

4. Ergebnisse

4.1 Patienten und Gruppen

Es wurden 8 Frühgeborene im Gestationsalter von 24 bis 27 Wochen, 5 reifgeborene Neugeborene, 11 reifgeborene Säuglinge im Alter zwischen 8 Tagen und 4 Monaten und 4 Erwachsene untersucht. Bei den Frühgeborenen wurden im Verlauf ein bis drei Proben entnommen.

	Patient	Gestationsalter	Alter bei Probenentnahme	Anzahl der Sequenzen
FG	1.19	27 Wochen	Nabelschnurblut	3
			13 Wochen	22
FG	1.20	24 Wochen	12 Wochen	13
FG	1.21	27 Wochen	Nabelschnurblut	18
			2 Wochen	13
			14 Wochen	25
FG	1.22	26 Wochen	8 Wochen	11
FG	1.23	26 Wochen	8 Wochen	9
FG	1.26	27 Wochen	Nabelschnurblut	14
			3 Wochen	23
			10 Wochen	10
FG	1.27	26 Wochen	12 Wochen	5
FG	1.28	25 Wochen	Nabelschnurblut	12
			2 Wochen	14
			10 Wochen	20
RG	2.01	36 Wochen	Nabelschnurblut	8
RG	2.02	36 Wochen	Nabelschnurblut	8
RG	2.04	39 Wochen	Nabelschnurblut	59
RG	2.05	41 Wochen	Nabelschnurblut	8
RG	2.06	39 Wochen	Nabelschnurblut	14
Sgl	5.03		4 Monate	20
Sgl	5.04		5 Wochen	21
Sgl	5.05		15 Tage	8
Sgl	5.07		7 Wochen	17
Sgl	5.08		16 Tage	18
Sgl	5.09		8 Tage	26
Sgl	5.10		14 Tage	23
Sgl	5.11		5 Wochen	18
Sgl	5.12		6 Wochen	27
Sgl	5.13		2 Monate	22
Sgl	5.14		4 Monate	24

Erw	3.04			12
Erw	3.05			12
Erw	3.10			57
Erw	3.30			22

Tabelle 4.1: Patienten: FG = Frühgeborene, RG = Reifgeborene, Sgl = Säuglinge, Erw = Erwachsene

Insgesamt wurden 636 Sequenzen aus 35 Proben von 28 Patienten sequenziert.

Die Patienten wurden in folgende Gruppen eingeteilt:

Gruppe 1: Frühgeborene bei Geburt	47 Sequenzen,
Gruppe 2: Reifgeborene bei Geburt	97 Sequenzen,
Gruppe 3: Frühgeborene im Alter zwischen 1 und 8 Wochen	70 Sequenzen,
Gruppe 4: Reifgeborene im Alter zwischen 1 und 8 Wochen	180 Sequenzen,
Gruppe 5: Frühgeborene im Alter zwischen 9 und 16 Wochen	95 Sequenzen,
Gruppe 6: Reifgeborene im Alter zwischen 9 und 16 Wochen	44 Sequenzen,
Gruppe 7: Erwachsene	103 Sequenzen

4.2 Die Diversität der IgG-B-Zell-Rezeptor-Gene entwickelt sich bei Frühgeborenen langsamer

Bei der Geburt ist die Diversität (Anteil der unterschiedlichen Gene an der Gesamtzahl der sequenzierten Gene eines Patienten), an IgG-B-Zell-Rezeptor-Genen sowohl bei reifgeborenen als auch bei frühgeborenen Kindern gering (Tabl 3.1; 3.2). Sie liegt im Median bei 32% (25%-100%) bei den 4 Reifgeborenen und bei 27% (11%-58%) den bei 4 Frühgeborenen. Bei den vier untersuchten Erwachsenen liegt die Diversität im Median bei 92% (40%-95%).

Alle Reifgeborenen ab einem Alter von 8 Tagen besitzen eine Diversität von über 80%. Eine vergleichbare hohe Diversität besitzen die Frühgeborenen erst ab einem Alter von mindestens 10 Wochen (vgl. Abb. 4.1).

Dieser langsame Anstieg der IgG-B-Zellrezeptor-Gen-Variabilität zeigt sich auch bei den FG, bei denen longitudinal mehrere Proben untersucht wurden (Abb. 4.2).

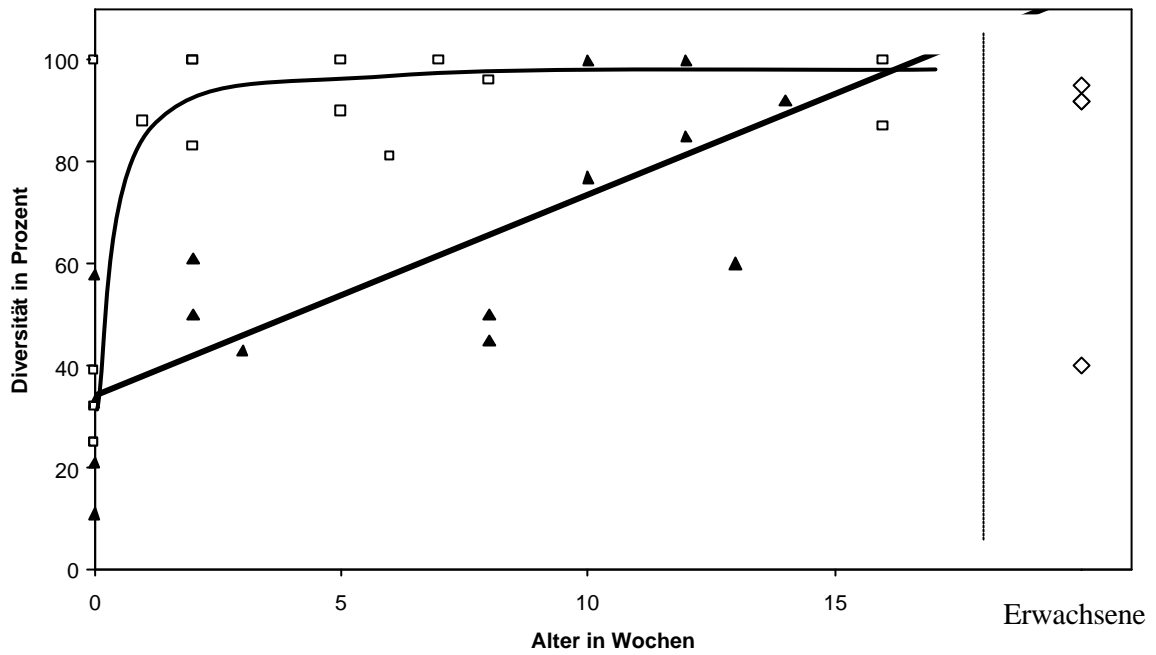


Abbildung 4.1 Diversität der IgG-B-Zellrezeptorgene in Abhängigkeit vom postnatalen Alter (%).

▲ = Frühgeborene □ = Reifgeborene ◇ = Erwachsene

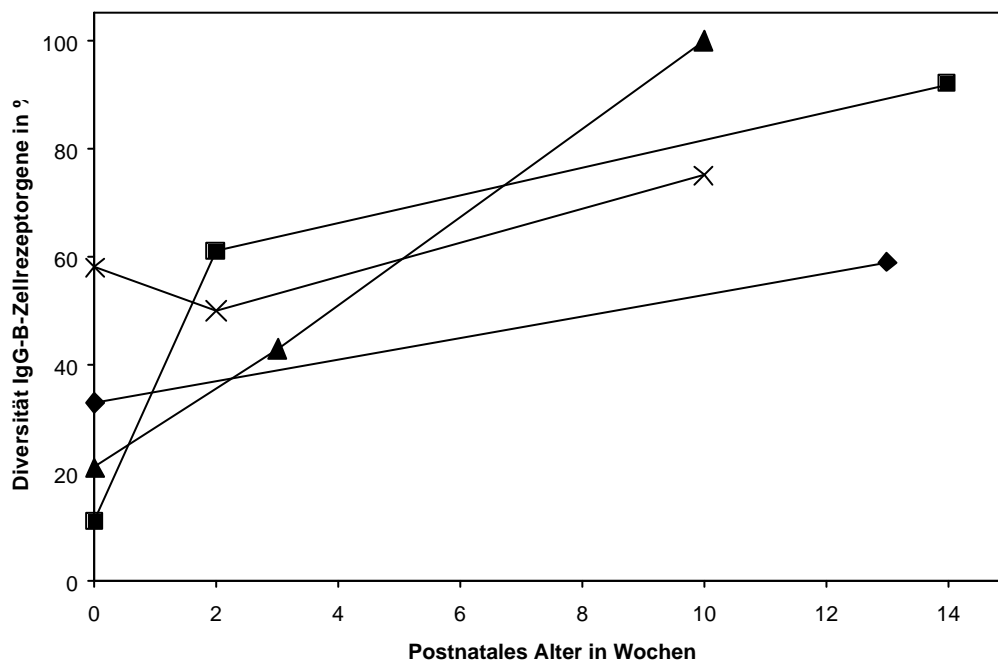


Abbildung 4.2 Diversität der IgG-B-Zellrezeptorgene bei den 4 Frühgeborenen mit mehreren longitudinalen Proben in Abhängigkeit vom postnatalen Alter (%).

◆ = Patient 1.19 ■ = Patient 1.21 ▲ = Patient 1.26 × = Patient 1.28

Patient	postnatales Alter	Sequenzen (insge.)	davon unterschiedlich	Mutationsrate in %
1.19	NSB	3	1 (33%)	0
1.21	NSB	18	2 (11%)	0
1.26	NSB	14	3 (21%)	0
1.28	NSB	12	7 (58%)	0,58
1.21	2 Wochen	13	8 (61%)	0,35
1.28	2 Wochen	14	7 (50%)	0,1
1.26	3 Wochen	23	10 (43%)	0,07
1.22	8 Wochen	11	5 (45%)	0,55
1.23	8 Wochen	9	5 (56%)	0,69
1.26	10 Wochen	10	10 (100%)	0,75
1.28	10 Wochen	20	15 (75%)	0,76
1.20	12 Wochen	13	11 (85%)	0,62
1.27	12 Wochen	5	5 (100%)	0
1.19	13 Wochen	22	13 (59%)	0,85
1.21	14 Wochen	25	23 (92%)	0,5

Tabelle 4.2: Diversität und Mutationsraten der IgG-B-Zellrezeptorgene bei Frühgeborenen

Patient	postnatales Alter	Sequenzen (insge.)	davon unterschiedlich	Mutationsrate in %
2.01	NSB	8	2 (25%)	0
2.02	NSB	8	2 (25%)	0
2.04	NSB	59	19 (32%)	0,36
2.05	NSB	8	8 (100%)	0,17
2.06	NSB	14	5 (36%)	0
5.09	8 Tage	26	23 (88%)	0,18
5.10	14 Tage	23	19 (83%)	0,88
5.05	15 Tage	8	8 (100%)	0,68
5.08	16 Tage	18	18 (100%)	0,44
5.04	5 Wochen	21	19 (90%)	1,11
5.11	5 Wochen	18	18 (100%)	0,87
5.12	6 Wochen	27	22 (81%)	0,5
5.07	7 Wochen	17	17 (100%)	1,41
5.13	2 Monate	22	20 (91%)	1,25
5.03	4 Monate	20	20 (100%)	2,86
5.14	4 Monate	24	21 (87%)	1,04

Tabelle 4.3 : Diversität und Mutationsraten der IgG-B-Zellrezeptorgene bei Reifgeborenen und Säuglinge

Patient	postnatales Alter	Sequenzen (insge.)	davon unterschiedlich	Mutationsrate in %
3.04	Erw	12	11 (92%)	6,72
3.05	Erw	12	11 (92%)	7,07
3.10	Erw	57	23 (40%)	9,89
3.30	Erw	22	21 (95%)	6,00

Tabelle 4.4 : Diversität und Mutationsraten der IgG-B-Zellrezeptorgene bei Erwachsenen

4.3 Bei Frühgeborenen stieg die Mutationsrate langsamer an als bei Reifgeborenen

Die Mutationsraten von FG und RG sind bei Geburt gleich gering. Bei den fünf untersuchten reifgeborenen Kindern liegt sie zwischen 0 und 0,36. Bei drei der vier untersuchten frühgeborenen Kinder wurde keine Mutation gefunden, ein Kind weist eine Rate von 0,58 auf.

Werden einzelne FG betrachtet, steigt die Mutationsrate stetig mit dem Alter an, z.B. Kind 1.21: NSB 0; 2 Wo 0,35; 14 Wo 0,5. Auch im Vergleich verschiedener Patienten ist eine Zunahme der Mutationsrate mit dem Alter zu erkennen. Diese ist bei FG allerdings tendenziell verzögert. Beide erreichen nach 16 Wochen nicht das Niveau von Erwachsenen (6,00- 9,89).

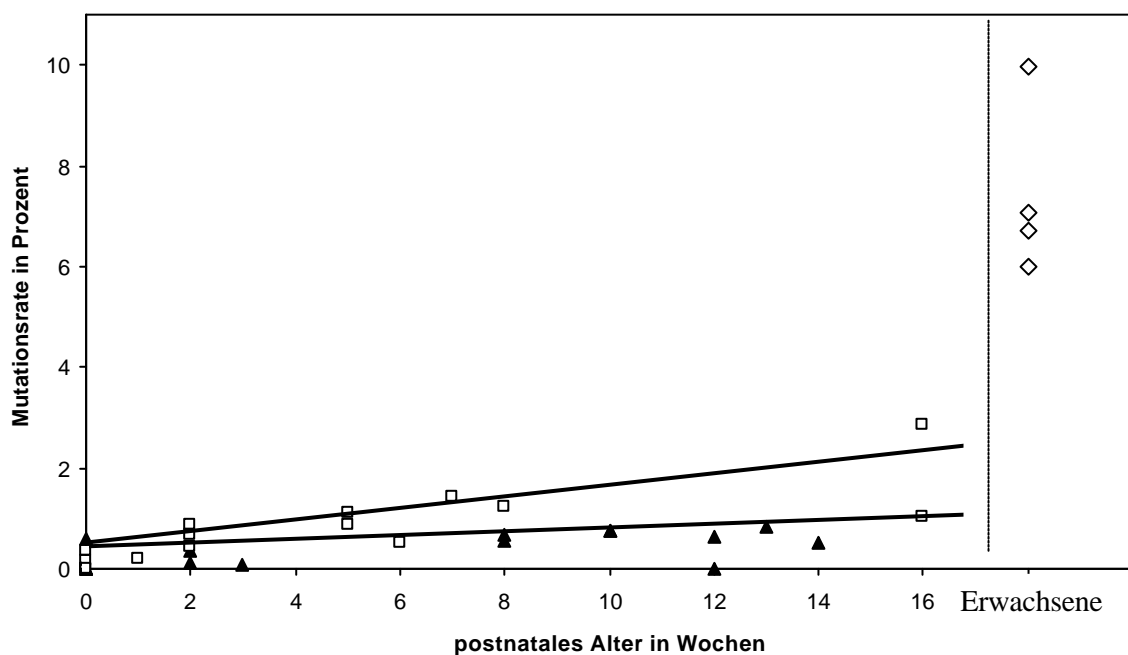


Abbildung 4.3: Die Mutationsrate in CDR2 und FR3 in Abhängigkeit vom Alter.

▲= Frühgeborene, Korrelationskoeffizient $R = 0,613$; $p = 0,05$ (zweiseitige Signifikanz)

□= Reifgeborene, Korrelationskoeffizient $R = 0,83$; $p = 0,01$ (zweiseitige Signifikanz)

◇= Erwachsene

4.4 Reifgeborene weisen früher Sequenzen mit multiplen Mutationen auf als Frühgeborene

Der Anteil der Sequenzen mit mehr als drei Mutationen im Bereich CDR2, FR3 und V in CDR3 nimmt sowohl bei RG als auch bei FG mit dem Alter zu. Bei RG steigt der Anteil schneller als bei FG. RG: NBS 0%, 1-8 Wo 10,9%, 9-16 Wo 29,2%. FG: NSB 0%, bis 1-8 Wo 2,9%, 9-16 Wo 7,3%. In der Gruppe der Erwachsenen haben 83,3% aller Sequenzen mehr als drei Mutationen.

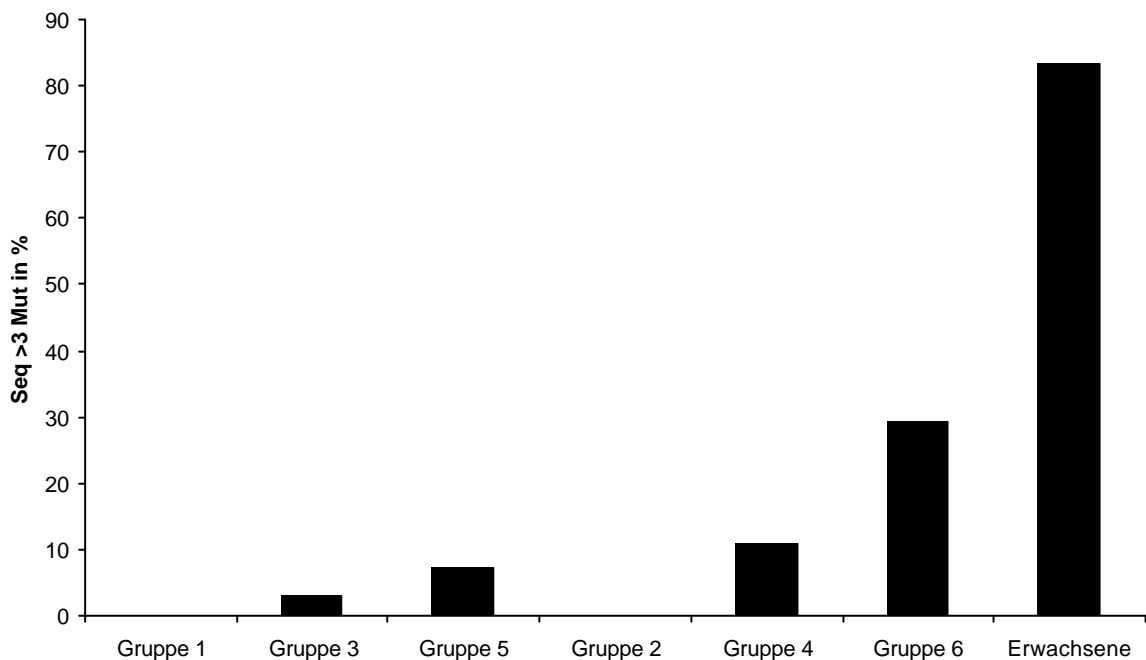


Abbildung 4.4: Sequenzen mit mehr als drei Mutationen in CDR2, FR3 und V in Vcdr3 (%)

Gruppe 1: FG bei Geburt, Gruppe 2: RG bei Geburt, Gruppe 3: FG 1-8 Wochen, Gruppe 4 Säuglinge 1-8 Wochen, Gruppe 5 FG 9-16 Wochen, Gruppe 6. Säuglinge 9-16 Wochen, Gruppe 7: Erwachsene

4.5 R/S-Verhältnis in CDR2 und FR3

Bei RG sind die R/S-Raten im CDR2-Bereich schon bei der Geburt und in den darauf folgenden Wochen größer als im FR3-Bereich. FG weisen erst in einem Alter von 9-16 Wochen eine höhere R/S-Rate im CDR2-Bereich auf.

	R/S CDR2	R/S FR3
FG bei Geburt	-	0,5
RG bei Geburt	1	0,8
FG 1-8 Wochen	0,6	1,5
RG 1-8 Wochen	3,7	0,9
FG 9-16 Wochen	13,5	1,6
RG 9-16 Wochen	2,7	0,9

Tabelle 4.5: R/S-Raten in der CDR2- und FR3-Region

4.6 Prozentualer Anteil der replacement Mutationen

Der prozentuale Anteil der replacement Mutationen an der gesamten Anzahl der Mutationen nimmt sowohl bei den Reifgeborenen als auch bei den Frühgeborenen mit dem Alter zu. Bei den FG liegt der Anteil von replacement Mutationen im Median bei 0% (0%-33%) in der Gruppe 1. In der Gruppe 3 liegt der Median bei 47,5% (0%-100%) und in der Gruppe 5 bei 69% (0%-91%). Bei den RG liegt der Anteil an replacement Mutationen bei Geburt im Median bei 15% (0%-100%), in der Gruppe der 1-8 Wochen alten Kinder bei 56% (25%-96%) und in der Gruppe der 9-16 Wochen alten Kinder bei 56,5% (48%-65%). Bei Erwachsenen liegt der Anteil der replacement Mutationen im Median bei 72,15% (65,75-76,1%).

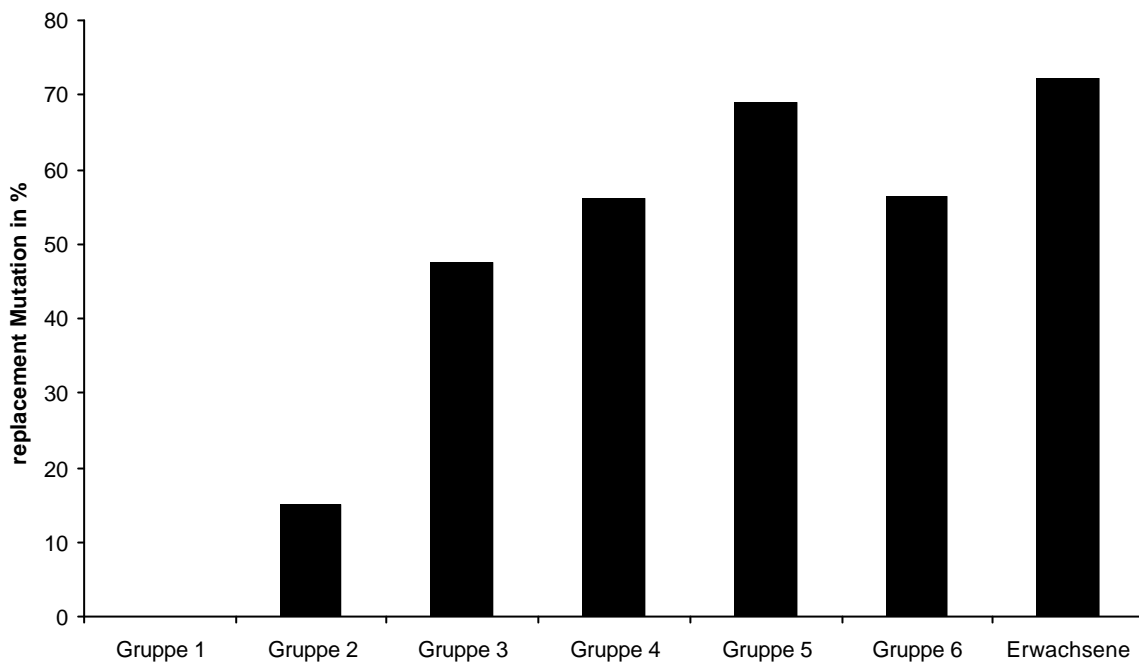


Abbildung 4.5: Anteil der replacement Mutationen in Prozent von allen Mutationen im CDR2- und FR3- Bereich

schwarz = replacement Mutationen

Gruppe 1: FG bei Geburt, Gruppe 2: RG bei Geburt, Gruppe 3: FG 1-8 Wochen, Gruppe 4:

Säuglinge 1-8 Wochen, Gruppe 5: FG 9-16 Wochen, Gruppe 6: Säuglinge 9-16 Wochen, Gruppe 7: Erwachsene