

# Bedeutung von Zytokinbestimmungen in der umweltmedizinischen Praxis

## Mitteilung der Kommission „Methoden und Qualitätssicherung in der Umweltmedizin“

### 1 Einleitung

Änderungen von Zytokinenspiegeln sind bei vielen Krankheiten zu beobachten (s. Bundesgesundheitsbl Gesundheitsforsch Gesundheitsschutz 2003; 46:171ff). Eine umfangreiche wissenschaftliche Literatur weist auf die Beteiligung von Zytokinen auch bei Umweltexpositionen und -krankheiten hin. Wegen der aktuellen Bedeutung der Zytokine und der zunehmenden Verfügbarkeit von Untersuchungskits erscheint es zunächst logisch, dass Zytokinbestimmungen im Rahmen der Diagnostik von Umwelterkrankungen vorgenommen und propagiert werden [1,2,3], zumal sie im Rahmen der Allergiediagnostik bereits einen gewissen Stellenwert haben [4,5,6,7,8]. Jedoch sind die Zytokinmuster sehr variabel und reagieren auf viele Einflüsse, sodass einzelnen Bestimmungen im Blut in der Regel kein diagnostischer Aussagewert zukommt. In dieser Stellungnahme zeigt die Kommission „Methoden und Qualitätssicherung in der Umweltmedizin“ am Robert Koch-Institut den Kenntnisstand auf und bewertet die Aussagekraft von Zytokinbestimmungen bei umweltmedizinischen Fragestellungen.

### 2 Was sind Zytokine?

Zytokine sind Peptide/Proteine von etwa 100–200 Aminosäuren, die von fast allen kernhaltigen Körperzellen – ein-

schließlich Zellen des Immunsystems – sezerniert werden [9]. Als Mediatoren lösen sie entweder in der gleichen Zelle (autokrin), in benachbarten Zellen (parakrin) oder aber systemisch in entfernten Zielzellen (endokrin) ein zell- und zytokinspezifisches Signal aus. Mehr als 30 Zytokine sind beschrieben, wobei man diese einteilt in Interleukine (IL), Interferone (IFN) und Wachstumshormone; teilweise wird auch die Gruppe der mehr als 50 Chemokine zur Superfamilie der Zytokine gerechnet. Die wesentlichen Zytokine sind in Tabelle 1 aufgeführt.

Zytokine sind zentrale Regulatoren des angeborenen und erworbenen Immunsystems, steuern grundlegende biologische Prozesse wie Zellwachstum, Differenzierung, Apoptose, Angiogenese, Fetalentwicklung, und sie stellen die Homöostase nach Einwirkung von Noxen wieder her. Durch Interaktion mit neuroendokrinen Prozessen können sie auch ausgeprägte systemische Wirkungen auslösen, wie z. B. Fieber, Schüttelfrost etc., und die Befindlichkeit beeinflussen [10]. Die Wirkung erfolgt über spezielle membranständige Rezeptoren, aber auch Interaktionen mit löslichen Zytokinrezeptoren spielen eine wichtige Rolle in der Regulation der Zytokinwirkung. Funktionelle Interaktionen bestehen sowohl zwischen den Zytokinen als auch mit anderen Mediatoren (z. B. Hormone, Neurotransmitter) sowie zellulären Parametern [11,12,13].

Klinisch relevant ist vor allem die Einteilung in pro- und anti-inflammatorische Zytokine, die mit T-Helferzellen (TH) vom Typ TH1/TH2 assoziiert sind [14,15]. Zu den TH1-Zytokinen gehören in erster Linie IL-2, Tumor-Nekrose-Faktor (TNF)  $\beta$ , IFN- $\gamma$  und IL-12; die Aktivierung von TH1-Zellen hat die Eliminierung intrazellulärer Pathogene zur Folge, d. h., es werden zytotoxische Abwehrmechanismen induziert. Verminderte TH1-Reaktionen haben daher eine Infektneigung oder auch eine Tumoranfälligkeit zur Folge. TH2-Zellen induzieren dagegen über die Produktion von IL-4, IL-5 und IL-13 humorale Reaktionen, insbesondere die Produktion von IgE, aber auch anderer Immunglobuline, ferner aktivieren sie Eosinophile, d. h., sie sind gegen extrazelluläre, lösliche Pathogene gerichtet. Bei überschießender TH2-Reaktion kann es jedoch zu allergischen Reaktionen kommen.

Pro-entzündliche Zytokine (TNF $\alpha$ , IL-1, IL-6) werden in erster Linie über Makrophagen und Monozyten induziert bzw. von diesen produziert. Ein wichtiges anti-entzündliches Zytokin ist IL-10, das von Makrophagen, dendritischen Zellen und T-Helferzellen vom Typ 2 produziert wird. Einer der wichtigsten Inhibitoren aller epithelialen und häma-

Tabelle 1

**Übersicht über die wesentlichen Zytokine des natürlichen und adaptiven Immunsystems, ihre Hauptproduzenten und wichtigsten Effektorfunktionen**

Zytokin	Produzenten	Effektorfunktionen
IL-1 $\beta$	Monozyten/Makrophagen T-Zellen (TH1/TH2)	Synthese von Akut-Phase-Proteinen Erzeugung von Fieber Steigerung der Zytotoxizität von Makrophagen/ Monozyten und NK-Zellen Co-Stimulator für T- und B-Zellen Expression von Adhäsionsmolekülen (ICAM-1) auf Antigen-präsentierenden Zellen
IL-2	T-Zellen (TH1) NK-Zellen	Wachstumsfaktor für T-, NK- und B-Zellen Steigerung der zytotoxischen Aktivität von CD8+ T- und NK-Zellen
IL-4	T-Zellen Mastzellen Basophile	Wachstums- und Differenzierungsfaktor für B-Zellen Ig-Isotypumschaltung von IgG4 und IgE Inhibition der Makrophagenaktivierung
IL-5	T-Zellen Mastzellen	Wachstums- und Differenzierungsfaktor für B-Zellen Regulation der Ig-Freisetzung Co-Stimulation für T-Zellen
IL-6	Makrophagen/Monozyten T-Zellen (TH2)	Synthese von Akut-Phase-Proteinen Wachstumsfaktor für B-Zellen Co-Stimulation für T-Zellen
IL-10	Makrophagen/Monozyten T-Zellen (TH2) B-Zellen	Co-Stimulator für B-Zellen Steigerung der Ig-Bildung (IgM, IgG, IgA) Inhibition der Zytokinproduktion von Makrophagen/Monozyten und T-Zellen
IL-12	Makrophagen/Monozyten	Induktion der IFN- $\gamma$ Produktion von T- und NK-Zellen Aktivierung von zytotoxischen CD8+ T-Zellen
IL-13	T-Zellen (TH1/TH2-Zellen) Mastzellen	Ig-Isotypumschaltung nach IgE Inhibition der Zytokinproduktion von Makrophagen/Monozyten
IL-18	Makrophagen/Monozyten	Induktion der IFN- $\gamma$ Produktion von T- und NK-Zellen Co-Stimulator für T-Zellen
GM-CSF	Makrophagen/Monozyten  T-Zellen (TH1/TH2)	Stimulierung der Bildung von Makrophagen/ Monozyten und Granulozyten Differenzierungsfaktor für APC Makrophagenaktivierung
IFN- $\gamma$	T-Zellen (TH1) NK-Zellen	Makrophagenaktivierung Aktivierung und Steigerung der Zytotoxizität von NK-Zellen Aktivierung zytotoxischer CD8+ T-Zellen Erhöhung der Expression von MHC-Klasse I und II Ig-Isotypumschaltung nach IgG1 und IgG3
TNF- $\alpha$	Makrophagen/Monozyten T-Zellen (TH1) NK-Zellen	Synthese von Akut-Phase-Proteinen Erzeugung von Fieber Verstärkung der Phagozytoseaktivität von Neutrophilen Aktivierung von T- und NK-Zellen
TNF- $\beta$	T-Zellen (TH1)	Steigerung der Zytotoxizität von T- und NK-Zellen Aktivierung von Neutrophilen
TGF- $\beta$	T-Zellen (TH3) B-Zellen	Suppressorfunktion Inhibition der Lymphozytenproliferation Inhibition der Produktion von IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ Ig-Isotypumschaltung nach IgA

topoetischen Zellen ist der transformierende Wachstumsfaktor beta (TGF- $\beta$ ).

Zytokinrezeptoren befinden sich aber nicht nur auf immunkompetenten Zellen, sondern auch auf Nervenzellen und Hormon-produzierenden Zellen [11, 16, 17]. Andererseits exprimieren Lymphozyten neben den Zytokinrezeptoren auch Rezeptoren für Hormone und Neurotransmitter. Das bedeutet, dass die Zytokine nicht nur in sich ein Kommunikationssystem bilden, sondern auch von dem Hormon- und dem zentralen Nervensystem beeinflusst werden.

**3 Bei welchen Umwelteinflüssen und umweltassoziierten Krankheiten sind Zytokine beteiligt?**

Aus dem oben dargestellten wird deutlich, dass das Zytokin-Netzwerk durch alle Einflüsse auf immunkompetente Zellen alteriert wird (Tabelle 2). Ob es zu pathologischen Manifestationen, d. h. klinisch manifesten Erkrankungen kommt, hängt davon ab, inwieweit der Organismus in der Lage ist, diese Alteration zu kompensieren.

Zytokine sind grundsätzlich in irgendeiner Form bei allen Erkrankungen beteiligt, also auch bei Umwelt-assoziierten Prozessen. Spezifische Angaben hierzu liegen in der Literatur zu Syndromen wie Fibromyalgie-Syndrom, chronisches Erschöpfungssyndrom, Golfkriegs-Syndrom, „multiple chemical sensitivity“-Syndrom, Sick-building-Syndrom etc., den Allergien (inklusive Arzneimittelunverträglichkeiten), dem hyperreagiblen Bronchialsystem, der Silikose und Asbestose, der Knochenmarkdepression oder neurodegenerativen Prozessen vor, aber auch bei Stress-Situationen bzw. dem posttraumatischen Stress-Syndrom sind Zytokine involviert [5, 12, 13, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28].

Bei pathologischen Zuständen kommt es für einzelne Zytokine zu deutlich veränderten zellulären Expressionsmustern und Konzentrationen. Diese Veränderungen sind aber nicht für ein bestimmtes auslösendes Agens spezifisch, sondern spiegeln die Reaktionsmuster des Organismus auf die ein bestimmtes Organsystem betreffende Noxe wider. Bei manchen Erkrankungen spielen Zytokine eine Rolle bei der Indukti-

on und Chronifizierung (z. B. bei der Fibrose). Bei anderen ist die Balance zwischen TH1- und TH2-vermittelten Zytokinmustern gestört [4]. Prinzipiell ist bei der Beurteilung solcher Abweichungen das Muster der Veränderungen mehrerer Zytokinkonzentrationen wesentlich aussagekräftiger als Einzelparameterbestimmungen.

## 4 Welchen Stellenwert hat die Zytokin-Messung?

### 4.1 Methoden

Die Messungen von Zytokinen können in Plasma, Serum, Ergüssen, Spülflüssigkeiten, im Liquor und in weiteren Körperflüssigkeiten erfolgen. Während der Nachweis der Sekretionsfähigkeit von Zellen (z.B. zur Identifizierung des TH1/TH2-Verhältnisses) und der mRNA-Expression heute aus Biopsaten oder Vollblut ohne vorherige Anreicherung der Lymphozyten oder sonstiger interessierender Zellen erfolgt, ist zur Untersuchung der Stimulierbarkeit von Lymphozyten durch verdächtige Stoffe die Isolierung und Anreicherung von Leukozyten erforderlich.

Die wesentlichen Methoden zur Bestimmung von Zytokinen sind in Tabelle 3 aufgeführt.

Bei allen Befunden, die auf dem Gebiet der Umwelteinfluss-induzierten Zytokin-vermittelten Prozesse erhoben werden, muss daher exakt definiert werden, ob es sich um

- ▶ den Nachweis von Zytokinen in Körperflüssigkeiten exponierter Individuen,
- ▶ die Messung der Fähigkeit von Zellen exponierter Individuen zur Zytokinsekretion oder
- ▶ In-vitro-Messungen an isolierten Zellen

handelt.

Insbesondere bei der Interpretation von Ergebnissen aus In-vitro-Experimenten muss gesichert sein, dass nicht unrealistisch hohe Stoffkonzentrationen eingesetzt wurden, da diese zu einer unspezifischen Stimulation oder Inhibition der Zytokinfreisetzung führen könnten. Auch muss berücksichtigt werden, dass In-vitro-Effekte nicht unbedingt eine Relevanz für den Organismus haben müssen.

### 4.1.1 Zytokinnachweis in Körperflüssigkeiten

In der Praxis werden in Blut und anderen Körperflüssigkeiten vor allem solche Zytokine gemessen, für die Testkits verfügbar sind. Als Einzelparameter haben insbesondere Interleukin-6 und Interleukin-8 eine diagnostische Relevanz erreicht, da schwere inflammatorische Veränderungen (z. B. Sepsis), die vor allem bei akuten Infektionen auftreten können, mit dieser Methode bis zu 3 Stunden früher diagnostiziert werden können als unter Verwendung klinisch-chemischer Parameter wie C-reaktives Protein [29]. TNF- $\alpha$  ist zwar pathogenetisch sehr wichtig bei solchen Prozessen, kommt aber wegen seiner ungünstigen Präanalytik als Parameter für die Messung in Körperflüssigkeiten unter Routinebedingungen nicht in Frage, wenn nicht strenge Anforderungen eingehalten werden (Entnahme in Spezialröhrchen, Zentrifugation von Zellen nach spätestens 20 Minuten, Kryokonservierung bei -80°C).

Für die T-Zell-assoziierten Zytokine (z.B. IFN- $\gamma$ , IL-4, IL-10 etc.) gilt, dass die Bestimmung ihrer Sekretion durch Lymphozyten in die Überstände nach Antigenstimulation mittels ELISA oder ihre intrazelluläre Messung mittels Durchflusszytometrie dem Nachweis zirkulierender Zytokine im Serum/Plasma deutlich überlegen ist.

Für Studienzwecke ist die Messung mehrerer Zytokine sinnvoll. Hierfür stehen mit auf Mikropartikel basierenden Immunoassays technisch gut etablierte Multiplex-Lösungen zur Verfügung. Die Kosten für jedes bestimmte Zytokin liegen derzeit bei ca. 15 €.

### 4.1.2 Messung der intrazellulären Zytokinproduktion

Intrazelluläre Zytokine in Zellen des Blutes oder aus anderen Flüssigkeiten oder Biopsaten werden in erster Linie zur Beschreibung des Funktions- und Differenzierungszustandes des Immunsystems bestimmt. Sowohl die durchflusszytometrische als auch die molekularbiologische Messung sind sehr gut etabliert. Die Verfügbarkeit an Normalwerten ist jedoch noch gering, sodass bei jeder Messung normale altersgemachte Kontrollen mitgeführt werden müssen. Auch muss nochmals betont werden, dass es häufig nicht die Zytokinpiegel sind, die auf einen pathologischen Zustand hinweisen, sondern eine Verschiebung im Zytokin-Muster. Die Messung und Auswertung erfolgen meist innerhalb eines Tages und kosten pro Patient ca. 50 € pro Zytokin. Dennoch hat die Methode zur Identifizierung einer umweltbedingten Allergisierung ihre Berechtigung, allerdings eher zum Nachweis, dass ein bestimmter Umweltstoff an einer Sensibilisierung beteiligt war [30, 31].

### 4.1.3 Ex-vivo-Stimulation von Zellen

Bei dieser Methode werden meist Leukozyten des peripheren Blutes isoliert und unter definierten Bedingungen für einige Stunden bis mehrere Tage mit den zu untersuchenden Schadstoffen kultiviert. Anschließend werden die produzierten Zytokine mittels der o. g. Messverfahren (Tabelle 3) gemessen. Ein positives Ergebnis gibt einen Hinweis auf eine immunologische Reaktivität, die aber nicht unbedingt in einer Effektorreaktion, d. h. einer bestimmten klinischen Manifestation, resultieren muss.

Tabelle 2

**Umweltfaktoren, die eine Zytokinproduktion durch immunkompetente Zellen beeinflussen (Auswahl) [13, 37, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70]**

Gruppen	Umweltfaktoren
Chemische Stoffe	Diesel, Feinstaub, Nikotin, Ozon, Asbest, Chloraromate, Metalle, Medikamente
Biologische Faktoren	Allergene, Erreger (Viren, Bakterien, Pilze, Parasiten)
Physikalische Faktoren	UV-Licht, Trauma, elektromagnetische Felder (?)
Psychische Faktoren	Stress

Tabelle 3  
Methoden zum Nachweis von Zytokinen

Untersuchungsmaterial	Methoden	Diagnostische Relevanz <sup>a</sup>
Körperflüssigkeiten	ELISA (Nachweis des Proteins)	–
	Bioassay (Nachweis der Aktivität)	–
Zellen in Körperflüssigkeiten	PCR: mRNA-Quantifizierung	X
	Durchflusszytometrie (FACS): intrazelluläre Zytokinproduktion	X
Ex vivo stimulierte Zellen (aus Blut, anderen Körperflüssigkeiten, Biopsaten)	ELISA, ELISpot: Nachweis des sezernierten Proteins	
	Bioassay im Überstand. Nachweis der Aktivität	
Körperflüssigkeiten, Biopsaten)	PCR: mRNA-Quantifizierung	X
	Durchflusszytometrie (FACS): intrazelluläre Zytokinproduktion, Nachweis der immunregulatorischen Eigenschaften	X

<sup>a</sup>Bei spezifischer Fragestellung

Adäquate Kontrollen, Vitalitätsbestimmungen der Zellen, Proliferationsnachweise und Verdünnungsreihen machen die Analyse sehr aufwendig und teuer (mehrere 100 € pro Patient). Damit bleibt die Diagnostik vorerst insbesondere wissenschaftlichen Fragestellungen vorbehalten.

#### 4.2 Aufklärung von Pathomechanismen

Die Untersuchung der Bildung von Zytokinen durch Zellen der Immunabwehr im Rahmen von Umwelt-assoziierten Prozessen ist von aktuellem Interesse für die Aufklärung (patho)physiologischer Mechanismen. So konnten seit der Differenzierung von TH1- und TH2-Reaktionen manche allergische Prozesse, die bereits früher verschiedenen Reaktionstypen zugeordnet wurden (z. B. Typ-1-Sofort-Reaktion vs. Typ-IV-delayed-type-hypersensitivity-Reaktion), jetzt auch durch die Aktivierung verschiedener T-Zell-Subpopulationen (TH2 bzw. TH1) und die Produktion ihrer spezifischen Zytokinmuster pathophysiologisch erklärt werden [4, 5]. Die Untersuchung, ob bestimmte Umweltstoffe eher Makrophagen-/Monozyten-Zytokine, TH1- oder TH2-Zytokine induzieren, könnte daher künftig helfen, mögliche Reaktionsmuster gegenüber solchen Substanzen vorherzusagen bzw. zu deuten. Untersuchungen diesbezüglich liegen vor allem auf dem Gebiet der Arzneimittelallergien und der allergischen Kontaktdermatitis vor [5, 6, 32].

#### 4.3 Diagnostischer Wert von Zytokinbestimmungen bei Umwelt-erkrankungen

Die Ergebnisse der letzten Jahre haben gezeigt, dass die Variabilitäten der Zytokinpiegel relativ groß sind [33]. Nur bei wenigen Krankheiten/Zuständen liefern Zytokinmessungen im Blut Informationen, die bei einer spezifischen klinischen Fragestellung auch diagnostisch nutzbar sind (z. B. akute Appendizitis bei Kindern, septischer Schock, Lymphome). Bei Umwelterkrankungen werden keine spezifischen systemischen Veränderungen der Zytokinpiegel in Körperflüssigkeiten beobachtet. Allerdings kann durch die intrazelluläre Zytokinmessung in Lymphozyten, ggf. auch nach Kultivierung der Zellen, eine Aussage über eine Allergie-begünstigende Reaktionslage des Organismus getroffen werden [34, 35]. Zellkulturuntersuchungen gestatten zudem Hinweise auf die Reagibilität gegenüber Schadstoffen (s. auch die Stellungnahme zum Lymphozytentransformationstest von 2002 [36]). Im Vergleich zu Pricktest und Messung von spezifischem IgE erhält man mit diesen Methoden durchaus ergänzende Hinweise auf frühe Stufen der Sensibilisierung und nicht-IgE-vermittelte Reaktionen. Beispiele sind Schwermetalle (z. B. Cadmium, [37]) und Mykotoxine [31] oder auch Medikamente [5].

Die klinische Relevanz von Zytokinbestimmungen bei Umwelterkrankun-

gen ist zurzeit noch nicht klar erkennbar. Für die Zukunft wäre denkbar, dass sie vor allem als Verlaufskontrolle unter Therapie eingesetzt werden könnten, da zelluläre Reaktionsmuster im Therapieverlauf deutlichen Änderungen unterworfen sein können, wie bei typischen TH1- (z. B. multiple Sklerose, Psoriasis) und TH2-Erkrankungen (z. B. Allergien) gezeigt werden konnte [7, 35, 38, 39, 40, 41]. Bei TH2-beeinflussten allergischen Erkrankungen könnte ein „shift“ der Immunreaktivität unter Therapie in ein TH1-Muster von Vorteil sein, bei TH1-Erkrankungen dagegen eine Verstärkung der TH2-Antwort. Allerdings ist von vielen Erkrankungen noch nicht bekannt, ob eher eine Aktivierung von TH1- oder von TH2-Zellen therapeutisches Ziel sein sollte.

#### 4.4 Qualitätsaspekte

Bei den heute verfügbaren Testsystemen können alle oben angeführten Messungen mit hoher Präzision und Richtigkeit durchgeführt werden. Referenzwerte sind allerdings nur teilweise vorhanden; sie sind auch nur von beschränkter Aussagekraft, da sowohl bei gesunden als auch bei erkrankten Individuen hohe inter- (aber auch intra-) individuelle Variabilitäten bestehen. Zudem unterscheiden sich die Veränderungen insbesondere auf Proteinebene meist nicht signifikant von den „Normalwerten“. Jedes Labor muss daher mithilfe von eigenen Standards und Referenzkontrollen die Reproduzierbarkeit der Messmethode der einzelnen Parameter selbst evaluieren. Vor allem bei den funktionellen Tests sind korrekte Probenentnahme, Lagerung und Transport wichtige Voraussetzung.

Ringversuche zum Nachweis von Zytokinen gibt es bisher nicht.

#### 5 Schlussfolgerungen

Zytokine bilden ein Netzwerk, mit dessen Hilfe unterschiedliche Zellen und Gewebe auf Signale von außen reagieren können, mit dem Ziel, die Homöostase zu erhalten oder wiederherzustellen. Sie nehmen daher eine Schlüsselstellung bei allen akuten und chronischen Krankheitsprozessen ein. Im Rahmen der Diagnostik/Differenzialdiagnostik empfiehlt sich die Bestimmung von Zytokin-

mustern/-profilen und nicht so sehr die von Einzelparametern.

Die Beteiligung von Zytokinen an umweltbedingten Erkrankungen und Befindlichkeitsstörungen ist z. T. belegt. Dies könnte in Zukunft zum besseren Verständnis der Pathogenese dieser Erkrankungen führen und auch neue Möglichkeiten zu ihrer Behandlung eröffnen.

Die Bestimmung von Zytokinen und die Analyse ihrer Wirkung ist von aktueller Bedeutung für die Grundlagen- und Therapieforschung, auch in der Umweltmedizin. In der individualmedizinischen Diagnostik von umweltbedingten Erkrankungen kann sie derzeit aber nur dann einen zusätzlichen Erkenntnisgewinn bringen, wenn die Zytokine zur Charakterisierung lymphozytärer Funktionszustände intrazellulär oder nach Ex-vivo-Stimulation von Zellen gemessen werden. Die Bestimmung in Körperflüssigkeiten hat derzeit keinen differenzialdiagnostischen Stellenwert.

## 6 Bewertung und Empfehlungen

Die Kommission „Methoden und Qualitätssicherung in der Umweltmedizin“ hat für die Bewertung umweltmedizinischer Methoden Grundsätze erarbeitet, die ein Bewertungsraaster mit 4 Kategorien beinhalten [71]. Die Bestimmung intrazellulärer Zytokine sowie die Messung der Zytokinsekretion durch Lymphozyten nach Ex-vivo-Stimulation gehört unter Umwelt-immunologischen Fragestellungen in die Kategorie II („Eine Maßnahme kann bei gegebener umweltmedizinischer Indikation unter Vorbehalten empfohlen werden“). Vorbehalte bestehen darin, dass die Untersuchungen vorerst nur in spezialisierten Zentren unter wissenschaftlicher Fragestellung durchgeführt werden sollten. In Anbetracht möglicher falsch negativer und falsch positiver Untersuchungsergebnisse muss die Interpretation der Ergebnisse mit Vorsicht erfolgen.

Die Messung von Zytokinen in Körperflüssigkeiten muss in Kategorie IV eingeordnet werden („Eine Maßnahme kann nicht empfohlen werden, weil kein ausreichendes Untersuchungsmaterial vorliegt und theoretische Überlegungen nicht für eine Wirksamkeit sprechen“). Eine Einordnung in diese Kategorie muss vorgenommen werden, da für

Messungen von Zytokinen in Körperflüssigkeiten noch keine ausreichenden Erfahrungen vorliegen und theoretische Überlegungen nicht für eine Indikation im Zusammenhang mit umweltmedizinischen Fragestellungen sprechen. Über die Bestimmung der Zytokine könnten möglicherweise Erkenntnisse für dringend benötigte Krankheitsmodelle gefunden werden.

## Anlage

### Von der Kommission benannte externe Sachverständige

Prof. Dr. med. Reinhild Klein, (Federführung), Universitätsklinikum Tübingen, Medizinische Klinik Tübingen II, Otfried-Müller-Str. 10, 72076 Tübingen

Univ.-Prof. Dr. med. Helga Idel, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Institut für Hygiene, Postfach 101007, 40001 Düsseldorf

PD Dr. Ulrich Sack, Institut für Klinische Immunologie und Transfusionsmedizin am Universitätsklinikum Leipzig, Johannisallee 30, 04103 Leipzig

Prof. Dr. Hans F. Merk, Klinik für Dermatologie und Allergologie, Universitätsklinikum der Medizinischen Fakultät der RWTH Aachen, Pauwelsstr. 30, 52057 Aachen

### RKI-Kommission „Methoden und Qualitätssicherung in der Umweltmedizin“

#### Mitglieder

Dr. med. A. Beyer (Umweltmed. Ambulanz Berlin-Steglitz/Zehlendorf), Prof. Dr. med. F. Daschner (Universitätsklinikum Freiburg, Institut für Umweltmedizin und Krankenhaushygiene), Prof. Dr. rer. nat. W. Dott (Universitätsklinikum Aachen, Institut für Hygiene und Umweltmedizin), Prof. Dr. med. H. Drexler (Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Institut für Arbeits-, Sozial- und Umweltmedizin), Prof. Dr. med. H. Dunkelberg (Universität Göttingen, Abt. Allg. Hygiene u. Umweltmedizin), Prof. Dr. med. H. Eckel (Präsident der Ärztekammer Niedersachsen, Vorsitzender des Ausschusses Gesundheit und Umwelt der Bundesärztekammer),

Prof. Dr. med. Th. Eikmann (Universität Gießen, Institut f. Hygiene u. Umweltmedizin), Prof. Dr. med. A.D. Kappos (Behörde für Umwelt und Gesundheit Hamburg), Prof. Dr. med. V. Mersch-Sundermann (Universität Gießen, Institut für Innenraum- und Umwelttoxikologie), Prof. Dr. med. K.E. von Mühlendahl (Kinderhospital Osnabrück, Gemeinnützige Kinderumwelt GmbH), Prof. Dr. med. D. Nowak (LMU München, Klinikum Innenstadt, Institut u. Poliklinik für Arbeits- und Umweltmedizin), Dr. med. F.-A. Pitten (Klinikum der Universität Würzburg, Institut für Hygiene u. Mikrobiologie), Dr. med. W. Stück (Koblenz – Ökologischer Ärztekund/ISDE), Prof. Dr. M. Schwenk (Landesgesundheitsamt Baden-Württemberg, Abt. Umwelthygiene, Toxikologie, Stuttgart), Dr. med. R. Suchenwirth (Niedersächsisches Landesgesundheitsamt, Abt. Umweltmedizin/Epidemiologie, Hannover), Prof. Dr. med. M. Wilhelm (Universität Bochum, Hygiene, Sozial- und Umweltmedizin).

#### Ständige Gäste

S. Strecker (Bundesministerium für Gesundheit und Soziale Sicherung, Bonn), Dr. med. N. Englert (Umweltbundesamt, Berlin), Dr. med. A. Hahn (Bundesinstitut für Risikobewertung).

#### Geschäftsstelle im RKI

Dr. med. D. Eis (Geschäftsführer), Dr. med. U. Wolf.

## 7 Literatur

1. Huber W, Daniel V, Bauer K et al. (2002) Gesundheitliche Auswirkungen von PCB; Veränderungen des Immunsystems bei PCB-Exponierten. Umwelt Medizin Gesellschaft 15:17–22
2. Mayer WR, Bartram F, Bieger WP (2002) MCS – eine chronische Entzündung? Z Umweltmedizin 10:141–149
3. Müller KE (2003) Stellenwert der Immuntoxikologie in der umweltmedizinischen Praxis. Umwelt Medizin Gesellschaft 16:98–100
4. Romagnani S (1996) Th1 and Th2 in human diseases. Clin Immunol Immunopathol 80:225–235
5. Sachs B, Erdmann S, Malte Baron J et al. (2002) Determination of interleukin-5 secretion from drug-specific activated ex vivo peripheral blood mononuclear cells as a test system for the in vitro detection of drug sensitization. Clin Exp Allergy 32:736–744

6. Jakobson E, Masjedi K, Ahlborg N et al. (2002) Cytokine production in nickel-sensitized individuals analysed with enzyme-linked immunospot assay: possible implications for diagnosis. *Br J Dermatol* 147:442–449
7. Magnan A, Boniface S, Mely L et al. (2001) Cytokines, from atopy to asthma: the Th2 dogma revisited. *Cell Mol Biol* 47:679–687
8. Hertl M, Merk HF (1995) Lymphocyte activation in cutaneous drug reactions. *J Invest Dermatol* 10:141–149
9. Oppenheim JJ (2002) Cytokines: past, present, and future. *Int J Hematol* 74:3–8
10. Gordon CJ, Rowsey PJ (1998) Poisons and fever. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 25:145–149
11. Blalock JE (1994) The syntax of immune-neuroendocrine communication. *Immunol Today* 15:504–511
12. Elenkov U, Wilder RL, Chrousos GP, Vizi ES (2000) The sympathetic nerve – an interactive interface between two supersystems: the brain and the immune system. *Pharmacol Rev* 52:595–638
13. Pacák K, Palkovits M (2001) Stressor specificity of central neuroendocrine responses: implications for stress-related disorders. *Endocrine Rev* 22:502–548
14. Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW et al. (1986) Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J Immunol* 136:2348–2357
15. Mosmann TR, Sad S (1996) The expanding universe of T-cell subsets: Th1, Th2 and more. *Immunol Today* 17:138–146
16. Sternberg EM (1997) Neural-immune interactions in health and disease. *J Clin Invest* 100:2641–2647
17. Kavelaars A, Kuis W, Knook L et al. (2000) Disturbed neuroendocrine-immune interactions in chronic fatigue syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 85:692–696
18. Boscolo P, Bergmaschi A, Di-Sciascio MB et al. (2001) Effects of low frequency electromagnetic fields on expression of lymphocyte subsets and production of cytokines of men and women employed in a museum. *Sci Total Environ* 270:13–20
19. Manning CB, Vallyathan V, Mossman BT (2002) Diseases caused by asbestos: mechanisms of injury and disease development. *Int Immunopharmacol* 2:191–200
20. Yukesoy B, Vallyathan V, Landsittel DP et al. (2002) Cytokine polymorphisms in silicosis and other pneumoconioses. *Mol Cell Biochem* 234–235:219–224
21. Sherman JJ, Turk DC, Okifuji A (2000) Prevalence and impact of posttraumatic stress-disorder-like symptoms on patients with fibromyalgia syndrome. *Clin J Pain* 16:127–134
22. Sternberg EM (1993) Hyperimmune fatigue syndromes: diseases of the stress response? *J Rheumatol* 20:418–421
23. Hanson SJ, Gause W, Natelson B (2001) Detection of immunologically significant factors for chronic fatigue syndrome using neural-network classifiers. *Clin Diagn Lab Immunol* 8:658–662
24. Riffo-Vasquez Y, Spina D (2002) Role of cytokines and chemokines in bronchial hyperresponsiveness and airway inflammation. *Pharmacol Ther* 94:185–211
25. Johnson VJ, Sharma RP (2003) Aluminium disrupts the pro-inflammatory cytokine/neurotrophin balance in primary brain rotation-mediated aggregate cultures: possible role in neurodegeneration. *Neurotoxicology* 24:261–268
26. Maddox L, Schwartz DA (2002) The pathophysiology of asthma. *Annu Rev Med* 53:477–498
27. Campbell A, Smith MA, Sayre LM et al. (2001) Mechanisms by which metals promote events connected to neurodegenerative diseases. *Brain Res Bull* 55:125–132
28. Ferguson E, Cassaday HJ (2001–2002) Theoretical accounts of Gulf War syndrome; from environmental toxins to psychoneuroimmunology and neurodegeneration. *Behav Neurol* 13:133–147
29. Van Amersfoort ES, van Berkel TJ, Kuiper J (2003) Receptors, mediators, and mechanisms involved in bacterial sepsis and septic shock. *Clin Microbiol Rev* 16:379–414
30. Lehmann I, Thoeke A, Rehwagen M et al. (2002) The influence of maternal exposure to volatile organic compounds on the cytokine secretion profile of neonatal T cells. *Environ Toxicol* 17:203–210
31. Wichmann G, Herbarth O, Lehmann I (2002) The mycotoxins citrinin, gliotoxin, and patulin affect interferon-gamma rather than interleukin-4 production in human blood cells. *Environ Toxicol* 17:211–218
32. Lindemann M, Bohmer J, Zabel M, Grosse-Wilde H (2003) ELISpot: a new tool for the detection of nickel sensitization. *Clin Exp Allergy* 33:992–998
33. Sack U, Burkhardt U, Borte M et al. (1998) Age-dependent levels of select immunological mediators in sera of healthy children. *Clin Diagn Lab Immunol* 5:28–32
34. Barth H, Berg PA, Klein R (2003) Methods for the in vitro determination of an individual disposition towards TH1 or TH2-reactivity by the application of appropriate stimulatory antigens. *Clin Exp Immunol* 134:78–85
35. Barth H, Klein K, Börtlein A et al. (2002) Analysis of immunoregulatory T-helper cell subsets in patients with multiple sclerosis: relapsing-progressive course correlates with enhanced TH1, relapsing-remitting course with enhanced TH0 reactivity. *J Neuroimmunol* 133:175–183
36. Mitteilung der Kommission „Methoden und Qualitätssicherung in der Umweltmedizin“ am Robert Koch-Institut (2002) Diagnostische Relevanz des Lymphozytentransformationstestes. *Bundesgesundheitsbl Gesundheitsforsch Gesundheitsschutz* 45:745–749
37. Hemdan N, Sack U, Lehmann I et al. (2002) Cadmium suppresses TH1 rather than TH2 cytokine production. *Immunobiology* 206:209–210
38. Ghoreschi K, Thomas P, Breit S et al. (2003) Interleukin-4 therapy of psoriasis induces Th2 responses and improves human autoimmune disease. *Nature Med* 9:40–46
39. Krause I, Blank M, Shoenfeld Y (2000) Immunomodulation of experimental autoimmune diseases via oral tolerance. *Crit Rev Immunol* 20:1–16
40. Nelson HS (2001) Future advances of immunotherapy. *Allergy Asthma Proc* 22:203–207
41. Mitteilung der Kommission „Methoden und Qualitätssicherung in der Umweltmedizin“ am Robert Koch-Institut (2002) Einsatz immunologischer Untersuchungsverfahren in der Umweltmedizin – eine Einführung. *Bundesgesundheitsbl Gesundheitsforsch Gesundheitsschutz* 45:740–744
42. Hadnagy W, Leng G, Sugiri D et al. (2003) Pyrethroids used indoors-immune status of humans exposed to pyrethroids following a pest control operation – a one year follow-up study. *Int J Hyg Environ Health* 206:93–102
43. Alfaro-Moreno E, Martinez L, Garcia-Cuellar C et al. (2002) Biologic effects induced in vitro by PM10 from three different zones of Mexico City. *Environ Health Perspect* 110:715–720
44. Bagenstose LM, Salgame P, Monestier M (1999) Cytokine regulation of a rodent model of mercuric chloride-induced autoimmunity. *Environ Health Perspect* 107:807–810
45. Daniel V, Huber W, Bauer K et al. (2001) Associations of blood levels of PCB, HCHS, and HCB with numbers of lymphocyte subpopulations, in vitro lymphocyte response, plasma cytokine levels, and immunoglobulin autoantibodies. *Environ Health Perspect* 109:173–178
46. Gold DR (2000) Environmental tobacco smoke, indoor allergens, and childhood asthma. *Environ Health Perspect* 108 [Suppl 4]:643–651
47. Pandya RJ, Solomon G, Kinner A, Balmes JR (2002) Diesel exhaust and asthma: hypothesis and molecular mechanisms of action. *Environ Health Perspect* 110 [Suppl 1]:103–112
48. Schedle A, Rausch-Fan XH, Samorapoompichit P et al. (1998) Effects of dental amalgam and heavy metal cations on cytokine production by peripheral blood mononuclear cells in vitro. *J Biomed Mater Res* 42:76–84
49. Hu H, Abedi-Valugerdi M, Moller G (1997) Pretreatment of lymphocytes with mercury in vitro induces a response in T cells from genetically determined low-responders and a shift of the interleukin profile. *Immunology* 90:198–204
50. Haggqvist B, Hultman P (2001) Murine metal-induced systemic autoimmunity: baseline and stimulated cytokine mRNA expression in genetically susceptible and resistant strains. *Clin Exp Immunol* 126:157–164
51. Granchi D, Ciapeti G, Stea S et al. (1999) Cytokine release in mononuclear cells of patients with Co-Cr hip prosthesis. *Biomaterials* 20:1079–1086

52. Wang JY, Tsukayama DT, Wicklund BH, Gustilo RB (1996) Inhibition of T- and B-cell proliferation by titanium, cobalt, and chromium: role of IL-2 and IL-6. *J Biomed Mater Res* 32:655–661
53. Lee JY, Atochina O, King B et al. (2000) Beryllium, an adjuvant that promotes gamma interferon production. *Infect Immun* 68:4032–4039
54. Tinkle SS, Kittle LA, Newman LS (1999) Partial IL-10 inhibition of the cell-mediated immune response in chronic beryllium disease. *J Immunol* 163:2747–2753
55. Boscolo P, Di Gioacchino M, Sabbioni E et al. (1999) Expression of lymphocyte subpopulations, cytokine serum levels, and blood and urinary trace elements in asymptomatic atopic men exposed to an urban environment. *Int Arch Occup Environ Health* 72:26–32
56. Heo Y, Parsons PJ, Lawrence DA (1996) Lead differentially modifies cytokine production in vitro and in vivo. *Toxicol Appl Pharmacol* 138:149–157
57. Yucesoy B, Turhan A, Ure M et al. (1997) Effects of occupational lead and cadmium exposure on some immunoregulatory cytokine levels in man. *Toxicology* 123:143–147
58. Marth E, Barth S, Jelovcan S (2000) Influence of cadmium on the immune system. Description of stimulating reactions. *Cent Eur J Publ Health* 8:40–44
59. Devouassoux G, Saxon A, Metcalfe DD et al. (2002) Chemical constituents of diesel exhaust particles induce IL-4 production and histamine release by human basophils. *J Allergy Clin Immunol* 109:847–853
60. Pacheco KA, Tarkowski M, Sterritt C et al. (2001) The influence of diesel exhaust particles on mononuclear phagocytic cell-derived cytokines: IL-10, TGF-beta and IL-1 beta. *Clin Exp Immunol* 126:374–383
61. Cavani A, Nasorri F, Prezzi C et al. (2000) Human CD4+ T lymphocytes with remarkable regulatory functions on dendritic cells and nickel-specific Th1 immune responses. *J Invest Dermatol* 114:295–302
62. Wataha JC, Hanks CT, Sun Z (1995) In vitro reaction of macrophages to metal ions from dental biomaterials. *Dent Mater* 11:239–245
63. Im GI, Han JD (2001) Suppressive effects of interleukin-4 and interleukin-10 on the production of proinflammatory cytokines induced by titanium-alloy particles. *J Biomed Mater Res* 58:531–536
64. Trindade MC, Lind M, Sun D et al. (2001) In vitro reaction to orthopaedic biomaterials by macrophages and lymphocytes isolated from patients undergoing revision surgery. *Biomaterials* 22:253–259
65. Vanhee D, Gosset P, Biotelle A et al. (1995) Cytokines and cytokine network in silicosis and coal workers' pneumoconiosis. *Eur Respir J* 8:834–842
66. Aldinucci C, Garcia JB, Palmi M et al. (2003) The effect of strong static magnetic fields on lymphocytes. *Bioelectromagnetics* 24:109–117
67. Boscol P, Di Sciascio MB, D'Ostillo S, Del Signore A, Reale M, Conti P, Bavazzano P, Paganelli R, Di Gioacchino M (2001) Effects of electromagnetic fields produced by radiotelevision broadcasting stations on the immune system of women. *Sci Total Environ* 273:1–10
68. Lawrence DA, McCabe MJ (2002) Immunomodulation by metals. *Int Immunopharmacol* 2:293–302
69. Garssen J, van Loveren H (2001) Effects of ultraviolet exposure on the immune system. *Crit Rev Immunol* 21:359–397
70. Heim C, Ehlert U, Hellhammer DH (2000) The potential role of hypocortisolism in the pathophysiology of stress-related bodily disorders. *Psychoneuroendocrinology* 25:1–35
71. Mitteilung der Kommission „Methoden und Qualitätssicherung in der Umweltmedizin“ am Robert Koch-Institut (2001) Grundsätze der Bewertung von umweltmedizinischen Methoden. *Bundesgesundheitsbl Gesundheitsforsch Gesundheitsschutz* 44:519–522