Mütter zum Zeitpunkt der Geburt mit Helminthen oder Protozoen, die Stimulationsdauer und die Antigenstimulation gewählt (Tab. 5).

Eine allergische Sensibilisierung der Mütter gegen die Milben *D. farinae* und *D. pteronyssinus* veränderte signifikant die Sekretion von MCP-1, ENA-78, MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , MDC und TARC bei UCBC und die Sekretion von IL-8, MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$  und TARC bei PBMC.

In Abhängigkeit der Stimulationsdauer wurde bei UCBC die Sekretion aller gemessenen Chemokine - IL-8, MCP-1, ENA-78, MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , MDC und TARC - signifikant beeinflusst.

Auch eine Infektion der Mütter mit Helminthen veränderte die TARC-Sekretion bei UCBC ( $p < 0,0001$ ).

Eine Infektion der Mutter mit Protozoen interagiert signifikant mit der Sekretion von IL-8, ENA-78 und TARC bei deren Kindern.

Bei den Müttern selbst war die zelluläre Sekretion von ENA-78-, MIP-1 $\alpha$ -, MIP-1 $\beta$  und MDC bei Infektion mit Protozoen signifikant beeinflusst.

Sowohl bei den Müttern als auch ihren Kindern veränderten Antigene von Parasiten die Sekretion von von IL-8, MIP-1 $\alpha$  und MIP-1 $\beta$  (für alle  $p < 0,005$ ).

Die Sekretion von MDC und TARC wurde durch die Stimulation mit Antigenen nur bei den Müttern signifikant beeinflusst (MDC  $p = 0,02$ ; TARC  $p < 0,0001$ ).

Chemokin	Einflussgröße	Mütter	Neugeborene
<b>IL-8</b>			
	1. IgE-Status	* p = 0,0227	p = 0,1506
	2. Stimulationsdauer	-	** p < 0,0001
	3. Helminthen-Status	p = 0,4318	p = 0,4687
	4. Protozoen-Status	p = 0,2689	* p = 0,0112
	5. Antigen	** p < 0,0001	** p = 0,0040
<b>MCP-1</b>			
	1. IgE-Status	p = 0,0831	* p = 0,0227
	2. Stimulationsdauer	-	** p < 0,0001
	3. Helminthen-Status	p = 0,3521	p = 0,3611
	4. Protozoen-Status	p = 0,0694	p = 0,0570
	5. Antigen	p = 0,4087	p = 0,6154
<b>ENA-78</b>			
	1. IgE-Status	p = 0,0908	** p = 0,0067
	2. Stimulationsdauer	-	** p < 0,0001
	3. Helminthen-Status	p = 0,3082	p = 0,6529
	4. Protozoen-Status	** p = 0,0010	* p = 0,0243
	5. Antigen	** p < 0,0001	p = 0,3065
<b>MIP-1<math>\alpha</math></b>			
	1. IgE-Status	** p < 0,0001	** p < 0,0001
	2. Stimulationsdauer	-	** p < 0,0001
	3. Helminthen-Status	p = 0,7852	p = 0,3659
	4. Protozoen-Status	* p = 0,0382	p = 0,7606
	5. Antigen	** p < 0,0001	** p < 0,0001
<b>MIP-1<math>\beta</math></b>			
	1. IgE-Status	** p = 0,0008	** p = 0,0040
	2. Stimulationsdauer	-	** p < 0,0001
	3. Helminthen-Status	p = 0,3595	p = 0,4168
	4. Protozoen-Status	* p = 0,0131	p = 0,8751
	5. Antigen	** p < 0,0001	** p < 0,0001
<b>MDC</b>			
	1. IgE-Status	p = 0,2717	** p = 0,0018
	2. Stimulationsdauer	-	** p < 0,0001
	3. Helminthen-Status	p = 0,7767	p = 0,3004
	4. Protozoen-Status	* p = 0,0305	p = 0,0697
	5. Antigen	* p = 0,0189	p = 0,7648
<b>TARC</b>			
	1. IgE-Status	* p = 0,0460	* p = 0,0274
	2. Stimulationsdauer	-	* p = 0,0156
	3. Helminthen-Status	p = 0,5598	** p < 0,0001
	4. Protozoen-Status	p = 0,2934	** p = 0,0007
	5. Antigen	** p < 0,0001	p = 0,9954

**Tab. 5:** Ergebnisse der logistischen Regressionsanalyse der Chemokinsekretion bei UCBC (n = 33) und PBMC (n = 23). Als Einflussgrößen wurden untersucht: 1. der maternale Status der allergenspezifischen Sensibilisierung gegen *D. farinae* und *D. pteronyssinus*; 2. die Dauer der Stimulation; 3. der Infektionsstatus der Mütter mit Helminthen; 4. der Infektionsstatus der Mütter mit Protozoen und 5. die Stimulation mit unterschiedlichen Antigenen bzw. Allergenen: *E. histolytica*, *P. falciparum*, *O. volvulus*, *S. mansoni*, *A. lumbricoides*, *D. farinae*, *D. pteronyssinus*, *C. albicans* und *A. fumigatus*. Signifikante Unterschiede sind für  $p \leq 0,05$  als \* und für  $p \leq 0,01$  als \*\* angegeben.



### 3.9 Zytokinsekretion

Die allergen- und parasitenantigenspezifische Zytokinsekretion bei UCBC von Neugeborenen und PBMC von Müttern wurde untersucht. Die Neugeborenen und deren Mütter wurden entsprechend dem mütterlichen Infektions- bzw. Allergiestatus in die jeweils positiven und negativen Gruppen eingeteilt. Daraufhin wurden die Zytokinprofile zwischen den Gruppen verglichen. Gezeigt werden jeweils die Vergleiche mit deutlichem Unterschied in der Zytokinsekretion. Bei allen anderen Ansätzen war entweder kein Unterschied zu finden oder die Stichprobe zu klein.

#### 3.9.1 Interferon $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )

##### a) IFN- $\gamma$ -Sekretion der UCBC und PBMC bei allergisch sensibilisierten Müttern

Nach Stimulation der UCBC mit *C. albicans* und *O. volvulus* für eine Dauer von 48 Stunden wurde in den Zellkulturüberständen von Neugeborenen allergisch sensibilisierter Mütter eine signifikant höhere IFN- $\gamma$ -Sekretion als bei den Neugeborenen nicht allergisch sensibilisierter Mütter gemessen (Abb. 26A, B).

Für die Stimulation der UCBC mit *S. mansoni*-Antigen wurde eine signifikant höhere IFN- $\gamma$ -Konzentration in den Versuchsansätzen von Neugeborenen allergisch sensibilisierter Mütter festgestellt (Abb. 26C). In Abb. 26D ist die neonatale IFN- $\gamma$ -Sekretion nach *in vitro* Aktivierung mit Allergen von *D. pteronyssinus* und Antigen von *E. histolytica* aufgeführt. Es wurde eine signifikant höhere Sekretion bei Neugeborenen allergisch sensibilisierter Mütter gemessen (Abb. 26D).

Die Analyse der IFN- $\gamma$ -Sekretion nach Zusammenfassung der Allergen- und Antigenstimulationen ergab eine signifikant erhöhte Sekretion bei UCBC von Neugeborenen allergisch sensibilisierter im Vergleich zu nicht sensibilisierter Mütter (s. Anhang 31H). Die Untersuchung der IFN- $\gamma$ -Sekretion bei PBMC allergisch sensibilisierter und nicht sensibilisierter Mütter ergab keine signifikanten Differenzen.

##### b) IFN- $\gamma$ -Sekretion der UCBC und PBMC bei Helminthen-infizierten Müttern

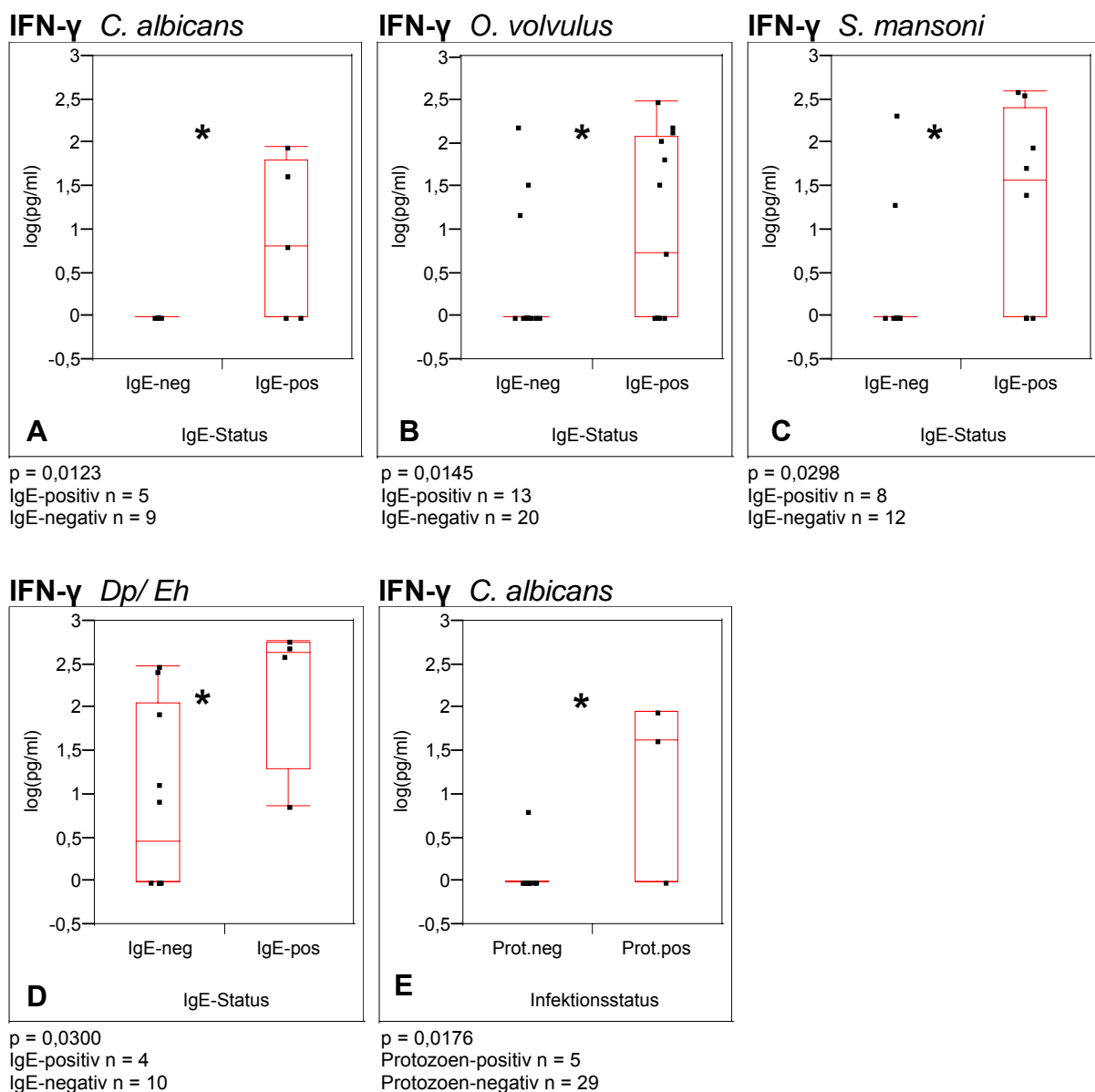
Die IFN- $\gamma$ -Sekretion bei PBMC von Müttern und UCBC von deren Neugeborenen zeigte bei Helminthen-infizierten und nicht infizierten Müttern keine deutlichen Unterschiede.

##### c) IFN- $\gamma$ -Sekretion der UCBC und PBMC bei Protozoen-infizierten Müttern

Die Sekretion von IFN- $\gamma$  nach *in vitro* Stimulation mit *C. albicans*-Allergen war bei Neugeborenen, deren Mütter zum Zeitpunkt der Schwangerschaft und Geburt mit

Protozoen infiziert waren, im Gegensatz zu den Neugeborenen Protozoen-negativer Mütter signifikant höher (Abb. 26E).

Die PBMC von Protozoen-infizierten und nicht infizierten Müttern zeigten nach *in vitro* Aktivierung mit Allergenen und Antigenen keine deutlichen Unterschiede in der IFN- $\gamma$ -Sekretion.



**Abb. 26:** Neonatale (UCBC) IFN- $\gamma$ -Sekretion (log(pg/ml)) bei Neugeborenen von (A-D) Müttern mit positiver (IgE-pos) und negativer (IgE-neg) allergenspezifischer IgE-Reaktivität und (E) Protozoen-infizierten (Prot.pos) und nicht infizierten (Prot.neg) Müttern nach *in vitro* Stimulation mit *C. albicans* (A, E), *O. volvulus* (B), *S. mansoni* (C). In Abb. D wurden die UCBC mit *E. histolytica* (Eh) und *D. pteronyssinus* (Dp) stimuliert. In Abb. A, B und E wird die Stimulation für eine Dauer von 48 Stunden, in Abb. C und D für 72 Stunden gezeigt. Signifikante Unterschiede sind für  $p \leq 0,05$  als \* angegeben.

### **3.9.2 Interleukin 10 (IL-10)**

#### **a) IL-10-Sekretion der UCBC und PBMC allergisch sensibilisierter Mütter**

Für IL-10 wurde bei allen Stimulationszeiten und für alle durchgeführten Antigenstimulationen eine tendenziell höhere Sekretion bei UCBC von Neugeborenen allergisch sensibilisierter im Gegensatz zu den UCBC von Neugeborenen allergisch nicht sensibilisierter Mütter beobachtet. Aufgrund der Stichprobengröße konnte dies jedoch nicht statistisch ausgewertet werden.

Die PBMC von allergisch sensibilisierten und nicht sensibilisierten Müttern zeigten nach *in vitro* Stimulation mit Allergenen und Antigenen keine Unterschiede in der IL-10-Sekretion.

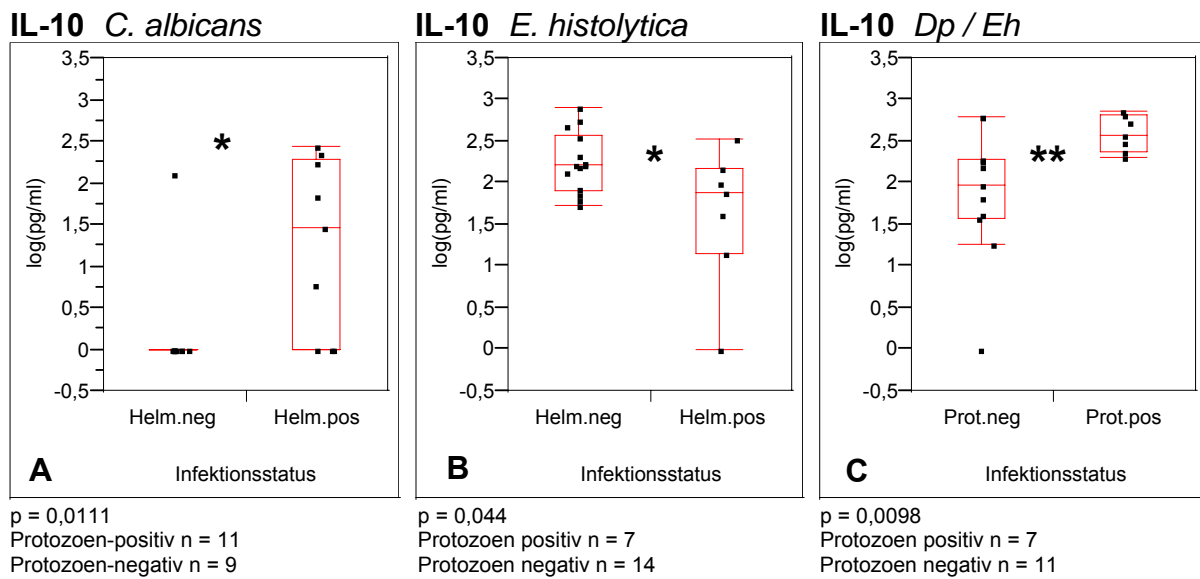
#### **b) IL-10-Sekretion der UCBC und PBMC bei Helminthen-infizierten Müttern**

Die Sekretion von IL-10 nach Stimulation der UCBC mit Allergen von *C. albicans* war bei Neugeborenen von Helminthen-infizierten Müttern signifikant höher als bei Neugeborenen nicht infizierter Mütter (Abb. 27A). Nach Stimulation mit *E. histolytica*-Antigen sezernierten die UCBC Helminthen-negativer Mütter signifikant mehr IL-10 (Abb. 27B). Die PBMC von Helminthen-infizierten und nicht infizierten Müttern zeigten keine signifikanten Unterschiede der IL-10-Sekretion.

#### **c) IL-10-Sekretion der UCBC und PBMC bei Protozoen-infizierten Müttern**

Die Sekretion von IL-10 nach gleichzeitiger Stimulation der UCBC mit Allergen von *D. pteronyssinus* und Allergen von *E. histolytica* für eine Dauer von 48 Stunden war bei den Neugeborenen Protozoen-infizierter Mütter signifikant höher (Abb. 27C).

Die PBMC von Protozoen-infizierten und nicht infizierten Müttern zeigten keine signifikanten Unterschiede der IL-10-Sekretion.

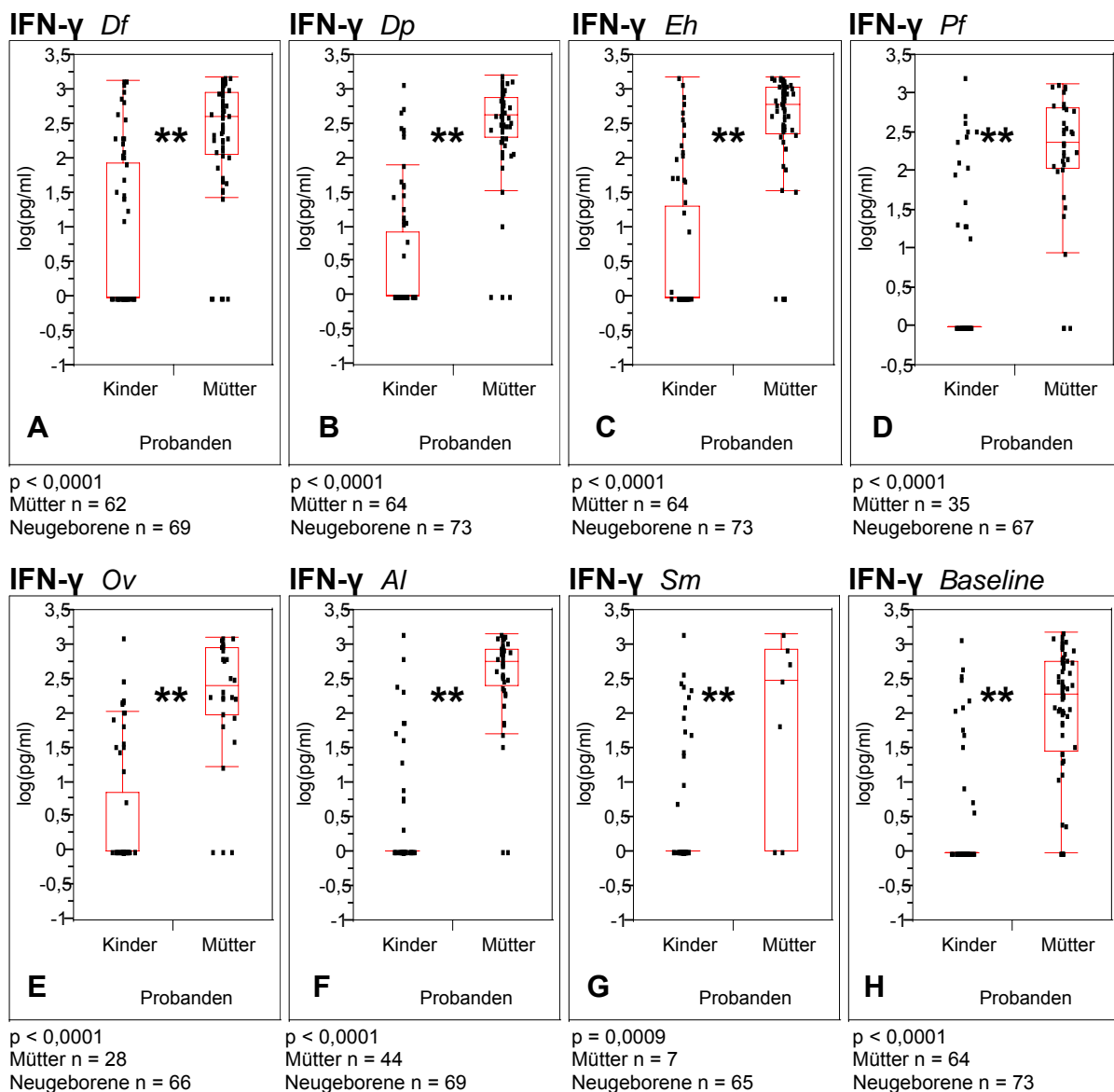


**Abb. 27:** IL-10-Sekretion (log(pg/ml)) bei Neugeborenen (UCBC) von (A, B) Helminthen-infizierten (Helm.pos) und Helminthen-negativen (Helm.neg) und (C) Protozoen-infizierten und nicht infizierten Müttern nach *in vitro* Stimulation mit (A) *C. albicans*, (B) *E. histolytica* (Eh) und (C) *D. pteronyssinus* (Dp) und *E. histolytica* (Eh). In Abbildung A wurden die Stimulationszeiten 48, 72 und 96 Stunden zusammengefasst. Die Abbildungen B und C zeigen die Werte der IL-10-Sekretion bei UCBC nach 48 Stunden Stimulationsdauer. Signifikante Unterschiede sind für  $p \leq 0,05$  als \* und für  $p \leq 0,01$  als \*\* angegeben.

### 3.10 Vergleich der Zytokinsekretion bei Neugeborenen und deren Müttern

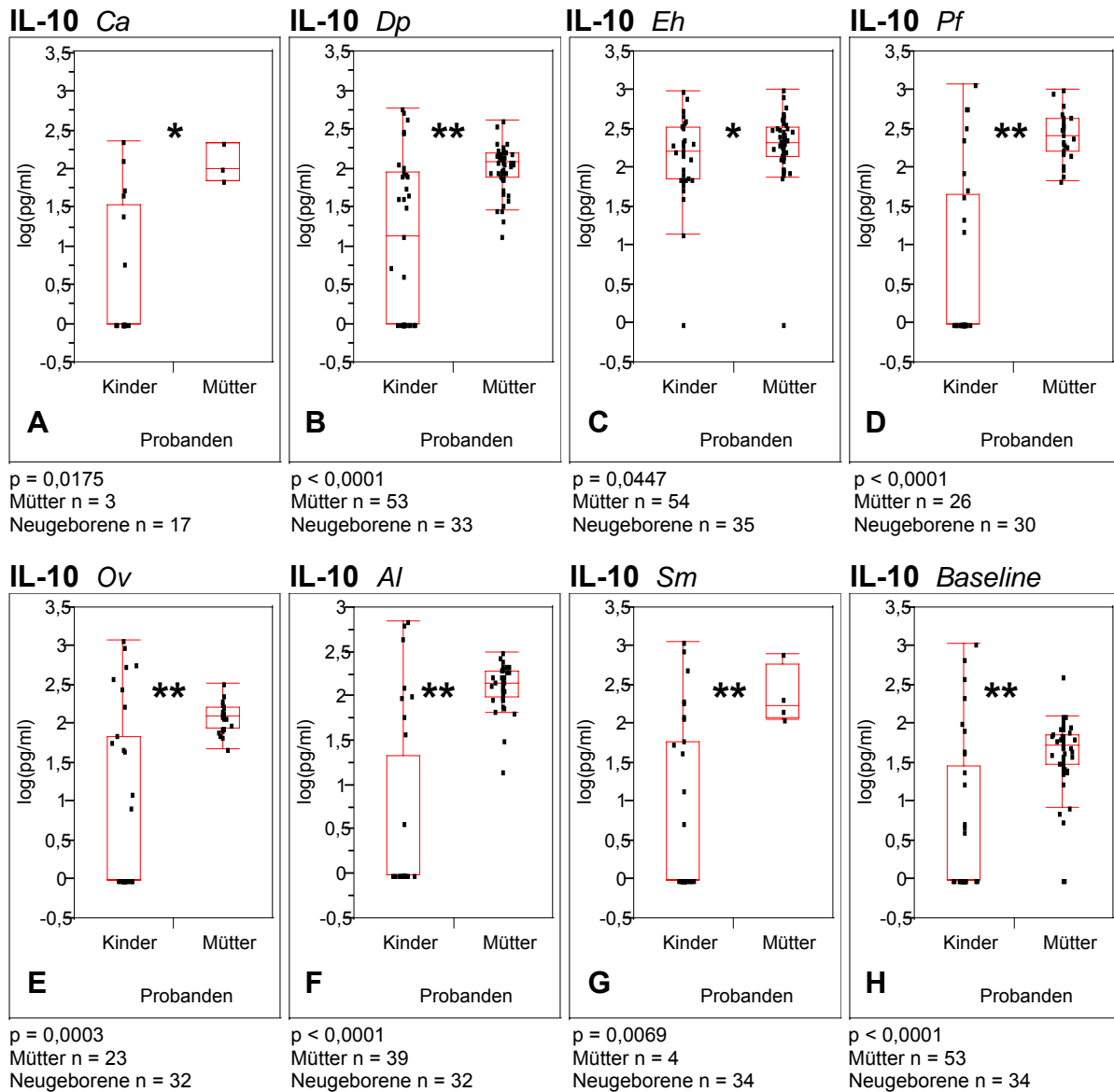
Die Zytokinsekretion der mütterlichen PBMC und der UCBC von Neugeborenen wurde für jedes Zytokin miteinander verglichen.

**IFN- $\gamma$ :** Die PBMC sezernierten sowohl nach Stimulation mit den Allergenen von *D. pteronyssinus* und *D. farinae* als auch mit Antigenen von *E. histolytica*, *P. falciparum*, *O. volvulus*, *A. lumbricoides* und *S. mansoni* und im unstimulierten Zellkulturansatz deutlich mehr IFN- $\gamma$  als die UCBC der Neugeborenen (Abb. 28A-H).



**Abb. 28:** IFN- $\gamma$ -Sekretion (log(pg/ml)) bei Müttern (PBMC) und Neugeborenen (UCBC) nach in vitro Stimulation für eine Dauer von 48 Stunden. Es wurde mit Allergenen von (A) *D. farinae* (*Df*), (B) *D. pteronyssinus* (*Dp*) und Antigenen von (C) *E. histolytica* (*Eh*), (D) *P. falciparum* (*Pf*), (E) *O. volvulus* (*Ov*), (F) *A. lumbricoides* (*Al*) und (G) *S. mansoni* (*Sm*) stimuliert. In (F) ist die IFN- $\gamma$ -Sekretion im unstimulierten Zellkulturansatz gezeigt. Signifikante Ergebnisse sind für  $p \leq 0,01$  als \*\* angegeben.

**IL-10:** Die PBMC der Mütter produzierten im Vergleich zu den UCBC der Neugeborenen nach Stimulation mit Antigenen von *E. histolytica*, *P. falciparum*, *O. volvulus*, *A. lumbricoides* und *S. mansoni*, sowie Allergen von *D. pteronyssinus*, *C. albicans* und im unstimulierten Kulturansatz signifikant mehr IL-10 (Abb. 29A-H).

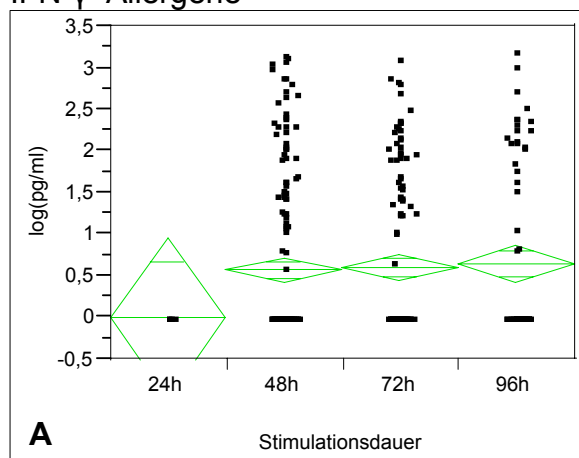


**Abb. 29:** IL-10-Sekretion (log(pg/ml)) bei Müttern (PBMC) und Neugeborenen (UCBC) nach in vitro Stimulation für eine Dauer von 48 Stunden. Es wurde mit Allergen von (A) *D. farinae* (*Df*), (B) *D. pteronyssinus* (*Dp*) und Antigenen von (C) *E. histolytica* (*Eh*), (D) *P. falciparum* (*Pf*), (E) *O. volvulus* (*Ov*), (F) *A. lumbricoides* (*Al*) und (G) *S. mansoni* (*Sm*) stimuliert. In (F) ist die IL-10-Sekretion im unstimulierten Zellkulturansatz gezeigt. Signifikante Ergebnisse sind für  $p \leq 0,05$  als \* und für  $p \leq 0,01$  als \*\* angegeben.

### 3.11 Kinetik der neonatalen Zytokinproduktion

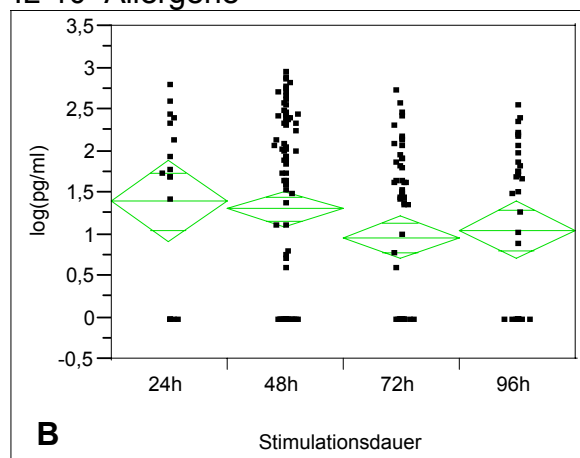
Die Stimulationsansätze mit *D. farinae*, *D. pteronyssinus*, *C. albicans* und *A. fumigatus* wurden in Abb. 30A und B und die Ansätze mit *O. volvulus*, *A. lumbricoides*, *E. histolytica*, *P. falciparum* und *S. mansoni* in Abb. 30C und D zusammengefasst. Die IFN- $\gamma$ -Sekretion der UCBC begann sowohl bei Stimulation mit Allergenen als auch mit Antigenen erst nach 48 Stunden und blieb bei beiden beinahe konstant (Abb. 30A, C). Bei IL-10 unterschied sich die Kinetik der Allergen- von den Antigenstimulationen vor allem in den ersten 24 und 48 Stunden. Die IL-10-Produktion nach Allergenstimulation war nach 24 Stunden am höchsten (Abb. 30B).

#### IFN- $\gamma$ Allergene



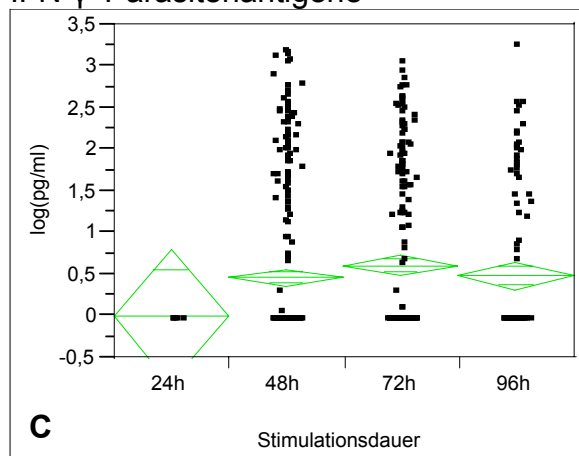
24 Stunden n = 4  
48 Stunden n = 182  
72 Stunden n = 138  
96 Stunden n = 74

#### IL-10 Allergene



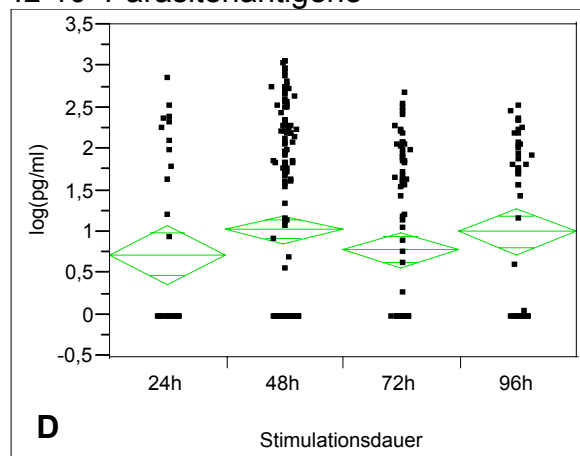
24 Stunden n = 18  
48 Stunden n = 95  
72 Stunden n = 66  
96 Stunden n = 35

#### IFN- $\gamma$ Parasitenantigene



24 Stunden n = 5  
48 Stunden n = 340  
72 Stunden n = 225  
96 Stunden n = 117

#### IL-10 Parasitenantigene



24 Stunden n = 34  
48 Stunden n = 163  
72 Stunden n = 96  
96 Stunden n = 56

**Abb. 30:** Kinetik der IFN- $\gamma$ - und IL-10-Sekretion (log(pg/ml)) nach Stimulation von neonatalen UCBC mit *D. farinae*, *D. pteronyssinus*, *C. albicans* und *A. fumigatus* (A,B) und *A. lumbricoides*, *E. histolytica*, *O. volvulus*, *P. falciparum* und *S. mansoni* (C,D) für 24, 48, 72 und 96 Stunden.

## 4. Diskussion

Eine allergische Sensibilisierung oder parasitäre Infektion der Mutter während der Schwangerschaft kann durch eine diaplazentare Übertragung von Allergenen oder Antigenen die Reifung des fetalen Immunsystems beeinflussen. Findet bereits *in utero* ein Kontakt mit Parasiten oder deren Antigenen statt, so kann bei einer postnatalen Infektion der Krankheitsverlauf und die Pathologie verändert sein (*Pit et al., 2000, Soboslay et al., 1999, Elson et al., 1996, Steel et al., 1994*). Die Immunantwort der Neugeborenen auf ubiquitär vorkommende Allergene kann nach einem pränatalen Kontakt mit Allergenen bis ins Erwachsenenalter moduliert sein. In Entwicklungsländern ist die Prävalenz parasitärer Infektionen sehr hoch, Allergien kommen jedoch vor allem in ländlichen Regionen selten vor. Die „Hygiene Hypothese“ (*Strachan, 1989*) versucht einen kausalen Zusammenhang zwischen diesen beiden epidemiologischen Beobachtungen herzustellen. Jedoch ist die immunologische Grundlage dieser Hypothese noch weitgehend ungeklärt. Es gibt erheblichen Bedarf, die immunmodulatorischen Einflüsse von parasitären Infektionen und einer allergischen Sensibilisierung der Mütter während der Schwangerschaft auf das Immunsystem der Neugeborenen zu untersuchen und zu verstehen.

### 4.1 Parasitologische Untersuchungen

Insgesamt wurden die Stuhl- und Urinproben von 65 Müttern untersucht. Alle Mütter lebten in urbanen, afrikanischen hygienischen Verhältnissen in Sokodé.

Bei 56% der Mütter wurde in den parasitologischen Untersuchungen der Stuhl- und Urinproben eine Infektion mit Parasiten nachgewiesen. Damit liegen die Ergebnisse dieser Studie an der unteren Grenze, der in vorangegangenen Untersuchungen belegten, hohen Infektionsbelastung der Bevölkerung Westafrikas (*Keiser et al., 2002, Reinthaler et al., 1988*). Allerdings berücksichtigt die Mehrzahl der Studien die unterschiedliche Infektionsbelastung in ländlichen und urbanen Gebieten nicht. So könnten die rein urbane Herkunft und der gehobene Lebensstandard der Mütter, die sich eine Geburt in der Klinik leisten können, Gründe für die geringere Infektionslast sein. Außerdem ist nicht auszuschließen, dass die tatsächliche Infektionslast der Personen nicht erfasst werden konnte, da jeweils nur eine Stuhl- und Urinprobe untersucht wurde. Eine intermittierende Ausscheidung von Eiern in



Stuhl und Urin sowie ein geringer oder abklingender Parasitenbefall wurden deshalb möglicherweise übersehen. Bei Stuhluntersuchungen lassen sich verlässliche Aussagen erst nach mehrmaligen Untersuchungen treffen (*Pit et al., 1999*). Von den infizierten Müttern waren 10% mit zwei und 3% mit drei Parasitenspezies infiziert. Mehrfachinfektionen wurden in Afrika bereits des Öfteren belegt (*Keiser et al., 2002, Reinthaler et al., 1988*).

Fast die Hälfte (43%) der Mütter war mit dem Erreger der Amöbenruhr, *E. histolytica*, infiziert. Prävalenzen in dieser Höhe werden in der Bevölkerung Westafrikas häufig beobachtet (*Bray & Harris, 1977*). Jedoch ist zu beachten, dass das pathogene *E. histolytica* von dem apathogenen *E. dispar* mikroskopisch nicht zu unterscheiden ist (*Sargeant, 1992*) und deshalb in der vorliegenden Studie zwischen *E. dispar*- und *E. histolytica*-Infektionen nicht unterschieden werden konnte.

Eine Infektionsrate mit *G. lamblia* von 6,1%, wie bei den Müttern dieser Studie befunden, wurde ebenfalls bereits in vorangegangenen Untersuchungen beschrieben (*Soboslay et al., 1999, Reinthaler et al., 1988, Pampiglione et al., 1987*).

Die Infektionsbelastung der Mütter mit *S. mansoni* lag in der vorliegenden Studie bei 1,5%. Dies stimmt zwar mit den Ergebnissen von Soboslay et al. (1999) und Palmer & Bundy (1995) überein, andere Untersuchungen beschreiben jedoch eine Prävalenz von 24% in urbanen afrikanischen Gebieten (*Njiokou et al., 2004*).

Auch die Häufigkeit der Infestationen mit Hakenwürmern, *A. duodenale*/*N. americanus* (3%), war in vorangegangenen Untersuchungen mit 8, 19, 25 und 42% deutlich höher (*Soboslay et al., 1999, Palmer & Bundy, 1995, De Clercq et al., 1995, Reinthaler et al., 1988*). Hierbei könnten die starken Schwankungen und Differenzen zwischen den Ergebnissen auch durch regionale Unterschiede der Parasitenprävalenz verursacht sein.

#### **4.2 Serologische Untersuchungen**

Das Serum der Mütter und Neugeborenen wurde auf spezifische Antikörper gegen Antigene von *E. histolytica*, *P. falciparum*, *S. mansoni*, *A. lumbricoides* und *O. volvulus* hin untersucht. Dabei wurden jeweils die in vorhergehenden Studien für geeignet befundenen Antikörpersubklassen verwendet (*Kirch et al., 2003*). Des Weiteren wurde die spezifische IgE-Reaktivität der Mütter gegen Allergene von *A. fumigatus*, *D. farinae*, *D. pteronyssinus* und *C. albicans* analysiert.

Insgesamt waren im Serum der Neugeborenen im Vergleich zu den Müttern nicht weniger Antikörper gegen Parasiten zu finden. Dies könnte auf einen diaplazentaren Antigentransfer und damit auf eine pränatale immunologische Sensibilisierung der Nachkommen zurückgeführt werden (Pit et al., 2000, Soboslay et al., 1999).

*E. histolytica*-spezifisches IgA wurde bei 29% der Mütter nachgewiesen. Die Ergebnisse der parasitologischen Untersuchungen hatten eine Infektionslast von 43% ergeben. Eine Erklärung für diese Diskrepanz könnte sein, dass *E. histolytica* und *E. dispar* mikroskopisch nicht voneinander zu unterscheiden sind (Sargeant, 1992) und deshalb in den parasitologischen Untersuchungen dieser Studie nicht zwischen einer Infektion mit *E. histolytica* und *E. dispar* unterschieden werden konnte. Beim spezifischen Antikörpertest wurden jedoch nur *E. histolytica*-Infektionen detektiert. Des Weiteren muss bei der Bewertung der serologischen Ergebnisse berücksichtigt werden, dass die Sensitivität für den *E. histolytica*-spezifischen Antikörpernachweis nur 41,1% und die Spezifität 50% betrug. Damit wurde wahrscheinlich weniger als die Hälfte der Mütter, die tatsächlich *E. histolytica*-spezifische Antikörper hatten, für serologisch positiv befunden.

Bei 23,4% der Neugeborenen wurde *E. histolytica*-spezifisches IgG<sub>3</sub> gefunden. Da die Immunglobulin-Subklasse IgG plazentagängig ist, könnten diese 23,4% sowohl auf eine Antikörperbildung des Feten als auch auf einen IgG<sub>3</sub>-Transfer von der immunologisch sensibilisierten Mutter auf den Fetus zurückzuführen sein. Im Plasma der Neugeborenen konnte kein *E. histolytica*-spezifisches IgA nachgewiesen werden, was darauf zurückzuführen ist, dass die IgA-Produktion bei Neugeborenen erst nach 2 bis 3 Wochen beginnt (Hayward, 1983) und IgA nicht plazentagängig ist.

Das *P. falciparum*-spezifische IgG<sub>4</sub> im Nabelschnurblut belegt ebenfalls einen Antikörpertransfer von der Mutter auf den Fetus (Deloron et al., 1997). Die Antikörperreaktivität gegen *P. falciparum* war bei Neugeborenen (55,3%) im Vergleich zu den Müttern (60,8%) geringer. Das könnte damit zusammenhängen, dass die Bildung von *P. falciparum*-spezifischem IgG<sub>4</sub> erst nach wiederholten und chronischen Infektionen gefördert wird und damit nach maximal neunmonatigem diaplazentaren Ag-Kontakt der Feten – trotz diaplazentaren IgG-Transfer - nicht so hoch sein kann wie bei Erwachsenen.

Die trotz der geringen Spezifität und Sensitivität der serologischen Untersuchungen hohe Anzahl an *P. falciparum*-Infektionen bei Müttern dieser Studie, deutet auf eine allgemein hohe Prävalenz der Malaria in Togo hin. Frühere Untersuchungen nennen

für den Erreger der Malaria tropica eine Prävalenz von 84% in Westafrika (Nzeyimana et al., 2002).

15,7% der Mütter hatten spezifische Antikörper der Subklasse IgA gegen *S. mansoni*-Antigen im peripheren Blut. Dass adulte *Schistosoma spp.* jahrelang in ihrem Wirt persistieren können und eine frühere Infektion der Mütter in Togo, wo die Bilharziose häufig vorkommt, wahrscheinlich ist, könnte die Diskrepanz zu den Ergebnissen der parasitologischen Untersuchungen, die nur bei 1,5% der Mütter eine akute Infektion anzeigten, erklären. Dabei ist auch wieder zu beachten, dass jeweils nur eine Stuhl- und Urinprobe untersucht wurde, was für eine exakte parasitologische Bestimmung des momentanen Infektionsstatus nicht ausreichend ist (Pit et al., 1999). Die weithin angenommene Prävalenz der Schistosomiasis in West-Afrika liegt mit 30% (De Clercq et al., 1995) über den in dieser Studie gemessenen Werten. Jedoch lag die Sensitivität des Antigen-ELISA für das *S. mansoni*-spezifische IgA bei 75,41%, so dass davon ausgegangen werden kann, dass nur ca. dreiviertel aller Infektionen erfasst wurden.

Bei dem Nachweis von spezifischem IgG<sub>1</sub> gegen *O. volvulus*-Antigen war die Übereinstimmung der Antikörperreaktivität von Müttern (23,5%) und Neugeborenen (25,5%) im Vergleich zu den anderen Parasiten hoch. Dies lässt auf eine Immunsensibilisierung durch einen bereits *in utero* stattfindenden Kontakt der Neugeborenen mit *O. volvulus*-Antigen sowie einen zusätzlichen, diaplazentaren *O. volvulus*-spezifischen IgG-Transfer schließen (Soboslay et al., 1999). Da das Untersuchungsgebiet innerhalb des „Onchocerciasis Control Programme“ der WHO liegt, das durch Bekämpfung der Überträgermücken eine weitgehende Eindämmung des Parasiten *O. volvulus* erreicht hat (Hougard et al., 2001), könnte ein großer Teil der Antikörperreaktivitäten auf *O. volvulus*-Antigen jedoch auch mit einer Kreuzreaktivität mit anderen Filarien zu begründen sein (Nogami et al., 1986).

### 4.3 Chemokinsekretion

In der vorliegenden Arbeit wurde die Chemokinsekretion von peripheren mononukleären Blutzellen bei Müttern und Nabelschnurblutzellen bei den zugehörigen Neugeborenen untersucht. Die Probanden wurden entsprechend dem mütterlichen Infektions- bzw. Allergiestatus in die jeweiligen positiven und negativen Gruppen unterteilt. Die positiven und negativen Gruppen wurden auf Unterschiede in der Sekretion von ENA-78, IL-8, MCP-1, MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , MDC und TARC hin untersucht. Es wurden insgesamt sieben Chemokine mit jeweils neun unterschiedlichen Allergen- bzw. Antigenstimulationen unter drei verschiedenen Gesichtspunkten untersucht. Einzelne signifikante Unterschiede sollten daher aufgrund der hohen Anzahl an durchgeführten Tests, welche die Wahrscheinlichkeit von zufällig signifikanten Unterschieden fördert, kritisch bewertet werden (*Bland & Altman, 1995*). Aufgrund der Stichprobengröße wurde die Bonferoni-Methode der Angleichung des Signifikanzniveaus an die Anzahl durchgeführter Tests, welche die Anzahl der falsch signifikanten Unterschiede senken könnte, nicht durchgeführt.

#### 4.3.1 Epithelial Neutrophil-activating Protein 78 (ENA-78)

ENA-78 gehört zur Klasse der proinflammatorischen CXC-Chemokine und wird von Mastzellen und eosinophilen Granulozyten gebildet (*Persson et al., 2003, Lukacs et al., 1998*). ENA-78 aktiviert über den CXCR2-Rezeptor neutrophile Granulozyten (*Persson et al., 2003*), ist ein potenter Chemoattraktor für diese Zellen und wurde bisher vor allem bei entzündlichen Erkrankungen des Magen-Darmtraktes wie z.B. Morbus Crohn, ulzerativer Kolitis und akuter Appendizitis und bei rheumatoider Arthritis beobachtet (*Walz et al., 1997*). Auch bei Erkrankungen der Atemwege wie z.B. COPD und viraler Rhinitis wurde eine vermehrte Sekretion von ENA-78 und die Expression der Rezeptoren CXCR1 und CXCR2, an die ENA-78 bindet, beschrieben (*Ghildyal et al., 2005, Donniger et al., 2003, Qiu et al., 2003*).

Über die Sekretion und Funktion von ENA-78 bei allergischen Entzündungen ist bisher wenig bekannt. Die Sekretion von ENA-78 war in der vorliegenden Studie sowohl spontan als auch nach Stimulation mit Antigenen und bei Untersuchung der Gesamtsekretion bei UCBC von Neugeborenen allergisch sensibilisierter Mütter erhöht. Wenn man davon ausgeht, dass durch eine allergische Sensibilisierung der Mutter die Neugeborenen immunologisch sensibilisiert werden, sprechen diese Beobachtungen dafür, dass ENA-78 grundsätzlich und unabhängig der Art des

stimulierenden Pathogens bei Aktivierung der Immunzellen als Mediator in Entzündungen mit allergischer Pathogenese eine Rolle spielt.

Auch bei einer Infektion der Mütter, sowohl mit Helminthen als auch mit Protozoen, wurde bei den Neugeborenen in allen Versuchansätzen eine höhere Sekretion von ENA-78 beobachtet, was die Annahme unterstützt, dass ENA-78 als unspezifischer Mediator in jeder Form der Entzündung eine Rolle spielt.

Bei den Müttern ließ sich jedoch kein Einfluss einer Infektion mit Protozoen auf die ENA-78-Sekretion der PBMC beobachten oder zumindest sezernierten die PBMC der Protozoen-negativen Mütter ebensoviel ENA-78 wie die der infizierten. In Togo ist davon auszugehen, dass wahrscheinlich jeder Erwachsene bereits mit protozoischen Parasiten Kontakt hatte. Die Mütter, die in dieser Studie als infektionsfrei befunden wurden, waren aller Wahrscheinlichkeit nach vormals mit Protozoen infiziert und zeigten daher nicht die Immunreaktivität und ENA-78-Sekretion von immunologisch naiven Personen. Da bisher nur wenige Kenntnisse zur Rolle von ENA-78 bei parasitären Infektionen vorliegen, bedarf es weiterer Untersuchungen für eine Erklärung und Interpretation der hier aufgezeigten Ergebnisse. Auch die Sekretion und Bedeutung von ENA-78 bei Neugeborenen ist bisher nur unzureichend untersucht worden und bedarf weiterer Aufklärung.

#### **4.3.2 Interleukin 8 (IL-8)**

IL-8 wurde als erstes der chemotaktischen Zytokine entdeckt und ist wie die anderen proinflammatorischen CXC-Chemokine für die chemotaktische Migration und Aktivierung von neutrophilen und basophilen Granulozyten, Monocyten, Lymphozyten und anderen Zelltypen während einer Entzündung verantwortlich (*Feghali et al., 1997, Taub et al., 1996, Krieger et al., 1992, Miller & Krangel, 1992*). Aufgrund seiner großen Bedeutung bei der Aktivierung von neutrophilen Granulozyten wurde IL-8 zuerst auch als „neutrophil chemotactic factor“ (NCF) bezeichnet (*Baggiolini & Clark-Lewis, 1992*). IL-8 wird von verschiedenen Zelltypen sezerniert, wozu Macrophagen, Monozyten, Fibroblasten, Endothelzellen und neutrophile und eosinophile Granulozyten zählen und bindet wie auch ENA-78 an die Rezeptoren CXCR1 und CXCR2 (*Persson et al., 2003*).

War bei den Müttern zum Zeitpunkt der Geburt eine allergische Sensibilisierung nachzuweisen, so wurde bei den Neugeborenen nach Stimulation mit Allergenen und nach Zusammenfassung aller Stimulationsansätze eine deutlich höhere Sekretion

von IL-8 gemessen. Auch bei den allergisch sensibilisierten Müttern selbst war eine insgesamt erhöhte IL-8-Sekretion festzustellen. Diese Beobachtungen stimmen mit den Untersuchungen mehrerer Autoren überein, die eine Beteiligung von IL-8 in der Pathologie allergischer Erkrankungen wie z. B. Asthma beschrieben haben (*De Sanctis et al., 1999, Folkard et al., 1997, Shute et al., 1997, Chanez et al., 1996*). Falcão et al. (2002) haben die IL-8-Sekretion bei Patienten mit Schistosomiasis untersucht und keinen Einfluss der Infektion auf die Sekretion feststellen können. Auch die Ergebnisse der vorliegenden Studie deuten daraufhin, dass eine Helmintheninfektion keinen Einfluss auf die IL-8-Sekretion der Mütter hat.

Abrams et al. (2003) haben eine erhöhte Sekretion von IL-8 bei *P. falciparum*-Infektionen beschrieben. Für die hier untersuchten Mütter war hingegen kein Unterschied der IL-8-Sekretion in Bezug auf ihren Infektionsstatus mit Protozoen festzustellen. Allerdings ist davon auszugehen, dass der größte Teil der Mütter dieser Studie bereits vorab mit *P. falciparum* in Kontakt gekommen waren und deshalb die in dieser Studie als negativ eingestufteten Mütter bereits immunologisch sensibilisiert waren. Bei den Neugeborenen von Protozoen-infizierten Müttern wurde eine insgesamt erniedrigte IL-8-Sekretion festgestellt. Dass in dieser Studie außer *P. falciparum* auch Infektionen mit *E. histolytica*, *G. lamblia* und *T. intestinalis* in der Gruppe der Protozoen-positiven Mütter berücksichtigt wurden, könnte ebenfalls ein Grund für den Unterschied zu den Ergebnissen von Abrams et al. bei einer Malariainfektion während der Schwangerschaft sein.

#### **4.3.3 Monocyte Chemoattractant Protein 1 (MCP-1)**

MCP-1 wird von Monozyten, Macrophagen, Fibroblasten und Gefäßendothelzellen sezerniert und wirkt chemotaktisch auf Monozyten, Lymphozyten und NK-Zellen (*Rollins, 1997, Rot et al., 1992*). Des Weiteren aktiviert MCP-1 basophile Granulozyten und induziert die Ausschüttung von Histamin (*Rot et al., 1992, Bischoff et al., 1992*). MCP-1 gehört zur Klasse der CC-Chemokine und spielt durch Rekrutierung von Lymphozyten und Monozyten eine wichtige Rolle im akuten Stadium einer Entzündung (*Ferreira et al., 2005*). MCP-1 wurde in vorangegangenen Studien in allergischen Entzündungen vermehrt nachgewiesen (*Kaburagi et al., 2001, Lukacs et al., 1997, Alam et al., 1996, Baggolini & Dahinden, 1994, Sousa et al., 1994*) und mit der Th2-Immunreaktivität in Verbindung gebracht (*Gu et al., 2000, Chensue et al., 1999*). Die Ergebnisse dieser Studie können eine Rolle von MCP-1 in

allergischen Prozessen bestätigen. Bei Neugeborenen wurde MCP-1 sowohl nach Stimulation mit *C. albicans* als auch in der Zusammenfassung aller Stimulationen (s. Anhang 31C) bei einer allergischen Sensibilisierung der Mutter erhöht sezerniert. Über die Sekretion und Funktion von MCP-1 bei parasitären Infektionen ist bisher nur wenig bekannt. Waren die Mütter dieser Studie zum Zeitpunkt der Geburt mit Helminthen infiziert, so wurde bei den Neugeborenen insgesamt signifikant weniger MCP-1 gemessen. Bei der MCP-1-Sekretion der PBMC der Mütter war nur für die Stimulation mit *O. volvulus* ein Unterschied in Bezug auf den Infektionsstatus mit Helminthen zu beobachten. Die große Anzahl an durchgeführten statistischen Tests und die Beobachtung, dass die Gesamtsekretion von MCP-1 bei Müttern nicht durch eine Helmintheninfektion verändert wurde, legt die Vermutung nahe, dass es sich bei der Sekretion nach Stimulation mit *O. volvulus*-Antigenen um eine fragliche Signifikanz handelt. Auch Falcão et al. (2002) berichten davon - in ihrer Studie mit *S. mansoni*-Patienten wurde keine Veränderung in der Sekretion von MCP-1 in Abhängigkeit vom Infektionsstatus gefunden.

Bei Infektion der Mutter mit Protozoen zeigten die Ergebnisse dieser Studie eine deutlich erniedrigte neonatale (UCBC) Sekretion von MCP-1 im Vergleich zu den Neugeborenen von nicht infizierten Müttern. Auch bei den Müttern wurde nach Stimulation mit *D. pteronyssinus* und *O. volvulus* und nach Zusammenfassung aller Stimulationsansätze eine signifikant erniedrigte MCP-1-Sekretion der PBMC bei vorliegender Infektion mit Protozoen festgestellt. Abrams et al. (2003) beschreiben jedoch eine Zunahme der plazentaren MCP-1-Sekretion bei Infektion der Mütter mit *P. falciparum*. Wie bei IL-8 könnte auch hier der Unterschied zu den Ergebnissen von Abrams et al. darin begründet sein, dass in dieser Studie außer *P. falciparum* auch Infektionen mit *E. histolytica*, *G. lamblia* und *T. intestinalis* in der Gruppe der Protozoen-positiven Mütter berücksichtigt wurden und sich die *P. falciparum*-spezifische MCP-1-Sekretion mit den durch die anderen Protozoen verursachten Werten überlagert.

#### **4.3.4 Macrophage Inflammatory Protein 1 $\alpha$ (MIP-1 $\alpha$ )**

MIP-1 $\alpha$  ist ein wichtiges Chemokin der Th1-Immunantwort (Schrum et al., 1996). Es ist an der Regulation von Entzündungsvorgängen beteiligt und wird vorwiegend von Monozyten, Mastzellen und Lymphozyten gebildet (Matsukawa et al., 2000). MIP-1 $\alpha$  aktiviert neutrophile, eosinophile und basophile Granulozyten und Monozyten

(Abrams et al., 2003, Zhang et al., 1999) und induziert die Synthese weiterer proinflammatorischer Chemokine und Zytokine wie z.B. IFN- $\gamma$  und IL-12 (Luther & Cyster, 2001, Rollins, 1997, Taub et al., 1996). Bisher bekannte MIP-1 $\alpha$ -Rezeptoren sind CCR1, CCR4 und CCR5, wobei CCR1 und CCR5 mit der Th1-Immunantwort assoziiert werden (Oliveira & Lukacs, 2003, Martin-Garcia et al., 2002, Rossi & Zlotnik, 2000, Chensue et al., 1999).

Die vorliegenden Ergebnisse deuten auf eine Rolle von MIP-1 $\alpha$  bei einer allergischen Sensibilisierung hin. Dies würde mit den Aussagen mehrerer Autoren zur Bedeutung von MIP-1 $\alpha$  in entzündlichen Vorgängen allergischer Erkrankungen und Asthma übereinstimmen (Miyazaki et al., 2005, Kaburagi et al., 2001, Alam et al., 1996, Lukacs et al., 1996, Baggiolini & Dahinden, 1994). Es wurde beschrieben, dass es sich bei allergischen Prozessen um ein komplexes System der Interaktionen unterschiedlicher Chemokine wie z. B. MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$  und IL-8 handelt (Tryzmel et al., 2003, Lukacs et al., 1997). Sowohl die PBMC der Mütter als auch die UCBC der Neugeborenen zeigten im Falle einer allergischen Sensibilisierung der Mutter in allen Stimulationsansätzen eine signifikant erhöhte MIP-1 $\alpha$ -Sekretion. In letzter Zeit mehren sich die Hinweise darauf, dass nicht nur Th2-spezifische, sondern auch Th1-spezifische Immunreaktivitäten bei der Entwicklung einer allergischen Symptomatik eine Rolle spielen (Shimada et al., 2004). Die erhöhte Sekretion des Th1-typischen Chemokins MIP-1 $\alpha$  bei allergisch sensibilisierten Müttern in der vorliegenden Studie wäre ein weiterer Beleg für diese Annahme.

Die Ergebnisse dieser Untersuchung zeigten eine deutlich erhöhte Spontan- und Gesamtsekretion von MIP-1 $\alpha$  bei UCBC von Neugeborenen, deren Mütter zum Zeitpunkt der Geburt mit Helminthen infiziert waren. Eine bedeutende Rolle von MIP-1 $\alpha$  bei Helmintheninfektionen wurde bereits beschrieben (Hall et al., 2001, Burgmann et al., 1995). Falcão et al. (2002) haben z.B. eine signifikante Erhöhung der MIP-1 $\alpha$ -Sekretion bei Personen mit chronischer Schistosomiasis beschrieben. Die MIP-1 $\alpha$ -Sekretion der PBMC der Mütter zeigte im Gegensatz zu den Neugeborenen keinen Unterschied zwischen den infizierten und nicht infizierten Müttern. In Togo ist davon auszugehen, dass praktisch jeder Erwachsene bereits Kontakt mit Helminthen hatte. Die Mütter, die in dieser Studie als infektionsfrei befunden wurden, waren aller Wahrscheinlichkeit nach in ihrem Leben schon mit Helminthen infiziert und zeigten daher nicht die Immunreaktivität von immunologisch



naiven Personen. Dies mag eine Erklärung für die ausbleibende Differenz der mütterlichen MIP-1 $\alpha$ -Sekretion in Bezug auf ihren aktuellen Infektionsstatus sein.

Die MIP-1 $\alpha$ -Sekretion war sowohl bei den Müttern selbst als auch bei den Neugeborenen im Falle einer Protozoeninfektion der Mutter deutlich erniedrigt. Eine verminderte Th1-typische Immunreaktivität bedeutet eine verringerte Abwehr gegen protozoische Erreger. Protozoische Parasiten supprimieren die Th1-typische, inflammatorische Immunantwort des Wirts um ihre Abstoßung und Elimination zu verhindern. Die in dieser Studie beobachtete supprimierte MIP-1 $\alpha$ -Sekretion könnte demnach auf die Infektion mit protozoischen Parasiten zurückzuführen sein.

#### **4.3.5 Macrophage Inflammatory Protein 1 $\beta$ (MIP-1 $\beta$ )**

MIP-1 $\beta$  wird vorwiegend von Monozyten, Mastzellen und Lymphozyten gebildet (*Matsukawa et al., 2000*) und bindet an die Rezeptoren CCR1, CCR5 und CCR8 (*Martin-Garcia et al., 2002, Rossi & Zlotnik, 2000, Bernardini et al., 1998*). MIP-1 $\beta$  und die Rezeptoren CCR1 und CCR5 werden mit der Th1-Immunantwort assoziiert (*Chensue et al., 1999, Schrum et al., 1996*). MIP-1 $\beta$  wirkt vor allem auf Monozyten chemotaktisch (*Rollins, 1997*) und induziert die Synthese weiterer proinflammatorischer Chemokine und Zytokine wie z.B. IFN- $\gamma$  (*Luther & Cyster, 2001, Taub et al., 1996*).

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit deuten daraufhin, dass dem MIP-1 $\beta$  bei allergischen Prozessen eine Funktion zukommt. Die MIP-1 $\beta$ -Sekretion war bei den Müttern sowohl nach Stimulation mit Allergen von *D. farinae* als auch in der Gesamtsekretion bei Vorliegen einer allergischen Sensibilisierung deutlich erhöht. Vor allem in Fällen einer schweren atopischen Dermatitis wurde auch von Kaburagi et al. (2001) eine deutliche Erhöhung von MIP-1 $\beta$  beschrieben. Die in der vorliegenden Studie beobachtete erhöhte Sekretion des Th1-typischen Chemokins MIP-1 $\beta$  im Falle einer allergischen Sensibilisierung ist ein weiterer Hinweis darauf, dass sowohl Th2-spezifische als auch Th1-spezifische Immunantworten bei der Entwicklung einer allergischen Symptomatik eine Rolle spielen (*Shimada et al., 2004*).

Über die Sekretion und Funktion von MIP-1 $\beta$  bei parasitären Infektionen ist bisher wenig bekannt. Neugeborene, deren Mütter mit Helminthen infiziert waren, zeigten eine signifikant erhöhte Spontansekretion und Gesamtsekretion von MIP-1 $\beta$ . Auch die MIP-1 $\beta$ -Sekretion der Mütter nach Stimulation mit *O. volvulus*-Antigen war im Fall

einer Helmintheninfektion deutlich erhöht. Diese Beobachtungen deuten auf eine Rolle des CC-Chemokins MIP-1 $\beta$  in entzündlichen Prozessen bei parasitären Infektionen hin, was auch zuvor von Chaisavaneeyakorn et al (2003) beschrieben wurde.

Die MIP-1 $\beta$ -Sekretion der Mütter, die mit Protozoen infiziert waren, unterschied sich nicht deutlich von der MIP-1 $\beta$ -Sekretion der nicht infizierten Mütter. Die häufig vorkommenden protozoischen Parasiten in Togo und die damit geringe Wahrscheinlichkeit, dass die als Protozoen-negativ befundenen Mütter noch nie eine Protozoeninfektion hatten, könnten eine Erklärung dafür sein, dass keine Unterschiede in der Immunreaktivität gefunden wurden.

#### **4.3.6 Thymus and Activation Regulated Chemokine (TARC)**

TARC ist ein Chemokin der Th2-Immunantwort und wird wie MDC von Endothelzellen, Macrophagen, Keratinozyten und dendritischen Zellen gebildet (Vulcano et al., 2001). TARC bindet an mehrere Zelltypen mittels der Rezeptoren CCR4 und CCR8 (Bernardini et al., 1998). CCR4 ist ein typischer Rezeptor der Th2-Lymphozyten, Mastzellen und eosinophilen Granulozyten (Imai et al., 1999). Dem TARC wurde wiederholt eine, durch Induktion einer selektiven Migration von Th2-Zellen, wichtige Rolle in allergisch-entzündlichen Erkrankungen zugeschrieben (Hijnen et al., 2004, Morita et al., 2004, Shimada et al., 2004, Vestergaard et al., 2004, Panina-Bordignon et al., 2001, Sekiya et al., 2000). Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigten jedoch eine deutlich erniedrigte TARC-Sekretion bei allergisch sensibilisierten Müttern. Auch die Neugeborenen von allergisch sensibilisierten Müttern sezernierten nach Stimulation mit *C. albicans* weniger TARC als die Neugeborenen nicht sensibilisierter Mütter. Jahnz-Rozyk et al. (2005) haben eine positive Korrelation von TARC und allergenspezifischem IgE beschrieben. Dabei ist jedoch zu beachten, dass bei Jahnz-Rozyk et al. und in anderen Studien die Patienten in der akuten Phase einer allergischen Erkrankung waren (Morita et al., 2004, Shimada et al., 2004). Im Gegensatz dazu zeigten die Probanden in der vorliegenden Studie keine akuten Symptome. Möglicherweise kommt TARC durch Rekrutierung und Aktivierung von Entzündungszellen vor allem in der akuten Phase der Entzündung bei Allergien eine Bedeutung zu.

Bei Infektion mit *S. mansoni* und *Paragonimus spec.* aktiviert TARC eosinophile Granulozyten, was zu infektionsbedingten Entzündungen führen kann (Jakubzick et

*al.*, 2004, *Matsumoto et al.*, 2002). In der vorliegenden Untersuchung zeigten die Neugeborenen, deren Mütter zum Zeitpunkt der Geburt mit Helminthen infiziert waren, eine deutlich erhöhte TARC-Sekretion. Auch scheint eine Infektion der Mütter mit Protozoen eine Steigerung der TARC-Sekretion bei den Neugeborenen zu verursachen.

Bei den Müttern konnte keine Veränderung der TARC-Sekretion im Falle einer Helminthen- oder Protozoeninfektion festgestellt werden. Dies könnte daran liegen, dass die für infektionsfrei befundenen Mütter entweder dennoch infiziert waren oder bereits eine Infektion durchgemacht hatten und damit als immunologisch sensibilisiert bewertet werden müssten. Möglicherweise verhindert auch der langjährige und wiederholte Kontakt mit Parasiten bei den Müttern eine adäquate Aktivierung des Entzündungsmediators TARC bei kurzzeitiger *in vitro* Stimulation mit Parasitenantigen, was auf eine spezifische Immunmodulation und -suppression durch chronische Infektionen mit Parasiten, wie sie in Togo vorkommen, hindeuten könnte.

#### **4.3.7 Macrophage-derived Chemoattractant (MDC)**

MDC wird von dendritischen Zellen, NK-Zellen, B-Zellen und Macrophagen gebildet (*Mantovani et al.*, 2000, *Andrew et al.*, 1998, *Godiska et al.*, 1997). IL-4 und IL-13 wirken stimulierend während dem IL-10 eine hemmende Wirkung auf die MDC-Sekretion zugeschrieben wird (*Greaves et al.*, 2001, *Andrew et al.*, 1998). MDC bindet wie auch TARC an den Rezeptor CCR4, der überwiegend auf Th2-Lymphozyten, Mastzellen, eosinophilen Granulozyten, NK-Zellen, dendritischen Zellen und Macrophagen exprimiert wird (*Imai et al.*, 1999, *Andrew et al.*, 1998, *Godiska et al.*, 1997). Dem CCR4-Liganden MDC wird, wie auch TARC, eine wichtige Rolle in allergischen entzündlichen Erkrankungen wie atopische Dermatitis und Asthma zugeschrieben (*Jahnz-Rozyk et al.*, 2005, *Shimada et al.*, 2004, *Panina-Bordignon et al.*, 2001). In der vorliegenden Studie konnte bei einer allergischen Sensibilisierung ohne allergische Symptomatik keine Veränderung der MDC-Sekretion festgestellt werden. Wie für TARC wird auch für MDC vorgeschlagen, dass die beobachtete Funktion von MDC bei allergischen Erkrankungen vor allem in der akuten Phase einer allergischen Entzündung eine Rolle spielt.

Bei *S. mansoni*-Infektionen wird dem MDC bei Entzündungen und den pathologischen Veränderungen der Lunge eine modulierende Funktion

zugeschrieben (*Jakubzick et al., 2004*). Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit sind widersprüchlich. Bei getrennter Betrachtung der Stimulation mit *A. lumbricoide*s-Antigen wurde eine erhöhte MDC-Sekretion bei Neugeborenen gefunden, deren Mütter nicht mit Helminthen infiziert waren. Insgesamt wurde jedoch eine deutlich erhöhte MDC-Sekretion bei Neugeborenen von helmintheninfizierten Müttern gemessen. Bei den Müttern unterschied sich die MDC-Sekretion in Bezug auf ihren Infektionsstatus mit Helminthen nicht. Auch Falcão et al. (2002) haben keinen Einfluss einer *S. mansoni*-Infektion auf die MDC-Sekretion gefunden. Demnach und nach den Ergebnissen der vorliegenden Studie zu urteilen kann man MDC keine Bedeutung bei der Wirtsabwehr gegen Helminthen zuschreiben.

Sowohl die Neugeborenen, deren Mütter mit Protozoen infiziert waren, als auch die Mütter selbst zeigten eine signifikant verstärkte MDC-Sekretion im Vergleich zu den nicht infizierten. Den Th2-typischen CCR4-Liganden MDC und TARC wird generell eine Bedeutung bei entzündlichen Erkrankungen beschrieben (*Kato et al., 2003*). Obzwar eine Immunantwort gegen Protozoen zumeist mit Th1-vermittelten Entzündungen einhergeht, mehren sich die Hinweise auf eine Beteiligung von Th2-typischen Immunmediatoren (*Shimada et al., 2004, Pit et al., 2001*). Die Ergebnisse dieser Arbeit würden diese Beobachtungen unterstützen.

#### **4.4 Vergleich der Chemokinsekretion bei Neugeborenen und deren Müttern**

Die UCBC der Neugeborenen sezernierten spontan und nach Stimulation mit Allergenen und Antigenen von protozoischen und metazoischen Parasiten signifikant weniger MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , ENA-78, TARC und MDC als die PBMC der Mütter. Eine deutlich höhere zelluläre Immunantwort bei PBMC von Müttern im Vergleich zu UCBC wird auch von Pit et al. beschrieben (*Pit et al., 2000*). Die Untersuchungen von Pit et al. waren allerdings auf die Zytokinproduktion beschränkt, wo eine generell verminderte zelluläre Reaktivität von UCBC von Neugeborenen festgestellt wurde. Über die neonatale Sekretion von Chemokinen ist bisher wenig bekannt und für einen Vergleich der Sekretion bei UCBC und PBMC der Mütter für die in dieser Arbeit untersuchten Chemokine liegen bisher keine vergleichbaren Ergebnisse vor. Eine defiziente Immunantwort und erhöhte Empfänglichkeit für Infektionen bei Neugeborenen ist bekannt (*Wahn, 1999*). Die verminderte Sekretion von proinflammatorischen Entzündungsmediatoren wie den Chemokinen könnte einer der Gründe für diese beobachtete Immunschwäche sein.

#### 4.5 Kinetik der neonatalen Chemokinsekretion

Die UCBC der Neugeborenen wurden mit Allergenen und Antigenen für 24, 48, 72 und 96 Stunden inkubiert und die Veränderungen der Chemokinkonzentrationen untersucht. Über die Kinetik der hier untersuchten Chemokine ist bisher wenig bekannt. Die Ergebnisse dieser Studie könnten für künftige Untersuchungen der neonatalen Chemokinsekretion wichtige Vorkenntnisse liefern. Insbesondere die Ergebnisse der Stimulationsansätze von 24 Stunden könnten für nachfolgende Studien der neonatalen Sekretion von ENA-78, MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$  und MDC interessant sein: Da für ENA-78, MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$  und MDC bereits nach 24 Stunden die höchsten Konzentrationen gemessen wurden, würde sich für eine Quantifizierung der Sekretion, wie in der vorliegenden Studie verlangt, eine längere Stimulationsdauer erübrigen.

#### 4.6 Korrelationen der Chemokinsekretion

Die Sekretion von MDC bei den Neugeborenen korrelierte positiv mit der Sekretion von TARC. Diese Beobachtung deckt sich mit jener von Leung et al. (2004), welche ebenfalls eine positive Korrelation der MDC- und TARC-Sekretion bei Neugeborenen festgestellt haben. Auch die Sekretion der beiden Th1-typischen Chemokine MIP-1 $\alpha$  und MIP-1 $\beta$  korrelierte mit der Sekretion des Th2-assoziierten Chemokins MDC. Diese gleichgerichtete Sekretion von sowohl Th1- als auch Th2-typischen Immunmediatoren bei entzündlichen Vorgängen wurde bereits von mehreren Autoren beschrieben (Shimada et al., 2004, Pit et al., 2001) und deutet auf eine sich gegenseitig verstärkende Funktion der Entzündungsmediatoren beider T-Helfer-Zell-Populationen hin. Auch die positive Korrelation der Sekretion von IL-8 und dem MCP-1, IL-8 und dem Th1-typischen MIP-1 $\alpha$  und MIP-1 $\beta$  und dem Th2-typischen MDC deuten auf eine parallele Funktion dieser Chemokine in Entzündungsvorgängen hin. Bereits mehrmals wurde eine Korrelation der Macrophage Inflammatory Proteine 1 $\alpha$  und 1 $\beta$  hinsichtlich deren Funktion, deren Bindungsaffinität an ihre Rezeptoren und deren Expression bei gleichen Zellpopulationen beschrieben (Rollins, 1997). Auch die Ergebnisse dieser Untersuchung beschreiben sowohl bei Müttern als auch bei Neugeborenen eine ähnliche Sekretion der Th1-typischen Chemokine MIP-1 $\alpha$  und MIP-1 $\beta$  und sind ein weiterer Hinweis auf deren verwandte Funktion und paralleles Vorkommen.

## 4.7 Zytokinsekretion

Der mögliche Einfluss einer allergischen Sensibilisierung und parasitären Infektion der Mütter auf die allergen- und antigenspezifische Zytokinsekretion wurde bei Neugeborenen und deren Müttern untersucht. Die Probanden wurden wie bei der Analyse der Chemokinsekretion nach dem Status der allergischen Sensibilisierung und der Infektionen mit protozoischen und metazoischen Parasiten der Mütter in die jeweiligen positiven und negativen Gruppen unterteilt. Die positiven und negativen Gruppen wurden auf einen Unterschied in der Sekretion von IFN- $\gamma$  und IL-10 hin untersucht. Einzelne signifikante Unterschiede sollten aufgrund der hohen Anzahl an durchgeführten Tests, welche die Wahrscheinlichkeit von zufällig signifikanten Unterschieden fördert, kritisch bewertet werden (*Bland & Altman, 1995*). Aufgrund der Stichprobengröße wurde die Bonferoni-Methode der Angleichung des Signifikanzniveaus an die Anzahl durchgeführter Tests, welche die Anzahl der falsch signifikanten Unterschiede senken könnte, nicht durchgeführt.

### 4.7.1 Interferon $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )

IFN- $\gamma$  ist ein wichtiges Zytokin der Th1-Immunantwort und wird vorwiegend von CD4<sup>+</sup>- und CD8<sup>+</sup>-T-Zellen und NK-Zellen synthetisiert (*Wahn, 1999*). Die Regulation der IFN- $\gamma$ -Bildung erfolgt durch antigen- und mitogenvermittelte Stimulation, wobei IL-2 und IL-12 die Synthese von IFN- $\gamma$  synergistisch hochregulieren und IL-10 sie hemmen kann (*Feghali & Wright 1997, Gazzinelli et al., 1992*). IFN- $\gamma$  stimuliert in Makrophagen die zytotoxische Aktivität gegen intrazelluläre Erreger und Tumorzellen und induziert in unterschiedlichen Zellen die Expression von proinflammatorischen Zytokinen und Chemokinen.

Eine Unterdrückung der Th1-typischen Immunantwort bei Schwangeren wurde oft als Bedingung für eine erfolgreiche Schwangerschaft genannt (*Raghupathy, 1997*) und eine Th2-Polarisierung und verminderte Th1-Immunreaktivität der Neugeborenen beschrieben. Neuere Untersuchungen zeigen jedoch, dass sowohl bei Schwangeren als auch bei stillenden Müttern und deren Neugeborenen Th1-typische Zytokine gebildet werden und nicht zwangsläufig pathologische Folgen nach sich ziehen (*Chaouat, 2003, Pit et al., 2000, Soboslay et al., 1999*). Auch die IFN- $\gamma$ -Sekretion der Nabelschnurblutzellen von gesunden Neugeborenen in dieser Arbeit weist auf letzteres hin.

Die IFN- $\gamma$ -Sekretion der UCBC von Neugeborenen war nach Stimulation mit *D. pteronyssinus*, *C. albicans*, *D. farinae*, *A. fumigatus*, *E. histolytica*, *P. falciparum*, *O. volvulus*, *S. mansoni* und nach Doppelstimulation mit *D. pteronyssinus* und *E. histolytica* bei Vorliegen einer allergischen Sensibilisierung der Mütter gegenüber den ubiquitär vorkommenden Allergenen der Haus- und Mehlstaubmilben deutlich erhöht. Damit wurde eine insgesamt erhöhte IFN- $\gamma$ -Sekretion bei UCBC von Neugeborenen, deren Mütter eine allergenspezifische IgE-Reaktivität zeigten, festgestellt. Bisher wurden allergische Vorgänge mit einer reinen Th2-Immunantwort in Zusammenhang gebracht. Jedoch mehren sich die Hinweise auf eine Rolle der Th1-Zytokine, z. B. IFN- $\gamma$ , in entzündlichen Prozessen bei allergischen Erkrankungen (*Shimada et al., 2004*). Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit wären ein weiterer Hinweis auf eine Funktion des proinflammatorischen IFN- $\gamma$  bei allergischen Prozessen.

Die Untersuchung der neonatalen IFN- $\gamma$ -Sekretion in Abhängigkeit einer Helmintheninfektion der Mutter zeigte keinen Einfluss des Infektionsstatus auf die IFN- $\gamma$ -Sekretion der Neugeborenen. Diese Ergebnisse widersprechen vorangegangenen Studien in demselben Untersuchungsgebiet, welche eine deutlich erhöhte neonatale IFN- $\gamma$ -Sekretion nach Stimulation mit *O. volvulus*-Antigen bei Vorliegen einer Onchocercose der Mütter beschrieben haben (*Soboslay et al., 1999*). Da in der vorliegenden Studie keine der Mütter eine patente *O. volvulus*-Infektion hatte und bei der IFN- $\gamma$ -Auswertung nicht zwischen den einzelnen Helminthen-Arten unterschieden wurde, sind die Ergebnisse mit jenen von Soboslay et al. nicht direkt vergleichbar und es besteht Bedarf an weiteren Untersuchungen der neonatalen IFN- $\gamma$ -Sekretion bei Helmintheninfektionen der Mutter.

Auch die IFN- $\gamma$ -Sekretion der PBMC von Müttern, bei denen eine Infektion mit Helminthen festgestellt wurde, unterschied sich nicht von den Müttern ohne Helmintheninfektion. Hesse et al. (2004) haben eine erhöhte Sekretion im Falle einer Schistosomiasis belegt. Da jedoch nur 15,7% der Mütter eine positive serologische Reaktivität auf *S. mansoni*-Antigen zeigten, ist davon auszugehen, dass andere Helmintheninfektionen und parasitäre Ko-Infektionen die spezifische Immunlage der *S. mansoni*-infizierten Mütter möglicherweise überdeckt haben.

Die Analyse der IFN- $\gamma$ -Sekretion bei Neugeborenen, deren Mütter mit Protozoen infiziert waren, ergab bei Stimulation mit *C. albicans* eine deutlich höhere IFN- $\gamma$ -Sekretion im Fall einer Infektion der Mutter. Da sich die neonatale IFN- $\gamma$ -Sekretion in

allen anderen Versuchsansätzen nicht in Abhängigkeit von einer Protozoeninfektion der Mütter veränderte, könnte die erhöhte Sekretion nach *C. albicans*-Stimulation aufgrund der hohen Anzahl der durchgeführten statistischen Tests als ein zufällig signifikanter Unterschied zu bewerten sein (*Bland & Altman, 1995*).

Den Ergebnissen dieser Arbeit zufolge konnte kein Einfluss einer mütterlichen Infektion mit Helminthen oder Protozoen auf die IFN- $\gamma$ -Sekretion bei Neugeborenen angenommen werden. Andere Autoren hingegen beschreiben einen deutlichen Einfluss einer parasitären Infektion der Mütter auf die zelluläre Immunreaktivität bei Neugeborenen (*Pit et al., 2000*). Offensichtlich bedarf es weiterführender Untersuchungen um den Einfluss einer parasitären Infektion während der Schwangerschaft auf die Reifung des fetalen Immunsystems und die immunologischen Hintergründe einer pränatalen Immunsensibilisierung zu verstehen.

Die Sekretion von IFN- $\gamma$  bei UCBC von Neugeborenen war insgesamt niedriger als die des Th2-typischen Zytokins IL-10, was durch die Th2-Polarisierung bei Neugeborenen zu erklären sein könnte (*Prescott et al., 1998*). In der vorliegenden Studie war auch bei den Müttern die Sekretion des Th1-typischen IFN- $\gamma$  insgesamt geringer als die Sekretion des Th2-typischen IL-10. Bei den Müttern könnte dies durch den Immunstatus bedingt sein, der auch noch kurz nach der Geburt dem von Schwangeren entspricht, also insgesamt Th2-polarisiert ist (*Szekeres-Bartho, 2002, Makhseed, 2001, Prescott et al., 1998, Raghupathy, 1997, Wegmann et al., 1993, Lin et al., 1993, Hegde, 1991*).

#### **4.7.2 Interleukin 10 (IL-10)**

IL-10 ist ein Zytokin, das von CD4<sup>+</sup>- und CD8<sup>+</sup>-T-Zellen, aktivierten B-Zellen, Makrophagen und Tr1-Zellen produziert wird und eine wichtige Rolle in der Regulation und Koordination der Th1-/Th2-Immunreaktivität spielt (*Spellberg & Edwards, 2001*). Es bewirkt eine Inhibition der Th1-Immunantwort durch Hemmung der Sekretion von Th1-typischen Chemokinen wie MIP-1 $\alpha$  und IL-8 (*Tryzmel et al., 2003, Mosmann & Moore, 1991*) und wird auch „cytokine synthesis inhibitory factor“ (CSIF) genannt, da es die IFN- $\gamma$ -Sekretion bei aktivierten B-Zellen inhibiert (*Feghali et al., 1997*). Bei Individuen mit chronischen Helmintheninfektionen und auch den Kindern infizierter Mütter wird dem IL-10 eine wichtige Rolle in der Inhibition der Immunabwehr und damit Förderung einer zellulären Anergie zugeschrieben (*Hesse*



et al., 2004, King et al., 1996, Sher et al., 1991). Des Weiteren scheint die Sekretion von IL-10 eine Schlüsselrolle bei der Inhibition von allergischen Erkrankungen zu spielen (Stock et al., 2004, Prescott, 2003, Gale, 2002). Auch die hohe allergenspezifische IL-10-Sekretion bei den Neugeborenen der vorliegenden Studie, deren Mütter zum Zeitpunkt der Geburt gegen Allergene sensibilisiert waren, deutet auf eine Rolle von IL-10 bei allergischen Prozessen hin.

Van den Biggelaar et al. (2000) und Mangan et al. (2004) haben der Infektion mit Helminthen und der dadurch induzierten IL-10-Produktion eine präventive Rolle gegen allergische Erkrankungen zugeschrieben. Dies könnte bedeuten, dass eine Helmintheninfektion der Mütter die Neugeborenen gegen allergische Erkrankungen schützt. In der vorliegenden Studie war die IL-10-Sekretion bei Neugeborenen von Müttern, die zur Zeit der Geburt eine Infektion mit Helminthen und Protozoen hatten, nach Stimulation mit *C. albicans* bzw. nach Doppelstimulation mit *D. pteronyssinus* und *E. histolytica* deutlich erhöht. Erhöhte IL-10-Sekretionen bei Neugeborenen, deren Mütter mit Helminthen infiziert waren, wurden bereits beschrieben (Pit et al., 2000, Soboslay et al., 1999). Die von Parasiten induzierte hohe IL-10-Sekretion von Th2-, und Treg-Zellen wird als Strategie angesehen, um wirksame Immunreaktionen des Wirts gegen intra- und extrazelluläre Parasiten zu verhindern, wobei IL-10 entzündliche Immunreaktionen supprimiert.

Bei den Müttern konnte kein Unterschied in der IL-10-Sekretion in Abhängigkeit von deren Infektionsstatus festgestellt werden. Dies könnte, bedingt durch die hohe Prävalenz von parasitären Infektionen in Togo und die dadurch geringe Wahrscheinlichkeit, dass die Mütter völlig infektionsfrei waren, darauf hindeuten, dass die in dieser Studie für Helminthen- und Protozoen-negativ befundenen Frauen tatsächlich nicht infektionsfrei waren. Eine konstitutiv erhöhte IL-10-Produktion kann auch auf überstandene oder chronische bakterielle Infektionen der Mütter hinweisen.

#### **4. 8 Vergleich der Zytokinsekretion bei Neugeborenen und deren Müttern**

Die IFN- $\gamma$ -Sekretion der UCBC von Neugeborenen war in der vorliegenden Studie sowohl spontan als auch nach Stimulation mit Allergenen und Parasitenantigenen im Vergleich zu den PBMC der Mütter signifikant erniedrigt. Kotiranta-Ainamo et al. (2004) bringen solch eine verminderte IFN- $\gamma$ -Sekretion bei Neugeborenen mit der unreifen Immunantwort bei Neugeborenen und ihrer verminderten Immunkompetenz in Zusammenhang. Die verminderte zelluläre Immunreaktivität und damit

einhergehende reduzierte Zytokinproduktion bei Neugeborenen und die Th2-Polarisierung der Mütter während der Schwangerschaft verursachen eine erhöhte Empfänglichkeit für bakterielle und virale Infektionen bei den Müttern und Neugeborenen (*Holt, 2000, Rasheed, 1994*).

Die ausgeprägte Sekretion von IFN- $\gamma$  bei den UCBC der untersuchten Neugeborenen unterstützt die Beobachtungen von Kirch et al. (2004), die bei Vorliegen einer parasitären Infektion der Mutter sowohl eine Th2- als auch Th1-typische Immunantwort bei den Neugeborenen gemessen haben, was möglicherweise einen Vorteil für Neugeborene bei einer späteren parasitären Infektionen vermitteln könnte. Die UCBC der Neugeborenen sezernierten spontan und nach Stimulation mit Allergenen und Parasitenantigenen signifikant weniger IL-10 als die PBMC der Mütter. Auch Kirch et al. (2004) haben in Togo eine höhere IL-10-Sekretion bei PBMC bei Müttern im Vergleich zu UCBC bei Neugeborenen beschrieben, was an der hohen Infektionslast der Bevölkerung in Togo und der langjährigen immunologischen Sensibilisierung der Mütter begründet liegen könnte. Die Beobachtung einer verminderten IL-10-Sekretion bei Neugeborenen wurde auch von Kotiranta-Ainamo et al. (2004, 1997) beschrieben und mit einem verminderten Immunschutz von Neugeborenen gegen Infektionen in Zusammenhang gebracht.

#### **4.9 Kinetik der neonatalen Zytokinsekretion**

Die IFN- $\gamma$ -Sekretion der Neugeborenen war nach 24 Stunden Stimulationsdauer in allen Stimulationsansätzen noch sehr gering, stieg nach weiteren 24 Stunden jedoch deutlich an und nahm bis 96 Stunden weiter zu. Somit kann von einem generellen Anstieg der zellulären IFN- $\gamma$ -Sekretion mit zunehmender Stimulationsdauer mit Antigenen und Allergenen gesprochen werden. Dieses Ergebnis könnte für nachfolgende Untersuchungen interessant sein und bedeuten, dass für eine Quantifizierung der IFN- $\gamma$ -Sekretion, wie in dieser Studie verlangt, eine Messung nach 24 Stunden nicht notwendig ist.

Die Kinetik der neonatalen IL-10-Sekretion zeigte eine unterschiedliche Entwicklung nach Stimulation mit Allergenen und Parasitenantigenen, was ebenfalls für künftige Untersuchungen eine wertvolle Vorkenntniss sein könnte. Bereits nach 24 Stunden war die höchste Sekretion nach Allergenstimulation erreicht, welche daraufhin stetig abnahm. In den Stimulationsansätzen mit Parasitenantigenen nahm die IL-10-Sekretion hingegen von 24 bis 96 Stunden Stimulationsdauer kontinuierlich zu.

## 5. Zusammenfassung

Der Einfluss von parasitären Infektionen während der Schwangerschaft auf die Reifung des fetalen Immunsystems ist bis heute nicht ausreichend verstanden. Immunepidemiologische Untersuchungen haben gezeigt, dass parasitäre Infektionen während der Schwangerschaft die Immunkompetenz der Nachkommen verändern können. Bei Kindern von infizierten Müttern wird eine gesteigerte Empfänglichkeit für parasitäre Infektionen, eine höhere Parasitenlast und eine längere Infektionsdauer beobachtet. Zugleich scheint eine parasitäre Infektion der Mutter während der Schwangerschaft die Nachkommen durch eine spezifische Immunsuppression und Toleranzinduktion vor schweren klinischen Symptomen nach Infektion im späteren Leben zu schützen. Des Weiteren deutet vieles daraufhin, dass eine parasitäre Infektion der Mutter, vor allem mit Helminthen, deren Kinder vor allergischen Erkrankungen im späteren Leben schützt. Auch eine Allergie der Mutter beeinflusst die allergische Immunreaktivität der Kinder im späteren Leben, jedoch ist nicht bekannt, ob eine allergische Sensibilisierung der Mutter auch die Inzidenz und den Krankheitsverlauf von parasitären Infektionen bei deren Kindern beeinflusst.

Die hier vorliegenden Untersuchungen sollten die allergen- und parasitenantigen-spezifische zelluläre Immunantwort von Müttern und deren Neugeborenen unter den folgenden drei Fragestellungen untersuchen: Erstens, lässt sich ein Einfluss einer allergischen Sensibilisierung der Mutter zum Zeitpunkt der Geburt auf die allergen- und parasitenantigen-spezifische Chemokin- und Zytokinsekretion bei Neugeborenen und deren Müttern nachweisen? Zweitens, gibt es einen Unterschied in der allergen- und parasitenantigen-spezifischen Chemokin- und Zytokinsekretion zwischen Neugeborenen von Müttern mit bzw. ohne Infektion mit Helminthen? Drittens, gibt es einen Unterschied in der allergen- und parasitenantigen-spezifischen Chemokin- und Zytokinsekretion bei Neugeborenen von Müttern mit bzw. ohne Infektion mit Protozoen?

Die Untersuchungen wurden in der Zentralregion der Republik Togo durchgeführt, einem für metazoische und protozoische Parasiten endemischen Gebiet. Mit Hilfe parasitologischer Nachweisverfahren wurde der Infektionsstatus der Mütter ermittelt. Des Weiteren wurde die antigen- und allergenspezifische Antikörperreaktivität als eine weitere Charakterisierung des Immunstatus der Mütter festgestellt. Die Mütter

und deren Neugeborenen wurden entsprechend dem Infektionsstatus bzw. entsprechend der allergischen Sensibilisierung der Mütter in Gruppen mit positivem bzw. negativem Infektions-/Allergiestatus eingeteilt. Aus peripheren Blutproben der Mütter und Nabelschnurblut der Neugeborenen wurden mononukleäre Blutzellen (PBMC bzw. UCBC) isoliert und mit Allergenen und Parasitenantigenen für 24, 48, 72 und 96 Stunden ko-kultiviert. Anschließend wurde die Sekretion der proinflammatorischen Chemokine ENA-78, MCP-1 und IL-8, der Th-1-typischen Chemokine MIP-1 $\alpha$  und MIP-1 $\beta$  und der Th-2-typischen Chemokine TARC und MDC von UCBC und PBMC quantifiziert. Auch die Sekretion der Zytokine IL-10 und IFN- $\gamma$  wurde gemessen. Daraufhin wurden die Chemokin- und Zytokinprofile zwischen den Gruppen sowie zwischen Neugeborenen und deren Müttern verglichen.

Die Ergebnisse dieser Studie deuten daraufhin, dass sowohl die parasiten- als auch die allergenspezifische Immunreaktivität bei Neugeborenen von einer parasitären Infektion der Mutter während der Schwangerschaft beeinflusst wurde. Eine Infektion der Mutter mit Helminthen induzierte bei deren Neugeborenen eine erhöhte zelluläre Sekretion von ENA-78, MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , TARC und IL-10. Bei Neugeborenen von Müttern, die eine Infektion mit Protozoen vorwiesen, wurden vor allem ENA-78, TARC, MDC und IL-10 vermehrt sezerniert. Auch eine allergische Sensibilisierung der Mutter gegen die ubiquitär vorkommenden Haus- und Mehlstaubmilben hatte sowohl auf die allergen- als auch auf die parasitenspezifische Immunreaktivität der Neugeborenen einen Einfluss. Bei einer allergischen Sensibilisierung der Mutter, produzierten die Nabelschnurblutzellen deren Kinder vermehrt ENA-78, IL-8, MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$  und IL-10.

Eine Polarisierung der Immunantwort bei Schwangeren und Neugeborenen in Richtung einer reinen Th2-Immunität wurde in letzter Zeit vermehrt in Frage gestellt. In unserer Studie konnte gezeigt werden, dass sowohl die peripheren mononukleären Blutzellen der Mütter als auch die Nabelschnurblutzellen der Neugeborenen neben den Th2-typischen auch Th1-typische Chemokine und Zytokine sezernieren.

Unsere Beobachtungen bestätigen auch die Annahme, dass ein pränataler Kontakt mit Parasitenantigenen und Allergenen eine immunologische Sensibilisierung des ungeborenen Kindes zur Folge hat. Die Nabelschnurblutzellen der Neugeborenen wiesen wiederholt ein ähnliches Chemokin- und Zytokin-Sekretions-Muster wie die

peripheren mononukleären Blutzellen der Mütter auf. Zwar war die zelluläre Sekretion bei vielen Chemokinen und allen Zytokinen bei den Müttern höher als bei den Neugeborenen, was auf die schwächere Immunkompetenz bei Neugeborenen hindeutet, jedoch zeigten die Nabelschnurblutzellen in allen Stimulationsansätzen eine deutliche allergen- und parasitenspezifische Sekretion von Chemokinen und Zytokinen. Ob und wie diese pränatale Immunsensibilisierung von Neugeborenen auf Allergene und Parasitenantigene jedoch den Verlauf von parasitären Infektionen und die Ausprägung von Allergien im späteren Leben beeinflusst, muss in weiterführenden Untersuchungen ermittelt werden.

## 6. Summary

The influence of parasitic infections during pregnancy on the developing foetal immune system has not been sufficiently understood up to today. Children of infected mothers are more susceptible to parasite infections, they will develop a higher parasite load and the parasites persist longer. Trans-placental contact with parasite antigens seems to induce tolerance to these parasites and this may protect the child against clinical symptoms during infection in later life. Furthermore, there are indications that a parasite infection of the mother during pregnancy, in particular with helminths, may prevent the development of allergic disorders in their children. An allergic sensitization of the mother may influence the allergen-specific cellular responsiveness of the child, but it is not known whether allergic sensitization in the pregnant mother will change parasite-specific immune responses and the incidence and pathology of parasite infections in their offspring.

The present study was carried out in central Togo in West Africa where metazoan and protozoan parasite infections are frequently diagnosed in women during pregnancy. Parasite infections of pregnant mothers and their allergic sensitization (IgE) to ubiquitous allergens were determined by parasitological and serological examination. Accordingly, mothers and their newborn children were allocated into allergen sensitized and not sensitized or else parasite infection-positive or -negative groups. Peripheral mononuclear blood cells (PBMC) from mothers and umbilical cord blood cells (UCBC) from their newborns were isolated and co-cultured *in vitro* with allergens and antigens for 24, 48, 72 and 96 hours. The cellular secretion of the chemokines ENA-78, IL-8, MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , TARC and MDC and the cytokines IFN- $\gamma$  and IL-10 was quantified. The chemokine and cytokine production was compared between mothers and their newborns, and also between infected and non-infected as well as IgE allergen-positive and -negative groups of mothers and their newborns.

The results indicate that parasite infections of mothers will modulate the parasite- as well as the allergen-specific immune responses of their newborns. Furthermore, an allergic sensitization of mothers against ubiquitous allergens (mites) changed both the allergen- and parasite-specific cellular reactivity of their newborns.

The dominant Th2-type cytokine profile of mothers during pregnancy and of their newborns as well, has recently been more and more questioned. In our study, we showed that PBMC of mothers as well as UCBC from newborns secreted not only Th2-type but also Th1-type chemokines and cytokines.

Our observations also confirmed the contention that a trans-placental antigen or allergen transfer from the mother to the foetus will result in a specific pre-natal immune modulation of the child. The chemokine and cytokine production profile of UCBC from newborns was similar to that observed in PBMC from their mothers; however, the amounts secreted by maternal PBMC were often higher than those released by UCBC from newborns. This indicates a generally weaker immune competence in newborns, but umbilical cord blood cells responded specifically to antigen and allergen stimulations and such disclosed that a prenatal parasite- and allergen-specific sensitisation has occurred. Furthermore, a distinct allergen- and parasite-specific chemokine and cytokine secretion profile was induced in newborns which did not result in a deviated Th1- or Th2-type immune dominance.

How prenatal parasite- and allergen-specific immune sensitization and modulation may influence the susceptibility to and progression of parasite infections of children and their predisposition for and extent of allergic disorders in later life has to be examined in further studies.

## 7. Literaturverzeichnis

- Abrams, E.T., Brown, H., Chensue, S.W., Turner, G.D., Tadesse, E., Lema, V.M., Molyneux, M.E., Rochford, R., Meshnick, S.R., & Rogerson, S.J. (2003). Host response to malaria during pregnancy: placental monocyte recruitment is associated with elevated beta chemokine expression. *J Immunol*, 170(5), 2759-2764.
- Actor, J.K., Shirai, M., Kullberg, M.C., Buller, R.M., Sher, A., & Berzofsky, J.A. (1993). Helminth infection results in decreased virus-specific CD8+ cytotoxic T-cell and Th1 cytokine responses as well as delayed virus clearance. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 90(3), 948-952.
- Addo-Yobo, E.O., Custovic, A., Taggart, S.C., Craven, M., Bonnie, B., & Woodcock, A. (2001). Risk factors for asthma in urban Ghana. *J Allergy Clin Immunol*, 108(3), 363-368.
- Adkins, B. (2000). Development of neonatal Th1/Th2 function. *Int Rev Immunol*, 19(2-3), 157-171.
- Alam, R., York, J., Boyars, M., Stafford, S., Grant, J.A., Lee, J., Forsythe, P., Sim, T., & Ida, N. (1996). Increased MCP-1, RANTES, and MIP-1alpha in bronchoalveolar lavage fluid of allergic asthmatic patients. *Am J Respir Crit Care Med*, 153(4 Pt 1), 1398-1404.
- Andrew, D.P., Chang, M.S., McNinch, J., Wathen, S.T., Rihaneh, M., Tseng, J., Spellberg, J.P., & Elias, C.G., 3rd (1998). STCP-1 (MDC) CC chemokine acts specifically on chronically activated Th2 lymphocytes and is produced by monocytes on stimulation with Th2 cytokines IL-4 and IL-13. *J Immunol*, 161(9), 5027-5038.
- Ashkar, A.A., Di Santo, J.P., & Croy, B.A. (2000). Interferon gamma contributes to initiation of uterine vascular modification, decidual integrity, and uterine natural killer cell maturation during normal murine pregnancy. *J Exp Med*, 192(2), 259-270.
- Baggiolini, M., & Clark-Lewis, I. (1992). Interleukin-8, a chemotactic and inflammatory cytokine. *FEBS Lett*, 307(1), 97-101.
- Baggiolini, M., & Dahinden, C.A. (1994). CC chemokines in allergic inflammation. *Immunol Today*, 15(3), 127-133.
- Baggiolini, M., Dewald, B., & Moser, B. (1997). Human chemokines: an update. *Annu Rev Immunol*, 15, 675-705.
- Bashir, M.E., Andersen, P., Fuss, I.J., Shi, H.N., & Nagler-Anderson, C. (2002). An enteric helminth infection protects against an allergic response to dietary antigen. *J Immunol*, 169(6), 3284-3292.
- Belosevic, M., & Daniels, C.W. (1992). Phagocytosis of *Giardia lamblia* trophozoites by cytokine-activated macrophages. *Clin Exp Immunol*, 87(2), 304-309.



- Bernardini, G., Hedrick, J., Sozzani, S., Luini, W., Spinetti, G., Weiss, M., Menon, S., Zlotnik, A., Mantovani, A., Santoni, A., & Napolitano, M. (1998). Identification of the CC chemokines TARC and macrophage inflammatory protein-1 beta as novel functional ligands for the CCR8 receptor. *Eur J Immunol*, 28(2), 582-588.
- van den Biggelaar, A.H., van Ree, R., Rodrigues, L.C., Lell, B., Deelder, A.M., Kremsner, P.G., & Yazdanbakhsh, M. (2000). Decreased atopy in children infected with *Schistosoma haematobium*: a role for parasite-induced interleukin-10. *Lancet*, 356(9243), 1723-1727.
- Bischoff, S.C., Krieger, M., Brunner, T., & Dahinden, C.A. (1992). Monocyte chemotactic protein 1 is a potent activator of human basophils. *J Exp Med*, 175(5), 1271-1275.
- Bland, J.M., & Altman, D.G. (1995). Multiple significance tests: the Bonferroni method. *BMJ*, 310(6973), 170.
- Braun-Fahrlander, C., Riedler, J., Herz, U., Eder, W., Waser, M., Grize, L., Maisch, S., Carr, D., Gerlach, F., Bufe, A., Lauener, R.P., Schierl, R., Renz, H., Nowak, D., & von Mutius, E. (2002). Environmental exposure to endotoxin and its relation to asthma in school-age children. *N Engl J Med*, 347(12), 869-877.
- Bray, R.S., & Harris, W.G. (1977). The epidemiology of infection with *Entamoeba histolytica* in the Gambia, West Africa. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 71(5), 401-407.
- Burgmann, H., Hollenstein, U., Wenisch, C., Thalhammer, F., Looareesuwan, S., & Graninger, W. (1995). Serum concentrations of MIP-1 alpha and interleukin-8 in patients suffering from acute *Plasmodium falciparum* malaria. *Clin Immunol Immunopathol*, 76(1 Pt 1), 32-36.
- Campbell, D., & Chadee, K. (1997). Interleukin (IL)-2, IL-4, and tumor necrosis factor-alpha responses during *Entamoeba histolytica* liver abscess development in gerbils. *J Infect Dis*, 175(5), 1176-1183.
- Carlier, Y., & Truyens, C. (1995). Influence of maternal infection on offspring resistance towards parasites. *Parasitol Today*, 11(3), 94-99.
- Chai, S.K., Altman, G.M., Yazdanbakhsh, M., Tsuji, J., Godat, L., & Takaro, T.K. (2005). Production of interleukin 10 and transforming growth factor beta in concomitant allergy and autoimmunity. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 94(2), 279-285.
- Chaisavaneeyakorn, S., Moore, J.M., Mirel, L., Othoro, C., Otieno, J., Chaiyaroj, S.C., Shi, Y.P., Nahlen, B.L., Lal, A.A., & Udhayakumar, V. (2003). Levels of macrophage inflammatory protein 1 alpha (MIP-1 alpha) and MIP-1 beta in intervillous blood plasma samples from women with placental malaria and human immunodeficiency virus infection. *Clin Diagn Lab Immunol*, 10(4), 631-636.

- Chanez, P., Enander, I., Jones, I., Godard, P., & Bousquet, J. (1996). Interleukin 8 in bronchoalveolar lavage of asthmatic and chronic bronchitis patients. *Int Arch Allergy Immunol*, 111(1), 83-88.
- Chaouat, G., Zourbas, S., Ostojic, S., Lappree-Delage, G., Dubanchet, S., Ledee, N., & Martal, J. (2002). A brief review of recent data on some cytokine expressions at the materno-foetal interface which might challenge the classical Th1/Th2 dichotomy. *J Reprod Immunol*, 53(1-2), 241-256.
- Chaouat, G. (2003). Innately moving away from the Th1/Th2 paradigm in pregnancy. *Clin Exp Immunol*, 131(3), 393-395.
- Chensue, S.W., Warmington, K.S., Allenspach, E.J., Lu, B., Gerard, C., Kunkel, S.L., & Lukacs, N.W. (1999). Differential expression and cross-regulatory function of RANTES during mycobacterial (type 1) and schistosomal (type 2) antigen-elicited granulomatous inflammation. *J Immunol*, 163(1), 165-173.
- Christopherson, K., 2nd, & Hromas, R. (2001). Chemokine regulation of normal and pathologic immune responses. *Stem Cells*, 19(5), 388-396.
- De Clercq, D., Sacko, M., Behnke, J.M., Traore, M., & Vercruyse, J. (1995). Schistosoma and geohelminth infections in Mali, west Africa. *Ann Soc Belg Med Trop*, 75(3), 191-199.
- Cohen, S.G. (2002). Pioneers and milestones. Clemens von Pirquet, MD (1874-1929). *J Allergy Clin Immunol*, 109(4), 722-724.
- Cooper, P.J., Chico, M.E., Rodrigues, L.C., Ordonez, M., Strachan, D., Griffin, G.E., & Nutman, T.B. (2003). Reduced risk of atopy among school-age children infected with geohelminth parasites in a rural area of the tropics. *J Allergy Clin Immunol*, 111(5), 995-1000.
- Crompton, D.W. (1999). How much human helminthiasis is there in the world? *J Parasitol*, 85(3), 397-403.
- Deloron, P., Dubois, B., Le Hesran, J.Y., Riche, D., Fievet, N., Cornet, M., Ringwald, P., & Cot, M. (1997). Isotypic analysis of maternally transmitted Plasmodium falciparum-specific antibodies in Cameroon, and relationship with risk of P. falciparum infection. *Clin Exp Immunol*, 110(2), 212-218.
- Delves, P.J., & Roitt, I.M. (2000). The immune system. First of two parts. *N Engl J Med*, 343(1), 37-49.
- Dönges, J. (1988) Parasitologie: mit besonderer Berücksichtigung humanpathogener Formen. 2. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, 78-83.
- Donninger, H., Glashoff, R., Haitchi, H.M., Syce, J.A., Ghildyal, R., van Rensburg, E., & Bardin, P.G. (2003). Rhinovirus induction of the CXC chemokine epithelial-neutrophil activating peptide-78 in bronchial epithelium. *J Infect Dis*, 187(11), 1809-1817.

- Eberhard, M.L., Hitch, W.L., McNeeley, D.F., & Lammie, P.J. (1993). Transplacental transmission of *Wuchereria bancrofti* in Haitian women. *J Parasitol*, 79(1), 62-66.
- Elson, L.H., Days, A., Calvopina, M., Paredes, W., Araujo, E., Guderian, R.H., Bradley, J.E., & Nutman, T.B. (1996). In utero exposure to *Onchocerca volvulus*: relationship to subsequent infection intensity and cellular immune responsiveness. *Infect Immun*, 64(12), 5061-5065.
- Falcão, P.L., Correa-Oliveira, R., Fraga, L.A., Talvani, A., Proudfoot, A.E., Wells, T.N., Williams, T.J., Jose, P.J., & Teixeira, M.M. (2002). Plasma concentrations and role of macrophage inflammatory protein-1alpha during chronic *Schistosoma mansoni* infection in humans. *J Infect Dis*, 186(11), 1696-1700.
- Feghali, C.A., & Wright, T.M. (1997). Cytokines in acute and chronic inflammation. *Front Biosci*, 2, d12-26.
- Fehervari, Z., & Sakaguchi, S. (2004). CD4+ Tregs and immune control. *J Clin Invest*, 114(9), 1209-1217.
- Ferreira, A.M., Rollins, B.J., Faunce, D.E., Burns, A.L., Zhu, X., & DiPietro, L.A. (2005). The effect of MCP-1 depletion on chemokine and chemokine-related gene expression: evidence for a complex network in acute inflammation. *Cytokine*, 30(2), 64-71.
- Folkard, S.G., Westwick, J., & Millar, A.B. (1997). Production of interleukin-8, RANTES and MCP-1 in intrinsic and extrinsic asthmatics. *Eur Respir J*, 10(9), 2097-2104.
- Fox, J.G., Beck, P., Dangler, C.A., Whary, M.T., Wang, T.C., Shi, H.N., & Nagler-Anderson, C. (2000). Concurrent enteric helminth infection modulates inflammation and gastric immune responses and reduces helicobacter-induced gastric atrophy. *Nat Med*, 6(5), 536-542.
- Gajewski, T.F., & Fitch, F.W. (1988). Anti-proliferative effect of IFN-gamma in immune regulation. I. IFN-gamma inhibits the proliferation of Th2 but not Th1 murine helper T lymphocyte clones. *J Immunol*, 140(12), 4245-4252.
- Gale, E.A. (2002). A missing link in the hygiene hypothesis? *Diabetologia*, 45(4), 588-594.
- Gazzinelli, R.T., Oswald, I.P., James, S.L., & Sher, A. (1992). IL-10 inhibits parasite killing and nitrogen oxide production by IFN-gamma-activated macrophages. *J Immunol*, 148(6), 1792-1796.
- Gerrard, J.W., Geddes, C.A., Reggin, P.L., Gerrard, C.D., & Horne, S. (1976). Serum IgE levels in white and metis communities in Saskatchewan. *Ann Allergy*, 37(2), 91-100.

- Ghildyal, R., Dagher, H., Donninger, H., de Silva, D., Li, X., Freezer, N.J., Wilson, J.W., & Bardin, P.G. (2005). Rhinovirus infects primary human airway fibroblasts and induces a neutrophil chemokine and a permeability factor. *J Med Virol*, 75(4), 608-615.
- Godiska, R., Chantry, D., Raport, C.J., Sozzani, S., Allavena, P., Leviten, D., Mantovani, A., & Gray, P.W. (1997). Human macrophage-derived chemokine (MDC), a novel chemoattractant for monocytes, monocyte-derived dendritic cells, and natural killer cells. *J Exp Med*, 185(9), 1595-1604.
- Greaves, D.R., Hakkinen, T., Lucas, A.D., Liddiard, K., Jones, E., Quinn, C.M., Senaratne, J., Green, F.R., Tyson, K., Boyle, J., Shanahan, C., Weissberg, P.L., Gordon, S., & Yla-Hertuala, S. (2001). Linked chromosome 16q13 chemokines, macrophage-derived chemokine, fractalkine, and thymus- and activation-regulated chemokine, are expressed in human atherosclerotic lesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 21(6), 923-929.
- Gu, L., Tseng, S., Horner, R.M., Tam, C., Loda, M., & Rollins, B.J. (2000). Control of TH2 polarization by the chemokine monocyte chemoattractant protein-1. *Nature*, 404(6776), 407-411.
- Hall, L.R., Diaconu, E., Patel, R., & Pearlman, E. (2001). CXC chemokine receptor 2 but not C-C chemokine receptor 1 expression is essential for neutrophil recruitment to the cornea in helminth-mediated keratitis (river blindness). *J Immunol*, 166(6), 4035-4041.
- Hamada, K., Suzuki, Y., Goldman, A., Ning, Y.Y., Goldsmith, C., Palecanda, A., Coull, B., Hubeau, C., & Kobzik, L. (2003). Allergen-independent maternal transmission of asthma susceptibility. *J Immunol*, 170(4), 1683-1689.
- Hayward, A.R. (1983). The human fetus and newborn: development of the immune response. *Birth Defects Orig Artic Ser*, 19(3), 289-294.
- Hegde, U.C. (1991). Immunomodulation of the mother during pregnancy. *Med Hypotheses*, 35(2), 159-164.
- Herz, U., Joachim, R., Ahrens, B., Scheffold, A., Radbruch, A., & Renz, H. (2001). Allergic sensitization and allergen exposure during pregnancy favor the development of atopy in the neonate. *Int Arch Allergy Immunol*, 124(1-3), 193-196.
- Hesse, M., Piccirillo, C.A., Belkaid, Y., Pruffer, J., Mentink-Kane, M., Leusink, M., Cheever, A.W., Shevach, E.M., & Wynn, T.A. (2004). The pathogenesis of schistosomiasis is controlled by cooperating IL-10-producing innate effector and regulatory T cells. *J Immunol*, 172(5), 3157-3166.
- Hightower, A.W., Lammie, P.J., & Eberhard, M.L. (1993). Maternal filarial infection - a persistent risk factor for microfilaremia in offspring? *Parasitol Today*, 9(11), 418-421.

- Hijnen, D., De Bruin-Weller, M., Oosting, B., Lebre, C., De Jong, E., Bruijnzeel-Koomen, C., & Knol, E. (2004). Serum thymus and activation-regulated chemokine (TARC) and cutaneous T cell- attracting chemokine (CTACK) levels in allergic diseases: TARC and CTACK are disease-specific markers for atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*, 113(2), 334-340.
- Hof, H., Dörries, R., (2005). Medizinische Mikrobiologie. 3. Auflage, Thieme, Stuttgart , 541-547.
- Holländer, G. (1999). Aufbau, Funktion und Entwicklung des Immunsystems. In: Wahn U., Seger, R., Wahn, V.: Pädiatrische Allergologie und Immunologie. 3. Auflage, Urban & Fischer, München, Jena, 4-115.
- Holmes, C.H., & Simpson, K.L. (1992). Complement and pregnancy: new insights into the immunobiology of the fetomaternal relationship. *Baillieres Clin Obstet Gynaecol*, 6(3), 439-460.
- Holloway, J.A., Warner, J.O., Vance, G.H., Diaper, N.D., Warner, J.A., & Jones, C.A. (2000). Detection of house-dust-mite allergen in amniotic fluid and umbilical-cord blood. *Lancet*, 356(9245), 1900-1902.
- Holt, P.G., Sly, P.D., & Bjorksten, B. (1997). Atopic versus infectious diseases in childhood: a question of balance? *Pediatr Allergy Immunol*, 8(2), 53-58.
- Holt, P.G., & Jones, C.A. (2000). The development of the immune system during pregnancy and early life. *Allergy*, 55(8), 688-697.
- Hougard, J.M., Alley, E.S., Yameogo, L., Dadzie, K.Y., & Boatin, B.A. (2001). Eliminating onchocerciasis after 14 years of vector control: a proved strategy. *J Infect Dis*, 184(4), 497-503.
- Imai, T., Nagira, M., Takagi, S., Kakizaki, M., Nishimura, M., Wang, J., Gray, P.W., Matsushima, K., & Yoshie, O. (1999). Selective recruitment of CCR4-bearing Th2 cells toward antigen-presenting cells by the CC chemokines thymus and activation-regulated chemokine and macrophage-derived chemokine. *Int Immunol*, 11(1), 81-88.
- ISAAC (1998). Worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and atopic eczema: ISAAC. The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Steering Committee. *Lancet*, 351(9111), 1225-1232.
- Ito, S., Ansari, P., Sakatsume, M., Dickensheets, H., Vazquez, N., Donnelly, R.P., Larner, A.C., & Finbloom, D.S. (1999). Interleukin-10 inhibits expression of both interferon alpha- and interferon gamma- induced genes by suppressing tyrosine phosphorylation of STAT1. *Blood*, 93(5), 1456-1463.
- Jahnz-Rozyk, K., Targowski, T., Paluchowska, E., Owczarek, W., & Kucharczyk, A. (2005). Serum thymus and activation-regulated chemokine, macrophage-derived chemokine and eotaxin as markers of severity of atopic dermatitis. *Allergy*, 60(5), 685-688.

- Jakubzick, C., Wen, H., Matsukawa, A., Keller, M., Kunkel, S.L., Hogaboam, C.M. (2004). Role of CCR4 ligands, CCL17 and CCL22, during *Schistosoma mansoni* egg-induced pulmonary granuloma formation in mice. *Am J Pathol*, 165(4), 1211-21.
- Jones, A.C., Miles, E.A., Warner, J.O., Colwell, B.M., Bryant, T.N., & Warner, J.A. (1996). Fetal peripheral blood mononuclear cell proliferative responses to mitogenic and allergenic stimuli during gestation. *Pediatr Allergy Immunol*, 7(3), 109-116.
- Kaburagi, Y., Shimada, Y., Nagaoka, T., Hasegawa, M., Takehara, K., & Sato, S. (2001). Enhanced production of CC-chemokines (RANTES, MCP-1, MIP-1alpha, MIP-1beta, and eotaxin) in patients with atopic dermatitis. *Arch Dermatol Res*, 293(7), 350-355.
- Katoh, S., Fukushima, K., Matsumoto, N., Matsumoto, K., Abe, K., Onai, N., Matsushima, K., & Matsukura, S. (2003). Accumulation of CCR4-expressing CD4+ T cells and high concentration of its ligands (TARC and MDC) in bronchoalveolar lavage fluid of patients with eosinophilic pneumonia. *Allergy*, 58(6), 518-523
- Katz, N., Chaves, A., & Pellegrino, J. (1972). A simple device for quantitative stool thick-smear technique in *Schistosomiasis mansoni*. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*, 14(6), 397-400.
- Keiser, J., N'Goran, E.K., Traore, M., Lohourignon, K.L., Singer, B.H., Lengeler, C., Tanner, M., & Utzinger, J. (2002). Polyparasitism with *Schistosoma mansoni*, geohelminths, and intestinal protozoa in rural Cote d'Ivoire. *J Parasitol*, 88(3), 461-466.
- Kihlström, A., Lilja, G., Pershagen, G., Hedlin, G. (2003). Exposure to high doses of birch pollen during pregnancy, and risk of sensitization and atopic disease in the child. *Allergy*, 58(9), 871-7.
- King, C.L., Medhat, A., Malhotra, I., Nafeh, M., Helmy, A., Khaudary, J., Ibrahim, S., El-Sherbiny, M., Zaky, S., Stupi, R.J., Brustoski, K., Shehata, M., & Shata, M.T. (1996). Cytokine control of parasite-specific anergy in human urinary schistosomiasis. IL-10 modulates lymphocyte reactivity. *J Immunol*, 156(12), 4715-4721.
- King, C.L., Malhotra, I., Mungai, P., Wamachi, A., Kioko, J., Ouma, J.H., & Kazura, J.W. (1998). B cell sensitization to helminthic infection develops in utero in humans. *J Immunol*, 160(7), 3578-3584.
- Kirch, A.K., Duerr, H.P., Boatman, B., Alley, W.S., Hoffmann, W.H., Schulz-Key, H., & Soboslay, P.T. (2003). Impact of parental onchocerciasis and intensity of transmission on development and persistence of *Onchocerca volvulus* infection in offspring: an 18 year follow-up study. *Parasitology*, 127(Pt 4), 327-335.

- Kirch, A.K., Agossou, A., Banla, M., Hoffmann, W.H., Schulz-Key, H., & Soboslay, P.T. (2004). Parasite-specific antibody and cytokine profiles in newborns from *Plasmodium falciparum* and *Entamoeba histolytica/dispar*-infected mothers. *Pediatr Allergy Immunol*, 15(2), 133-141.
- Klei, T.R., Blanchard, D.P., & Coleman, S.U. (1986). Development of *Brugia pahangi* infections and lymphatic lesions in male offspring of female jirds with homologous infections. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 80(2), 214-216.
- Kotiranta-Ainamo, A., Rautonen, J., & Rautonen, N. (1997). Interleukin-10 production by cord blood mononuclear cells. *Pediatr Res*, 41(1), 110-113.
- Kotiranta-Ainamo, A., Rautonen, J., & Rautonen, N. (2004). Imbalanced cytokine secretion in newborns. *Biol Neonate*, 85(1), 55-60.
- Krieger, M., Brunner, T., Bischoff, S.C., von Tscharner, V., Walz, A., Moser, B., Baggiolini, M., & Dahinden, C.A. (1992). Activation of human basophils through the IL-8 receptor. *J Immunol*, 149(8), 2662-2667.
- Lammie, P.J., Hitch, W.L., Walker Allen, E.M., Hightower, W., & Eberhard, M.L. (1991). Maternal filarial infection as risk factor for infection in children. *Lancet*, 337(8748), 1005-1006.
- Lau, S., Wahn, U. (1999). Allergene, Allergennachweis. In: Wahn U., Seger, R., Wahn, V.: Pädiatrische Allergologie und Immunologie. 3. Auflage, Urban & Fischer, München, Jena, 179-188.
- Lawrence, R.A., Allen, J.E., Osborne, J., & Maizels, R.M. (1994). Adult and microfilarial stages of the filarial parasite *Brugia malayi* stimulate contrasting cytokine and Ig isotype responses in BALB/c mice. *J Immunol*, 153(3), 1216-1224.
- Leung, T.F., Ng, P.C., Tam, W.H., Li, C.Y., Wong, E., Ma, T.P., Lam, C.W., & Fok, T.F. (2004). Helper T-lymphocyte-related chemokines in healthy newborns. *Pediatr Res*, 55(2), 334-338.
- Lewert, R.M., & Mandlowitz, S. (1969). Schistosomiasis: prenatal induction of tolerance to antigens. *Nature*, 224(223), 1029-1030.
- Lin, H., Mosmann, T.R., Guilbert, L., Tuntipopipat, S., & Wegmann, T.G. (1993). Synthesis of T helper 2-type cytokines at the maternal-fetal interface. *J Immunol*, 151(9), 4562-4573.
- Ling, E.M., Smith, T., Nguyen, X.D., Pridgeon, C., Dallman, M., Arbery, J., Carr, V.A., & Robinson, D.S. (2004). Relation of CD4+CD25+ regulatory T-cell suppression of allergen-driven T-cell activation to atopic status and expression of allergic disease. *Lancet*, 363(9409), 608-615.
- Lou, J., Lucas, R., Grau, G.E. (2001). Pathogenesis of cerebral malaria: recent experimental data and possible applications for humans. *Clin Microbiol Rev*, 14(4), 810-20.

- Luder, C.G., Schulz-Key, H., Banla, M., Pritze, S., & Soboslay, P.T. (1996). Immunoregulation in onchocerciasis: predominance of Th1-type responsiveness to low molecular weight antigens of *Onchocerca volvulus* in exposed individuals without microfilaridermia and clinical disease. *Clin Exp Immunol*, 105(2), 245-253.
- Lukacs, N.W., Standiford, T.J., Chensue, S.W., Kunkel, R.G., Strieter, R.M., & Kunkel, S.L. (1996). C-C chemokine-induced eosinophil chemotaxis during allergic airway inflammation. *J Leukoc Biol*, 60(5), 573-578.
- Lukacs, N.W., Strieter, R.M., Warmington, K., Lincoln, P., Chensue, S.W., & Kunkel, S.L. (1997). Differential recruitment of leukocyte populations and alteration of airway hyperreactivity by C-C family chemokines in allergic airway inflammation. *J Immunol*, 158(9), 4398-4404.
- Lukacs, N.W., Hogaboam, C.M., Kunkel, S.L., Chensue, S.W., Burdick, M.D., Evanoff, H.L., & Strieter, R.M. (1998). Mast cells produce ENA-78, which can function as a potent neutrophil chemoattractant during allergic airway inflammation. *J Leukoc Biol*, 63(6), 746-751.
- Luther, S.A., & Cyster, J.G. (2001). Chemokines as regulators of T cell differentiation. *Nat Immunol*, 2(2), 102-107.
- Maizels, R.M., Bundy, D.A., Selkirk, M.E., Smith, D.F., & Anderson, R.M. (1993). Immunological modulation and evasion by helminth parasites in human populations. *Nature*, 365(6449), 797-805.
- Maizels, R.M., Balic, A., Gomez-Escobar, N., Nair, M., Taylor, M.D., & Allen, J.E. (2004). Helminth parasites--masters of regulation. *Immunol Rev*, 201, 89-116.
- Makhseed, M., Raghupathy, R., Azizieh, F., Omu, A., Al-Shamali, E., & Ashkanani, L. (2001). Th1 and Th2 cytokine profiles in recurrent aborters with successful pregnancy and with subsequent abortions. *Hum Reprod*, 16(10), 2219-2226.
- Maloy, K.J., Powrie, F. (2001) Regulatory T cells in the control of immune pathology. *Nat Immunol*, 2(9), 816-22.
- Mangan, N.E., Fallon, R.E., Smith, P., van Rooijen, N., McKenzie, A.N., & Fallon, P.G. (2004). Helminth infection protects mice from anaphylaxis via IL-10-producing B cells. *J Immunol*, 173(10), 6346-6356.
- Mantovani, A., Gray, P.A., Van Damme, J., & Sozzani, S. (2000). Macrophage-derived chemokine (MDC). *J Leukoc Biol*, 68(3), 400-404.
- Martin-Garcia, J., Kolson, D.L., & Gonzalez-Scarano, F. (2002). Chemokine receptors in the brain: their role in HIV infection and pathogenesis. *Aids*, 16(13), 1709-1730.
- Martinez, F.D. (1995). Viral infections and the development of asthma. *Am J Respir Crit Care Med*, 151(5), 1644-1647; discussion 1647-1648.
- Matsukawa, A., Hogaboam, C.M., Lukacs, N.W., & Kunkel, S.L. (2000). Chemokines and innate immunity. *Rev Immunogenet*, 2(3), 339-358.



- Matsumoto, N., Mukae, H., Nakamura-Uchiyama, F., Ashitani, J.I., Abe, K., Katoh, S., Kohno, S., Nawa, Y., & Matsukura, S. (2002). Elevated levels of thymus and activation-regulated chemokine (TARC) in pleural effusion samples from patients infested with *Paragonimus westermani*. *Clin Exp Immunol*, 130(2), 314-318.
- Miller, M.D., & Krangel, M.S. (1992). Biology and biochemistry of the chemokines: a family of chemotactic and inflammatory cytokines. *Crit Rev Immunol*, 12(1-2), 17-46.
- Miller, R.L., Chew, G.L., Bell, C.A., Biedermann, S.A., Aggarwal, M., Kinney, P.L., Tsai, W.Y., Whyatt, R.M., Perera, F.P., & Ford, J.G. (2001). Prenatal exposure, maternal sensitization, and sensitization in utero to indoor allergens in an inner-city cohort. *Am J Respir Crit Care Med*, 164(6), 995-1001.
- Miyazaki, D., Nakamura, T., Toda, M., Cheung-Chau, K.W., Richardson, R.M., & Ono, S.J. (2005). Macrophage inflammatory protein-1alpha as a costimulatory signal for mast cell-mediated immediate hypersensitivity reactions. *J Clin Invest*, 115(2), 434-442.
- Morita, E., Hiragun, T., Mihara, S., Kaneko, S., Matsuo, H., Zhang, Y., & Dekio, S. (2004). Determination of thymus and activation-regulated chemokine (TARC)-contents in scales of atopic dermatitis. *J Dermatol Sci*, 34(3), 237-240.
- Mosmann, T.R., & Coffman, R.L. (1989). Heterogeneity of cytokine secretion patterns and functions of helper T cells. *Adv Immunol*, 46, 111-147.
- Mosmann, T.R., & Moore, K.W. (1991). The role of IL-10 in crossregulation of TH1 and TH2 responses. *Immunol Today*, 12(3), A49-53.
- Mosmann, T.R., & Sad, S. (1996). The expanding universe of T-cell subsets: Th1, Th2 and more. *Immunol Today*, 17(3), 138-146.
- Moreau, P., Adrian-Cabestre, F., Menier, C., Guiard, V., Gourand, L., Dausset, J., Carosella, E.D., & Paul, P. (1999). IL-10 selectively induces HLA-G expression in human trophoblasts and monocytes. *Int Immunol*, 11(5), 803-811.
- von Mutius, E., Martinez, F.D., Fritzsche, C., Nicolai, T., Roell, G., Thiemann, H.H. (1994). Prevalence of asthma and atopy in two areas of West and East Germany. *Am J Respir Crit Care Med*, 149, 358-64.
- von Mutius, E. (1999). Epidemiologie allergischer Erkrankungen im Kindesalter. In: Wahn U., Seger, R., Wahn, V.: Pädiatrische Allergologie und Immunologie. 3. Auflage, Urban & Fischer, München, Jena, 159-168.
- Ng'ang'a, L.W., Odhiambo, J.A., Mungai, M.W., Gicheha, C.M., Nderitu, P., Maingi, B., Macklem, P.T., & Becklake, M.R. (1998). Prevalence of exercise induced bronchospasm in Kenyan school children: an urban-rural comparison. *Thorax*, 53(11), 919-926.

- Njiokou, E., Onguene Onguene, A.R., Tchuem Tchunte, L.A., & Kenmogne, A. (2004). [Urban schistosomiasis in Cameroon: a longitudinal study of its transmission in a new site of an extension of the intestinal schistosomiasis focus in Melen, Yaounde]. *Bull Soc Pathol Exot*, 97(1), 37-40.
- Nogami, S., Hayashi, Y., Tanaka, M., Korenaga, M., Tada, I., & Tanaka, H. (1986). Antigenic similarity of *Onchocerca volvulus* to other helminths examined by monoclonal antibodies against *O. volvulus*. *Jpn J Exp Med*, 56(4), 177-183.
- Nurse, B., Haus, M., Puterman, A.S., Weinberg, E.G., & Potter, P.C. (1997). Reduced interferon-gamma but normal IL-4 and IL-5 release by peripheral blood mononuclear cells from Xhosa children with atopic asthma. *J Allergy Clin Immunol*, 100(5), 662-668.
- Nyan, O.A., Walraven, G.E., Banya, W.A., Milligan, P., Van Der Sande, M., Ceesay, S.M., Del Prete, G., & McAdam, K.P. (2001). Atopy, intestinal helminth infection and total serum IgE in rural and urban adult Gambian communities. *Clin Exp Allergy*, 31(11), 1672-1678.
- Nzeyimana, I., Henry, M.C., Dossou-Yovo, J., Doannio, J.M., Diawara, L., & Carnevale, P. (2002). [The epidemiology of malaria in the southwestern forests of the Ivory Coast (Tai region)]. *Bull Soc Pathol Exot*, 95(2), 89-94.
- Oliveira, S.H., & Lukacs, N.W. (2003). The role of chemokines and chemokine receptors in eosinophil activation during inflammatory allergic reactions. *Braz J Med Biol Res*, 36(11), 1455-1463
- Palmer, D.R., & Bundy, D.A. (1995). Epidemiology of human hookworm and *Ascaris lumbricoides* infestations in rural Gambia. *East Afr Med J*, 72(8), 527-530.
- Pampiglione, S., Visconti, S., & Pezzino, G. (1987). [Human intestinal parasites in Subsaharan Africa. II. Sao Tome and Principe]. *Parassitologia*, 29(1), 15-25.
- Panina-Bordignon, P., Papi, A., Mariani, M., Di Lucia, P., Casoni, G., Bellettato, C., Buonsanti, C., Miotto, D., Mapp, C., Villa, A., Arrigoni, G., Fabbri, L.M., & Sinigaglia, F. (2001). The C-C chemokine receptors CCR4 and CCR8 identify airway T cells of allergen-challenged atopic asthmatics. *J Clin Invest*, 107(11), 1357-1364.
- Pawlowski, Z.S., Schad, G.A., Stott, G.J. (2001). Hoohkworm infektion and Anaemia. Geneva: WHO
- Pearce, E.J., Caspar, P., Grzych, J.M., Lewis, F.A., & Sher, A. (1991). Downregulation of Th1 cytokine production accompanies induction of Th2 responses by a parasitic helminth, *Schistosoma mansoni*. *J Exp Med*, 173(1), 159-166.
- Peat, J.K., van den Berg, R.H., Green, W.F., Mellis, C.M., Leeder, S.R., Woolcock, A.J. (1994). Changing prevalence of asthma in Australian children. *BMJ*, 308, 1591-6.

- Persson, T., Monsef, N., Andersson, P., Bjartell, A., Malm, J., Calafat, J., & Egesten, A. (2003). Expression of the neutrophil-activating CXC chemokine ENA-78/CXCL5 by human eosinophils. *Clin Exp Allergy*, 33(4), 531-537.
- Pit, D.S., De Graaf, W., Snoek, H., De Vlas, S.J., Baeta, S.M., Polderman, A.M. (1999). Diagnosis of Oesophagostomum bifurcum and hookworm infection in humans: day-to-day and within-specimen variation of larval counts. *Parasitology*, 118( Pt 3), 283-8.
- Pit, D.S., Polderman, A.M., Schulz-Key, H., & Soboslay, P.T. (2000). Prenatal immune priming with helminth infections: parasite-specific cellular reactivity and Th1 and Th2 cytokine responses in neonates. *Allergy*, 55(8), 732-739.
- Pit, D.S., Polderman, A.M., Baeta, S., Schulz-Key, H., & Soboslay, P.T. (2001). Parasite-specific antibody and cellular immune responses in human infected with Necator americanus and Oesophagostomum bifurcum. *Parasitol Res*, 87(9), 722-729.
- Prescott, S.L., Macaubas, C., Holt, B.J., Smallacombe, T.B., Loh, R., Sly, P.D., & Holt, P.G. (1998). Transplacental priming of the human immune system to environmental allergens: universal skewing of initial T cell responses toward the Th2 cytokine profile. *J Immunol*, 160(10), 4730-4737.
- Prescott, S.L., Macaubas, C., Smallacombe, T., Holt, B.J., Sly, P.D., Loh, R., & Holt, P.G. (1998). Reciprocal age-related patterns of allergen-specific T-cell immunity in normal vs. atopic infants. *Clin Exp Allergy*, 28 Suppl 5, 39-44; discussion 50-31.
- Prescott, S.L. (2001). The significance of immune responses to allergens in early life. *Clin Exp Allergy*, 31(8), 1167-1169.
- Del Prete, G., Maggi, E., & Romagnani, S. (1994). Human Th1 and Th2 cells: functional properties, mechanisms of regulation, and role in disease. *Lab Invest*, 70(3), 299-306.
- Qiu, Y., Zhu, J., Bandi, V., Atmar, R.L., Hattotuwa, K., Guntupalli, K.K., & Jeffery, P.K. (2003). Biopsy neutrophilia, neutrophil chemokine and receptor gene expression in severe exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*, 168(8), 968-975.
- Que, X., & Reed, S.L. (2000). Cysteine proteinases and the pathogenesis of amebiasis. *Clin Microbiol Rev*, 13(2), 196-206.
- Que, X., Kim, S.H., Sajid, M., Eckmann, L., Dinarello, C.A., McKerrow, J.H., & Reed, S.L. (2003). A surface amebic cysteine proteinase inactivates interleukin-18. *Infect Immun*, 71(3), 1274-1280.
- Raghupathy, R. (1997). Th1-type immunity is incompatible with successful pregnancy. *Immunol Today*, 18(10), 478-482.
- Raghupathy, R. (2001). Pregnancy: success and failure within the Th1/Th2/Th3 paradigm. *Semin Immunol*, 13(4), 219-227.

- Ramsey, C.D., & Celedon, J.C. (2005). The hygiene hypothesis and asthma. *Curr Opin Pulm Med*, 11(1), 14-20.
- Rasheed, F.N. (1994). Maternal infections influence infection susceptibility in childhood. *Med Hypotheses*, 42(2), 76-80.
- Reinthaler, F.F., Mascher, F., Klem, G., & Sixl, W. (1988). A survey of gastrointestinal parasites in Ogun State, southwest Nigeria. *Ann Trop Med Parasitol*, 82(2), 181-184.
- Renz, H. (1999). Immunologische Grundlagen allergischer Erkrankungen. In: Wahn U., Seger, R., Wahn, V.: Pädiatrische Allergologie und Immunologie. 3. Auflage, Urban & Fischer, München, Jena, 119-132.
- Rollins, B.J. (1997). Chemokines. *Blood*, 90(3), 909-928.
- Romagnani, S. (2004). The increased prevalence of allergy and the hygiene hypothesis: missing immune deviation, reduced immune suppression, or both? *Immunology*, 112(3), 352-363.
- Roncarolo, M.G., Gregori, S., & Levings, M. (2003). Type 1 T regulatory cells and their relationship with CD4+CD25+ T regulatory cells. *Novartis Found Symp*, 252, 115-127; discussion 127-131, 203-110.
- Rossi, D., & Zlotnik, A. (2000). The biology of chemokines and their receptors. *Annu Rev Immunol*, 18, 217-242.
- Rot, A., Krieger, M., Brunner, T., Bischoff, S.C., Schall, T.J., & Dahinden, C.A. (1992). RANTES and macrophage inflammatory protein 1 alpha induce the migration and activation of normal human eosinophil granulocytes. *J Exp Med*, 176(6), 1489-1495.
- Sacks, G.P., Redman, C.W., & Sargent, I.L. (2003). Monocytes are primed to produce the Th1 type cytokine IL-12 in normal human pregnancy: an intracellular flow cytometric analysis of peripheral blood mononuclear cells. *Clin Exp Immunol*, 131(3), 490-497.
- De Sanctis, G.T., MacLean, J.A., Qin, S., Wolyniec, W.W., Grasemann, H., Yandava, C.N., Jiao, A., Noonan, T., Stein-Streilein, J., Green, F.H., & Drazen, J.M. (1999). Interleukin-8 receptor modulates IgE production and B-cell expansion and trafficking in allergen-induced pulmonary inflammation. *J Clin Invest*, 103(4), 507-515.
- Sargeant, P.G. (1992). A survey of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* (Brumpt) infections on Mahe, the Seychelles. *Arch Med Res*, 23(2), 265-267.
- Schrum, S., Probst, P., Fleischer, B., & Zipfel, P.F. (1996). Synthesis of the CC-chemokines MIP-1alpha, MIP-1beta, and RANTES is associated with a type 1 immune response. *J Immunol*, 157(8), 3598-3604.

- Scott, J.T., Turner, C.M., Mutapi, F., Woolhouse, M.E., Ndhlovu, P.D., & Hagan, P. (2001). Cytokine responses to mitogen and *Schistosoma haematobium* antigens are different in children with distinct infection histories. *Parasite Immunol*, 23(10), 519-526.
- Seder, R.A., & Paul, W.E. (1994). Acquisition of lymphokine-producing phenotype by CD4+ T cells. *Annu Rev Immunol*, 12, 635-673.
- Sekiya, T., Miyamasu, M., Imanishi, M., Yamada, H., Nakajima, T., Yamaguchi, M., Fujisawa, T., Pawankar, R., Sano, Y., Ohta, K., Ishii, A., Morita, Y., Yamamoto, K., Matsushima, K., Yoshie, O., & Hirai, K. (2000). Inducible expression of a Th2-type CC chemokine thymus- and activation-regulated chemokine by human bronchial epithelial cells. *J Immunol*, 165(4), 2205-2213.
- Sheikh, A., & Strachan, D.P. (2004). The hygiene theory: fact or fiction? *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*, 12(3), 232-236.
- Sher, A., Fiorentino, D., Caspar, P., Pearce, E., & Mosmann, T. (1991). Production of IL-10 by CD4+ T lymphocytes correlates with down-regulation of Th1 cytokine synthesis in helminth infection. *J Immunol*, 147(8), 2713-2716.
- Shimada, Y., Takehara, K., & Sato, S. (2004). Both Th2 and Th1 chemokines (TARC/CCL17, MDC/CCL22, and Mig/CXCL9) are elevated in sera from patients with atopic dermatitis. *J Dermatol Sci*, 34(3), 201-208.
- Shute, J.K., Vrugt, B., Lindley, I.J., Holgate, S.T., Bron, A., Aalbers, R., & Djukanovic, R. (1997). Free and complexed interleukin-8 in blood and bronchial mucosa in asthma. *Am J Respir Crit Care Med*, 155(6), 1877-1883.
- Silverstein, A.M. (2000). Clemens Freiherr von Pirquet: explaining immune complex disease in 1906. *Nat Immunol*, 1(6), 453-455.
- Simpson, K.L., Houlihan, J.M., & Holmes, C.H. (1993). Complement regulatory proteins in early human fetal life: CD59, membrane co-factor protein (MCP) and decay-accelerating factor (DAF) are differentially expressed in the developing liver. *Immunology*, 80(2), 183-190.
- Smits, H.H., Hartgers, F.C., & Yazdanbakhsh, M. (2005). Helminth infections: protection from atopic disorders. *Curr Allergy Asthma Rep*, 5(1), 42-50.
- Soboslay, P.T., Geiger, S.M., Weiss, N., Banla, M., Luder, C.G., Dreweck, C.M., Batchassi, E., Boatman, B.A., Stadler, A., & Schulz-Key, H. (1997). The diverse expression of immunity in humans at distinct states of *Onchocerca volvulus* infection. *Immunology*, 90(4), 592-599.
- Soboslay, P.T., Geiger, S.M., Drabner, B., Banla, M., Batchassi, E., Kowu, L.A., Stadler, A., & Schulz-Key, H. (1999). Prenatal immune priming in onchocerciasis-onchocerca volvulus-specific cellular responsiveness and cytokine production in newborns from infected mothers. *Clin Exp Immunol*, 117(1), 130-137.

- Sousa, A.R., Lane, S.J., Nakhosteen, J.A., Yoshimura, T., Lee, T.H., & Poston, R.N. (1994). Increased expression of the monocyte chemoattractant protein-1 in bronchial tissue from asthmatic subjects. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 10(2), 142-147.
- Spellberg, B., & Edwards, J.E., Jr. (2001). Type 1/Type 2 immunity in infectious diseases. *Clin Infect Dis*, 32(1), 76-102.
- Steel, C., Guinea, A., McCarthy, J.S., & Ottesen, E.A. (1994). Long-term effect of prenatal exposure to maternal microfilaraemia on immune responsiveness to filarial parasite antigens. *Lancet*, 343(8902), 890-893.
- Stock, P., Kallinich, T., Akbari, O., Quarcoo, D., Gerhold, K., Wahn, U., Umetsu, D.T., & Hamelmann, E. (2004). CD8(+) T cells regulate immune responses in a murine model of allergen-induced sensitization and airway inflammation. *Eur J Immunol*, 34(7), 1817-1827.
- Strachan, D.P. (1989). Hay fever, hygiene, and household size. *BMJ*, 299(6710), 1259-1260.
- Szekeres-Bartho, J. (2002). Immunological relationship between the mother and the fetus. *Int Rev Immunol*, 21(6), 471-495.
- Szepfalusi, Z., Loibichler, C., Pichler, J., Reisenberger, K., Ebner, C., & Urbanek, R. (2000). Direct evidence for transplacental allergen transfer. *Pediatr Res*, 48(3), 404-407.
- Taub, D.D., Anver, M., Oppenheim, J.J., Longo, D.L., & Murphy, W.J. (1996). T lymphocyte recruitment by interleukin-8 (IL-8). IL-8-induced degranulation of neutrophils releases potent chemoattractants for human T lymphocytes both in vitro and in vivo. *J Clin Invest*, 97(8), 1931-1941.
- Taub, D.D., Turcovski-Corrales, S.M., Key, M.L., Longo, D.L., & Murphy, W.J. (1996). Chemokines and T lymphocyte activation: I. Beta chemokines costimulate human T lymphocyte activation in vitro. *J Immunol*, 156(6), 2095-2103.
- Tryzmel, J., Miskolci, V., Castro-Alcaraz, S., Vancurova, I., & Davidson, D. (2003). Interleukin-10 inhibits proinflammatory chemokine release by neutrophils of the newborn without suppression of nuclear factor-kappa B. *Pediatr Res*, 54(3), 382-386.
- Vanderpuye, O.A., Labarrere, C.A., & McIntyre, J.A. (1992). The complement system in human reproduction. *Am J Reprod Immunol*, 27(3-4), 145-155.
- Vestergaard, C., Deleuran, M., Gesser, B., & Larsen, C.G. (2004). Thymus- and activation-regulated chemokine (TARC/CCL17) induces a Th2-dominated inflammatory reaction on intradermal injection in mice. *Exp Dermatol*, 13(4), 265-271.

- Vulcano, M., Albanesi, C., Stoppacciaro, A., Bagnati, R., D'Amico, G., Struyf, S., Transidico, P., Bonecchi, R., Del Prete, A., Allavena, P., Ruco, L.P., Chiabrando, C., Girolomoni, G., Mantovani, A., & Sozzani, S. (2001). Dendritic cells as a major source of macrophage-derived chemokine/CCL22 in vitro and in vivo. *Eur J Immunol*, 31(3), 812-822.
- Waal Malefyt, R de., Abrams, J.S., Zurawski, S.M., Lecron, J.C., Mohan-Peterson, S., Sanjanwala, B., Bennett, B., Silver, J., de Vries, J.E., & Yssel, H. (1995). Differential regulation of IL-13 and IL-4 production by human CD8+ and CD4+ Th0, Th1 and Th2 T cell clones and EBV-transformed B cells. *Int Immunol*, 7(9), 1405-1416.
- Wahn, U. (1999). Aufbau, Funktion und Entwicklung des Immunsystems. In: Wahn U., Seger, R., Wahn, V.: Pädiatrische Allergologie und Immunologie. 3. Auflage, Urban & Fischer, München, Jena, 3-118.
- Walz, A., Schmutz, P., Mueller, C., & Schnyder-Candrian, S. (1997). Regulation and function of the CXC chemokine ENA-78 in monocytes and its role in disease. *J Leukoc Biol*, 62(5), 604-611.
- Wang, W., & Chadee, K. (1995). Entamoeba histolytica suppresses gamma interferon-induced macrophage class II major histocompatibility complex Ia molecule and I-A beta mRNA expression by a prostaglandin E2-dependent mechanism. *Infect Immun*, 63(3), 1089-1094.
- Warner, J.A. (1999). Primary sensitization in infants. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 83(5), 426-430.
- Wegmann, T.G., Lin, H., Guilbert, L., & Mosmann, T.R. (1993). Bidirectional cytokine interactions in the maternal-fetal relationship: is successful pregnancy a TH2 phenomenon? *Immunol Today*, 14(7), 353-356.
- Weil, G.J., Hussain, R., Kumaraswami, V., Tripathy, S.P., Phillips, K.S., & Ottesen, E.A. (1983). Prenatal allergic sensitization to helminth antigens in offspring of parasite-infected mothers. *J Clin Invest*, 71(5), 1124-1129.
- Weiner, H.L. (2001). Induction and mechanism of action of transforming growth factor-beta-secreting Th3 regulatory cells. *Immunol Rev*, 182, 207-214.
- van der Werf, M.J., de Vlas, S.J., Brooker, S., Looman, C.W., Nagelkerke, N.J., Habbema, J.D., & Engels, D. (2003). Quantification of clinical morbidity associated with schistosome infection in sub-Saharan Africa. *Acta Trop*, 86(2-3), 125-139.
- Westritschnig, K., Sibanda, E., Thomas, W., Auer, H., Aspöck, H., Pittner, G., Vrtala, S., Spitzauer, S., Kraft, D., & Valenta, R. (2003). Analysis of the sensitization profile towards allergens in central Africa. *Clin Exp Allergy*, 33(1), 22-27.
- World Health Organization (2005). Roll Back Malaria. [www.rbm.who.int](http://www.rbm.who.int)
- Williams, O., Gonzalo, J.A., Martinez, C., & Kroemer, G. (1992). Coevolution of hosts and microorganisms: an analysis of the involvement of cytokines in host-parasite interactions. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 87 Suppl 5, 11-21.

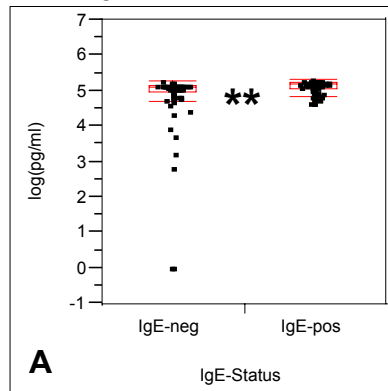
- Wills-Karp, M., Santeliz, J., & Karp, C.L. (2001). The germless theory of allergic disease: revisiting the hygiene hypothesis. *Nat Rev Immunol*, 1(1), 69-75.
- Wilson, M.S., & Maizels, R.M. (2004). Regulation of allergy and autoimmunity in helminth infection. *Clin Rev Allergy Immunol*, 26(1), 35-50.
- Woolhouse, M.E., & Hagan, P. (1999). Seeking the ghost of worms past. *Nat Med*, 5(11), 1225-1227.
- Wohlleben, G., Trujillo, C., Muller, J., Ritze, Y., Grunewald, S., Tatsch, U., & Erb, K.J. (2004). Helminth infection modulates the development of allergen-induced airway inflammation. *Int Immunol*, 16(4), 585-596.
- Yazdanbakhsh, M., van den Biggelaar, A., & Maizels, R.M. (2001). Th2 responses without atopy: immunoregulation in chronic helminth infections and reduced allergic disease. *Trends Immunol*, 22(7), 372-377.
- Yazdanbakhsh, M., Kremsner, P.G., & van Ree, R. (2002). Allergy, parasites, and the hygiene hypothesis. *Science*, 296(5567), 490-494.
- Yemaneberhan, H., Flohr, C., Lewis, S.A., Bekele, Z., Parry, E., Williams, H.C., Britton, J., & Venn, A. (2004). Prevalence and associated factors of atopic dermatitis symptoms in rural and urban Ethiopia. *Clin Exp Allergy*, 34(5), 779-785.
- Yssel, H., De Waal Malefyt, R., Roncarolo, M.G., Abrams, J.S., Lahesmaa, R., Spits, H., & de Vries, J.E. (1992). IL-10 is produced by subsets of human CD4+ T cell clones and peripheral blood T cells. *J Immunol*, 149(7), 2378-2384.
- Zhang, S., Youn, B.S., Gao, J.L., Murphy, P.M., & Kwon, B.S. (1999). Differential effects of leukotactin-1 and macrophage inflammatory protein-1 alpha on neutrophils mediated by CCR1. *J Immunol*, 162(8), 4938-4942.
- Zenclussen, A.C., Fest, S., Busse, P., Joachim, R., Klapp, B.F., & Arck, P.C. (2002). Questioning the Th1/Th2 paradigm in reproduction: peripheral levels of IL-12 are down-regulated in miscarriage patients. *Am J Reprod Immunol*, 48(4), 245-251.
- Zlotnik, A., & Yoshie, O. (2000). Chemokines: a new classification system and their role in immunity. *Immunity*, 12(2), 121-127.



## 8. Anhang

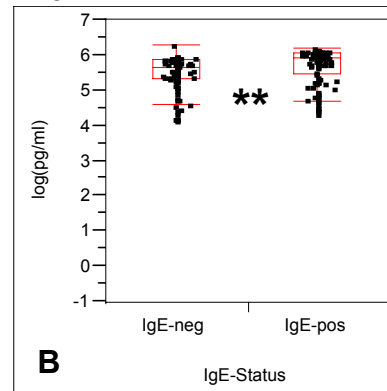
## Chemokin- und Zytokinsekretion bei Neugeborenen allergisch sensibilisierter Mütter

## ENA-78



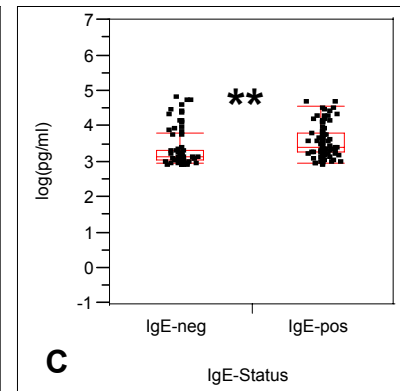
**A**  
 $p < 0,0001$   
 IgE-positiv n = 100  
 IgE-negativ n = 88

## IL-8

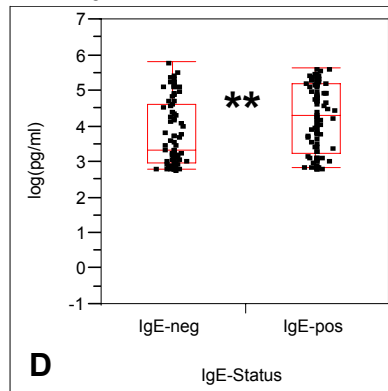


**B**  
 $p < 0,0001$   
 IgE-positiv n = 100  
 IgE-negativ n = 88

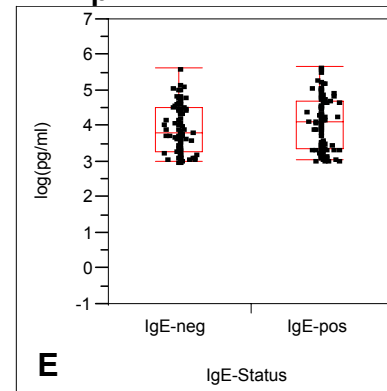
## MCP-1



**C**  
 $p < 0,0001$   
 IgE-positiv n = 100  
 IgE-negativ n = 88

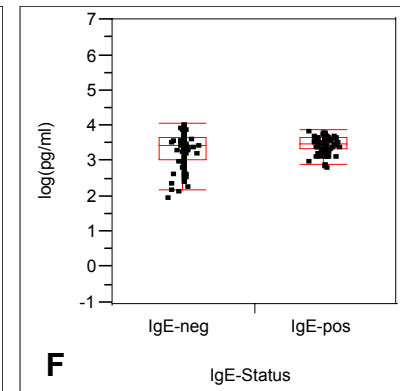
MIP-1 $\alpha$ 

**D**  
 $p = 0,0011$   
 IgE-positiv n = 100  
 IgE-negativ n = 88

MIP-1 $\beta$ 

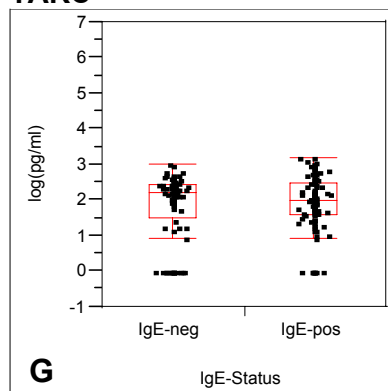
**E**  
 $p = 0,1674$   
 IgE-positiv n = 100  
 IgE-negativ n = 88

## MDC

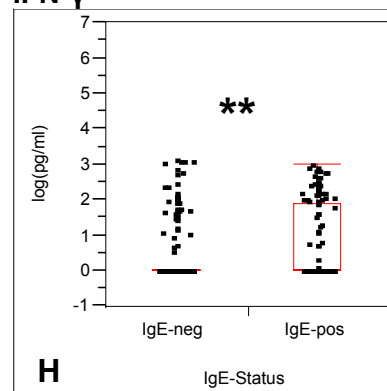


**F**  
 $p = 0,3157$   
 IgE-positiv n = 100  
 IgE-negativ n = 88

## TARC

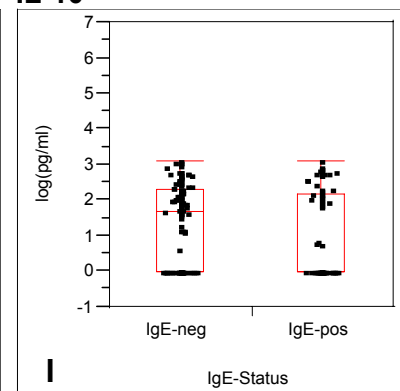


**G**  
 $p = 0,3939$   
 IgE-positiv n = 100  
 IgE-negativ n = 88

IFN- $\gamma$ 

**H**  
 $p = 0,0003$   
 IgE-positiv n = 142  
 IgE-negativ n = 217

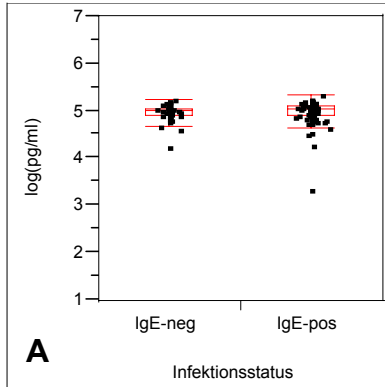
## IL-10



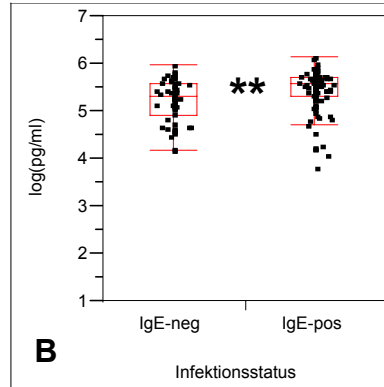
**I**  
 $p = 0,1036$   
 IgE-positiv n = 74  
 IgE-negativ n = 140

**Abb. 31:** Chemokin- und Zytokinsekretion (log(pg/ml)) bei Neugeborenen allergisch sensibilisierter (IgE-pos) und nicht sensibilisierter Mütter (IgE-neg). Gezeigt ist eine Zusammenfassung der Stimulationen mit Allergenen und Antigenen für eine Dauer von 24 und 48 Stunden. Die Stimulation erfolgte mit *D. farinae*, *D. pteronyssinus*, *C. albicans* und *A. fumigatus*, *E. histolytica*, *P. falciparum*, *O. volvulus*, *S. mansoni* und *A. lumbricoides*. Signifikante Unterschiede sind für  $p \leq 0,05$  als \* und für  $p \leq 0,01$  als \*\* angegeben.

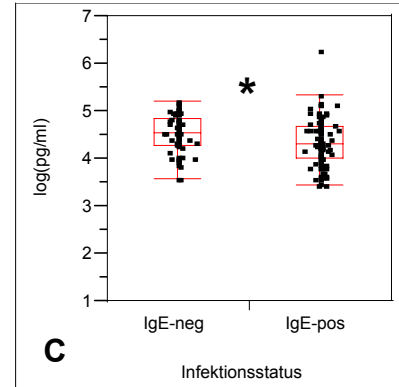
## Chemokinsekretion bei allergisch sensibilisierten Müttern

**ENA-78**

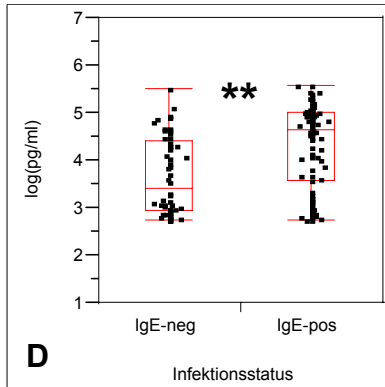
p = 0,1210  
IgE-positiv n = 96  
IgE-negativ n = 54

**IL-8**

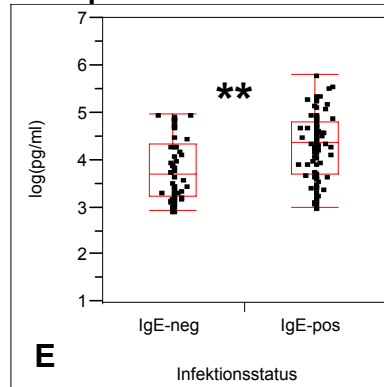
p = 0,0011  
IgE-positiv n = 96  
IgE-negativ n = 54

**MCP-1**

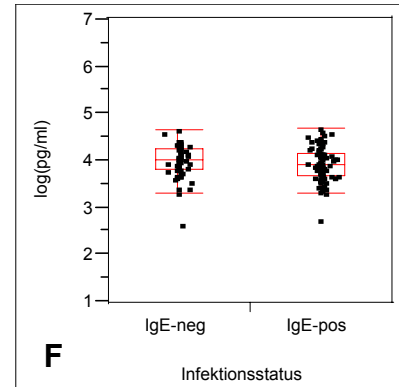
p = 0,0134  
IgE-positiv n = 96  
IgE-negativ n = 54

**MIP-1α**

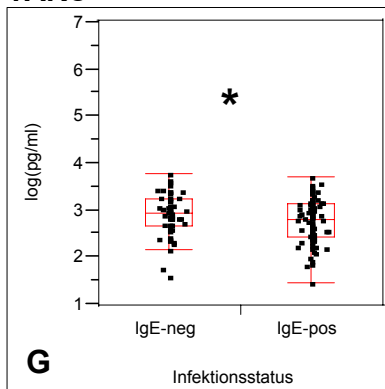
p < 0,0001  
IgE-positiv n = 96  
IgE-negativ n = 54

**MIP-1β**

p = 0,0003  
IgE-positiv n = 96  
IgE-negativ n = 54

**MDC**

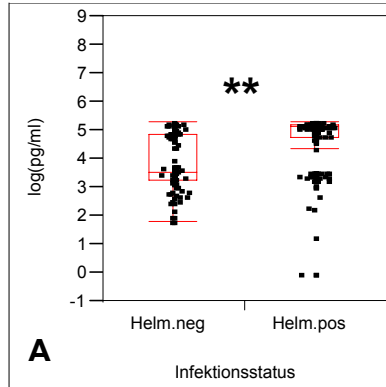
p = 0,2088  
IgE-positiv n = 96  
IgE-negativ n = 54

**TARC**

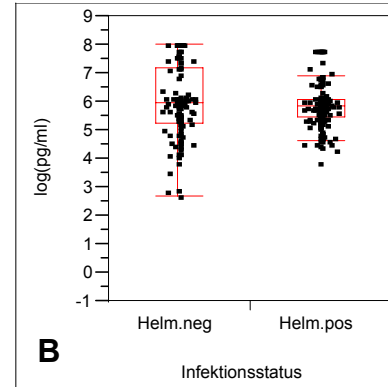
p = 0,0416  
IgE-positiv n = 96  
IgE-negativ n = 54

**Abb. 32:** Chemokinsekretion (log(pg/ml)) bei allergisch sensibilisierten (IgE-pos) und nicht sensibilisierten Müttern (IgE-neg). Gezeigt ist eine Zusammenfassung der Stimulationen mit Allergenen und Antigenen für eine Dauer von 24 Stunden. Die Stimulation erfolgte mit *D. farinae*, *D. pteronyssinus*, *C. albicans* und *A. fumigatus*, *E. histolytica*, *P. falciparum*, *O. volvulus*, *S. mansoni* und *A. lumbricoides*. Signifikante Unterschiede sind für  $p \leq 0,05$  als \* und für  $p \leq 0,01$  als \*\* angegeben.

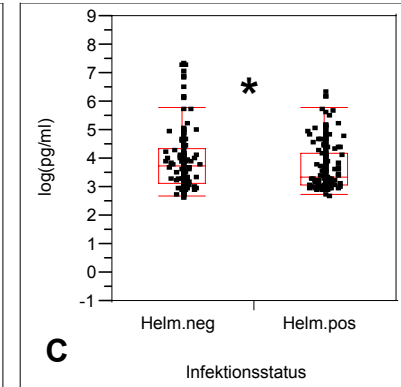
## Chemokinsekretion bei Neugeborenen von Helminthen-infizierten Müttern

**ENA-78**

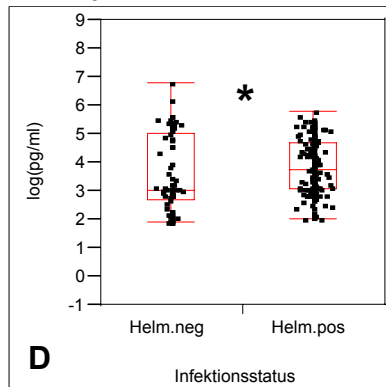
$p < 0,0001$   
Helminthen-positiv n = 188  
Helminthen-negativ n = 123

**IL-8**

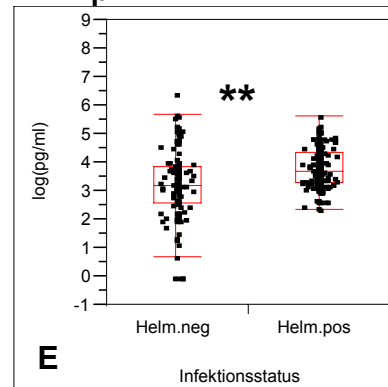
$p = 0,2390$   
Helminthen-positiv n = 188  
Helminthen-negativ n = 123

**MCP-1**

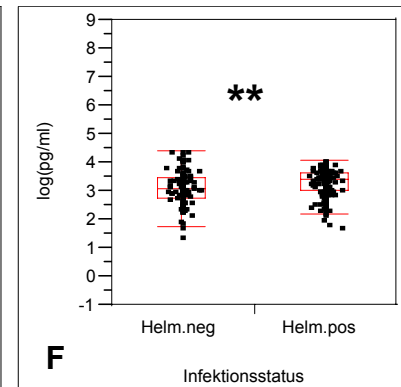
$p = 0,0351$   
Helminthen-positiv n = 188  
Helminthen-negativ n = 123

**MIP-1 $\alpha$** 

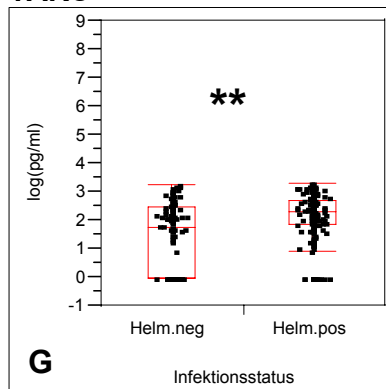
$p = 0,0134$   
Helminthen-positiv n = 179  
Helminthen-negativ n = 79

**MIP-1 $\beta$** 

$p < 0,0001$   
Helminthen-positiv n = 188  
Helminthen-negativ n = 123

**MDC**

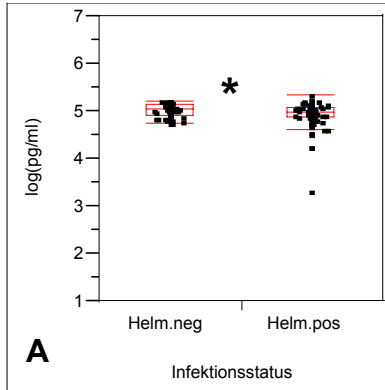
$p = 0,001$   
Helminthen-positiv n = 188  
Helminthen-negativ n = 123

**TARC**

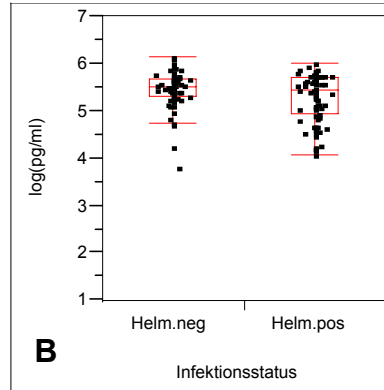
$p < 0,0001$   
Helminthen-positiv n = 179  
Helminthen-negativ n = 79

**Abb. 33:** Chemokinsekretion (log(pg/ml)) bei Neugeborenen von Helminthen-infizierten (Helm.pos) und nicht infizierten Müttern (Helm.neg). Die Darstellung zeigt eine Zusammenfassung der unterschiedlichen Stimulationen mit Allergenen und Antigenen für eine Dauer von 24, 48, 72 und 96 Stunden. Die Stimulation erfolgte mit Allergenen von *D. farinae*, *D. pteronyssinus*, *C. albicans* und *A. fumigatus* und Antigenen von *E. histolytica*, *P. falciparum*, *O. volvulus*, *S. mansoni* und *A. lumbricoides*. Signifikante Unterschiede sind für  $p \leq 0,05$  als \* und für  $p \leq 0,01$  als \*\* angegeben.

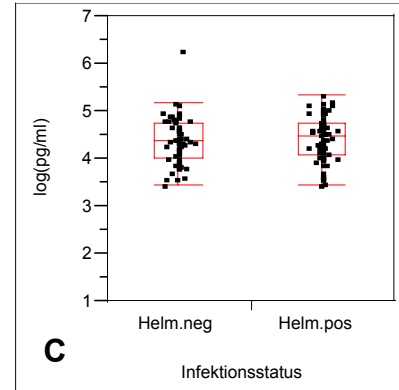
## Chemokinsekretion bei Helminthen-infizierten Müttern

**ENA-78**

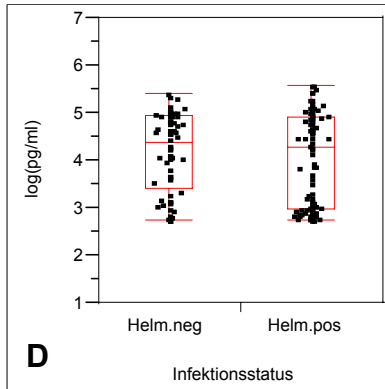
**A**  
 $p = 0,0337$   
 Helminthen-positiv  $n = 86$   
 Helminthen-negativ  $n = 64$

**IL-8**

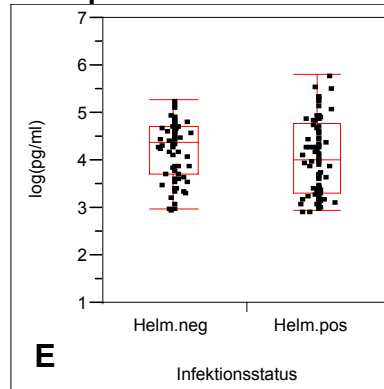
**B**  
 $p = 0,2051$   
 Helminthen-positiv  $n = 86$   
 Helminthen-negativ  $n = 64$

**MCP-1**

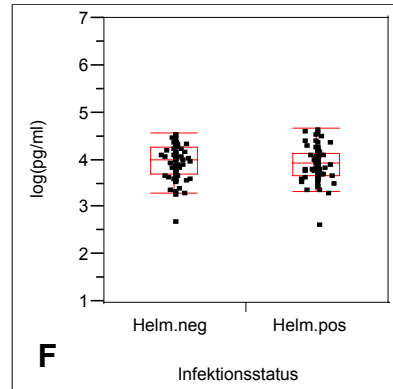
**C**  
 $p = 0,4117$   
 Helminthen-positiv  $n = 86$   
 Helminthen-negativ  $n = 64$

**MIP-1 $\alpha$** 

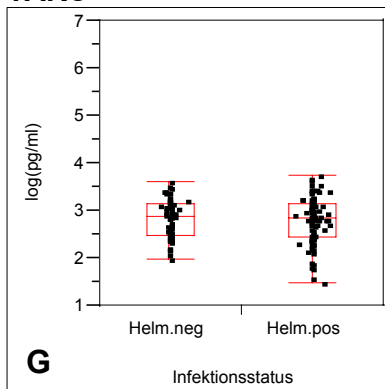
**D**  
 $p = 0,3499$   
 Helminthen-positiv  $n = 86$   
 Helminthen-negativ  $n = 64$

**MIP-1 $\beta$** 

**E**  
 $p = 0,1285$   
 Helminthen-positiv  $n = 86$   
 Helminthen-negativ  $n = 64$

**MDC**

**F**  
 $p = 0,3760$   
 Helminthen-positiv  $n = 86$   
 Helminthen-negativ  $n = 64$

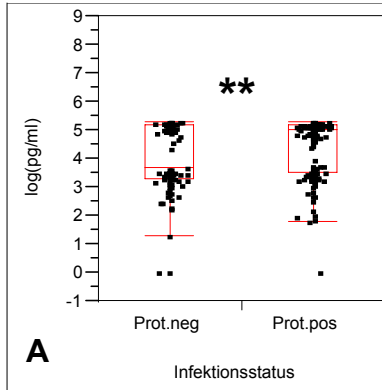
**TARC**

**G**  
 $p = 0,9545$   
 Helminthen-positiv  $n = 86$   
 Helminthen-negativ  $n = 64$

**Abb. 34:** Chemokinsekretion ( $\log(\text{pg/ml})$ ) bei Helminthen-infizierten (Helm.pos) und nicht infizierten Müttern (Helm.neg). Gezeigt ist eine Zusammenfassung der unterschiedlichen Stimulationen mit Allergenen und Antigenen für eine Dauer von 24 Stunden. Die Stimulation erfolgte mit *D. farinae*, *D. pteronyssinus*, *C. albicans* und *A. fumigatus* *E. histolytica*, *P. falciparum*, *O. volvulus*, *S. mansoni* und *A. lumbricoides*. Signifikante Unterschiede sind für  $p \leq 0,05$  als \* angegeben.

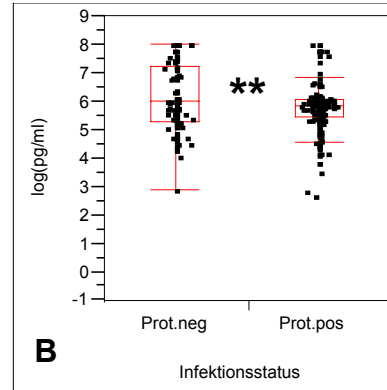
## Chemokinsekretion bei Neugeborenen von Protozoen-infizierten Müttern

## ENA-78



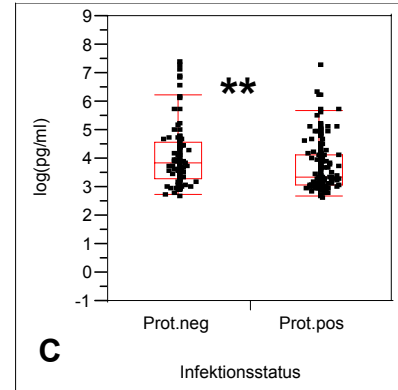
$p = 0,0315$   
 Protozoen-positiv  $n = 210$   
 Protozoen-negativ  $n = 101$

## IL-8

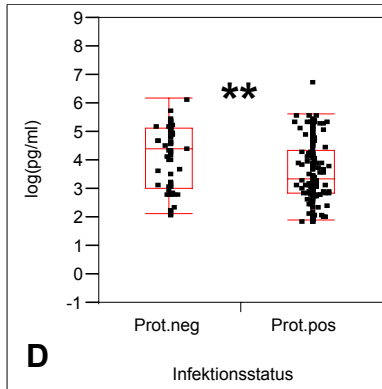


$p = 0,0457$   
 Protozoen-positiv  $n = 210$   
 Protozoen-negativ  $n = 101$

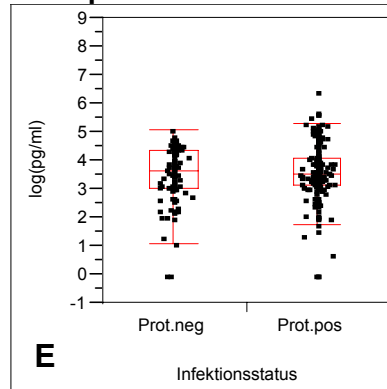
## MCP-1



$p = 0,0003$   
 Protozoen-positiv  $n = 210$   
 Protozoen-negativ  $n = 101$

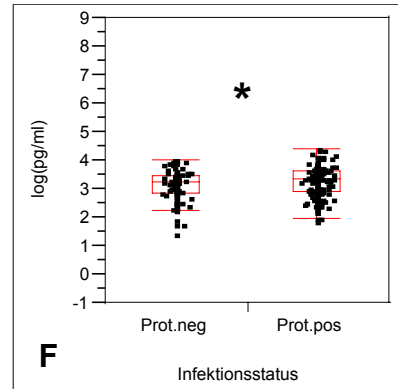
MIP-1 $\alpha$ 

$p = 0,0051$   
 Protozoen-positiv  $n = 199$   
 Protozoen-negativ  $n = 59$

MIP-1 $\beta$ 

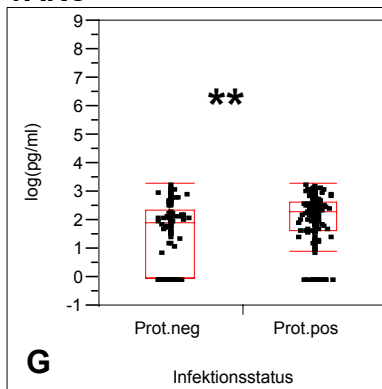
$p = 0,7573$   
 Protozoen-positiv  $n = 210$   
 Protozoen-negativ  $n = 101$

## MDC



$p = 0,0521$   
 Protozoen-positiv  $n = 210$   
 Protozoen-negativ  $n = 101$

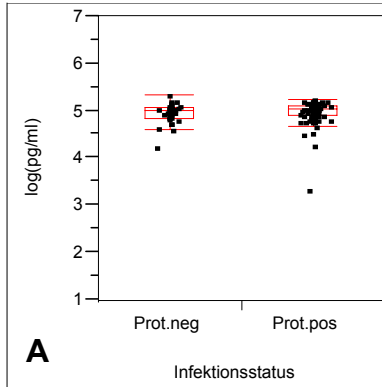
## TARC



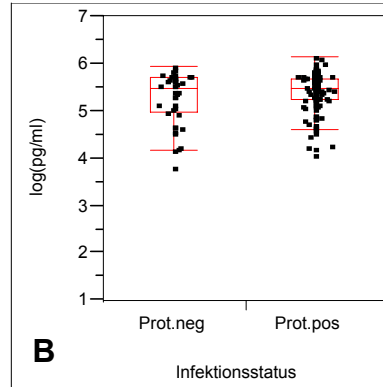
$p = 0,0006$   
 IgE-positiv  $n = 210$   
 IgE-negativ  $n = 101$

**Abb. 35:** Chemokinsekretion (log(pg/ml)) bei Neugeborenen von Protozoen-infizierten (Prot.pos) und nicht infizierten Müttern (Prot-neg). Die Darstellung zeigt eine Zusammenfassung der unterschiedlichen Stimulationen mit Allergenen und Antigenen für eine Dauer von 24, 48, 72 und 96 Stunden. Die Stimulation erfolgte mit Allergenen von *D. farinae*, *D. pteronyssinus*, *C. albicans* und *A. fumigatus* und Antigenen von *E. histolytica*, *P. falciparum*, *O. volvulus*, *S. mansoni* und *A. lumbricoides*. Signifikante Unterschiede sind für  $p \leq 0,05$  als \* und für  $p \leq 0,01$  als \*\* angegeben.

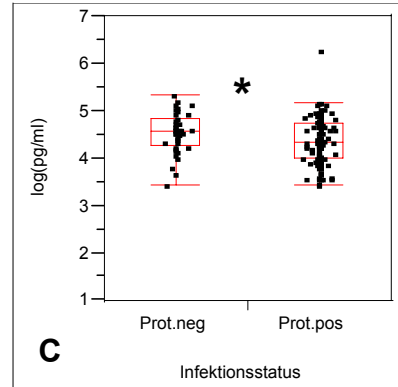
## Chemokinsekretion bei Protozoen-infizierten Müttern

**ENA-78**

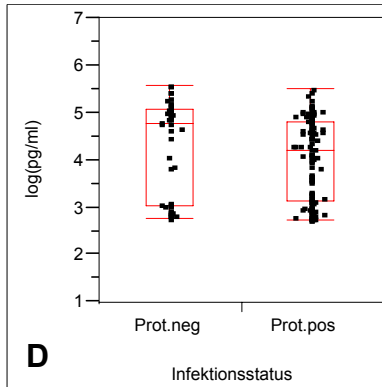
**A**  
 $p = 0,1234$   
 Protozoen-positiv n = 110  
 Protozoen-negativ n = 40

**IL-8**

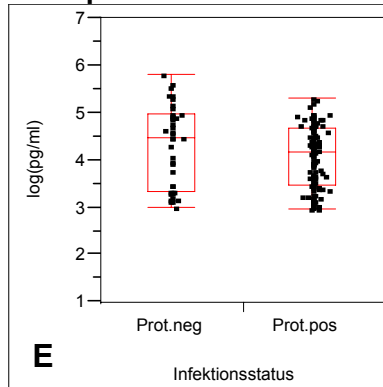
**B**  
 $p = 0,4468$   
 Protozoen-positiv n = 110  
 Protozoen-negativ n = 40

**MCP-1**

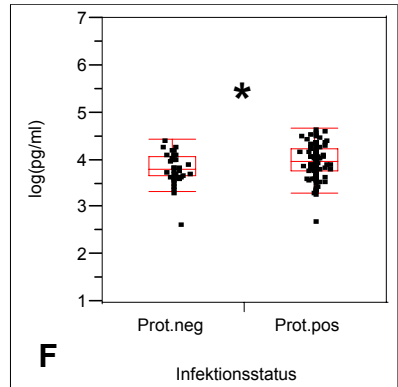
**C**  
 $p = 0,0193$   
 Protozoen-positiv n = 110  
 Protozoen-negativ n = 40

**MIP-1 $\alpha$** 

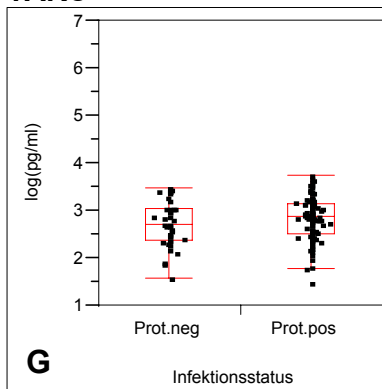
**D**  
 $p = 0,0542$   
 Protozoen-positiv n = 110  
 Protozoen-negativ n = 40

**MIP-1 $\beta$** 

**E**  
 $p = 0,1072$   
 Protozoen-positiv n = 110  
 Protozoen-negativ n = 40

**MDC**

**F**  
 $p = 0,0134$   
 Protozoen-positiv n = 110  
 Protozoen-negativ n = 40

**TARC**

**G**  
 $p = 0,3037$   
 IgE-positiv n = 110  
 IgE-negativ n = 40

**Abb. 36:** Chemokinsekretion (log(pg/ml)) bei Protozoen-infizierten (Prot.pos) und nicht infizierten Müttern (Prot.neg). Die Darstellung zeigt eine Zusammenfassung der unterschiedlichen Stimulationen mit Allergenen und Antigenen für eine Dauer von 48 Stunden. Die Stimulation erfolgte mit Allergenen von *D. farinae*, *D. pteronyssinus*, *C. albicans* und *A. fumigatus* und Antigenen von *E. histolytica*, *P. falciparum*, *O. volvulus*, *S. mansoni* und *A. lumbricoides*. Signifikante Unterschiede sind für  $p \leq 0,05$  als \* angegeben.

## Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich ganz besonders bedanken bei:

Herrn Prof. Dr. Peter Soboslay für die Bereitstellung des Themas, die sehr gute und freundschaftliche Betreuung und Unterstützung während der Datenerhebung in Sokodé und der Auswertung am Institut für Tropenmedizin in Tübingen. Nicht nur in der Parasitologie, Immunologie und „Afrikanistik“ habe ich viel von ihm lernen dürfen.

Herrn Prof. Dr. Hartwig Schulz-Key für die freundliche Aufnahme in die Arbeitsgruppe und das entgegengebrachte Vertrauen.

David Hamm für die immer freundliche und geduldige Einweisung in die Arbeitsmethoden im Labor und den Umgang mit der Statistik und seine stets verlässliche Hilfe. Ganz besonders möchte ich mich bei ihm für das Korrekturlesen der Arbeit und die guten Tipps und Anregungen bedanken.

Roman Knorr, Cornelia Mai, Marc Hübner und Lars Kocherscheidt für das Korrekturlesen der Arbeit. Der gesamten Arbeitsgruppe Feldforschung am Institut für Tropenmedizin Tübingen für die gute Zeit miteinander und die gemeinsamen entspannten Abende. Den Hebammen und Laborassistenten in Sokodé für die gute Zusammenarbeit und ihren Beitrag zum Gelingen des Projektes.

Diese Arbeit wurde durch ein Promotionsstipendium des Interdisziplinären Zentrums für klinische Forschung (IZKF), Tübingen, gefördert. Im Rahmen des IZKF-Promotionskollegs „Molekulare Medizin“ wurden ein Stipendium als wissenschaftliche Hilfskraft und Verbrauchsmittel für das Forschungsprojekt gewährt.

Widmen möchte ich diese Arbeit meinen lieben Eltern, meinen Geschwistern und Aron Buzogány, die mich zu jeder Zeit mit liebevollem Vertrauen und Rückhalt unterstützt haben.

---

## Lebenslauf

### Persönliche Daten

---

Name: Christina Maria Mußler  
Geburtsdatum: 24.10.1979  
Geburtsort: Filderstadt/Stuttgart  
Nationalität: Deutsch

### Schulbildung

---

1986 – 1998 Gesamtschule Freie Waldorfschule Uhlandshöhe, Stuttgart  
1998-1999 Lehrtätigkeit in Moskau; Fächer: Englisch, Deutsch, Musik  
06/2000 Abitur

### Hochschulbildung

---

10/ 2000 Studium der Philosophie/ Wissenschaftstheorie an der  
Technischen Universität Berlin  
04/ 2001 Studium der Philosophie an der Universität Tübingen mit  
Kursen in Politologie und Kunstgeschichte  
10/ 2001 Studium der Humanmedizin in Tübingen; Stipendium der  
Studienstiftung des deutschen Volkes  
04/ 2004 Ärztliche Vorprüfung  
01.12.2009 Ärztliche Prüfung (2. Staatsexamen)

### Promotion

---

04-09/ 2004 Forschungsaufenthalt in Togo/ Westafrika;  
01-12/ 2004 Promotionsstipendium des Interdisziplinären Zentrums für  
klinische Forschung (IZKF), Tübingen