

Aus der Klinik für Allgemeine Pädiatrie und Neonatologie,
Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg/Saar
Prof. Dr. Zemlin

**Leukozytensubpopulationen im Nabelschnurblut von Reifgeborenen und peripherem
Blut von Schwangeren**

Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

der Medizinischen Fakultät

der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

2024

Vorgelegt von: Charline Sarah Schmitt,

geb. am: 24.09.1998, Saarlouis

Tag der Promotion: 14.04.2025

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. M.D. Hannig

1. Berichterstatter: Prof. Dr. M Zemlin

2. Berichterstatter: Prof. Dr. Hermann Eichler

Für meine Familie

Inhaltsverzeichnis

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	2
ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....	4
TABELLENVERZEICHNIS	5
1 ZUSAMMENFASSUNG.....	7
1.1 Deutsche Zusammenfassung	7
1.2 Abstract	8
2 EINLEITUNG	9
2.1 Das Immunsystem	9
2.1.1 Das angeborene Immunsystem.....	10
2.1.2 Das adaptive Immunsystem	10
2.1.3 Zellen des Immunsystems und ihre Ontogenese	12
2.2 Geschlechterspezifische Unterschiede im Nabelschnurblut.....	18
2.2.1 Genetik	19
2.2.2 Hormonlevel.....	19
2.2.3 Umwelteinflüsse.....	21
2.2.4 Geschlechterspezifische immunologische Unterschiede im Laufe des Lebens ...	21
2.3 Atopischer Formenkreis	23
2.3.1 Epidemiologie	23
2.3.2 Multifaktorielle Genese der Atopie.....	23
2.3.3 Atopische Erkrankungen	28
2.4 Covid-19 Pandemie	30
2.4.1 Atopie und Pandemie	30
2.5 Fragestellung	31

3	MATERIAL UND METHODEN.....	32
3.1	Material	32
3.2	Studiendesign und Ein- und Ausschlusskriterien.....	38
3.3	Blutproben.....	39
3.4	Probenverarbeitung	40
3.5	Zellisolierung	40
3.6	Zellzählung.....	42
3.7	Durchflusszytometrie	42
3.8	Datenanalyse und Gating Strategie	43
3.9	Statistische Auswertung	49
4	ERGEBNISSE	50
4.1	Patientenkollektiv	50
4.1.1	Neugeborene.....	51
4.1.2	Schwangere	53
4.2	Vergleich von Nabelschnurblut der Neugeborenen und peripherem Blut der Schwangeren.....	55
4.2.1	B-Lymphozyten.....	55
4.2.2	T-Lymphozyten	58
4.3	Nabelschnurblut von männlichen und weiblichen Neugeborenen.....	63
4.3.1	B-Lymphozyten.....	63
4.3.2	T-Lymphozyten.....	65
4.4	Vorerkrankungen als Einflussfaktoren auf die Lymphozyten Subpopulationen im peripheren Blut von Schwangeren.....	69
4.5	Vorerkrankungen der Mütter als Einflussfaktoren auf die Lymphozytensubpopulationen im Nabelschnurblut von Neugeborenen.....	72
4.5.1	B-Lymphozyten.....	72

4.5.2	T-Lymphozyten	76
5	DISKUSSION.....	85
5.1	Vergleich der Lymphozytensubpopulationen von Mutter (peripheres Blut) und Kind (Nabelschnurblut)	85
5.2	Vergleich von NSB von männlichen und weiblichen Neugeborenen	92
5.3	Vergleich von Blutproben bei vorbekannten atopischen Erkrankungen.....	98
5.4	Stärken und Schwächen der Arbeit	100
5.5	Konklusion	101
6	LITERATURVERZEICHNIS	103
7	PUBLIKATIONEN	118
8	DANKSAGUNG	119
9	LEBENS LAUF	120
10	ANHANG	122
10.1	Fragebögen	123
11	EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG	140

Aufgrund der besseren Lesbarkeit wird in der vorliegenden Promotionsarbeit das generische Maskulinum verwendet, gemeint sind jedoch immer alle Geschlechter.

Abkürzungsverzeichnis

APZ	Antigenpräsentierende Zellen
AR	Allergische Rhinitis
AO/PI	Propidiumiodid
BZR	B-Zell-Rezeptor
CD	Unterscheidungsgruppe (<i>cluster of differentiation</i>)
CVID	Variables Immundefekt Syndrom (<i>common variable immune deficiency</i>)
DNS	Desoxyribonukleinsäure
DPBS	Dulbeccos phosphatgepufferte Kochsalzlösung (<i>Dulbecco's phosphate buffered saline</i>)
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
FACS	Fluoreszenz-aktivierte Zellsortierung (<i>fluorescenceactivated cell sorting</i>)
Fc Rezeptor	kristallisierbares Fragment (<i>fragment crystallizable faktor</i>)
FOXP3	Forkhead-Box-Protein
GITR	Glukokortikoid-induziertes TNFR-verwandtes Protein (<i>glucocorticoid-induced TNFR-related protein</i>)
GSDMB	Gasdermin B
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
INF	Interferone
LAG3	Lymphocyte activation gene 3
MALT	Mukosa-assoziiertes lymphatisches Gewebe
MHC	Haupthistokompatibilitätskomplex-Molekül (<i>Major Histocompatibility Complex</i>)

Abkürzungsverzeichnis

MZ	Marginalzone
NSB	Nabelschnurblut
NK-Zellen	Natürliche Killerzellen
ORMDL3	ORMDL-Sphingolipid-Biosyntheseregulator 3 (ORMDL3)
PBMC	Mononukleäre Zellen des peripheren Blutes (<i>peripheral blood mononuclear cells</i>)
RG	Reifgeborenes
RNA	Ribonukleinsäure (<i>ribonucleinacid</i>)
SARS-CoV2	Severe acute respiratory syndrome coronavirus type 2
SPSS	Statistical Package für Social Sciences
TD-Antigens	Thymus-abhängiges Antigene (<i>thymus-dependent-antigens</i>)
Tfh	Follikuläre T-Zellen
TGF- β	Transformierender Wachstumsfaktor β (<i>transforming growth factor β</i>)
Th	T-Helferzellen
TI-Antigens	Thymus-unabhängige Antigene (<i>thymus-independent-antigens</i>)
TNF-α	Tumornekrosefaktor α
Treg	Regulatorische T-Zellen
TZR	T-Zellrezeptor

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Das Immunsystem als komplexes Netzwerk.....	9
Abbildung 2: Geschlechterabhängige Unterschiede bei verschiedenen Erkrankungen.....	18
Abbildung 3: Schematische Darstellung Atopie Entstehung.....	24
Abbildung 4: Blutabnahme aus Plazenta.....	39
Abbildung 5: Dichtegradienten-Zentrifugation von PBMCs/CBMC`s.....	41
Abbildung 6: Gating Strategie für B-Lymphozyten.....	44
Abbildung 7: Gating Strategie für T-Lymphozyten (Panel 1).....	45
Abbildung 8: <i>Gating</i> -Strategie für T-Lymphozyten (Panel 2).....	46
Abbildung 9: Gestationsalter Neugeborene.....	52
Abbildung 11: Altersverteilung Schwangere.....	53
Abbildung 12: B-Zellsubpopulationen im peripherem Blut und Nabelschnurblut.....	57
Abbildung 13: T-Zellsubpopulationen im Nabelschnurblut und peripherem Blut.....	62
Abbildung 14: B-Lymphozyten von männlichen und weiblichen Neugeborenen.....	65
Abbildung 15: T-Lymphozyten von männlichen und weiblichen Neugeborenen.....	68
Abbildung 16: Atopie bei Schwangeren Marginalzonen-B-Zellen.....	71
Abbildung 17: B-Lymphozyten im Nabelschnurblut bei allergischer Rhinitis der Mutter.....	74
Abbildung 18: B-Zellen im Nabelschnurblut bei Müttern mit Atopie.....	76
Abbildung 19: T-Lymphozyten im Nabelschnurblut bei Müttern mit Asthma.....	79
Abbildung 20: T-Lymphozyten im Nabelschnurblut bei Müttern mit Allergischer Rhinitis ..	81
Abbildung 21: T-Lymphozyten im Nabelschnurblut bei Müttern mit Atopie.....	84

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Material zur Aufbereitung der Blutproben.....	32
Tabelle 2: Materialien zur Zellisolierung.....	32
Tabelle 3: Geräte zur Zellisolierung.....	33
Tabelle 4: Materialien zur Zellzählung	34
Tabelle 5: Geräte zur Zellzählung.....	34
Tabelle 6: Verwendete Antikörper für die Immunphenotypisierung	34
Tabelle 7: Materialien zur Oberflächenfärbung	36
Tabelle 8: Geräte zur Oberflächen- und Intrazellulärfärbung.....	36
Tabelle 9: Auswertung und Darstellung der durchflusszytometrischen Daten.....	36
Tabelle 10: Ein- und Ausschlusskriterien	38
Tabelle 11: Gruppengröße.....	40
Tabelle 12: Benötigte Zellzahlen, in Abhängigkeit von der zu untersuchenden Zellpopulation	42
Tabelle 13: Lymphozytenpopulationen Definitionen gemäß Oberflächenmarker.....	47
Tabelle 14: FACS-Panel Größe.....	50
Tabelle 15: Patientenkohorten anhand von Vorerkrankungen.....	50
Tabelle 16: Patientenkohorten der Neugeborenen	51
Tabelle 17: Gestationsalter der eingeschlossenen Neugeborenen.....	51
Tabelle 18: Altersverteilung der Schwangeren	53
Tabelle 19: Absolute Häufigkeiten der Gravida in der Kohorte der Schwangeren.....	54
Tabelle 20: Absolute Häufigkeiten der Para in der Kohorte der Schwangeren.	54
Tabelle 21: Relative Anteile der B-Lymphozyten Subpopulationen.	55
Tabelle 22: Relative Anteile der T-Lymphozyten Subpopulationen.	59
Tabelle 23: B-Lymphozyten bei männliche und weiblichen Neugeborenen.	63

Tabellenverzeichnis

Tabelle 24: T-Lymphozyten bei männlichen und weiblichen Neugeborene.	66
Tabelle 25: B-Lymphozyten Subpopulationen im peripheren Blut	69
Tabelle 26: B-Lymphozytensubpopulationen im Nabelschnurblut bei allergischer Rhinitis. .	72
Tabelle 27: B-Lymphozytensubpopulationen im Nabelschnurblut bei Atopie der Mutter.....	75
Tabelle 28: T-Lymphozyten im Nabelschnurblut bei Müttern mit Asthma.....	77
Tabelle 29: T-Lymphozyten Subpopulationen im Nabelschnurblut bei Müttern mit allergischer Rhinitis.	79
Tabelle 30: T-Lymphozyten im Nabelschnurblut bei Schwangeren mit Atopie.....	82

1 Zusammenfassung

1.1 Deutsche Zusammenfassung

Die Entwicklung des Immunsystems ist ein dynamischer und lebenslanger Prozess, der von der pränatalen Phase über die Geburt bis ins hohe Alter entscheidend für die Gesundheit ist. Diese Arbeit zielt darauf ab, den Immunstatus bei Geburt und während der Schwangerschaft zu beschreiben und den Einfluss des Geschlechts auf die Leukozytenpopulationen und die maternalen Prägung in Bezug auf die Entwicklung chronischer Krankheiten wie Asthma, allergische Rhinitis oder Autoimmunerkrankungen zu untersuchen. Besonderes Augenmerk liegt auf der Wechselwirkung zwischen genetischen Faktoren, Umwelteinflüssen und mikrobiellen Gemeinschaften, die die Immunantwort prägen. Die Analyse von Immunzellpopulationen in diesen Lebensabschnitten soll ein umfassendes Verständnis für die Mechanismen schaffen, die das Immunsystem während seiner Entwicklung stärken oder schwächen. Hierzu wurden 50 Nabelschnurblutproben sowie periphere Blutproben von 50 Schwangeren, während des Covid-19 Lockdowns 2021 gesammelt und mittels Durchflusszytometrie 14 B-Lymphozyten- und 21 T-Lymphozytensubpopulationen analysiert. Ein Vergleich von Nabelschnurblut mit peripherem Blut von Schwangeren zeigt signifikante Unterschiede der Leukozytensubpopulationen und bietet erstmals einen umfänglichen Einblick in den besonderen Immunstatus der Schwangeren kurz vor Entbindung. Zudem konnten erstmals geschlechterspezifische signifikante Unterschiede bei den Subgruppen der Marginalzonen B-Zellen ($p=0,01$), CD20+CD27+CD43+ B1-Zellen ($p=0,023$), CD20+CD27+CD43+CD69- B1-Zellen ($p=0,025$) und CD20+CD27+CD43+CD70- B1-Zellen ($p=0,007$), der CD20+CD27+CD43+CD38- B1-Zellen und Naive Thymus-negative TH-Zellen ($p=0,05$) im Nabelschnurblut (NSB) gezeigt werden. Darüber hinaus konnten erste Hinweise dafür geliefert werden, dass atopische Vorerkrankungen der Eltern einen Einfluss auf die Leukozytenpopulationen im NSB haben.

Die Erkenntnisse sollen nicht nur dazu beitragen, die frühe Prägung von immunologisch vermittelten Erkrankungen besser zu verstehen, sondern auch mögliche Ansatzpunkte für eine geschlechterspezifische präventive oder therapeutische Immunmodulation identifizieren.

1.2 Abstract

The development of the immune system is a dynamic and lifelong process, which plays a crucial role in health from the prenatal phase, through birth, and into old age. This study aims to describe the immune status at birth as well as during pregnancy and to investigate the influence of sex on leukocyte populations and maternal imprinting with respect to the development of chronic diseases such as asthma, allergic rhinitis, or autoimmune diseases. Special attention is given to the interaction between genetic factors, environmental influences and microbial communities that shape the immune response. By analysing immune cell populations during these life stages, we seek to develop a comprehensive understanding of the mechanisms that strengthen or weaken the immune system during its development. For this purpose, 50 cord blood samples and peripheral blood samples from 50 pregnant women were collected during the Covid-19 lockdown in 2021 and subsequently analysed using flow cytometry, examining 14 B-lymphocyte and 21 T-lymphocyte subpopulations. A comparison of cord blood with peripheral blood from pregnant women revealed significant differences in leukocyte subpopulations, providing a comprehensive insight into the unique immune status of pregnant women shortly before delivery for the first time. Additionally, sex-specific significant differences were shown for the first time in subgroups of marginal zone B-cells ($p=0.01$), CD20+CD27+CD43+ B1 cells ($p=0.023$), CD20+CD27+CD43+CD69- B1-cells ($p=0.025$), and CD20+CD27+CD43+CD70- B1-cells ($p=0.007$), CD20+CD27+CD43+CD38- B1-cells, and naïve thymus-negative TH-cells ($p=0.05$) in cord blood. Furthermore, initial indications were provided that parental atopic conditions have an impact on leukocyte populations in cord blood. The findings aim not only to contribute to a better understanding of age-related and immune diseases but also to promote innovative approaches for sex-specific, preventive and therapeutic strategies in the field of immunomodulation. This interdisciplinary project brings together immunologists, biologists and clinicians to systematically explore the complex relationships in immune development and is thereby making a valuable contribution to health research.

The findings are intended not only to contribute to a better understanding of the early imprinting of immunologically mediated diseases but also to identify potential targets for sex-specific preventive or therapeutic immunomodulation.

2 Einleitung

2.1 Das Immunsystem

Der menschliche Körper steht im ständigen Austausch mit der Umwelt und ist permanent Krankheitserregern und anderen äußeren Einflüssen ausgesetzt. Um sich adäquat dagegen schützen zu können, verfügt der Mensch über ein komplexes Netzwerk an Zellen und Botenstoffen, die sich in eine angeborene, unspezifische Immunantwort, die auch nicht-adaptive Immunität genannt wird, sowie in eine erworbene, spezifische und damit adaptive Immunantwort unterteilen lassen (**Abbildung 1**) [1].

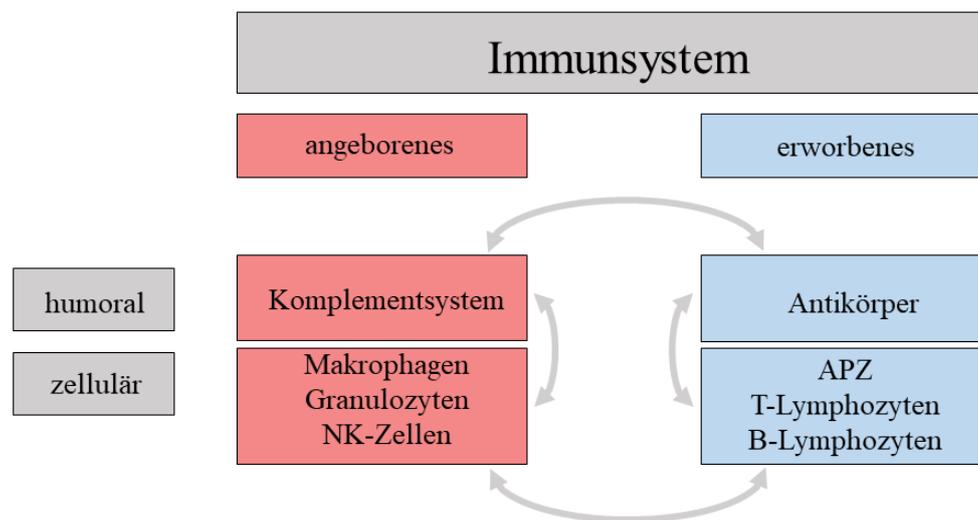


Abbildung 1: Das Immunsystem als komplexes Netzwerk (Abbildung angepasst gemäß Vollmar et al. [1]).

Das Immunsystem besteht aus einer angeborenen und einer erworbenen Immunität, die man wiederum in einen humoralen und zellulären Teil unterteilen kann. Die verschiedenen Teile des Immunsystems sind aber nicht strikt voneinander zu trennen, sondern greifen ineinander wie ein Zahnrad. Natürliche Killerzellen (NK-Zellen), Antigenpräsentierende Zellen (APZ).

Die Aufgabe des Immunsystems besteht darin, die Integrität eines Individuums, durch den Schutz gegen Einflussfaktoren, sowohl von außen (Bakterien, Viren, etc.) als auch von innen (entartete Zellen) zu bewahren [1]. Daraus ergeben sich zwei wesentliche Aufgaben:

1. Die Unterscheidung zwischen körpereigenen und körperfremden Zellen und damit die Erkennung von Pathogenen.
2. Die effektive Eliminierung von Pathogenen und gleichzeitig der Aufbau eines Zellgedächtnisses, um einen stärkeren Schutz bei erneutem Kontakt zu gewährleisten.

Um diese Aufgabe zu erfüllen ist ein Zusammenspiel aus der angeborenen und erworbenen Immunantwort nötig [1].

2.1.1 Das angeborene Immunsystem

Die angeborene Immunität besteht aus schon bei der Geburt vorhandenen, physikalischen, chemischen, zellulären und humoralen Bestandteilen. Sie entwickelt sich schon intrauterin und ist von äußeren Einflussfaktoren abhängig.

Unter physikalischen und chemischen Bestandteilen des Immunsystems versteht man intakte Haut und Schleimhäute, die Produktion von Infekt-abwehrendem Schleim (Mucus), sowie den Hustenreflex.

Zu den zellulären Komponenten zählen die Phagozyten (Makrophagen und neutrophile Granulozyten), die für die Elimination von extrazellulären Erregern, wie Bakterien, sorgen, sowie die Natürlichen Killerzellen (NK-Zellen), die für die Abwehr von intrazellulären Erregern, wie z.B. Viren, verantwortlich sind.

Die humorale Abwehr besteht zum einen aus dem Komplementsystem, das sich in erster Linie gegen extrazelluläre Erreger richtet, zum anderen aus proinflammatorischen Zytokinen, wie Interferonen (INF), Tumornekrosefaktor- α (TNF- α), Interleukinen und Arachidonsäurederivaten (Prostaglandine und Leukotriene). Da diese Zytokine aber unter Anderem von Makrophagen und Leukozyten gebildet werden, ist eine eindeutige Unterteilung des Immunsystems in humorale und zelluläre Antwort nicht möglich. Vielmehr handelt es sich um ein komplexes Netzwerk, bei dem alle Anteile wie Zahnräder ineinandergreifen und miteinander interagieren [1].

2.1.2 Das adaptive Immunsystem

Die erworbene Immunantwort zeichnet sich dadurch aus, dass sie eine hohe Pathogenspezifität besitzt und in der Lage ist, ein immunologisches Gedächtnis aufzubauen, das bei erneutem Erregerkontakt eine effizientere Abwehr gewährleistet. Diesen Mechanismus machen sich auch Impfungen zunutze. Die zentralen Akteure der angeborenen Immunantwort sind Lymphozyten.

Durch klonale Selektion entstehen Lymphozyten mit spezifischen Rezeptoren, die nach Antigenkontakt mit einer antigenpräsentierenden Zelle proliferieren und eine erregerspezifische Immunantwort auslösen. Man unterscheidet B- und T-Lymphozyten. B-Lymphozyten können spezifische Antikörper bilden und so extrazelluläre Pathogene binden. T-Lymphozyten lassen sich grob in T-Helferzellen, die andere Immunzellen unterstützen, und zytotoxische T-Zellen, die infizierte Zellen abtöten können, unterscheiden. Ein Teil dieser B- und T-Lymphozyten reift zu Gedächtniszellen aus [2].

Es gibt verschiedene Reaktionen des erworbenen Immunsystems. Diese sind in der Regel an die verschiedenen T-Zellsubtypen gekoppelt. In Ausnahmefällen können B-Zellen auch T-Zell-unabhängig aktiviert werden [1].

Die direkte Zellyse oder die Einleitung der Apoptose durch zytotoxische T-Zellen wird vom Haupthistokompatibilitätskomplex-Molekül (*Major-Histocompatibility-Complex-I*, MHC-I), der intrazelluläre Proteine auf der Zelloberfläche exprimieren kann, vermittelt. Dadurch schütten zytotoxische T-Zellen Perforine und Proteasen aus, die die Lyse bzw. Apoptose einleiten.

Die zellulär vermittelte Typ-1-Reaktion wird durch die Interaktion von Makrophagen mit TH1-Zellen initiiert. Es kommt zu einer Stimulation der TH1-Zellen, die infolgedessen Zytokine produzieren. Diese wiederum stimulieren über einen positiven Feedbackmechanismus Makrophagen und zytotoxische T-Zellen. Das Ziel dieser Reaktion ist eine Immunantwort auf intrazelluläre Erreger. Die ausgeschütteten Zytokine, wie Interferon- γ (IFN- γ), Interleukin-2 (IL-2) und Tumornekrosefaktor- α (TNF- α) hemmen über einen negativen Feedbackmechanismus die Typ-2 Antwort [1,2].

Die humorale Typ-2-Reaktion beginnt durch die Präsentation von Antigenen über den *Major-Histocompatibility-Complex-II* (MHC-II) auf B-Lymphozyten. Daraufhin kommt es zu einer Interaktion mit TH2-Zellen. Diese aktivieren dadurch die B-Zelle und stimulieren die Immunglobulinproduktion. Auch hier besteht ein negatives Feedback, in diesem Fall auf die Typ-1 Antwort, wodurch die Makrophagenaktivierung gehemmt wird [1,2].

Ein weiterer Weg ist die T-Zell unabhängige B-Zellaktivierung. In seltenen Fällen kann die B-Zelle nach der Erkennung und Internalisierung des Antigens selbstständig in den aktivierten Zustand übergehen. Dabei entsteht allerdings nur eine IgM-Bindung und kein Immunglobulin-Klassenwechsel. IgM ist das erste Immunglobulin, das als Reaktion auf ein Interferon produziert wird und bildet die frühe Abwehr. Bei einer T-Zell abhängigen Aktivierung würde es im nächsten Schritt zu einem Antikörperklassenwechsel kommen, woraufhin die B-Zellen dann IgG, IgA oder IgE produzieren. Dies bleibt bei der T-Zell unabhängigen Aktivierung aus [1], [2].

2.1.3 Zellen des Immunsystems und ihre Ontogenese

Aus einer pluripotenten Stammzelle entwickeln sich Zellvorstufen, die in ihrem Entwicklungspotential immer weiter eingeschränkt werden. Aus einer multipotenten Stammzelle entwickeln sich zwei getrennte Zelllinien: die myeloische Zellreihe und die lymphatische Zellreihe. Aus einer myeloischen Stammzelle differenzieren sich neben den Erythrozyten und Thrombozyten auch die für die Immunantwort wichtigen Granulozyten- und Makrophagenvorstufen, aus denen sich weiter neutrophile, basophile und eosinophile Granulozyten sowie Monozyten ableiten. Auch bestimmte dendritische Zellen und gewebsständige Mastzellen leiten sich von einer myeloischen Stammzelle ab. Aus einer gemeinsamen lymphatischen Vorläuferzelle (CLP) gehen Prä-NK-Zellen, Prä-B-Zellen und Thymozyten hervor. Aus diesen entwickeln sich reife NK-Zellen, B-Lymphozyten und T-Lymphozyten [3].

Naive Lymphozyten exprimieren zwar einen Antigenrezeptor, können aber noch keine Effektorfunktionen, die wichtig zur Erregerbekämpfung sind, ausüben. Dieser Prozess findet durch Antigenpräsentation in den sekundären lymphatischen Organen statt [1]. Im Folgenden soll es vor allem um B-Lymphozyten und T-Lymphozyten gehen, die in dieser Arbeit auch synonym als B- und T-Zellen bezeichnet werden [1].

2.1.3.1 B-Lymphozyten

Im Gegensatz zu T-Zellen verbleiben B2-Zellen zunächst im Knochenmark. Hier durchlaufen die B-Vorläuferzellen mehrere Stadien, in denen eine Umlagerung und Expression von Immunglobulinen stattfindet. Zunächst reifen **Pro-B-Zellen** heran, die den charakteristischen B-Zell-Marker CD19, MHCII und CD38 auf ihrer Oberfläche exprimieren. Durch Umlagerung der schweren Kette, erfolgt die Expression des Prä-B-Rezeptors. Über Signale dieses Rezeptors, entwickeln sich **Prä-B-Zellen**. Nun beginnt die Umlagerung der leichten Kette, wodurch eine **unreife B-Zelle** entsteht, die ein vollständiges IgM-Molekül auf der Oberfläche exprimiert. In diesem Stadium findet erstmals eine Testung auf Autoreaktivität statt. Die hier geprüfte Toleranz, wird als zentrale Toleranz bezeichnet. Jedoch sind B-Zellen in diesem Stadium noch nicht vollständig ausgereift. Nachdem B-Zellen das Knochenmark verlassen haben und im Blut zirkulieren kann man sie je nach Entwicklungsstand und Funktion in verschiedene Subpopulationen unterscheiden. Auch im peripheren Gewebe findet eine Testung auf Autoreaktivität statt. Dies bezeichnet man als periphere Toleranztestung [3].

Die frühesten Oberflächenmarker auf Zellen der B-Linie sind CD19 und CD45R. Diese werden während der gesamten B-Zell Entwicklung exprimiert [3]. CD27 hingegen ist selektiv auf reifen Gedächtniszellen zu finden [4]. **Transitionale B-Zellen** werden durch die Oberflächenmarker CD19+CD27-CD38+CD20+ charakterisiert [5]. Nach positiver Selektion in der Milz oder Lymphknoten expandieren sie dort zu fokalen Gedächtniszellen [4,6].

Naive B-Zellen sind IgM+IgD+, allerdings noch CD27 negativ. Die endgültige Entwicklung zu reifen Zellen erfolgt in der Milz. Findet nun ein Kontakt mit einem Antigen statt, werden die B-Zellen aktiviert und differenzieren weiter in Plasmazellen, B-Gedächtnis oder B-Effektorzellen.

Marginalzonenähnliche B-Zellen sind zusätzlich zu CD19, IgM und IgD, CD27+. Diese Population wird in der Literatur allerdings manchmal auch als doppelt positive Gedächtnis-B-Zellen mit IgM und IgD Expression bezeichnet [7]. **Klassengewechselte B-Gedächtniszellen** sind als CD19+IgM+CD27IgD- Zellen definiert. **Späte B-Gedächtniszellen** exprimieren CD27 und CD38, aber nur noch wenig IgM und kein IgD mehr. Auf der Stufe der **Plasmablasten** tragen die Zellen CD38 auf ihrer Oberfläche, exprimieren aber kein IgM mehr [5,8]. Die enddifferenzierte **Plasmazelle** weist zusätzlich noch die Expression von CD138 auf [9,10].

B1-Zellen stellen eine Untergruppe der B-Lymphozyten dar. Sie unterscheiden sich in ihrer Funktion, dem Phänotyp, der Lokalisation und der Ontogenese von B2-Zellen [11,12] und spielen eine wichtige Rolle in der unreifen Immunantwort [13]. Während murine-B1-Zellen umfassend untersucht wurden, gibt es hinsichtlich menschlicher B1-Zellen noch viele offene Fragen. Murine B1-Zellen, auch als B1a-Zellen bezeichnet, sind charakterisiert durch den Oberflächenmarker CD5.

Im NSB und PB von Erwachsenen konnte eine Population von CD20+CD27+CD43+ Zellen identifiziert werden, die die drei Kernfunktionen der murinen B1-Zellen erfüllt: spontane IgM-Sekretion, effiziente T-Zell-Stimulation und tonische intrazelluläre Signalübertragung. [14] Charakteristisch ist außerdem, dass diese Zellen kein CD69 und CD70 auf ihrer Oberfläche exprimieren. Diese Marker werden bei naiven und Gedächtnis-B-Zellen stark hochreguliert. Quách et al. [15] postulierten eine noch feinere Definition der humanen B1-Zellen durch die Oberflächenmarkerkombination CD20+CD27+CD43+CD38^{lo/int}. Diese Arbeitsgruppe bestätigte, dass sich diese Zellen von B2-Zellen und CD20+CD38^{hi} Zellen in Bezug auf ihre Transkriptionsprofile, Antikörperverschiebung und -repertoire und die IgM Sekretion bei Stimulation unterscheiden [15].

Murine B1-Zellen stellen in bestimmten Körperbereichen wie der Pleurahöhle und dem Peritoneum die vorherrschende B-Zell-Population dar. Dies ist vermutlich auf die dort vorhandenen Antigene zurückzuführen, die das Wachstum und die Vermehrung der B1-Zellen anregen [3,16]. Ob dies physiologisch auch auf humane B1-Zellen zutrifft, lässt sich schwer sagen, da selten eine Aszites- oder Pleurapunktion bei gesunden Patienten durchgeführt wird. Im PB von Erwachsenen machen die B1-Zellen ca. 1% der CD19+ B-Zellen aus [15]. Der Anteil der humanen B1-Zellen nimmt im Lauf des Lebens ab [14,17,18], während der Anteil der murinen B1-Zellen ansteigt oder unverändert bleibt [19]. Rodriguez-Zhurbenko et al. [20] wiesen eine signifikante Abnahme der B1-Zellen ab dem 50. Lebensjahr nach. Gleichzeitig nahm auch die Fähigkeit zur IgM Sekretion ab. Das lässt vermuten, dass die Funktionsabnahme der B1-Zellen auch in Zusammenhang mit altersabhängigem Auftreten von Erkrankungen steht.

Im Gegensatz zu den B2-Zellen beginnt die Produktion der B1-Zellen bereits pränatal im Fetus. B1-Zellen machen einen großen Anteil der B-Lymphozyten bei Neugeborenen aus (50%), allerdings verringert sich ihr Anteil im Laufe der Entwicklung auf etwa 10% [14]. Beim Erwachsenen reagieren sie mit einem breiten Spektrum an Antigenen, jedoch mit einer geringeren Affinität. Deshalb weist man ihnen eine Rolle in der angeborenen Immunität bei Neugeborenen zu [13]. Die Funktion der B1-Zellen beim Erwachsenen, sowie des CD5-Markers sind bisher unbekannt. Sie repräsentieren eine Entwicklungsstufe zwischen den transitionalen und den naiven B-Zellen [6]. Ähnlich wie naive B-Zellen sind sie in der Lage, Antigene zu binden, und können sich zudem zu Plasmazellen differenzieren [8,21]. Während auch transitionale und unreife B-Zellen CD5 auf ihrer Oberfläche exprimieren können, stellen B1-Zellen mit 87% den Großteil der CD5+ Zellen im Erwachsenenalter dar. [21].

Unabhängig von der gewählten Oberflächenmarkerkombination, ist man sich allerdings einig, dass B1-Zellen in Zusammenhang mit der Entstehung von Autoimmunerkrankungen wie Multiple Sklerose oder rheumatoider Arthritis stehen [22]. Studien gehen davon aus, dass die niedrigere Affinität des B-Zell Rezeptors, dazu führt, dass es zu Kreuzreaktionen kommt, die die Zellen zur Proliferation und Antikörperproduktion anregt. So können CD5+ B1-Zellen beim Menschen polyspezifische autoreaktive Antikörper gegen IgG und Einzelstrang-DNS bilden [23]. Durch die Produktion von IL-10 spielen sie eine wichtige Rolle bei der Regulation von Immunreaktionen. IL-10 hat einerseits einen positiven Effekt auf die Lebensfähigkeit von B1-Zellen, andererseits hemmt es überreaktive B-Zellen [24].

Während einerseits das Vorkommen von spezifischen Oberflächenmarker die Zuordnung zu einer Subpopulation erlaubt, gibt es auch spezifische Marker, die eine Zuordnung zu einer Population erlauben, wenn sie nicht exprimiert werden. Die Abwesenheit von CD21 auf B-Zellen ist charakteristisch für transitionale B-Zellen, Plasmablasten und CD21- B-Zellen [25]. Die Anzahl dieser CD21 negativen Zellen korreliert bei Patienten mit variablem Immundefekt Syndrom Typ Ia (*Common variable immune deficiency*, CVID) mit der Splenomegalie [26]. Ihre physiologische Funktion ist noch nicht abschließend geklärt.

2.1.3.2 T-Lymphozyten

Unreife T-Zellen wandern aus dem Knochenmark in den Thymus, um dort ihre Entwicklung abzuschließen. Über Signale durch den NOTCH-Rezeptor werden sie für die T-Zell-Linie vorgeprägt. Die früheste Vorstufe exprimiert noch kein CD4 oder CD8 und wird deshalb als doppelt negative T-Zelle bezeichnet. Mit der Expression von CD3 entwickeln die Zellen einen $\alpha\beta$ -T-Zell-Rezeptor. Nun findet auch die Expression von CD4 und CD8 statt. Auf dieser Vorstufe erfolgt die positive Selektion [27]. Die $\alpha\beta$ -T-Zell-Rezeptoren, die mit Selbst-MHC-Molekülen kompatibel sind, übermitteln ein Überlebenssignal. Dies bezeichnet man als positive Selektion. Autoreaktive Rezeptoren hingegen senden Signale, die zum Zelltod führen und werden so aus dem Lymphozytenrepertoire entfernt. Dies bezeichnet man als negative Selektion. Aus den übrig gebliebenen Zellen entwickeln sich dann je nach Bindungseigenschaft an CD4 oder CD8, zwei Zelllinien: **zytotoxische T-Zellen (CD8)** und **T-Helferzellen (CD4)** [28]. CD4+ Zellen sollen andere Immunzellen unterstützen. Dies wird durch die Produktion von Zytokinen und die Hochregulation des CD40-Liganden auf den T-Zellen gewährleistet. Diese Bindung aktiviert Makrophagen, B-Lymphozyten und dendritische Zellen, was zu einer gesteigerten Phagozytose, Antikörperproduktion und Expression co-stimulierender Proteine auf APZ führt [1]. Reife CD4+ Zellen können in vier Subgruppen unterteilt werden: TH1-, TH2-, TH17- und regulatorische T-Zellen (Treg).

Die **aktivierten T-Zellen mit $\alpha\beta$ -T-Zell-Rezeptoren** verlassen den Thymus und zirkulieren im Blut und im lymphatischen Gewebe und können auf Antigene reagieren. Als Aktivitätsmarker für T-Zellen gilt CD69 [29]. Diese Aktivierung führt zur klonalen Expansion und Differenzierung zu **Effektorzellen**. Effektorzellen wandern entweder zu Infektionsstellen und vernichten dort infizierte Zellen, aktivieren Makrophagen, oder sammeln sich an B-Zell-Bereichen, wo sie zur Aktivierung der Antikörperantwort beitragen. Sie können innerhalb kürzester Zeit aktiviert werden und sezernieren dann IFN- γ , IL-4, IL-5 [30]. Zentrale T-Zellen hingegen sammeln

sich in sekundär lymphatischen Organen [3]. T-Zellen werden darüber hinaus in naive T-Zellen und T-Gedächtniszellen unterschieden. Als Marker dient hier CD45RO. Zur Unterscheidung in **Gedächtnis-zentrale** und **Gedächtnis Effektor-T-Zellen** dient 62L. Diese 62L-positiven-Gedächtnis-zentrale-T-Zellen ruhen in sekundären lymphatischen Organen. Sie haben zwar zunächst keine Effektorfunktion mehr, können aber nach erneutem Antigenkontakt schnell zu Effektorzellen differenzieren und weitere T-Zellen, B-Zellen und APZ aktivieren [30]. So wird die zweite Aufgabe der adaptiven Immunabwehr gewährleistet: die Etablierung eines immunologischen Gedächtnis [1]. Zentrale T-Gedächtniszellen sind, durch die Hochregulation von CD40L auf der Oberfläche, leichter aktivierbar als naive T-Zellen. Nach der Aktivierung des T-Zell Rezeptors produzieren sie zunächst IL2, differenzieren dann in Effektorzellen und produzieren anschließend auch IFN- γ oder IL4 [30]. An dieser Stelle sei erwähnt, dass es verschiedene Möglichkeiten gibt, Subpopulationen zu definieren. So verwenden andere Arbeitsgruppen statt CD45RO CD45RA und statt CD62L CCR7 [8]. Diese Markerkombinationen können aber weitestgehend beliebig ausgetauscht werden und beschreiben die gleiche Zellpopulation.

Effektorzellen befinden sich im Gewebe und Blut und lösen unmittelbar eine Immunreaktion aus [8,31]. CD4+ T-Helferzellen können in weitere Subpopulationen unterteilt werden. Mithilfe von CD31 erfolgt die Einteilung in CD31+ **Thymus-positive T-Zellen** und CD31- **Thymus negative T-Zellen**, je nachdem ob ein Kontakt zum Thymus stattgefunden hat. Der Großteil der naiven T-Zellen im NSB ist CD31+ [32]. Diese Zellen dienen als direktes Maß für die Thymusfunktionalität und -aktivität und können eine Auskunft über die Immunkompetenz des Kindes geben [32]. CD31- T-Zellen entstehen nach Selektion in sekundären lymphatischen Organen aus CD31+ Zellen. Sie entsprechen dem konstanten Pool naiver T-Helferzellen im peripheren Blut, unabhängig von der Funktion des Thymus. Sie ermöglichen durch antigenabhängige Proliferation mit Selektion und Restriktion des TZR-Repertoires eine effektive immunologische Reaktion gegenüber Pathogenen und werden mit der Entwicklung autoreaktiver T-Helferzellen in Verbindung gebracht [32].

T-Helferzellen lassen sich außerdem in **TH1-Zellen** und **TH2-Zellen** unterteilen. TH1-Zellen sind zytotoxisch und können Makrophagen rekrutieren. Sie sezernieren IL-2, IL-12, TNF- β und IFN- γ und exprimieren CXCR3 und CCR6 auf ihrer Oberfläche [33]. Ihre Aufgabe ist die Bekämpfung intrazellulärer Erreger [34]. Außerdem gibt es allergenspezifische TH1-Zellen die durch die Produktion von IFN- γ die Entzündungsreaktion verstärken.

TH2-Zellen aktivieren Mastzellen, eosinophile und basophile Granulozyten, indem sie die Zytokine IL-5, IL-13, GM-CSF und IL-9 freisetzen. Zudem produzieren sie IL-4, IL-6, IL-10, IL-25, IL-31 und IL-33 [35]. Diese Zytokine fördern die Vermehrung der Mastzellen, die Ansammlung eosinophiler Zellen, den Klassenwechsel zu IgE sowie die Überempfindlichkeit der Atemwege. TH2-Zellen tragen verstärkt die Oberflächenmarker CCR3, CCR4, CCR8 und CRTH-2 [36–38] und sind für die Abwehr extrazellulärer Erreger verantwortlich. Durch die Sekretion von IL-4 und TGF- β fördern sie die Bildung von TH9-Zellen und hemmen gleichzeitig die Differenzierung von Treg-Zellen [39].

TH1- und TH2-Zellen können weiter in Gedächtnispopulationen unterteilt werden [40].

Eine weitere Subpopulation bilden die **Treg-Zellen**. Charakterisiert werden sie durch den Marker CD25 und das Fehlen von CD127. Diese CD4⁺CD25⁺CD127⁻ Zellen können durch die Sekretion antiinflammatorische Zytokine, wie TNF- β oder IL-10 regulierend in die Immunantwort eingreifen [1]. Auch unter dieser Population können Gedächtniszellen nachgewiesen werden. Sie befinden sich im Thymus, Blut und sekundären Lymphorganen [41]. Bei Treg-Zellen wird zwischen natürlichen Treg-Zellen und induzierten Treg-Zellen unterschieden. Natürliche Treg-Zellen entstehen im Thymus und werden als reife Zellen ins Blut abgegeben. Induzierte Treg-Zellen bilden sich in Abwesenheit von Pathogenen durch einen Überschuss an TGF- β , was zur Bildung von FOXP3-exprimierenden Treg-Zellen führt. Im Gegensatz zu natürlichen Treg-Zellen tragen sie kein CD25 und exprimieren nicht immer FOXP3. Sie können sich nicht zu TH1- oder TH2-Zellen differenzieren und produzieren vor allem inhibitorische Zytokine wie TGF- β , IL-10 und IL-35, die ihre immunsuppressive Wirkung ausmachen [1].

Die Differenzierung in die einzelnen Subgruppen ist umgebungsabhängig und wird vor allem durch dendritische Zellen bestimmt, die je nach Erreger und Milieu verschiedenen Zytokine sezernieren, die wiederum die Ausdifferenzierung der CD4⁺ T-Zellen anregen. Zudem ist erwähnenswert, dass Interleukine, die die Reifung von TH1-, TH2- oder TH17-Zellen begünstigen, die Entstehung der anderen Subgruppen hemmen. So entsteht auch an dieser Stelle wieder ein komplexes Netzwerk aus miteinander interagierenden Faktoren. Ein gestörtes Gleichgewicht dieser Gruppen kann Ursache für die Entstehung diverser Krankheitsbilder sein: Erkrankungen des atopischen Formenkreis, wie Asthma, Heuschnupfen oder Neurodermitis oder Autoimmunerkrankungen [1].

2.2 Geschlechterspezifische Unterschiede im Nabelschnurblut

Eine wichtige und lange vernachlässigte Tatsache sind die immunologischen Unterschiede zwischen Frauen und Männern. Die Erforschung biologischer (Geschlecht) und soziokultureller (*Gender*) Unterschiede hat in den letzten Jahren an Bedeutung gewonnen. Im Bereich der medizinischen Forschung beziehen sich die meisten durchgeführten Untersuchungen und veröffentlichten Daten auf männliche Personen. Das biologische Geschlecht ist eine Eigenschaft, die sowohl die angeborene als auch die adaptive Immunantwort beeinflusst. Dabei spielen zwei Einflussfaktoren die größte Rolle: Hormone und das Erbgut auf den Geschlechtschromosomen X und Y [42]. Dies resultiert in geschlechtsabhängigen Unterschieden im Risiko für Autoimmunerkrankungen, maligne Erkrankungen und Infektionen. So entfallen 80% der Autoimmunerkrankungen auf Frauen, wohingegen das Malignomrisiko für Männer fast zweifach erhöht ist. Interessanterweise ist die Ansprechrate auf die Influenza-Impfung bei Frauen jährlich doppelt so hoch wie bei Männern [42]. Um die Ursachen für diese geschlechtsspezifischen Unterschiede im späteren Leben besser verstehen zu können, ist eine gründliche Untersuchung dieser Geschlechtsunterschiede und ihrer Auswirkungen auf die frühe Immunentwicklung von größter Bedeutung.

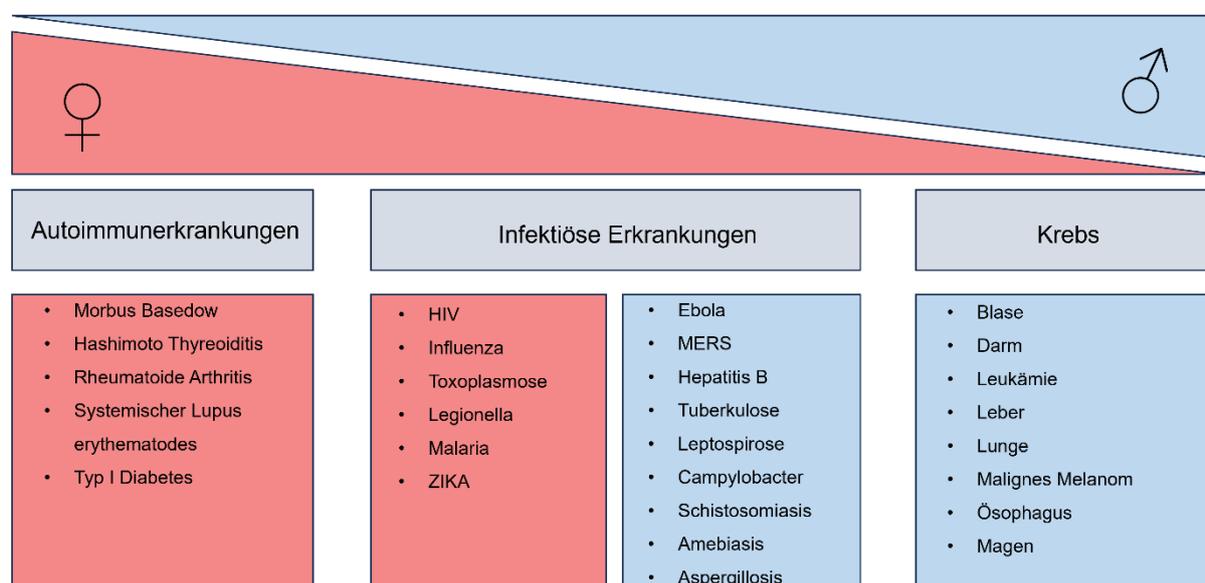


Abbildung 2: Geschlechterabhängige Unterschiede bei verschiedenen Erkrankungen. (modifiziert nach Klein und Flagellan, 2016) Für das weibliche Geschlecht besteht eine höhere Häufigkeit für Autoimmunerkrankungen, während das männliche Geschlecht ein höheres Risiko für viele maligne Erkrankungen zeigt. Trotz geringerer Signifikanz zeigen sich auch bei Infektionserkrankungen Unterschiede, wobei hier Einflussfaktoren, wie die Immunsuppression während einer Schwangerschaft eine Rolle spielen [42].

2.2.1 Genetik

Die biologischen Unterschiede zwischen den Geschlechtern sind auf das Erbgut auf dem X- und Y-Chromosom zurückzuführen. Das X-Chromosom ist von zentraler Bedeutung für die geschlechterspezifische Immunantwort. Auf dem X-Chromosom befinden sich Gene und mRNAs, die an Immunreaktionen beteiligt sind. Dazu zählen Gene für Toll-like-Rezeptoren, Zytokinrezeptoren und Transkriptionsfaktoren [42,43].

Darüber hinaus sind auch Gene, die bei der Entwicklung von Autoimmunerkrankungen eine Rolle spielen, auf dem X-Chromosom lokalisiert. So auch TLR-7, der in Zusammenhang mit der Entwicklung von Lupus erythematodes steht [43,44]. Die Tatsache, dass Männer hemizygot für Allele auf dem X-Chromosom sind, macht sie anfälliger für X-chromosomal vererbte Krankheiten. Frauen hingegen besitzen zwei X-Chromosome, von denen immer eines pro Zelle inaktiviert ist. Dies geschieht zufällig. Dadurch ergibt sich ein Mosaik in den weiblichen Zellen, welches zwei verschiedene Immunantworten je nach aktiviertem X-Chromosom ermöglicht. Dies führt zu einem immunologischen Vorteil des weiblichen gegenüber dem männlichen Geschlechts [45].

Obwohl die X-Inaktivierung dazu dient, eine Ausgeglichenheit des mütterlichen und väterlichen Erbguts zu gewährleisten, existieren Gene in den nicht-rekombinanten Regionen, die der Inaktivierung „entkommen“ können. Dies mündet in einer Überpräsentation der entsprechenden Gene bei weiblichen Zellen. Des Weiteren kommt es häufig zu einer verzerrten Inaktivierung, was darin resultiert, dass es zu einer Überexpression der Gene des väterlichen oder mütterlichen X-Chromosoms kommen kann. Auch diese Mechanismen könnten an der Entstehung von Autoimmunerkrankungen beteiligt sein [45].

2.2.2 Hormonlevel

Neben genetischen Ursachen, nehmen auch geschlechterspezifische Hormone eine zentrale Stellung ein. Östrogen hat einen großen Einfluss auf das Immunsystem. So spielt es eine Rolle bei der Zelldifferenzierung und Funktion von verschiedenen Immunzellen, ist aber auch an der Entstehung von Autoimmunerkrankungen und inflammatorischen Erkrankungen beteiligt. So kommt es durch Östrogen zu einer vermehrten Synthese von IFN- γ sowie dessen Transkriptionsfaktor T-bet [46,47]. Östrogen kann auch vor der Entstehung von Autoimmunerkrankungen schützen. Dies steht im Zusammenhang mit der Fähigkeit von Östrogen die Expression von FOXP3 und CD4⁺ CD25⁺ T- Zellen zu erhöhen. Dabei ist es interessant, dass die Gabe von

Östrogen die FOXP3- Expression in gleicher Weise beeinflusst, wie eine Schwangerschaft. Dies lässt vermuten, dass hohe Östrogenspiegel in der Schwangerschaft dabei helfen, die Toleranz der Mutter gegenüber dem Fetus aufrechtzuerhalten [48]. Außerdem stimuliert Östrogen die Proliferation von B-Zellen [49].

Progesteron wird in der Schwangerschaft in den ersten zwölf Wochen vom Gelbkörper im Ovar produziert, bis die Plazenta die Produktion übernimmt. Progesteron ist entscheidend für die Aufrechterhaltung einer Schwangerschaft [50]. Der Progesteronrezeptor wird auf vielen Immunzellen exprimiert. Dazu zählen Makrophagen, NK-Zellen, Dendritische Zellen und T-Zellen [51]. Darüber hinaus hat es antiinflammatorische Effekte und führte in Tierexperimenten in einer Dosis, die mit dem Hormonspiegel während einer Schwangerschaft vergleichbar ist, zu einer verringerten Produktion von IL-1 β und TNF- α [52]. Es konnte außerdem gezeigt werden, dass die Stimulation von Zellen mit Progesteron zu einer vermehrten Produktion von Zytokinen des TH2-Typs führt, was auf Plazentaebene eine wichtige Rolle bei der Aufrechterhaltung der Toleranz gegenüber dem Fetus spielt und so entscheidend für die Aufrechterhaltung einer Schwangerschaft ist [53]. Außerdem beeinflusst Progesteron die Reifung und Funktion von dendritischen Zellen [54].

Androgene hemmen die Immunantwort [55]. Testosteron wirkt direkt über den Androgenrezeptor an CD4⁺ T-Lymphozyten und erhöht die Expression von IL-10-Genen, was zu einer höheren anti-inflammatorischen Antwort führt [56]. Gleichzeitig unterdrücken Androgene auch die pro-inflammatorischen Reaktionen, indem sie extrazellulär signalregulierte Kinasen, sowie die Bildung von Leukotrienen in neutrophilen Granulozyten hemmen [57]. Andererseits wird vermutet, dass ein Androgenentzug zu einer höheren Zellzahl und besseren Immunantwort beim männlichen Geschlecht führt [58]. Die Produktion von Androgenen bei männlichen Föten beginnt innerhalb des ersten Trimenons in der zehnten Schwangerschaftswoche und markiert einen frühen Beginn der Geschlechtsdifferenzierung, die auch das sich entwickelnde Immunsystem beeinflusst [7]. Bei männlichen Neugeborenen steigt der Testosteron-Serumspiegel in den ersten drei Monaten nach der Geburt konstant an, um dann im Alter von 7-12 Monaten wieder abzusinken und bis zum Beginn der Pubertät auf einem niedrigen Niveau zu bleiben. Bei weiblichen Neugeborenen nimmt der Testosteron-Serumspiegel nach der Geburt ab. Diese geschlechtsspezifischen Unterschiede werden eindeutig innerhalb des ersten Lebensjahres beobachtet, da die Serumtestosteronwerte bei männlichen und weiblichen Kindern in der Vorpubertät gleich hoch sind, gefolgt von einer deutlichen Veränderung mit Beginn der Pubertät [45].

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass Sexualhormone eine regulatorische Aufgabe im Immunsystem übernehmen und somit für geschlechterspezifische Unterschiede relevant sein können.

2.2.3 Umwelteinflüsse

Auch die Ernährung während der Schwangerschaft bewirkt geschlechterspezifische Veränderungen. Diese Veränderungen beginnen bereits in der Gebärmutter und dauern bis zum Alter von neun Monaten an. Dies deutet auf eine langfristige epigenetische Ummodellierung hin [59]. Tobi et al. konnten zeigen, dass pränatale Hungersnot zu DNA-Methylierungen in verschiedenen Genloci führen kann. Diese Methylierungsprozesse sind sowohl abhängig vom Geschlecht, als auch vom Expositionszeitpunkt in der Schwangerschaft. Männliche Feten investieren mehr in das fetale Wachstum, während weibliche Feten mehr in die Plazenta investieren [60]. Dies legt die Vermutung nahe, dass männliche Feten anfälliger für Malnutrition sind. Christians et al. zeigten allerdings anhand einer Metaanalyse, dass es wenig Anhalt für diese These gibt [61]. Sinha et al. konnten allerdings zeigen, dass weibliche Säuglinge postnatal mehr von der immunmodulatorischen Wirkung von Muttermilch profitieren, als männliche [62].

2.2.4 Geschlechterspezifische immunologische Unterschiede im Laufe des Lebens

Immunologische, geschlechtsspezifische Unterschiede sind altersabhängig. Bereits intrauterin kann es durch ungünstige Bedingungen zu epigenetischen Veränderungen kommen, die das ganze Leben bestehen bleiben. Allerdings können sich weibliche Feten besser an intrauterinen Stress anpassen [63]. Androgene werden beim männlichen Feten schon ab der 10. Gestationswoche produziert, was zu einer frühen Androgen abhängigen geschlechterspezifischen immunologischen Entwicklung führt [64]. Darüber hinaus produzieren männliche Neonaten mehr Nabelschnurblut-IgE als weibliche, was zu einer höheren Anfälligkeit für die Entwicklung von atopischen Erkrankungen führt [65].

Um die Immunität von Neugeborenen zu erforschen eignet sich Nabelschnurblut besonders gut. Allerdings gibt es erst wenige Daten über geschlechterspezifische Unterschiede im Nabelschnurblut. Die Reaktivität von Monozyten gegenüber Agonisten am Toll-Like-Rezeptor unterscheidet sich nicht zwischen den Geschlechtern bei Reifgeborenen und bei Frühgeborenen unter der 33. Gestationswoche [66]. Man konnte aber Monozyten, Basophile Granulozyten und NK-Zellen im Nabelschnurblut von männlichen Feten in einer größeren Zahl nachweisen

[67,68]. Es ist außerdem bereits bekannt, dass männliche Neugeborene eine bessere proinflammatorische Antwort aufweisen, was auf eine bessere unreife Immunantwort bei männlichen Feten hinweist [69].

Während die B-Zellzahlen zwischen männlichen und weiblichen Feten vergleichbar sind, enthält weibliches Nabelschnurblut höhere CD4⁺- Zellzahlen, eine höhere CD4/CD8- Ratio und niedrigere CD8⁺- T-Zell- und NK-Zellzahlen. Dieser Unterschied bleibt bis zur Pubertät bestehen [67,70]. Die unterschiedliche Entwicklung der Zellzahlen könnte auf den Einfluss von Steroidhormonen auf den Thymus zurückzuführen sein [71].

Das Mikrobiom wird unter anderem auch von Steroidhormonen beeinflusst und weist deshalb postpubertäre Unterschiede auf. In Mausstudien konnte allerdings gezeigt werden, dass es keine Unterschiede in der Mikrobiomzusammensetzung bei präpubertären Mäusen gab, was darauf hindeutet, dass es in diesem Alter noch keine geschlechterspezifischen Unterschiede gibt [72].

Die Auswirkungen der Steroidhormone nehmen in der Pubertät an Bedeutung zu. Die inflammatorische Antwort ist nach der Pubertät bei Frauen stärker [73]. In Mausmodellen konnte gezeigt werden, dass die Expression von Genen, die mit der adaptiven Immunantwort zusammenhängen bei Frauen höher ist, während Männer eine höhere Genexpression für die unreife Immunantwort zeigen [74].

Im Alter nimmt die Zahl der Steroidhormone ab und es kommt erneut zu Veränderungen im Immunsystem. Während Frauen einen schnellen Abfall der Steroidhormone in der Menopause erleiden, kommt es bei Männern zu einem langsameren Hormonabfall [75].

Es gibt viele Unterschiede auch im adaptiven Immunsystem. Während Frauen eine höhere Anzahl an CD4⁺- T-Zellen und CD4/CD8- Ratio verglichen mit gleichaltrigen Männern zeigen, hatten Männer höhere CD8⁺- Zellen [67,70,76,77].

Erwähnenswert ist vor allem, dass unabhängig vom Alter das weibliche Immunsystem eine größere Anzahl an Antikörper, höhere Immunglobulinspiegel und höhere B-Zellzahlen zeigten. Darüber hinaus scheint die Mehrheit der Gene, in denen sich die Geschlechter unterscheiden, in weiblichen B-Zellen hochreguliert zu sein [58,76,78,79].

Diese geschlechterspezifischen Veränderungen verdeutlichen, dass das Immunsystem kein starres Konzept ist, sondern in Abhängigkeit von Alter, Genetik, Hormonen und äußeren Einflüssen einem Wandel unterliegt. Um diesen Wandel besser zu verstehen, ist es wichtig sich mit der Beschaffenheit des Immunsystems zum Zeitpunkt der Geburt zu beschäftigen.

2.3 Atopischer Formenkreis

Unter Atopie versteht man die Tendenz des menschlichen Körpers zur Entwicklung von allergischen Erkrankungen wie atopische Dermatitis, Allergische Rhinitis oder Asthma bronchiale. Sie ist verbunden mit einer erhöhten Immunantwort auf alltägliche Allergene, insbesondere inhalative Allergene und Lebensmittel [80]. Unter dem atopischen Marsch versteht man die Entstehung der atopischen Dermatitis im Säuglingsalter mit anschließendem Auftreten von allergischer Rhinitis und/ oder Asthma in der späteren Kindheit. Diese frühe Manifestation einer gestörten Hautbarriere führt zu einer Sensibilisierung auf Antigene und der Etablierung einer systemischen TH2-Immunreaktion. Diese prädisponiert Patienten zu weiteren allergischen Reaktionen über die Nasenschleimhaut (allergische Rhinitis) oder die Atemwege (Asthma bronchiale) [81].

2.3.1 Epidemiologie

Atopische Erkrankungen stellen eine enorme Belastung sowohl für die Individuen, als auch gesellschaftlich dar. Sie sind die häufigsten Erkrankungen im Kindesalter und die Prävalenz nimmt weiterhin zu [82]. Obwohl die genetische Veranlagung ein grundlegender Faktor bei der Entstehung von Atopie ist, kann die enorme Zunahme dieser Erkrankungen in einem evolutionär betrachtet kurzen Zeitraum von nur einigen Jahrzehnten nicht durch Veränderungen im Erbgut erklärt werden. Dies lässt äußere Einflüsse vermuten [83]. Während es scheint, dass atopische Erkrankungen in westlichen Ländern ein Plateau erreicht haben, nehmen sie in Entwicklungsländern wie z.B. Südafrika weiterhin zu [84]. Diese Entwicklungen passen zu der Annahme, dass eine Verminderung der Exposition gegenüber Infektionserregern und eine Verbesserung der Hygienestandards, zu einer Zunahme von atopischen Erkrankungen führen [85].

2.3.2 Multifaktorielle Genese der Atopie

Bei der zugrundeliegenden Pathophysiologie liegt ein Missverhältnis und gestörte Interaktion verschiedener Zellen des Immunsystem vor [86]. Verschiedene Risikofaktoren sind bekannt, die diese Fehlinteraktion begünstigen.

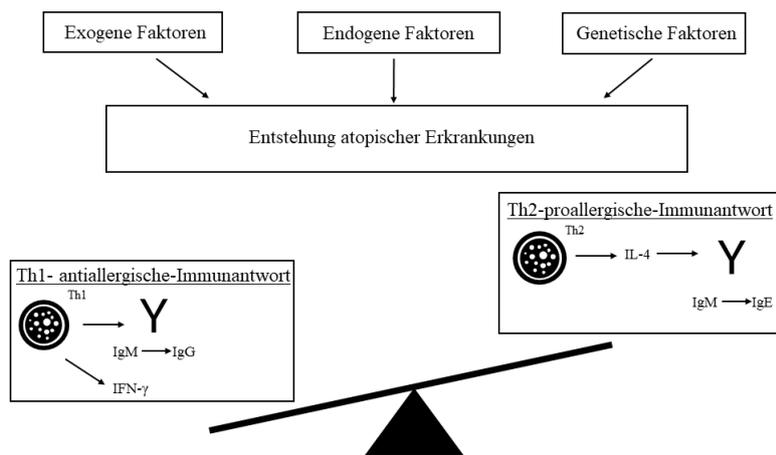


Abbildung 3: Schematische Darstellung Atopie Entstehung.

Es gibt exogene, endogene und genetische Faktoren, die die Entstehung von atopischen Erkrankungen begünstigen. Diese Faktoren führen zu einem gestörten Gleichgewicht zwischen TH-1 und TH-2 Immunantwort. Ein Ungleichgewicht zugunsten der proallergischen TH2-Immunantwort führt zur vermehrten Entstehung von Allergien und atopischen Erkrankungen.

2.3.2.1 Endogene Faktoren

T-Zellen spielen in der humoralen Immunantwort eine entscheidende Rolle. Sie vermitteln darüber hinaus auch Überempfindlichkeitsreaktionen vom Spättyp und zellvermittelte Zytotoxizität. Die Population der T-Zellen kann, wie bereits oben erwähnt, in zwei große Subpopulationen unterteilt werden: CD4+ T- und CD8+ T-Zellen. Zu den CD4+ T-Zellen zählen T-Helferzellen (TH) vom Typ 1 (TH1), TH2, Th9, TH17, TH22, folliculäre T-Helferzellen (TfH), sowie regulatorische T-Zellen (Treg). Sie alle spielen eine Rolle bei allergischen Erkrankungen [87,88].

Die physiologische Immunantwort wird stark durch ein Gleichgewicht zwischen der TH1- und TH2-Immunantwort bestimmt. Ein Ungleichgewicht zugunsten der proallergischen TH2-Immunantwort würde, dementsprechend zur vermehrten Entstehung von Allergien und atopischen Erkrankungen führen. Diese Annahme wird auch durch erhöhte TH2- und erniedrigte TH1-Zellzahlen bei Atopikern gestützt. Die Entstehung atopischer Erkrankungen nur auf dieses Ungleichgewicht zurückzuführen, ist zu vereinfacht, da antigenpräsentierende Zellen wie Dendritische Zellen und B-Zellen an der Immunantwort beteiligt sind [89].

Nach einer Allergenexposition differenzieren naive T-Helferzellen in TH2-Zellen und induzieren über IL-4, IL-5 und IL-13 eine allergische Reaktion [90]. Die frühe Immunreaktion ist besonders durch IL-4 gekennzeichnet. Das Zusammenspiel zwischen TH1- und TH2-Zellen wird

teilweise durch IgE vermittelt: Durch IL-4 und IL-13 wird der Immunglobulin-Klassenwechsel hin zu IgE gefördert [91].

Im Rahmen der zellulären Infiltration bei allergischen Lungenentzündungen werden besonders CCR4+ und CCR8+ TH2-Zellen rekrutiert [92]. Seumosis et al. konnten zeigen, dass eine Korrelation zwischen erhöhter Expression dieser CCR4+ Zellen, möglicherweise infolge der TH2-Expansion, und der Schwere einer Erkrankung besteht. Dies kann sowohl chronische Erkrankungen als auch Allergien begünstigen und zu Exazerbationen beitragen [93]. Insbesondere an allergengeforderten Stellen war die Zellzahl der CCR4+ TH2-Zellen stark erhöht [92]. Interessanterweise zeigte sich auch, dass IFN- γ - ein TH1-Zytokin- an der Entstehung von Asthma beteiligt ist. Es konkurriert mit TH2-Zytokinen und erhält so eine chronische Inflammation aufrecht. Die erhöhte TH2-Immunantwort wird auch durch eine Unterdrückung der TH1- und Treg-Zellen begünstigt [94].

Regulatorische T-Zellen sind bedeutend für das Gleichgewicht in der Immunantwort und die Selbsttoleranz, da sie überschießende Immunreaktionen unterdrücken [86]. Bei der Entwicklung der regulatorischen T-Zellen spielen vor allem zwei Mechanismen eine wichtige Rolle: Die Expression des Transkriptionsfaktors *Forkhead-Box-Protein* (FOXP3), sowie Hypomethylierungen bestimmter Genabschnitte, infolge epigenetischer Modifikationen [95]. Durch DNA-Demethylierungen wird die Zugänglichkeit zu den entsprechenden Transkriptionsfaktoren verbessert. Die Modifikationen der Genexpression hängen stark von der Stimulation des TZR ab. Allerdings ist die FOXP3-Expression abhängig von der Intensität der Stimulation des TZR, während die DNA-Hypomethylierung von der Dauer der Stimulation des Rezeptors abhängt. Ohkur et al. konnten zeigen, dass Thymozyten erst durch DNA-Demethylierung infolge der Stimulation des TZR in der Lage sind, FOXP3 zu exprimieren. Folgt dann eine angemessene intensive Stimulation des TZR, entwickeln sich die Thymozyten zu reifen FOXP3+ Treg-Zellen. Die Differenzierung der Treg-Zellen ist dementsprechend ein mehrstufiger Prozess mit FOXP3-Induktion und der Etablierung eines Treg-Zellspezifischen epigenetischen Muster [95–97]. Bei Mutationen des Transkriptionsfaktors FOXP3 zeigen sich Dysfunktionen in der Immunregulation und es treten Autoimmunerkrankungen auf [95]. Frühere Studien haben gezeigt, dass die Anzahl der regulatorischen T-Zellen während akuten Asthma Schüben erhöht war [98,99]. Kinder mit niedrigeren Treg-Zellzahlen im Nabelschnurblut hatten ein höheres Risiko eine atopische Dermatitis zu entwickeln [100].

2.3.2.2 Exogene Faktoren

Exogene Faktoren, denen bereits pränatal „Allergie-protective“ oder „Allergie-begünstigende“ Eigenschaften zugeschrieben werden sind seit vielen Jahren Bestandteil der Forschung. Dabei richtet sich der Fokus auf die Rolle viraler oder bakterieller Infektionen, den Einfluss mikrobieller Stimuli, eine positive Familienanamnese sowie die Kombination aus Infektionen als endogene Stimuli und Umweltfaktoren als exogene Stimuli des Immunsystems [101].

Ein Risikofaktor für die Entstehung von Asthma ist eine positive Familienanamnese [102]. Dabei erhöht sich das Risiko vor allem, wenn beide Elternteile betroffen sind [103]. Es gibt auch Hinweise darauf, dass der Einfluss von vorerkrankten Eltern auf das Kind geschlechterabhängig ist. So erhöht eine vorbestehende Allergie bei der Mutter das Risiko für eine Tochter, eine Allergie zu entwickeln, während vorerkrankte Väter das Risiko für ihre Söhne erhöhen [104]. Deshalb liegt die Untersuchung, ob bereits im Nabelschnurblut von Kindern mit vorerkrankten Eltern Veränderungen in den Lymphozytenpopulationen zu finden sind, nahe. Schaub et al. zeigten, dass das Allergierisiko von Kindern mit atopischen Schwangeren mit einer erniedrigten Treg-Zellzahl im Nabelschnurblut sowie einer Verminderung der Treg assoziierten Marker GITR („*glucocorticoid-induced TNFR-related protein*“) und LAG3 („*lymphocyte activation gene 3*“) einhergeht [89]. Kohorten mit einer hohen Anzahl an asthmatischen Eltern sind zur Untersuchung der Beeinflussung einer positiven Familienanamnese auf die Lymphozytenpopulationen im Nabelschnurblut nötig.

Zu nennen sind außerdem Umwelteinflüsse, die bereits in der Schwangerschaft bestehen. Bereits 1989 wurde die sogenannte „Hygienehypothese“ postuliert. Diese besagt, dass sich in den Industrienationen durch höhere Hygienestandards, Verringerung der Anzahl an Geschwistern und durch eine geringe Interaktion mit Infektionserregern im frühen Kindesalter eine Zunahme der Prävalenz allergischer Erkrankungen etabliert. Die drei großen Eckpfeiler der Hygienehypothese sind virale und bakterielle Infektionen, Exposition gegenüber mikrobiellen Einflüssen aus der Umwelt sowie die Interaktion dieser mit dem angeborenen und spezifischen Immunsystem. Dementsprechend handelt es sich um ein multifaktorielles Geschehen. Der menschliche Organismus befindet sich während Kindheit und Jugend in einer ständigen Reifungsphase, in der es definierte Zeitfenster gibt, in denen die Exposition gegenüber extrinsischen Einflüssen größere Auswirkungen zeigt als in anderen. Die Forschung im Bereich des atopischen Formenkreises hat gezeigt, dass kein einzelnes Gen für die Entstehung von atopischen Krankheiten

zuständig ist, sondern vielmehr die Interaktion von Umwelteinflüssen zu verschiedenen Zeitpunkten in der Entwicklung mit vielen verschiedenen Genen [85].

Es gibt immer mehr Hinweise darauf, dass mütterliche Antigen-Exposition in der Landwirtschaft während der Schwangerschaft zu epigenetischen Modifikationen führt, die einen protektiven Effekt auf die Entstehung von Allergien haben [105]. Pränatale Antigen-Exposition auf Bauernhöfen sorgt für eine niedrigere Prävalenz von Asthma, Heuschnupfen und Ekzemen bei Kindern. Eine kontinuierliche postnatale Exposition ist allerdings notwendig, um den optimalen Schutz aufrecht zu erhalten [95,101].

Die pränatale Exposition der Mutter gegenüber mikrobiellen Stimuli hat Einfluss auf die Immunentwicklung, besonders auf die Entwicklung des "antiallergischen" Anti-TH2 Phänotyps. Eine verminderte mikrobielle Exposition während der Schwangerschaft, kann die Entstehung von Asthma bronchiale begünstigen [106]. Eine solche verminderte Exposition fand während des Lockdowns im Rahmen der Coronapandemie statt. Durch das Tragen von Masken, den Abstandsregelungen und durch die Kontaktbeschränkung lebten Schwangere isoliert. So war auch der Antigenaustausch mit der Umwelt weitestgehend unterbunden. Während der Pandemie kam es zu einem Rückgang von Infektionserkrankungen (außer Covid-19) um 35% im Vergleich zu den Fallzahlen in den Vorjahren [107]. Dies steht im Zusammenhang mit den Kontaktbeschränkungen und den Hygienebestimmungen.

Das Mikrobiom, das bedeutet die Gesamtheit aller den Menschen besiedelnden Mikroorganismen auf Haut, Schleimhäuten, Magen-Darm- und Urogenitaltrakt, ist in die Entstehung von Allergien involviert. Eine Besiedlung des Hypopharynx von Neugeborenen mit *Streptokokkus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* und *Moraxella catarrhalis* führt zu einem erhöhten Risiko für die Entwicklung von Asthma [88,108]. Außerdem wird eine verminderte Diversität der Darmflora mit einer späteren Asthma-Entwicklung in Verbindung gebracht [109].

2.3.2.3 Genetische und epigenetische Einflüsse

In den vergangenen Jahren konnten genomische Regionen identifiziert werden, die in Assoziation mit einer Atopie Entwicklung stehen. Vor allem das Chromosom 17 mit den Genen ORMDL-Sphingolipid-Biosyntheseregulator 3 (ORMDL3) und Gasdermin B (GSDMB) stehen in Verbindung mit der Entstehung von kindlichem Asthma [110].

Auch Polymorphismen in TH1- und TH2-Genen oder Toll-like-Rezeptor-Polymorphismen stellen ein erhöhtes Risiko für die Entstehung von Asthma bronchiale und Atopie dar [111–

114]. Genomweite Untersuchungen identifizierten drei Loci auf Chromosom 5 und 6, die signifikant mit dem Auftreten allergischer Rhinitis assoziiert waren [115,116].

Des Weiteren konnte in Mausmodellen ein protektiver Effekt von pränataler mikrobieller Exposition in der Asthma- und Allergieentstehung nachgewiesen werden. Dieser wird durch epigenetische Modulation an die Nachkommen weitergegeben [117]. Dieser Effekt zeigt sich in einer erhöhten Treg- Menge und deren Funktion im Nabelschnurblut, der wahrscheinlich durch eine Hypomethylierung von FOXP3 vermittelt wird [118].

2.3.3 Atopische Erkrankungen

2.3.3.1 Atopische Dermatitis

Atopische Dermatitis ist eine chronische Entzündung der Haut, die meist bereits im Säuglings- oder Kleinkindesalter auftritt und durch starken Juckreiz und ekzematöse Hautveränderungen gekennzeichnet ist [86]. Die Prävalenz der atopischen Dermatitis liegt in manchen Ländern bei bis zu 20% im Kindesalter und beeinflusst deren Lebensqualität stark. Ca. 75% der Kinder mit atopischer Dermatitis leiden auch unter einer allergischen Rhinokonjunktivitis, mehr als 50% weisen zudem ein allergisches Asthma bronchiale auf [119]. Es gibt genetische Faktoren, die die Entstehung der atopischen Dermatitis begünstigen. Besonders die Rolle des Filaggrin-Gens, welches wichtig für die Aufrechterhaltung der Hautbarriere ist, hat dabei an Aufmerksamkeit gewonnen. Genau wie bei anderen atopischen Erkrankungen spielen aber auch Umweltfaktoren eine wichtige Rolle [120]. In der akuten Krankheitsphase überwiegt die TH2-Immunreaktion, während in der chronischen Phase die TH1-Immunreaktion dominiert. Diese wird wahrscheinlich durch Zytokine aus dendritischen Zellen und Keratinozyten induziert [121,122].

2.3.3.2 Asthma bronchiale

Asthma bronchiale ist eine chronisch entzündliche Erkrankung der Atemwege, die meist im frühen Kindes- oder Schulkindalter diagnostiziert wird. Häufig gehen dem Asthma bronchiale reversible obstruktive Bronchitiden im Kleinkindalter voraus [86].

Die Entstehung von Asthma ist auf eine multifaktorielle Genese zurückzuführen. Dabei spielen neben einer genetischen Prädisposition und exogenen Faktoren, die durch psychosoziale Faktoren verstärkt werden, auch immunologische Vorgänge auf molekularer und zellbiologischer Ebene eine Rolle [123,124].

Die Reaktion des Immunsystems auf potentiell schädliche Einflüsse ist von der frühen Immunregulation, den prä- und postnatalen Risiko- und Schutzfaktoren sowie dem Mikrobiom, abhängig. Risikofaktoren für die Asthmaentstehung sind eine positive Familienanamnese, ein atopisches Ekzem in den ersten Lebensjahren und das Auftreten von Nahrungsmittelallergien im frühen Leben [86].

Das Auftreten von Symptomen unterliegt erheblichen geografischen Unterscheiden [125,126]. In Deutschland beträgt die Prävalenz bei Kindern und Jugendlichen 4,1% [127]. Die klinische Ausprägung der Symptomatik wird unter medikamentöser Therapie in drei Schweregrade eingeteilt: kontrolliertes Asthma bronchiale, teilweise kontrolliertes Asthma bronchiale und nicht kontrolliertes Asthma bronchiale. Die Schweregrade unterscheiden sich in der Häufigkeit des Auftretens von Hustenanfällen, nächtlichen Symptomen, der Lungenfunktion und des Einsatzes der Bedarfsmedikation [125].

Treg-Zellen spielen eine wichtige Rolle in der Asthma-Pathogenese. Lee et al. wiesen eine geringere Anzahl an Treg-Zellen bei Patienten mit leichtem allergischem Asthma nach. Bei Patienten mit schwerem allergischem Asthma bronchiale zeigte sich hingegen eine erhöhte Anzahl. Dabei korrelierte die Treg-Zellzahl positiv mit dem IgE-Spiegel [128]. Auch Mészáros et al. [129] wiesen weniger Treg bei Kindern mit allergischem Asthma bronchiale nach.

2.3.3.3 Allergische Rhinitis

Die allergische Rhinitis ist eine allergische Entzündung der Nasenschleimhäute bei bereits sensibilisierten Personen und tritt meist bei Schulkindern und Jugendlichen auf [86]. Sie stellt ein globales Gesundheitsproblem dar, welches 10-25% der Bevölkerung betrifft. Im Kindesalter stellt sie die häufigste allergische Erkrankung und eine der häufigsten chronischen Erkrankungen dar [130]. Genau wie andere atopische Erkrankungen spielen auch bei der allergischen Rhinitis sowohl genetische als auch Umweltfaktoren eine entscheidende Rolle. Zu den Umweltfaktoren zählen hier Luftverschmutzung und bakterielle oder virale Infektionen. Auch die Hygienehypothese und eine unausgeglichene TH1-/TH2 Immunantwort werden in der Entstehung von allergischer Rhinitis diskutiert [131]. Lee et al. wiesen bei geringer Ausprägung von allergischer Rhinitis eine ebenfalls verminderte Anzahl an Treg-Zellen nach, während sie bei ausgeprägtem Krankheitsbild erhöht war [128]. Mészáros et al. wiesen nach, dass Kinder mit allergischer Rhinitis weniger CD4+CD25+ T-Zellen haben, diese Zellen aber eine stärkere Expression von FOXP3 aufwiesen [129]. Im Folgenden werden die Begriffe Heuschnupfen und allergische Rhinitis synonym verwendet.

2.4 Covid-19 Pandemie

Die Verbreitung des neuartigen *severe acute respiratory syndrome coronavirus type 2 virus* (Sars-Cov-2 Virus) wurde am 11. März 2021 von der *World Health Organisation* (WHO) als Pandemie eingestuft [132]. Dies führte weltweit zur Einführung von Infektionsschutzmaßnahmen zur Eindämmung des neuartigen Virus.

Auch in Deutschland wurden Maßnahmen zum Infektionsschutz verabschiedet. Ab März 2022 herrschte ein sogenannter „*Lockdown*“ mit Kontaktbeschränkungen und erhöhten Hygienemaßnahmen in Deutschland. Dazu zählten unter anderem das Einhalten des Mindestabstand von 1,5 m im öffentlichen Raum, das Tragen eines Mund-Nasen-Schutzes sowie Kontaktbeschränkungen, die es nur noch erlaubten, sich mit einer weiteren Person außerhalb des eigenen Hausstandes zu treffen. Gastronomie und zahlreiche weitere Dienstleistungsbereiche wurden geschlossen und Großveranstaltungen untersagt [133]. Die Maßnahmen hielten je nach Fallzahlen und Jahreszeit in unterschiedlicher Ausprägung bis zur flächenhaften Einführung der Impfstoffe gegen Sars-Cov-2 an [134].

Die Pandemie und die durch sie eingeführten Maßnahmen hatten und haben erhebliche gesundheitliche, wirtschaftliche und soziale Folgen. Wenn im Zusammenhang mit dieser Arbeit von „*Lockdown*“ gesprochen wird, sind damit die Zeiträume mit verschärften Kontaktbeschränkungen, die vom März 2020 bis Mai 2020 sowie von Dezember 2020 bis Mai 2021 bestanden, gemeint.

2.4.1 Atopie und Pandemie

Wie bereits erwähnt wird in der Hygienehypothese postuliert, dass erhöhte Hygienestandards einen Faktor darstellen, der die Entstehung von atopischen Erkrankungen begünstigt [101]. Es gibt bisher keine Daten dazu, ob die während des Lockdowns ergriffenen Hygienemaßnahmen die Entwicklung von atopischen Erkrankungen begünstigen. Diese Promotionsarbeit soll einen Grundstein für zukünftige Forschung legen, um die Auswirkungen der Covid-19 Pandemie auf die Entstehung von atopischen Erkrankungen wie Asthma bronchiale, allergische Rhinitis oder atopischer Dermatitis zu erforschen.

2.5 Fragestellung

Es ist bereits bekannt, dass sich das Immunsystem im Laufe des Lebens verändert und das Auftreten von bestimmten Erkrankungen durch verschiedene Faktoren begünstigt wird. Um diese Zusammenhänge weiter zu untersuchen, vergleicht diese Arbeit erstmals Nabelschnurblut mit peripherem Blut von Schwangeren kurz vor Entbindung und zielt darauf ab einen umfangreichen Überblick über den Immunstatus zu diesen Lebenszeitpunkten zu geben. Zudem sollen die geschlechterspezifischen Unterschiede im Nabelschnurblut herausgearbeitet werden. Dies kann dabei helfen neue und individuelle und geschlechterspezifische Therapiemöglichkeiten zu entwickeln. Darüber hinaus befasst sich die Arbeit damit, welchen Einfluss atopische Vorerkrankungen der Mutter auf den Immunstatus des Kindes bei Geburt haben. Diese Arbeit untersucht anhand von Durchflusszytometrie Lymphozytensubpopulationen im Nabelschnurblut und im peripheren Blut von Schwangeren mit folgenden Fragestellungen:

Wie unterscheiden sich Lymphozytensubpopulationen im peripherem Blut von Schwangeren und Nabelschnurblut?

Gibt es Unterschiede in der Zusammensetzung der Lymphozytensubpopulationen im Nabelschnurblut von weiblichen und männlichen Neugeborenen?

Gibt es Unterschiede in der Zusammensetzung der Lymphozytensubpopulationen im peripheren Blut von Schwangeren mit atopischen Vorerkrankungen im Vergleich zu nicht-vorerkrankten Schwangeren?

Unterscheidet sich das Nabelschnurblut von Neugeborenen mit atopisch vorerkrankten Müttern von dem Nabelschnurblut von Neugeborenen von nicht-vorerkrankten Müttern?

3 Material und Methoden

3.1 Material

Tabelle 1: Material zur Aufbereitung der Blutproben.

Probe	Menge	Bestimmung
EDTA	1-3 x 4,8 ml	Isolierung von <i>PBMC</i>
<i>PBMC</i> in PBS	3x 1 ml	<i>FACS</i>

Tabelle 2: Materialien zur Zellisolierung

Material	Handelsname	Firma
Zentrifugenröhrchen	Schraubröhre, 15ml	Sarstedt AG & Co. KG, Nürnbrecht, Deutschland
Kryoröhrchen	<i>Cryotube</i> 1,6 ml	Sarstedt AG & Co. KG, Nürnbrecht, Deutschland
Kryoröhrchen	<i>Cryotube</i> 2,0 ml	Cryomaster,
Mikrozentrifugenröhrchen	Eppis 2 ml, round bottom	Sarstedt AG & Co. KG, Nürnbrecht, Deutschland
Einfrierbox für Zellen	<i>CellCamper</i>	CellCamper, Heidelberg, Deutschland
Pipetten 200 µl	<i>Pipetman L P200L</i> , 20-200 µl, <i>Metal Ejector</i>	Gilson Incorporated, Mi- ddleton, USA
Pipetten 1 ml	<i>Pipetman L P1000L</i> , 100-1000 µl, <i>Metal Ejector</i>	Gilson Incorporated, Mi- ddleton, USA
Pipettenspitzen	SafeSeal SurPhob Spitzen 1250 µl	Biozym Scientific GmbH, Heesch Oldendorf, Deutschland

Material und Methoden

Pipettenspitzen	<i>Biosphere Filter Tips</i> 2-200 µl	Sarstedt AG & Co.KG, Nümbrecht, Deutschland
Pipettenspitzen	<i>Tip One</i> 1-200 µl <i>Filter Tips</i>	Star Lab International GmbH, Hamburg, Deutschland
EDTA Röhrchen	S-Monovette, 4,8 ml	Sarstedt AG & Co.KG, Nümbrecht, Deutschland
Trennmedium	FicoLite-H, Dichte 1,077g/ ml, isotonisch	Linaris Biologische Pro- dukte, Dossenheim Deutschland
DPBS	DPBS-1x w/o Ca ⁺⁺ Mg ⁺⁺ , 500 ml	Gibco/ThermoFisher, Waltham, USA
<i>Freezer Medium</i>	Dimethylsulfoxid (DMSO)	Carl Roth GmbH + Co.KG Karlsruhe, Deutschland
	<i>Fetal Bovine Serum</i> (FCS)	Gibco/ThermoFisher, Waltham, USA

Tabelle 3: Geräte zur Zellisolierung

Gerät	Handelsname	Firma
Zentrifuge	Eppendorf 5415 R	Eppendorf, Deutschland
Zentrifuge	Eppendorf 5810 R	Eppendorf, Deutschland

Tabelle 4: Materialien zur Zellzählung

Material	Handelsname	Firma
Farbstoff	AO/PI (Acridinorange/Propidiumiodid)	Logos Biosystems, Gyeonggi-do 14055 South Korea
AO/PI Slides	<i>LUNA-FL™ Cell Counting Slides</i>	Logos Biosystems, Gyeonggi-do 14055 South Korea

Tabelle 5: Geräte zur Zellzählung

Gerät	Handelsname	Firma
Zellzählgerät	<i>LUNA-FL™ Automated Fluorescence Cell Counter</i>	Logos Biosystems, Gyeonggi-do 14055 South Korea
Zentrifuge	Eppendorf 5810 R	Eppendorf, Wesseling Deutschland

Tabelle 6: Verwendete Antikörper für die Immunphenotypisierung.

Marker	Fluorochrom	Klon	Firma	Katalog-numer	Panel
CD19	APC-R700	HIB19	BD	564977	B-Zell Panel
CD20	BB700	2H7	BD	745889	B-Zell Panel
CD21	BV421	B-Ly4	BD	562966	B-Zell Panel
CD27	APC	L128	BD	337169	B-Zell Panel
CD38	PE	HB-7	BD	345806	B-Zell Panel
CD43	BV605	1G10	BD	563378	B-Zell Panel

Material und Methoden

IgD	PE-CF594	IA6-2	BD	56254	B-Zell Panel
IgM	BV480	G20-127	BD	566146	B-Zell Panel
CD31	BV421	L133.1	BD	744801	T-Zell Panel 1
CD5	BV650	L17F12	BD	742551	T-Zell Panel 1
CD62L	BB700	SK11	BD	745995	T-Zell Panel 1
CD69	BV480	FN50	BD	747519	T-Zell Panel 1
CD8	APC-R700	SK1	BD	565192	T-Zell Panel 1
TZR $\alpha\beta$	FITC	WT31	BD	33314	T-Zell Panel 1
TZR $\gamma\delta$	PE	11F2	BD	333141	T-Zell Panel 1
CD127	Alexa-Fluor 647	HIL-7R- M21	BD	558598	T-Zell Panel 2
CD183	BV480	CXCR3	BD	746283	T-Zell Panel 2
CD194 (CCR4)	PE	1G1	BD	55112	T-Zell Panel 2
CD196 (CCR6)	APC-R700	CCR6	BD	565173	T-Zell Panel 2
CD25	BV421	M-A251	BD	562442	T Zells-Panel 2
CD294 (CRTH2)	BV650	BM16	BD	740616	T-Zell Panel 2
CD3	BV786	SK7	BD	563800	T-Zell Panel 1 T-Zell Panel 2
CD4	PE-CF594	SK3	BD	566317	T-Zell Panel 1 T-Zell Panel 2
CD45RO	BV605	UCHL1	BD	562791	T-Zell Panel 1 T-Zell Panel 2

Tabelle 7: Materialien zur Oberflächenfärbung

Material	Handelsname	Firma
FACS-Röhrchen	Reagenz- und Zentrifugen- röhre, 5 ml	SARSTEDT AG & Co.KG, 51588 Nürnberg, Ger- many
Waschlösung	<i>CellWASH</i>	Becton, Dickinson & Com- pany, Heidelberg, Germany
Lysierungslösung	<i>BD FACS Lysing Solution</i>	Becton, Dickinson & Com- pany, Heidelberg, Germany
Zellviabilitätsfärbung	<i>BD Horizon Fixable Viabil- ity Stain 780 Stock Solution</i>	Becton, Dickinson & Com- pany, Heidelberg, Germany

Tabelle 8: Geräte zur Oberflächen- und Intrazellulärfärbung

Gerät	Handelsname	Firma
Zentrifuge	Eppendorf 5810 R	Eppendorf, Wesseling Deutschland
Durchflusszytometer	<i>FACSCelesta™ Cell Ana- lyzer</i>	Becton, Dickinson & Com- pany, Heidelberg, Germany

Tabelle 9: Auswertung und Darstellung der durchflusszytometrischen Daten.

Material	Handelsname	Firma
Gerätekalibrierung	<i>Cytometer Setup and Track- ing Module</i>	BD Biosciences, Heidelberg, Deutschland
Gerätekalibrierung	<i>Sphero™ Rainbow Calibra- tion Particles</i>	BD Biosciences, Heidelberg, Deutschland
	<i>BD™ CompBeads</i>	BD Biosciences, Heidelberg, Deutschland

Material und Methoden

Datenerfassung	<i>BD FACSDiva</i>	BD Biosciences, Heidelberg, Deutschland
Datenanalyse	<i>FlowJo v10</i>	BD Biosciences, Heidelberg, Deutschland
Präsentationsprogramm und Bildbearbeitung	<i>PowerPoint</i>	Microsoft Corporation, Redmond, USA

3.2 Studiendesign und Ein- und Ausschlusskriterien

Bei der hier durchgeführten Studie handelt es sich um eine Kohortenstudie. Als Zeitrahmen für die Probensammlung wurde die Zeit von Februar 2021 bis Juni 2022 festgesetzt, in der Schwangere mit geplantem Kaiserschnitt im dritten Trimenon bei ihrer Vorstellung in der Klinik für Frauenheilkunde, Geburtshilfe und Reproduktionsmedizin am Universitätsklinikum Homburg rekrutiert wurden. Diese Frauen verbrachten einen Großteil ihrer Schwangerschaft, durch die Maßnahmen zur Pandemiebekämpfung, in Isolation. Zu diesen Maßnahmen zählen: Abstand halten, erhöhte Hygienestandards und das Tragen eines Mund-Nasen-Schutzes. Die Nabelschnurblutproben wurden im gleichen Zeitraum gesammelt.

Tabelle 10: Ein- und Ausschlusskriterien

	Einschlusskriterien	Ausschlusskriterien
Schwangere	Schwangere mit <ul style="list-style-type: none"> - Schriftlicher Einwilligung - Geburtsmodus: Sectio Caesarea 	Schwangere mit <ul style="list-style-type: none"> - Autoimmunerkrankungen - Akuten Infektionen innerhalb der letzten 2 Wochen (beurteilt nach klinischem und oder labormedizinischen Kriterien) - Antibiotikaeinnahmen in den letzten zwei Wochen
Kinder	Reifgeborene (RG) <ul style="list-style-type: none"> - Geburt nach der 37+0 Schwangerschaftswoche 	<ul style="list-style-type: none"> - Spontan Geburt - Geburt vor der 37+0 Schwangerschaftswoche - Perinatale Infektionen

3.3 Blutproben

Für diese Studie wurden Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) Blutproben von Schwangeren, sowie Nabelschnurblutproben von Neugeborenen aus der Frauen- und Kinderklinik des Universitätsklinikums des Saarlandes gesammelt. Als Endpunkt der Probensammlung wurden 50 Schwangeren- und 50 Nabelschnurblutproben festgelegt

Tabelle 11).

Die Aufklärung der Schwangeren erfolgte, bei ihrer Vorstellung zur Prämedikation, am Tag vor der geplanten Sectio. Für unsere Studie konnten so 4,8 ml EDTA-Blut zusammen mit der Routineblutentnahme im Rahmen der Prämedikation abgenommen werden, wodurch sich keine zusätzliche Venenpunktion für die Schwangere ergab. Die Entnahme des Nabelschnurblutes aus der Plazenta erfolgte unmittelbar nach der Geburt durch die zuständige Hebamme (**Abbildung 4**). Abhängig von der Größe der Plazentagefäße und dem Blut das gewonnen werden konnte, wurden ein bis drei 4,8 ml EDTA Röhrchen zur weiteren Verarbeitung entnommen (**Tabelle 1**).

Die Verarbeitung der Blutproben erfolgte im Forschungslabor für Allgemeine Pädiatrie und Neonatologie gemäß einer *Standard Operating Procedure* (SOP) innerhalb eines Zeitrahmens von maximal drei Stunden. Die Untersuchung war vorab von der Ethikkommission des Saarlandes (AZ 198/20, 10.01.2022) genehmigt worden.

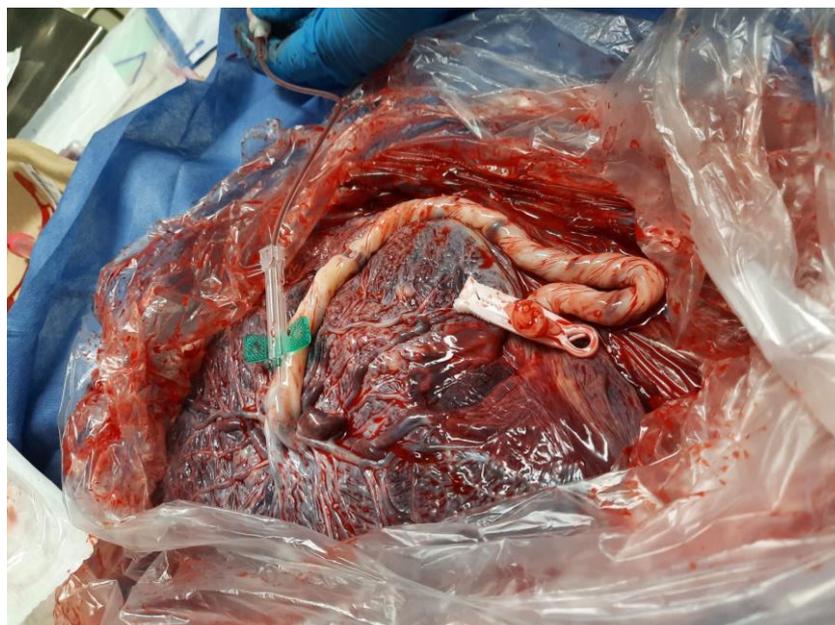


Abbildung 4: Blutabnahme aus Plazenta.

Die Abbildung zeigt beispielhaft die Blutentnahme des NSB aus der Plazenta einer Schwangeren postpartal. Die Blutentnahme erfolgte unmittelbar nach Entbindung durch die zuständige Hebamme.

Tabelle 11: Gruppengröße

	Endpunkt	Gemessen
Schwangere mit bevorstehender Sectio	N=50	N=36
Reifgeborene Kinder (Gestationsalter 37+0 bis 42+0)	N=50	N=37

3.4 Probenverarbeitung

Nach der Blutentnahme erfolgten die in **Abbildung 5** und **Abbildung 6** dargestellten Arbeitsschritte. Zunächst wurden mononukleäre Zellen des peripheren Bluts (*peripheral blood mononuclear cells, PBMC*) bzw. Nabelschnurbluts (*cord blood mononuclear cells, CBMC*) isoliert und bei $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ gefroren. Zu einem späteren Zeitpunkt erfolgte die durchflusszytometrische Messung.

Die gewonnenen Zellen wurden mittels Durchflusszytometrie in drei verschiedenen Panels analysiert: B-Panel, T-Panel 1 und T-Panel 2.

Im Folgenden werden die einzelnen Methoden erläutert, welche für den Versuchsaufbau verwendet wurden und für die Ergebnisse dieser Arbeit relevant sind. Zur einfacheren Lesbarkeit wird im Folgenden von PBMC gesprochen. Gemeint sind aber sowohl PBMC als auch CBMCs.

3.5 Zellisolierung

Die verwendeten Materialien sind in **Tabelle 2** aufgelistet. Zur Zellisolierung wurden 4 ml jedes EDTA Röhrchen in einem 15ml Zentrifugenröhrchen im Verhältnis 1:1 mit Dulbeccos phosphatgepufferte Kochsalzlösung (DPBS, *Dulbecco's phosphate buffered saline*) verdünnt. Anschließend wurden je 8 ml dieser verdünnten Mischung, in einem weiteren Zentrifugenröhrchen, vorsichtig über 6 ml eines Dichtegradientmediums (FicoLite-H) geschichtet, sodass sich zwei Phasen ergaben. In **Abbildung 5** ist dieses Verfahren exemplarisch dargestellt. Die Dichtegradienten-Zentrifugation dient der Anreicherung von mononukleären Zellen aus dem Blut. Es handelt sich um ein physikalisches Trennverfahren, bei dem die Zellen anhand ihrer Bewegungsgeschwindigkeit (Sedimentationsgeschwindigkeit) mit Hilfe einer Zentrifugation sortiert werden. Der hier genutzte polymerbasierte Gradient besteht nur aus einer Dichtestufe. Mononukleäre Zellen haben eine niedrigere Dichte als der Polymer und sammeln sich deshalb als

Grenzschicht (entspricht in **Abbildung 5** blauem Balken) zwischen den beiden Phasen an. Aufgrund der höheren Dichte sedimentieren Erythrozyten und Granulozyten an den Boden.

Die Zentrifugenröhrchen wurden bei Raumtemperatur und 400 g, mit einer Bremse auf Stufe fünf, 30 Minuten zentrifugiert. Im Anschluss an diesen Zentrifugationsschritt wurde 1 ml des Überstands, bei dem es sich um eine Plasma-Polymer Mischung handelt, abpipettiert und in einem gesonderten Reagenzgefäß bei -80°C kryokonserviert. Als Nächstes konnte die Interphase, welche die PBMC enthält, abgesaugt und gleichwertig verteilt in vier, mit je 1 ml PBS gefüllten Reagenzgefäßen, resuspendiert werden.

Die Zellen wurden anschließend zehn Minuten bei Raumtemperatur, mit 200 g und einer Bremse, zentrifugiert. Der Überstand wurde abpipettiert und verworfen, das Zellpellet am Boden des Reagenzgefäßes erneut in PBS resuspendiert und für zehn Minuten zentrifugiert. Nach erneutem Abpipettieren des Überstands wurde das Pellet in 2 ml *Freezer Medium*, bestehend aus 900 μl *Fetal Bovine Serum* (FCS) und 100 μl Dimethylsulfoxid (DMSO), resuspendiert. Anschließend wurden die Proben in *Cryotubes*, die im *CellCamper* gelagert wurden, bei -80°C eingefroren.

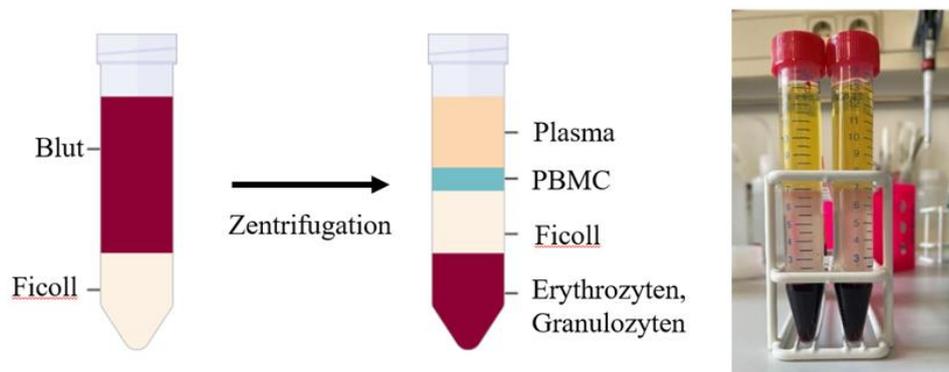


Abbildung 5: Dichtegradienten-Zentrifugation von PBMCs/CBMC`s.

Die in dieser Arbeit genutzte Dichtegradienten-Zentrifugation dient der Anreicherung von mononukleären Zellen aus dem Blut. Es handelt sich um ein physikalisches Trennverfahren, bei dem die Zellen anhand ihrer Bewegungsgeschwindigkeit (Sedimentationsgeschwindigkeit) mit Hilfe einer Zentrifugation sortiert werden. Mononukleäre Zellen haben eine niedrigere Dichte als der Polymer und sammeln sich deshalb als Grenzschicht (entspricht im Schema blauem Balken) zwischen den beiden Phasen an. Aufgrund der höheren Dichte sedimentieren Erythrozyten und Granulozyten an den Boden. Auf der rechten Seite sieht man zwei Proben nach der Zentrifugation.

3.6 Zellzählung

Im ersten Schritt wurden die bei -80°C kryokonservierten PBMC auf Eis überführt und für fünf Minuten akklimatisiert, bevor das Zellpellet in einem Wasserbad bei Raumtemperatur aufgetaut wurde. Anschließend wurden die Zellpellets zweimal mit D-PBS gewaschen und bei 400 g für zehn Minuten zentrifugiert. Die Pellets wurden dann in ein adäquates PBS-Volumen aufgenommen, um eine Zelldichte von ca. $1,5\text{-}2 \times 10^6$ /ml zu erzielen. Anschließend wurden $9\ \mu\text{l}$ der Zellsuspension mit $1\ \mu\text{l}$ Acridinorange und Propidiumiodid (AO/PI) gefärbt und gemäß der Herstellerangaben mit *LUNA-FL™ Automated Fluorescence Cell Counter* die lebenden und toten Zellen quantifiziert.

Tabelle 12: Benötigte Zellzahlen, in Abhängigkeit von der zu untersuchenden Zellpopulation

Panel	Benötigte Zellzahl
B-Lymphozyten	10^6
T1-Lymphozyten	3×10^6
T2-Lymphozyten	3×10^6

3.7 Durchflusszytometrie

Nachdem mit Hilfe des *LUNA-FL™ Automated Fluorescence Cell Counter* eine Zelldichte von 1×10^6 /ml eingestellt worden war, wurden pro 10^6 Zellen, $0,5\ \mu\text{L}$ *BD Horizon Fixable Viability Stain 780 Stock Solution*, zur Färbung der toten Zellen gemäß Herstellerangaben, hinzugegeben. Die Zellen wurden gevortext, bevor die Zellsuspension bei Raumtemperatur für 15 Minuten in Dunkelheit inkubiert wurde. Danach wurde die Zellsuspension erneut gevortext und die gewünschte Zellzahl, je nach zu untersuchender Zellpopulation (**Tabelle 12**), in die *FACS Tubes* überführt. Anschließend wurden die Zellen mit $1\ \text{ml}$ *BD CellWASH™* gewaschen und bei 500 g zehn Minuten zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen und die Pellets in $100\ \mu\text{L}$ eines für das jeweilige Panel spezifischen Antikörpermix resuspendiert und bei Raumtemperatur für 30 Minuten vor Licht geschützt inkubiert. Der Antikörpermix enthielt *BD Horizon™ Brilliant Stain Buffer* und *BD Pharmingen™ Stain Buffer*. Diese Pufferlösungen sollen dazu

beitragen, unspezifische Bindungen zu reduzieren und so die Leistung der Fluoreszenzfarbstoffe maximieren. Die mit Fluorochromen markierten Antikörper sind in **Tabelle 10** aufgeführt. In der Zwischenzeit wurde BD FACSTTM*Lysing Solution* im Verhältnis 1:10 in VE-H₂O verdünnt und auf Eis gelegt. Durch die Zugabe von 1 ml BD FACSTTM *LysingSolution* pro *Tube* wurden die verbliebenen Erythrozyten in der Probe lysiert. Die Zellsuspension wurde nun weitere fünf Minuten bei Raumtemperatur in Dunkelheit inkubiert und nach Ablauf der Zeit erneut mit 1 ml *BD CellWASH*TM verdünnt und bei 500 g für zehn Minuten zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen und die Pellets in 200 µl D-PBS resuspendiert und lichtgeschützt, auf Eis, bis zur durchflusszytometrischen Analyse, gelagert.

3.8 Datenanalyse und Gating Strategie

Die Zellpellets wurden auf einem 3-Laser, 12-Farben *FACS Celesta*TM *Cell Analyzer* analysiert. Die Leistung, Stabilität, Fluoreszenzkalibrierung und Datenreproduzierbarkeit des Durchflusszytometers wurden täglich mittels dem *Cytometer Setup and Tracking Module* aufrechterhalten und überprüft. Für jede Messung wurden Anwendungseinstellungen durchgeführt und *Sphero*TM *Rainbow Calibration Particles* verwendet, um die Datenreproduzierbarkeit im Verlauf der Messungen zu validieren. Die Kompensationseinstellungen wurden unter Verwendung von *BD*TM *CompBeads* berechnet. Der Vergleich der gefärbten Probe mit einer ungefärbten Probe, einer Probe, die allen Verfahren außer der Antikörperfärbung unterzogen wurde, und der Isotyp-Kontrolle, um die unspezifische Bindung der Antikörper zu spezifizieren, bildete die Grundlage für die positive Färbung und die Gating-Strategie. Sowohl Zellaggregate (*FSC-A/FSC-H*) als auch tote Zellen wurden durch Färbung mit *BD Horizon Fixable Viability Stain 780* von der Analyse ausgeschlossen. Die Klassifizierung der Lymphozyten basierend auf morphologischen Parametern (*FSC-A/SSC-A*) wurde am Ende bestätigt.

Bei jeder der gemessenen Proben wurden die durchflusszytometrisch analysierten Daten als zweidimensionale Punkt-Diagramme (*Dotplots*) oder als eindimensionale Histogramme dargestellt. Dabei entspricht jeder Punkt des Diagramms einer Zelle. Durch das Setzen von hierarchischen Analysefenster (*Gates*) ist es möglich verschiedene Zellpopulationen, gemäß ihrer Oberflächenmarker darzustellen. In dieser Arbeit wurden drei verschiedene Panels mit Oberflächenmarkern bestimmt. Exemplarisch sind die *Gating* Strategien für je eine repräsentative CBMC Probe für jedes Panel (B, T1 und T2 Panel) gezeigt (**Abbildung 6**, **Abbildung 7****Abbildung 8**). Die Daten wurden mit *FACSDiva* erfasst und mit *FlowJo v10* analysiert. Diese

Gating Strategie wurde auf alle Proben angewandt, um so ein möglichst durchgängiges Auswertungsschema zu etablieren und eine Vergleichbarkeit der verschiedenen Proben zu erzeugen. Die *Gates* wurden voreingestellt und die Auswertung der Probe erfolgte verblindet. Im Folgenden wird nun die *Gating* Strategie erläutert.

Für alle drei Panels basierte die *Gating* Strategie auf morphologischen Parametern (*FSC-H/FSC-A*). FVS 780-negative Zellen wurden als lebendige Zellen betrachtet. Nachdem die toten Zellen ausgeschlossen worden waren, erfolgte die Eingrenzung der weiteren Subpopulationen.

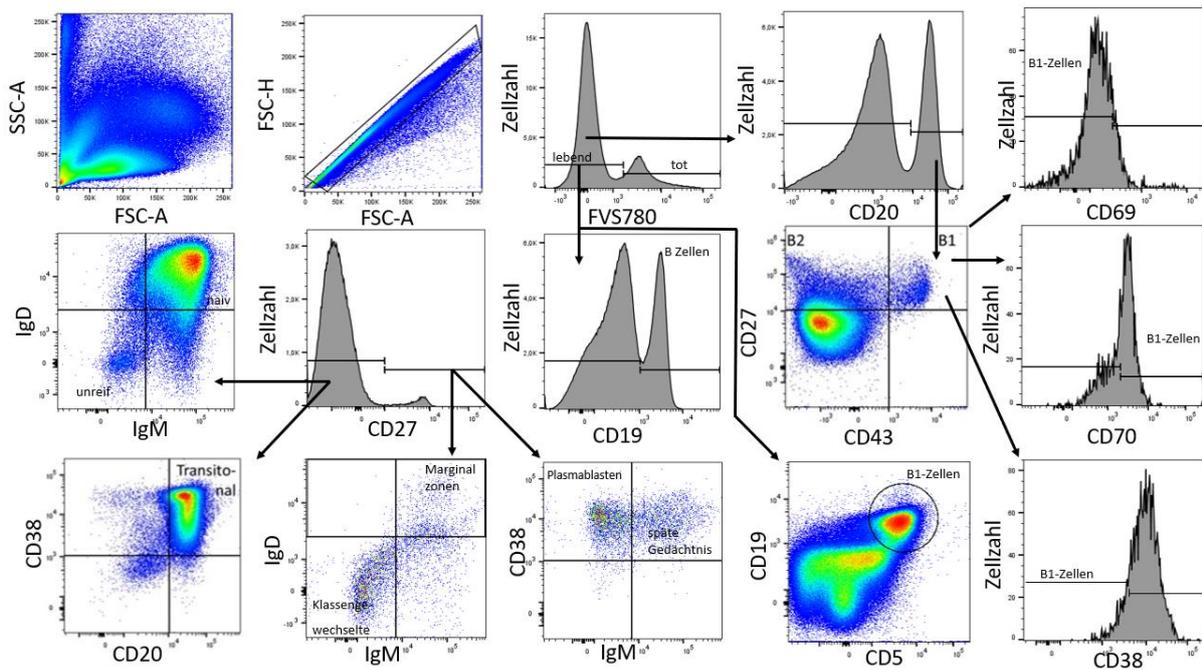


Abbildung 6: Gating Strategie für B-Lymphozyten für eine repräsentative CBMC-Probe. Die Analyse wurde in *FlowJo* durchgeführt. Die *Gating*-Strategie basierte auf morphologischen Parameter (*FSC-H/FSC-A*). FVS 780-negative Zellen wurden als lebensfähige Zellen betrachtet. Aus den lebendigen Zellen wurde die Anzahl der CD19+ und CD20+ Zellen bestimmt. Die CD19+ Fraktion wurde in CD27+ und CD27- B-Zellen unterteilt. Ein separater Gatingweg zeigt CD19+CD5+ Zellen. CD27+ Zellen wurden in MZ-B-Zellen (IgD+IgM+), klassengewechselte B-Zellen (IgD-IgM), späte Gedächtnis-B-Zellen (CD38+IgM+) und Plasmablasten (CD38+IgM-) unterteilt. CD27- Zellen wurden in unreife B-Zellen (IgD-IgM-), naive B-Zellen (IgD+IgM+) und transitionale B-Zellen (CD20+CD38+) unterteilt. CD20+ Zellen wurden in B1-Zellen (CD27+CD43+) und B2-Zellen (CD27+CD43-) unterteilt. CD27+CD43+ B1-Zellen wurden zusätzlich noch in CD20+CD27+CD43+CD69-, CD20+CD27+CD43+CD70- und CD20+CD27+CD43+CD38low Gruppen unterteilt.

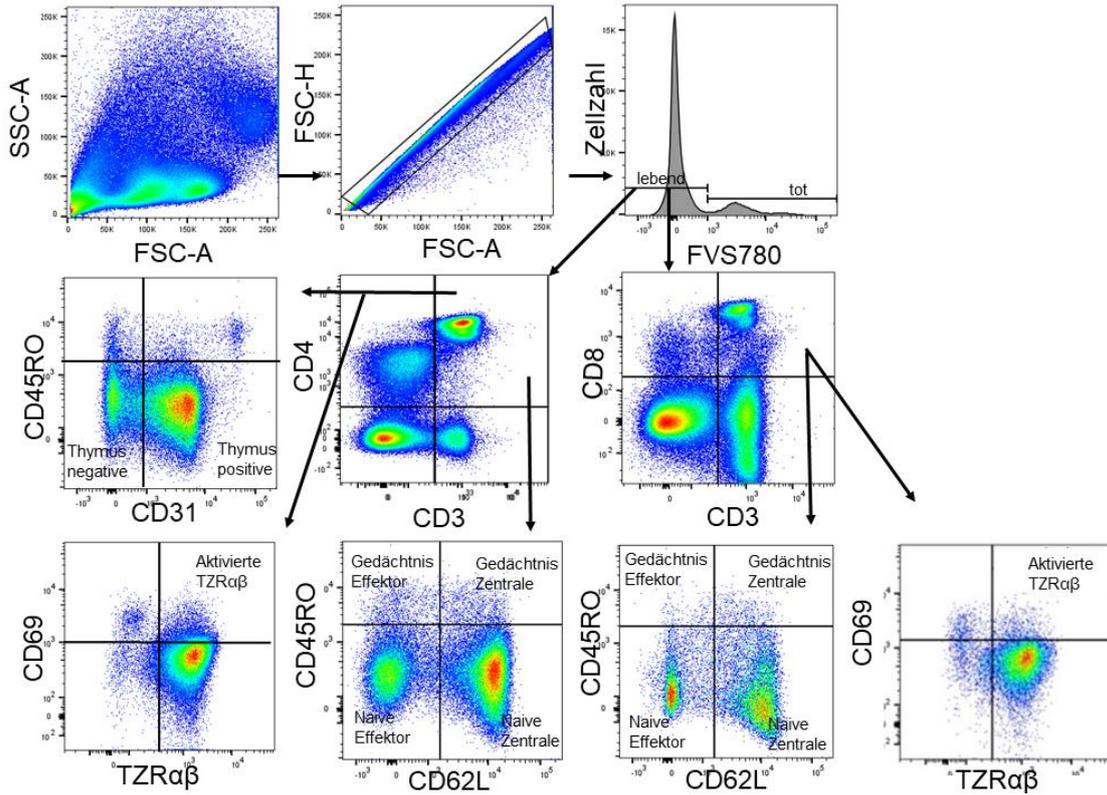


Abbildung 7: Gating Strategie für T-Lymphozyten (Panel 1) für eine repräsentative CBMC Probe. Die Analyse wurde in *FlowJo* durchgeführt. Die *Gating*-Strategie basierte auf morphologischen Parameter (FSC-H/FSC-A). FVS 780-negative Zellen wurden als lebensfähige Zellen betrachtet. Aus den lebendigen Zellen wurde die Anzahl der CD3+ Zellen bestimmt. Die CD3+ Fraktion wurde in CD4+ T-Helferzellen und CD8+ zytotoxische T-Zellen unterteilt. Beide Zellfraktionen wurden in naive zentrale (CD62L+CD45RO-), naive Effektor (CD62L-CD45RO-), Gedächtnis-Effektor (CD62L-CD45RO+), und Gedächtnis-zentrale (CD62L+CD45RO+) T-Zell-Subpopulationen unterteilt. Zusätzlich wurden T-Zellen mit TZRαβ und aktivierte T-Zellen mit TZRαβ (CD69+) identifiziert. CD4+ TH-Zellen wurden weiter in naive Thymus-negative (CD45RO-CD31-) und -positive (CD45RO-CD31+) T- Helferzellen unterteilt.

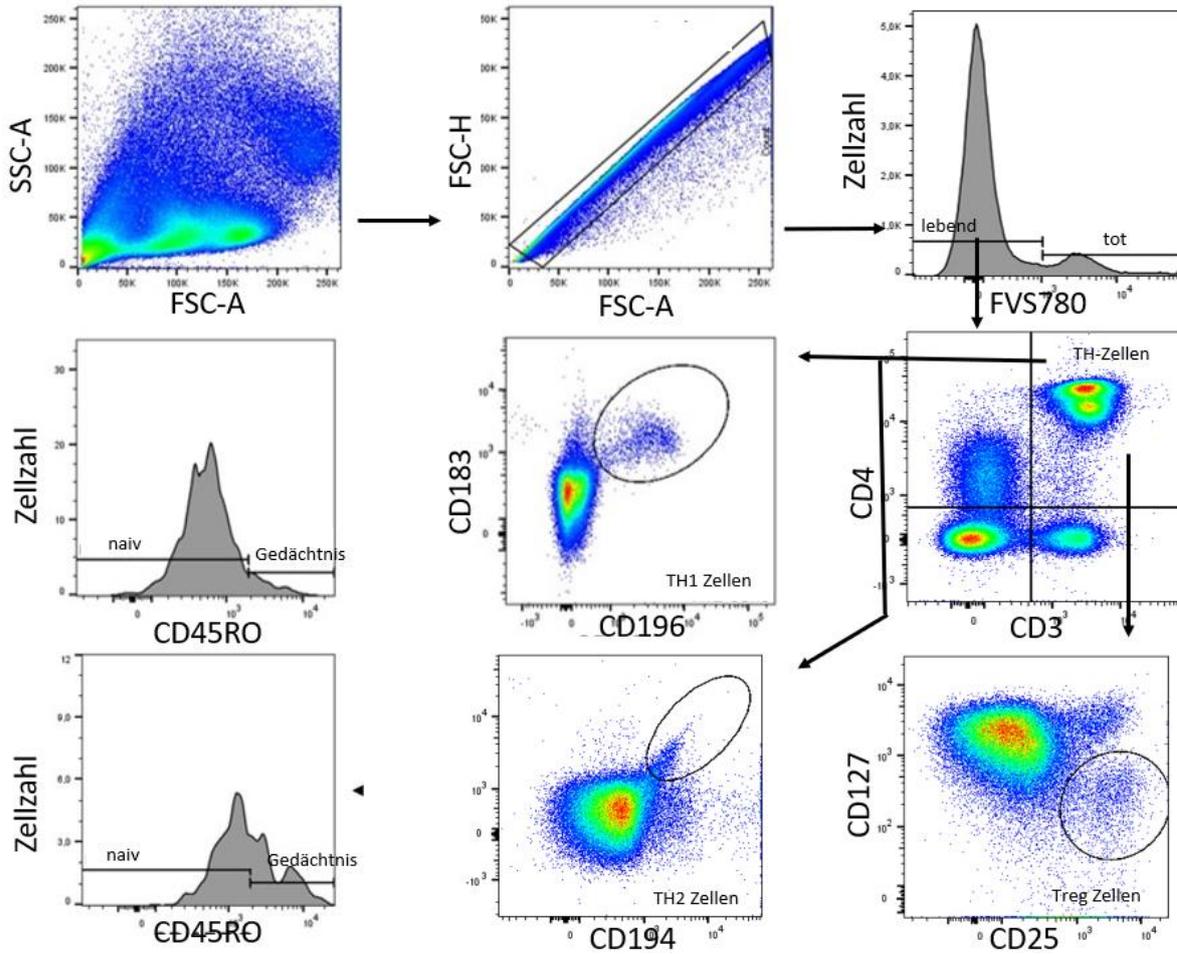


Abbildung 8: Gating-Strategie für T-Lymphozyten (Panel 2) für eine repräsentative CBMC Probe. Die Analyse wurde in *FlowJo* durchgeführt. Die Gating-Strategie basierte auf morphologischen Parameter (FSC-H/FSC-A). FVS 780-negative Zellen wurden als lebensfähige Zellen betrachtet. Aus den lebendigen Zellen wurde die Anzahl der CD3+ Zellen bestimmt. CD4+ T-Helferzellen wurden identifiziert. TH1-Zellen (CD183+CD196+) und TH2-Zellen (CD194+CD294+), sowie deren Subpopulationen naive (CD45RO-) und Gedächtnis (CD45RO+) wurden aus der TH-Zellfraktion bestimmt. Regulatorische TH-Zellen wurden als CD25+CD127- identifiziert.

Tabelle 13: Lymphozytenpopulationen Definitionen gemäß Oberflächenmarker

Lymphozytensubpopulationen	Definition
B-Lymphozyten	B-Zellen CD19+
	Unreife B-Zellen CD19+CD27-IgD-IgM-
	Naïve B-Zellen CD19+CD27-IgD+IgM+
	Marginalzonen Gedächtnis B-Zellen CD19+CD27+IgD+IgM+
	Klassengewechselte Gedächtnis B-Zellen CD19+CD27+IgD-IgM-
	Späte Gedächtnis B-Zellen CD19+CD27+CD38+IgM+
	Plasmablasten CD19+CD27+CD38++IgM-
	Transitionale B-Zellen CD19+CD20+CD27-CD38+
	B1-Zellen CD20+CD27+CD43+ CD20+CD27+CD43+CD70- CD20+CD27+CD43+CD69- CD20+CD27+CD43+CD38low CD19+CD5+
	B2-Zellen CD20+CD27+CD43-
T-Lymphozyten	T-Zellen CD3+
	T-Helferzellen CD3+CD4+
	Zytotoxische T-Zellen CD3+CD8+
	T-Helferzellen mit $\alpha\beta$ -TZR TZR $\alpha\beta$ +CD4+
	Zytotoxische T-Zellen mit $\alpha\beta$ -TZR TZR $\alpha\beta$ +CD8+
	Aktivierte T-Helferzellen mit $\alpha\beta$ -TZR TZR $\alpha\beta$ +CD4+CD69+
	Aktivierte zytotoxische T-Helferzellen mit $\alpha\beta$ -TZR TZR $\alpha\beta$ +CD8+CD69+

Material und Methoden

Gedächtnis Effektor T-Helferzellen	CD3+CD4+CD62L-CD45RO+
Gedächtnis zentrale T-Helferzellen	CD3+CD4+CD62L+CD45RO+
Naive Effektor T-Helferzellen	CD3+CD4+CD62L-CD45RO-
Naive zentrale T-Helferzellen	CD3+CD4+CD62L+CD45RO-
Gedächtnis Effektor zytotoxische T-Zellen	CD3+CD8+CD62L-CD45RO+
Gedächtnis zentrale zytotoxische T-Zellen	CD3+CD8+CD62L+CD45RO+
Naive Effektor zytotoxische T-Zellen	CD3+CD8+CD62L-CD45RO-
Naive zentrale zytotoxische T-Zellen	CD3+CD8+CD62L+CD45RO-
Naive Thymus negative T-Helferzellen	CD3+CD4+CD31-CD45RO-
Naive Thymus positive T-Helferzellen	CD3+CD4+CD31+CD45RO-
T-Helferzellen Typ I	CD3+CD4+CD183+CD196+
Naive T-Helferzellen Typ I	CD3+CD4+CD183+CD196+ CD45RO-
Gedächtnis T-Helferzellen Typ I	CD3+CD4+CD183+CD196+ CD45RO+
T-Helferzellen Typ II	CD3+CD4+CD194+CD294+
Naive T-Helferzellen Typ II	CD3+CD4+CD45RO-CD194+ CD294+
Gedächtnis T-Helferzellen Typ II	CD3+CD4+CD45RO+CD194+ CD294+
Regulatorische T-Zellen	CD3+CD4+CD25+CD127-

3.9 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit der Software Statistical Package für Social Sciences (SPSS) 28.0.0 (IGM, Chicago, IL USA). Es wurden quantitative Daten, mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Tests, auf Normalverteilung überprüft. Allerdings folgte die Mehrheit der Variablen keiner Normalverteilung. Daher wurde für alle Vergleiche ein Mann-Whitney-U-Tests verwendet. Die p-Werte waren zweiseitig und es wurde zunächst ein Signifikanzniveau von 0,05 festgelegt. Deskriptive Statistiken wurden als Mittelwert mit Standardabweichung angegeben.

4 Ergebnisse

4.1 Patientenkollektiv

Von den 50 gesammelten Proben konnten in dieser Arbeit 36 Schwangere und 37 Neugeborene (ein Zwillingspaar) gemessen werden. Die Anzahl der Proben, die in die Messungen und die anschließende Auswertung aufgenommen wurden, variierte in den Panels je nach verfügbarer Blutmenge. Die folgende Tabelle gibt eine Übersicht über die Größe der einzelnen Panels.

Tabelle 14: FACS-Panel Größe

Panel	Schwangere	Neugeborene
B-Panel	36	37
T-Panel I	32	37
T-Panel II	3	26

Die Versuchsgruppe konnte durch die Auswertung der Fragebögen (**siehe 10.1 Fragebögen**) in weitere Kohorten eingeteilt werden. Dies ergab für die Schwangere folgende Subgruppen:

Tabelle 15: Patientenkohorten anhand von Vorerkrankungen

Kohorte	Anzahl
Schwangere mit Asthma	3
Schwangere mit allergischer Rhinitis	8
Schwangere mit Atopie	11

Auch die Neugeborenen wurden in mehrere Subgruppen unterteilt.

Tabelle 16: Patientenkohorten der Neugeborenen

Kohorte	Anzahl
RG von Schwangeren mit Asthma	3
RG von Schwangeren mit allergischer Rhinitis	8
RG von Schwangeren mit Gestationsdiabetes	9
Weibliche RG	21
Männliche RG	16

Die statistische Auswertung erfolgte durch den Vergleich mit Kontrollgruppen, in denen die jeweilige Vorerkrankung nicht vorlag.

Mittels Durchflusszytometrie konnten so 14 B-Lymphozyten- und 22 T-Lymphozytenpopulationen gemessen werden. Durch den Vergleich der verschiedenen Gruppen sollen Zusammenhänge zwischen den klinischen Daten und den Labormessungen gefunden werden.

4.1.1 Neugeborene

Bei der untersuchten Kohorte handelt es sich um Reifegeborene mit einem Gestationsalter zwischen der 37 bis 40. Schwangerschaftswoche (SSW). Das mediane Gestationsalter lag bei der 38. SSW, wobei sich die Verteilung innerhalb der Schwangerschaftswochen wie folgt zusammensetzte:

Tabelle 17: Gestationsalter der eingeschlossenen Neugeborenen (n=37)

SSW	Häufigkeit	Prozent [%]
37	8	21,6
38	16	43,2
39	12	32,4
40	1	2,7

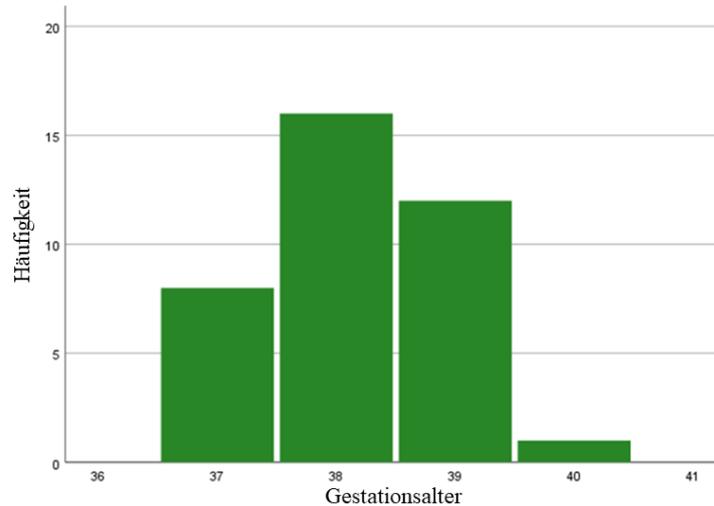


Abbildung 9: Gestationsalter Neugeborene

Die Abbildung zeigt die Verteilung des Gestationsalters in der Studienkohorte mit Hilfe eines Histogramms. Die Häufigkeit ist auf der Y-Achse in absoluten Zahlen angegeben. Das Gestationsalter ist auf der X-Achse aufgetragen. Die Verteilung war wie folgt: 8 NG der 37. SSW, 16 NG der 38. SSW, 12 NG der 39. SSW und 1 NG der 40. SSW.

Das Geburtsgewicht lag zwischen 2090g und 4290g, mit einem medianen Gewicht von 3200g. Wie bereits im Abschnitt **Material und Methoden** erwähnt, wurden alle Neugeborenen durch eine *Sectio caesarea* in der Frauenklinik des Universitätsklinikums Homburg entbunden. Es wurde das Nabelschnurblut von 16 männlichen und 21 weiblichen Neugeborenen durchflusszytometrisch gemessen. Das Kollektiv beinhaltete 33 Einlinge und 4 Mehrlinge. Der arterielle Nabelschnur-pH lag median bei 7,33.

4.1.2 Schwangere

Bei dem Patientenkollektiv der Schwangeren handelte es sich um 36 Frauen zwischen 21 und 41 Jahren; das mittlere Alter lag bei 33 Jahren (SD $\pm 3,9$).

Tabelle 18: Altersverteilung der Schwangeren

Mittelwert	33 ($\pm 3,9$)
Median	32,5
Varianz	15,693
Minimum	21
Maximum	41

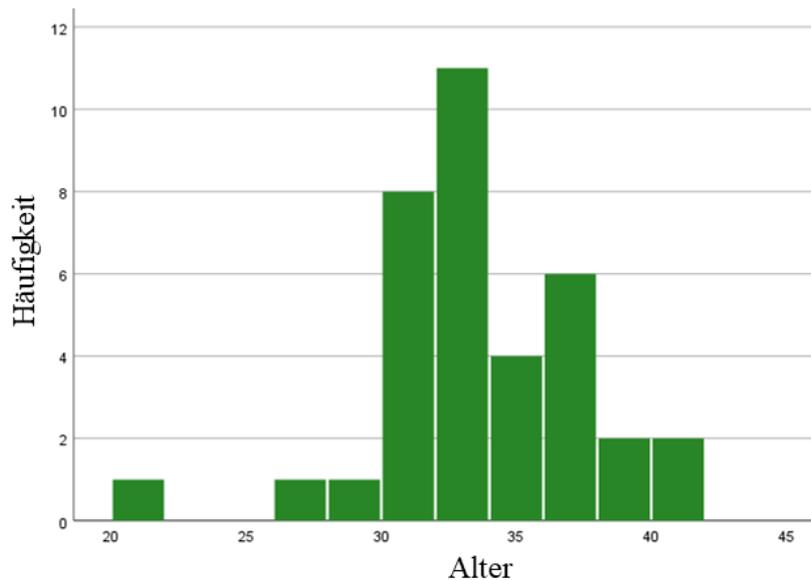


Abbildung 10: Altersverteilung Schwangere.

Die Abbildung zeigt die Verteilung des Alters der Schwangeren in der Studienkohorte mit Hilfe eines Histogramms. Die Häufigkeit ist auf der Y-Achse in absoluten Zahlen angegeben. Das Alter der Schwangeren ist auf der X-Achse aufgetragen.

Der Mittelwert der Gravida lag in dieser Gruppe bei 2,26 (SD $\pm 0,22$) und der der Para bei 1,94 (SD $\pm 0,19$). Unter den rekrutierten Schwangeren gaben drei Frauen ein Asthma bronchiale und acht Frauen eine allergische Rhinitis als Vorerkrankung an. Insgesamt war bei elf Schwangeren eine atopische Vorerkrankung bekannt.

Tabelle 19: Absolute Häufigkeiten der Gravida in der Kohorte der Schwangeren

Anzahl Gravida	Häufigkeit	Prozent
1	10	27,8
2	14	38,9
3	7	19,4
4	2	5,6
5	1	2,8
7	1	2,8
Fehlend	1	2,8

Tabelle 20: Absolute Häufigkeiten der Para in der Kohorte der Schwangeren.

Para	Häufigkeit	Prozent
1	14	38,9
2	13	36,1
3	6	16,7
5	2	5,6
Fehlend	1	2,8

4.2 Vergleich von Nabelschnurblut der Neugeborenen und peripherem Blut der Schwangeren

4.2.1 B-Lymphozyten

Es wurde das Nabelschnurblut (NSB) von 37 Neugeborenen und das periphere Blut (PB) von 36 Schwangeren durchflusszytometrisch untersucht und hinsichtlich 14 verschiedener B-Lymphozyten Subpopulationen analysiert und miteinander verglichen (**Tabelle 13**).

Statistisch signifikant höhere Werte ($p < 0,001$) wurden im NSB in den Gruppen der CD19+ Zellen, naiven B-Zellen, transitionalen B-Zellen, CD19+CD5+ B1-Zellen gemessen.

Signifikant höhere Werte ($p < 0,001$) im peripheren Blut der Schwangeren wurden bei unreifen B-Zellen, CD20+CD27+CD43+CD38- B1-Zellen, sowie der B2-Zellen zwischen peripherem Blut von Schwangeren und Neugeborenen gemessen.

In den Gruppen der Marginalzonen B-Zellen, klassengewechselten B-Zellen, späten Gedächtnis B-Zellen, Plasmablasten, CD20+CD27+CD43+CD69- B1-Zellen und CD20+CD27+CD43+CD70- B1-Zellen gab es keine signifikanten Unterschiede. Mit Ausnahme der CD27+CD43+ B-Zellen und CD19+CD5+ B1-Zellen, zeigten alle B1-Zell Definitionen annähernd gleiche Werte. Die Population der unreifen B-Zellen, klassengewechselte B-Zellen, CD27+CD43+ B1-Zellen und B2-Zellen ergaben im PB der Schwangeren höhere Werte. Die restlichen B-Zell Subpopulationen zeigten höhere Werte im Nabelschnurblut. Eine ausführliche Darstellung der Mittelwerte, der zugehörigen Standardabweichung und p-Werte zeigt **Tabelle 21**.

Tabelle 21: Relative Anteile der B-Lymphozyten Subpopulationen.

Angabe mit Mittelwert und Standardabweichung [%]. Gruppenunterschiede wurden mittels Mann-Whitney-U-Test gemessen. Signifikanzniveau $p = 0,05$. Die Testgruppen wurden unterteilt in Schwangere ($n=36$) und Neugeborene (NG) ($n=37$).

B-Lymphozyten	Gruppe	Mittelwert + Standardabweichung [%]	p-Wert
CD19+ Zellen (Anteil an lebenden Zellen)	Schwangere	0,05 ($\pm 0,04$)	<0,001
	NG	0,15 ($\pm 0,07$)	
Unreife B-Zellen (Anteil an CD19+)	Schwangere	27,87 ($\pm 9,24$)	<0,001
	NG	6,40 ($\pm 3,79$)	
	Schwangere	41,00 ($\pm 10,71$)	

Ergebnisse

naive B-Zellen (Anteil an CD19+)	NG	73,86 (\pm 9,92)	
Marginalzonen B-Zellen (Anteil an CD19+)	Schwangere	0,99 (\pm 0,88)	0,371
	NG	1,17 (\pm 1,69)	
Klassengewechselte B-Zellen (Anteil an CD19+)	Schwangere	6,17 (\pm 4,09)	0,749
	NG	5,48 (\pm 3,28)	
Späte B-Gedächtniszellen (Anteil an CD19+)	Schwangere	2,04 (\pm 1,39)	0,716
	NG	2,31 (\pm 2,18)	
Plasmablasten (Anteil an CD19+)	Schwangere	4,04 (\pm 2,92)	0,07
	NG	5,32 (\pm 3,21)	
Transitionale B-Zellen (Anteil an CD19+)	Schwangere	52,92 (\pm 12,28)	<0,001
	NG	84,26 (\pm 8,77)	
B1-Zellen CD27+CD43+ (Anteil an CD20+)	Schwangere	2,85 (\pm 1,82)	0,163
	NG	2,64 (\pm 2,4)	
B1-Zellen CD20+CD27+CD43+CD69- (Anteil an CD20+)	Schwangere	1,81 (\pm 1,41)	0,641
	NG	1,92 (\pm 1,42)	
B1-Zellen CD20+CD27+CD43+CD70- (Anteil an CD20+)	Schwangere	1,24 (\pm 0,86)	0,206
	NG	1,03 (\pm 0,83)	
B1-Zellen CD20+CD27+CD43+CD38- (Anteil an CD20+)	Schwangere	0,32(\pm 0,3)	<0,001
	NG	0,04 (\pm 0,07)	
B1-Zellen CD19+ CD5+ (Anteil an lebenden Zellen)	Schwangere	4,05 (\pm 3,69)	<0,001
	NG	14,08 (\pm 5,8)	
B2-Zellen (Anteil an CD20+)	Schwangere	1,51(\pm 1,71)	<0,001
	NG	0,27 (\pm 0,33)	

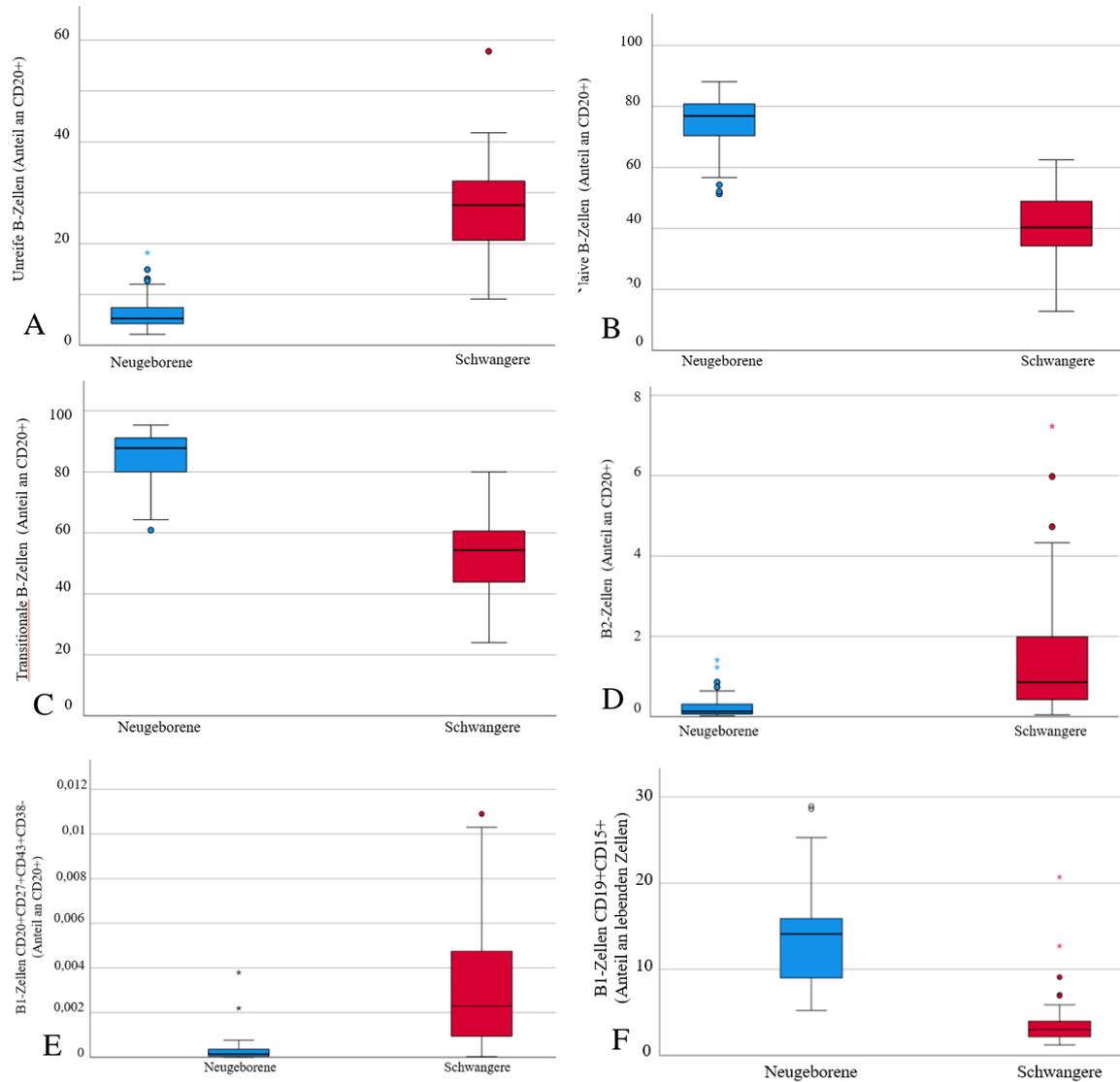


Abbildung 11: B-Zellsubpopulationen im peripherem Blut und Nabelschnurblut.

Zu sehen sind Box-Whisker-Plots der B-Zellpopulationen mit signifikanten Unterschieden zwischen NSB und PB. Rote Balken stehen für PB der Schwangeren, blaue Balken für NSB. Ausreißer sind als Punkte markiert. Die y-Achse beschreibt die jeweilige Leukozytensubpopulation anteilig an CD19+, CD20+ Zellen bzw. lebenden Zellen [%]. Die Whisker-Box-Plots sind angegeben mit Median (M), Minimum (Min.) und Maximum (Max). A: Unreife B-Zellen NG M 5,28 (Min. 2,15; Max. 18,2), SW M 27,5 (Min. 9,1; Max. 57,8); B: naive B-Zellen NG M 76,9 (Min. 51,2; Max. 88,1), SW M 40,3 (Min. 12,8; Max. 62,5); C: Transitionale B-Zellen NG M 87,8 (Min. 60,9; Max. 95,3), SW M 54,3 (Min. 24; Max. 80); D: B2 Zellen NG M 0,13 (Min. 0,03; Max. 1,4), SW M 0,86 (Min. 0,05; Max. 7,23); E: CD20+CD27+CD43+CD38^{low} B1-Zellen NG M 0,0001 (Min. 0; Max. 0,003), SW M 0,0023 (Min. 0; Max. 0,01); F: CD19+CD15+ B1 Zellen NG M 14,1 (Min. 5,2; Max. 28,9),

4.2.2 T-Lymphozyten

Im T-Zell Panel I wurde NSB von 37 Neugeborenen und PB von 32 Schwangeren durchflusszytometrisch untersucht und hinsichtlich 15 verschiedener Subgruppen miteinander verglichen. Im T-Zell Panel II wurden Blutproben von drei Schwangeren und das NSB von 27 Neugeborenen gemessen und die Unterschiede in sieben Subgruppen untersucht. Dabei wurden signifikante Unterschiede zwischen NSB und PB von Schwangeren über alle Subgruppen hinweg gemessen.

Im Panel I wurden signifikant höhere Werte ($p < 0,001$) im NSB in den Gruppen der T-Helferzellen, Gedächtnis Effektor T-Helferzellen, naiven Effektor T-Helferzellen, Gedächtnis Effektor zytotoxische T-Zellen, naive Thymusnegative T-Helferzellen, sowie naive Thymuspositive T-Helferzellen gemessen.

Im Panel II waren naive T-Helferzellen Typ I und naive T-Helferzellen Typ II signifikant höher ($p < 0,001$) im NSB messbar.

Im Panel I zeigten zytotoxische T-Zellen, Aktivierte T-Helferzellen mit $\alpha\beta$ -TZR, aktivierte zytotoxische T-Zellen mit $\alpha\beta$ -TZR, Gedächtnis zentrale T-Helferzellen, naive zentrale T-Helferzellen, naive Effektor zytotoxische T-Zellen, naive Effektor zytotoxische T-Zellen, und naive zentrale zytotoxische T-Zellen signifikant höhere Werte ($p < 0,001$) im peripheren Blut der Schwangeren.

Gedächtnis T-Helferzellen Typ I ($p < 0,001$), T-Helferzellen Typ II ($p < 0,011$), Gedächtnis T-Helferzellen Typ II ($p < 0,001$), sowie regulatorische T-Zellen ($p < 0,015$) waren im Panel II im peripheren Blut der Schwangeren signifikant höher als im NSB.

Tabelle 22: Relative Anteile der T-Lymphozyten Subpopulationen.

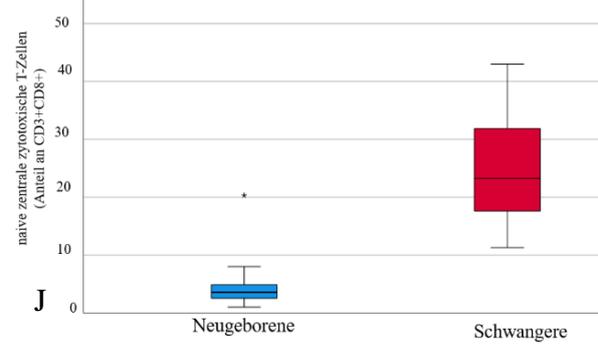
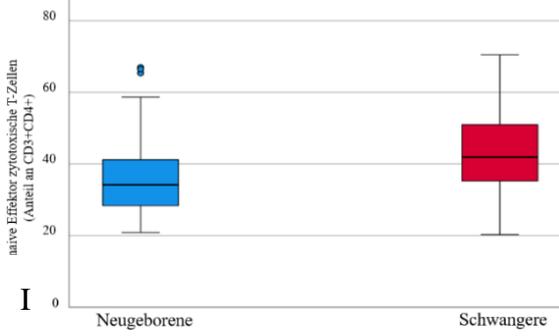
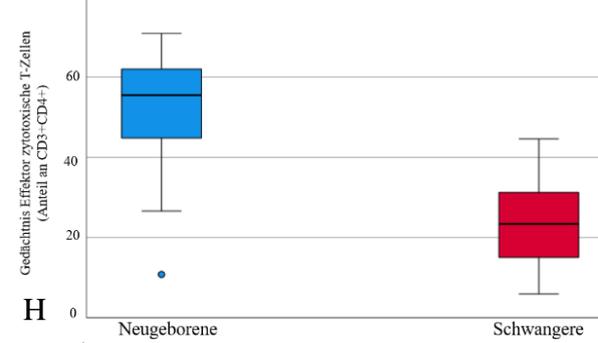
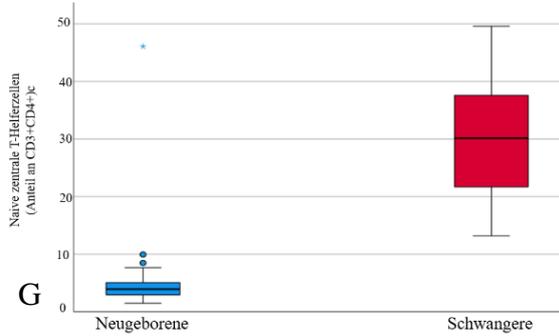
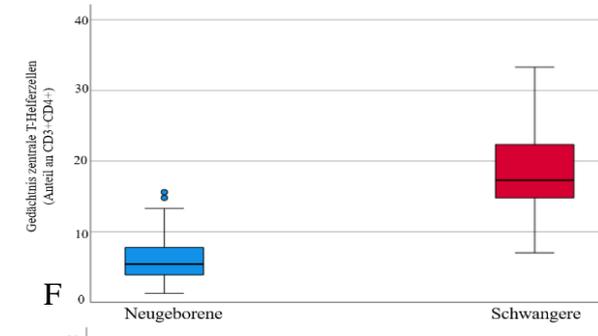
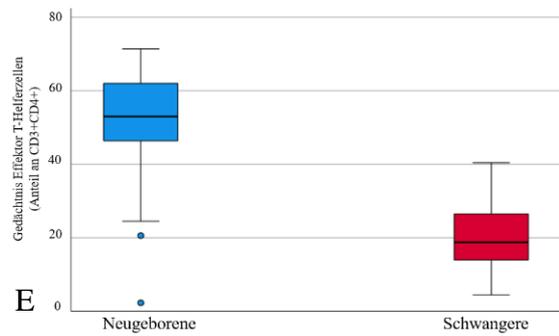
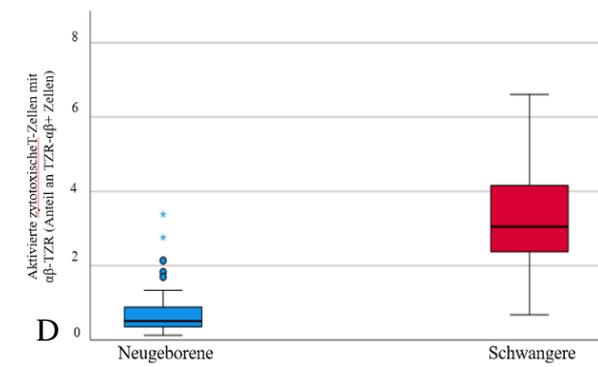
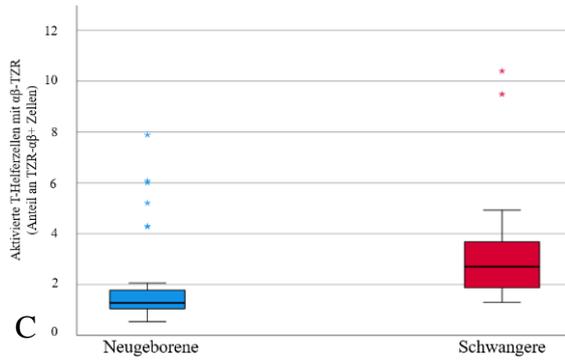
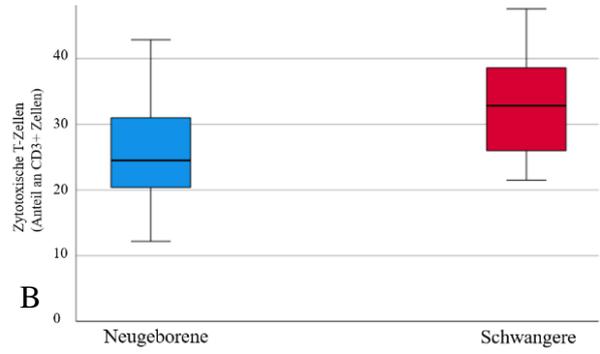
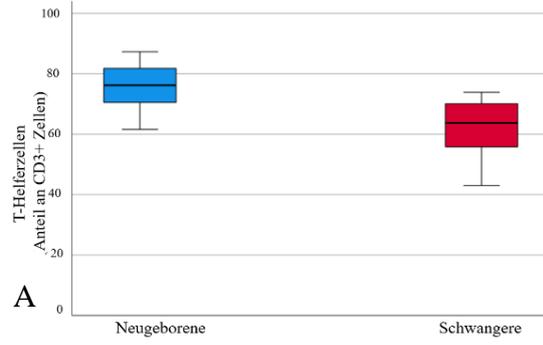
Angabe mit Mittelwert und Standardabweichung [%]. Gruppenunterschiede wurden mittels Mann-Whitney-U-Test gemessen. Signifikanzniveau $p=0,05$. Die Messungen wurden in zwei verschiedenen Panels durchgeführt (Tabelle 12). Die Testgruppen im Panel I wurden unterteilt in Schwangere ($n=32$) und Neugeborene (NG) ($n=37$). Panel II enthielt $n=3$ Schwangere und $n=27$ Neugeborene.

T-Lymphozyten	Gruppe	Mittelwert + Standardabweichung [%]	p- Wert
Panel I			
T-Helferzellen (Anteil an CD3+CD4+)	Schwangere	62,59 ($\pm 8,53$)	<0,001
	NG	75,79 ($\pm 6,96$)	
Zytotoxische Zellen (Anteil an CD3+CD8+)	Schwangere	33,08 ($\pm 7,29$)	<0,001
	NG	25,83 ($\pm 7,78$)	
Aktivierte TH-Zellen mit $\alpha\beta$-TZR (Anteil an TZR- $\alpha\beta$ + Zellen)	Schwangere	3,16 ($\pm 2,04$)	<0,001
	NG	1,96 ($\pm 1,75$)	
Aktivierte zytotoxische TH-Zellen mit $\alpha\beta$-TZR (Anteil an TZR- $\alpha\beta$ + Zellen)	Schwangere	3,34 ($\pm 1,71$)	<0,001
	NG	0,79 ($\pm 0,73$)	
Gedächtnis Effektor TH-Zellen (Anteil an CD3+CD4+ Zellen)	Schwangere	20,07 ($\pm 9,03$)	<0,001
	NG	50,95 ($\pm 14,77$)	
Gedächtnis-zentrale TH-Zellen (Anteil an CD3+CD4+ Zellen)	Schwangere	18,75 ($\pm 6,16$)	<0,001
	NG	6,25 ($\pm 3,59$)	
naive Effektor TH-Zellen (Anteil an CD3+CD4+ Zellen)	Schwangere	30,85 ($\pm 10,82$)	0,098
	NG	37,45 ($\pm 13,51$)	
naive zentrale TH-Zellen (Anteil an CD3+CD4+ Zellen)	Schwangere	30,33 ($\pm 9,48$)	<0,001
	NG	5,33 ($\pm 7,14$)	
Gedächtnis Effektor zytotoxische T-Zellen (Anteil an CD3+CD8+ Zellen)	Schwangere	24,02 ($\pm 10,83$)	<0,001
	NG	52,44 ($\pm 13,85$)	

Ergebnisse

Gedächtnis zentrale zytotoxische T-Zellen (Anteil an CD3+CD8+ Zellen)	Schwangere	8,09 ($\pm 3,63$)	0,085
	NG	7,09 ($\pm 5,55$)	
naive Effektor zytotoxische T-Zellen (Anteil an CD3+CD8+ Zellen)	Schwangere	43,08 ($\pm 11,19$)	0,008
	NG	36,39 ($\pm 12,61$)	
naive zentrale zytotoxische T-Zellen (Anteil an CD3+CD8+ Zellen)	Schwangere	24,81 ($\pm 8,86$)	<0,001
	NG	4,08 ($\pm 3,30$)	
Naive Thymus negative TH-Zellen (Anteil an CD3+CD4+ Zellen)	Schwangere	13,44 ($\pm 4,71$)	<0,001
	NG	19,59 ($\pm 8,72$)	
Naive Thymus positive Zellen (Anteil an CD3+CD4+ Zellen)	Schwangere	37,33 ($\pm 10,64$)	<0,001
	NG	68,59 ($\pm 9,73$)	
Panel II			
T-Helferzellen Typ I (Anteil an CD3+)	Schwangere	2,15 ($\pm 1,55$)	0,426
	NG	2,8 ($\pm 1,72$)	
naive T-Helferzellen Typ I (Anteil an CD3+CD4+ Zellen)	Schwangere	56,27 ($\pm 11,67$)	<0,001
	NG	87,75 ($\pm 6,76$)	
Gedächtnis T-Helferzellen Typ I (Anteil an CD3+CD4+ Zellen)	Schwangere	43,73 ($\pm 11,66$)	<0,001
	NG	12,25 ($\pm 6,76$)	
T-Helferzellen Typ II (Anteil an CD3+)	Schwangere	1,31 ($\pm 0,29$)	0,011
	NG	0,59 ($\pm 0,38$)	
naive T-Helferzellen Typ II (Anteil an CD3+CD4+ Zellen)	Schwangere	31,43 ($\pm 10,3$)	<0,001
	NG	67,25 ($\pm 10,05$)	
Gedächtnis T-Helferzellen Typ II (Anteil an CD3+CD4+ Zellen)	Schwangere	68,57 ($\pm 10,3$)	<0,001
	NG	32,75 ($\pm 10,05$)	
regulatorische T-Zellen (Anteil an CD3+ Zellen)	Schwangere	3,43 ($\pm 0,26$)	0,015
	NG	2,34 ($\pm 0,66$)	

Ergebnisse



Ergebnisse

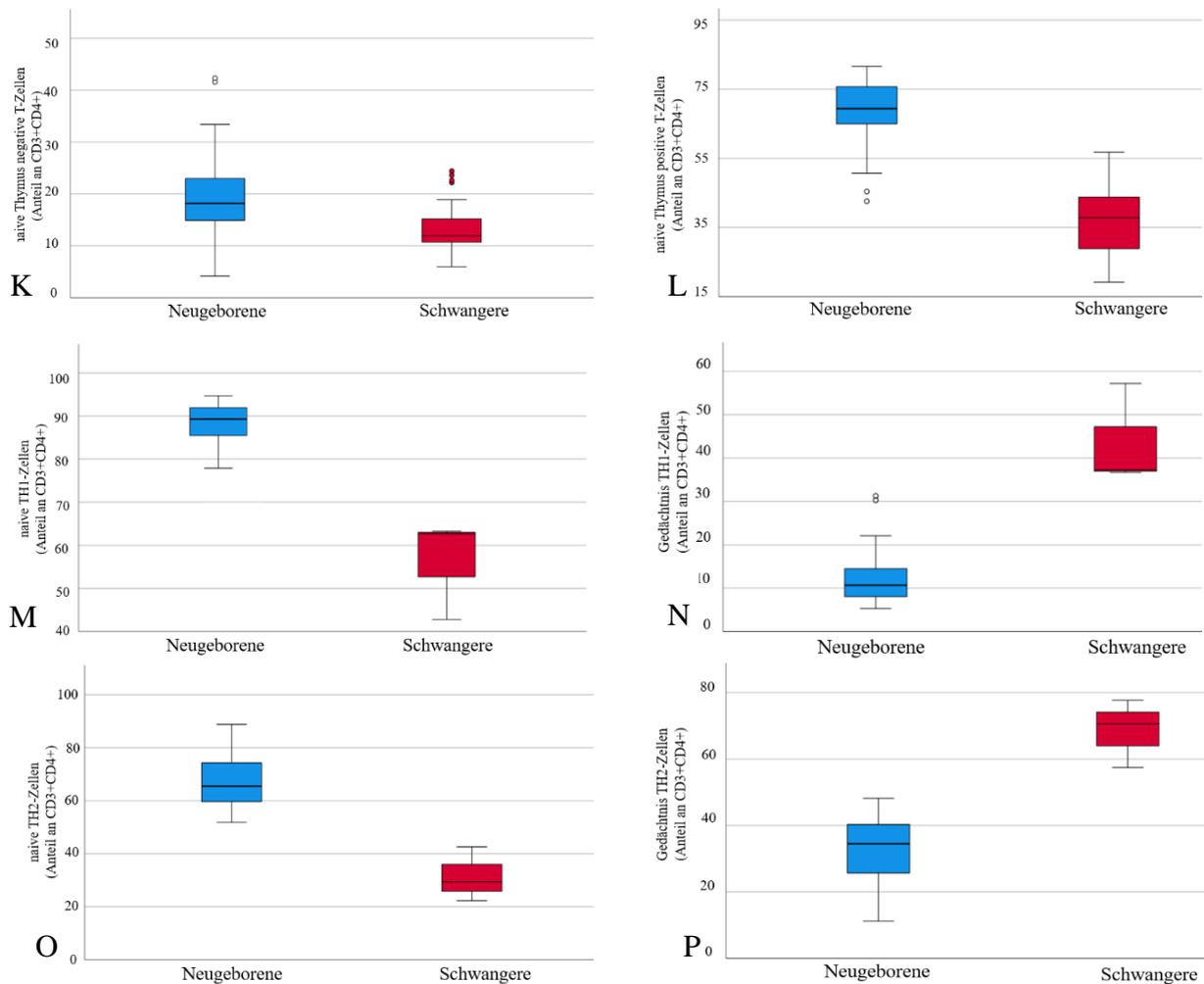


Abbildung 12: T-Zellsubpopulationen im Nabelschnurblut und peripherem Blut.

Zu sehen sind Box-Whisker-Plots der signifikanten Unterschiede in den T-Zellsubpopulationen zwischen NSB und PB. Rote Balken stehen für PB der Schwangeren (SW), blaue Balken für NSB von Neugeborenen. Ausreißer sind als Punkte markiert. Die y-Achse beschreibt die jeweilige Leukozyten-subpopulation anteilig an CD19+ bzw. CD20+ Zellen [%]. Die Whisker-Box-Plots sind angegeben mit Median (M), Minimum (Min.) und Maximum (Max.). **A: T-Helferzellen** NG M 76,2 (Min. 61,6; Max 87,3), SW M 63,75 (Min 43; Max 74); **B: Zytotoxische T-Zellen** NG M 24,5 (Min 12,2; Max 42,9), SW M 32,85 (Min. 21,5; Max. 47,6); **C: Aktivierte T-Helferzellen** NG M 1,28 (Min. 0,54; Max. 3,38), SW M 3,05 (Min 0,68; Max. 9,31) **D: Aktivierte zytotoxische T-Zellen** NG M 1,28 (Min. 0,54; Max. 7,89), SW M 2,7 (Min 1,3; Max. 10,4); **E: Gedächtnis Effektor T-Helferzellen** NG M 5,42 (Min. 1,29; Max. 15,6), SW M 18,8 (Min. 4,46; Max. 40,4); **F: Gedächtnis zentrale T-Helferzellen** NG M 5,4 (min. 1,29; Max. 15,6), SW M 17,3 (Min. 7,03; Max. 33,3); **G: Naive zentrale T-Helferzellen** NG M 3,94 (Min. 1,49; Max. 46,1), SW M 30,1 (Min. 13,2; Max. 49,6); **H: Gedächtnis Effektor zytotoxische T-Zellen** NG M 55,5 (min 10,8; Max. 70,9), SW M 23,4 (Min. 5,97; Max 44,6); **J: naive zentrale zytotoxische T-Zellen** NG M 3,56 (Min. 1,02; Max. 20,3), SW M 23,25 (Min. 11,3; Max. 43); **K: naive Thymus negative T-Helferzellen** NG M 18,2 (Min. 4,14; Max. 81,6), SW M 11,95 (Min 5,97; Max. 24,4); **L: naive Thymus positive T-Helferzellen** NG 69,4 (Min. 42,6; Max. 81,6), SW M 37,85 (Min. 19,2; Max. 56,8); **M: naive T-Helferzellen I** NG M 89,3 (Min. 68,7; Max. 94,7), SW M 62,7 (Min. 1,09; Max. 3,93); **N: Gedächtnis T-Helferzellen Typ I** NG M 10,7 (Min. 5,31; Max. 31,3), SW M 37,3 (Min. 36,7; Max. 63,3); **O: naive T-Helferzellen Typ II** NG M 65,5 (Min. 51,8; Max. 88,8), SW M 29,4 (Min. 22,3; Max. 42,6); **P: Gedächtnis T-Helferzellen Typ II** M 35,5 (Min. 11,2; max. 48,2), SW M 70,6 (Min. 57, 4; Max. 77,7).

4.3 Nabelschnurblut von männlichen und weiblichen Neugeborenen

4.3.1 B-Lymphozyten

Es wurde das Nabelschnurblut von männlichen Neugeborenen (n=16; Ausnahme B1 Zell Populationen n=15) mit dem von weiblichen Neugeborenen (n=21) der Studienkohorte verglichen. Marginalzonen B-Zellen (p=0,01), CD20+CD27+CD43+ B1-Zellen (p=0,023), CD20+CD27+CD43+CD69- B1-Zellen (p=0,025) und CD20+CD27+CD43+CD70- B1-Zellen (p=0,007) zeigten signifikant höhere Werte im NSB von männlichen NG. Auch bei den anderen Gruppen, mit Ausnahme der naiven B-Zellen, transitionalen B-Zellen und CD20+CD27+CD43+CD38- B1-Zellen, waren die Zellzahlen im Nabelschnurblut der männlichen Neugeborenen höher. Nur die Population der CD20+CD27+CD43+CD38- B1-Zellen war signifikant höher im NSB von weiblichen Neugeborenen (p=0,021). **Tabelle 23** gibt einen genauen Überblick über die einzelnen B-Lymphozytensubpopulationen.

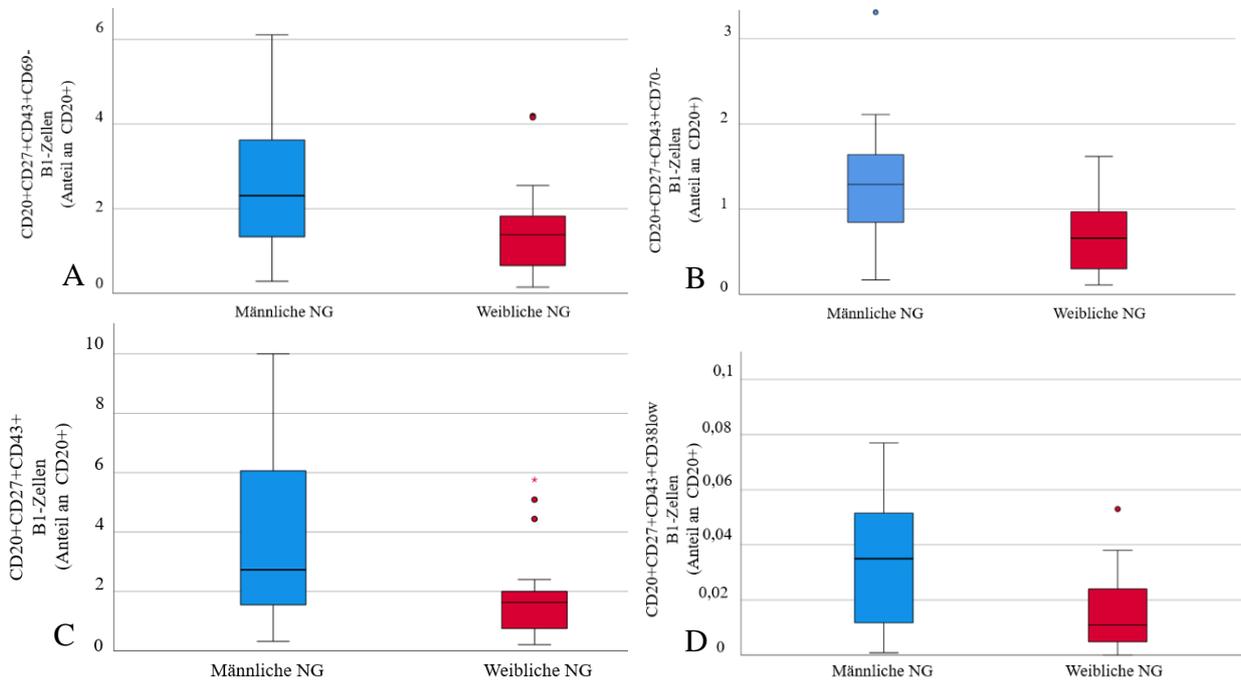
Tabelle 23: B-Lymphozyten bei männliche und weiblichen Neugeborenen.

Angabe mit Mittelwert und Standardabweichung [%]. Gruppenunterschiede wurden mittels Mann-Whitney-U-Test gemessen. Signifikanzniveau p=0,05. Die Gruppen bestanden aus n=16 männlichen NG und n=21 weiblichen NG.

B-Lymphozyten		Mittelwert + Standardabweichung [%]	p-Wert
CD19+ Zellen	m	0,16 (±0,06)	0,108
(Anteil an lebenden Zellen)	w	0,13 (±0,07)	
Unreife B-Zellen	m	6,65 (±4,02)	0,797
(Anteil an CD19+)	w	6,22 (±3,70)	
naive B-Zellen	m	71,98 (±11,72)	0,534
(Anteil an CD19+)	w	75,29 (±8,32)	
Marginalzonen B-Zellen	m	1,67 (±2,11)	0,01
(Anteil an CD19+)	w	0,79 (±1,20)	
Klassengewechselte B-Zellen	m	5,69 (±4,08)	0,844
(Anteil an CD19+)	w	5,33 (±2,61)	
Späte B-Gedächtniszellen	m	3,17 (±2,69)	0,073
(Anteil an CD19+)	w	1,67 (±1,45)	
Plasmablasten	m	5,49 (±3,99)	0,844
(Anteil an CD19+)	w	5,19 (±2,57)	

Ergebnisse

Transitionale B-Zellen	m	82,74 ($\pm 10,98$)	0,892
(Anteil an CD19+)	w	85,42 ($\pm 6,69$)	
B1-Zellen CD27+CD43+	m	3,71 ($\pm 2,92$)	0,023
(Anteil an CD20+)	w	1,82 ($\pm 1,53$)	
B1-Zellen CD20+CD27+CD43+CD69-	m	2,57 ($\pm 1,57$)	0,025
(Anteil an CD20+)	w	1,45 ($\pm 1,13$)	
B1-Zellen CD20+/CD27+CD43+CD70-	m	1,47 ($\pm 1,02$)	0,007
(Anteil an CD20+)	w	0,71 ($\pm 0,47$)	
B1-Zellen CD20+CD27+CD43+CD38low	m	0,06 ($\pm 0,1$)	0,021
(Anteil an CD20+)	w	0,01 ($\pm 0,01$)	
B1-Zellen CD19+CD5+	m	15,21 ($\pm 5,93$)	0,28
(Anteil an lebenden Zellen)	w	13,22 ($\pm 5,73$)	
B2-Zellen	m	0,31 ($\pm 0,32$)	0,13
(Anteil an CD20+)	w	0,23 ($\pm 0,34$)	



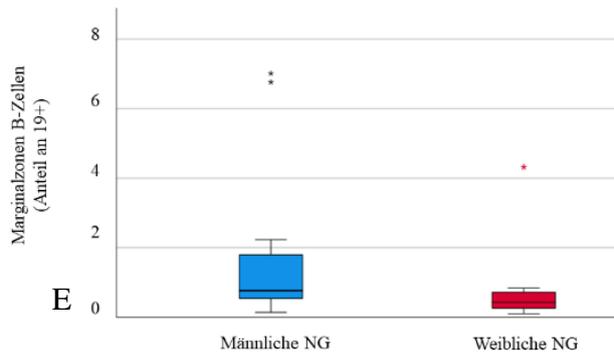


Abbildung 13: B-Lymphozyten von männlichen und weiblichen Neugeborenen.

Zu sehen sind Box-Whisker-Plots der B-Zellsubpopulationen mit signifikanten Unterschieden. Rote Balken stehen für NSB von weiblichen NG (w), blaue Balken für das NSB von männlichen NG(m). Ausreißer sind als Punkte dargestellt. Die y-Achse beschreibt die jeweilige Leukozytensubpopulation anteilig an CD19+ bzw. CD20+ Zellen [%]. Die Whisker-Box-Plots sind angegeben mit Median (M), Minimum (Min.) und Maximum (Max.). **A: CD20+CD27+CD43+CD69- B1-Zellen** M m=2,31 w=1,37 (Min. m=0,29, w=0,15; Max. M= 6,1, w= 4,19); **B: CD20+CD27+CD43+CD70- B1-Zellen** M m=1,29 w=0,66 (Min. m=0,17, w=0,11; Max. m= 3,93, w=1,62); **C: CD20+CD27+CD43+ B1-Zellen** M m=2,7, w= 1,6 (Min. m=0,3, w=0,2); Max. M=10, w=5,8); **D: CD20+CD27+CD43+Cd38low** M m=0,03 w=0,01 (Min. m=0, w=0; Max. M=0,038, w=0,053); **E: MZ-B-Zellen** m=0,8, w= 0,4 (Min. m=0,1, w= 0,1; Max. m= 7, w=4,3).

4.3.2 T-Lymphozyten

Im T-Zell-Panel I untersuchten wir jeweils 16 männliche und 21 weibliche Neugeborene und im T-Zell-Panel II analysierten wir jeweils 11 männliche und 16 weibliche Neugeborene mittels Durchflusszytometrie.

Naive Thymus-negative TH-Zellen waren im Nabelschnurblut männlicher Neugeborener signifikant häufiger vorhanden ($p=0,05$). Zytotoxische T-Zellen, naive Effektor-TH-Zellen, naive Effektor-zytotoxische T-Zellen und naive Thymus-negative TH-Zellen zeigten alle einen höheren Trend im Nabelschnurblut männlicher Neugeborener. Zwölf weitere T-Zell-Subpopulationen (T-Helferzellen, T-Helferzellen mit $\alpha\beta$ -TCR, aktivierte zytotoxische T-Helferzellen mit $\alpha\beta$ -TCR, Gedächtnis-Effektor-T-Helferzellen, naive zentrale T-Helferzellen, naive periphere T-Helferzellen, Gedächtnis-Effektor-zytotoxische T-Zellen, Gedächtnis-periphere zytotoxische T-Zellen, naive periphere zytotoxische T-Zellen und naive Thymus-positive T-Helferzellen) zeigten eine nicht signifikant höhere Anzahl im Nabelschnurblut weiblicher Neugeborener im Vergleich zu männlichen Neugeborenen. Die übrigen untersuchten Subpopulationen (T-Helferzellen 1, naive T-Helferzellen 1, Gedächtnis-T-Helferzellen 1, T-Helferzellen 2, naive T-

Helferzellen 2, Gedächtnis-T-Helferzellen 2 und regulatorische T-Zellen) zeigten ähnliche Zellzahlen in beiden Geschlechtern.

Tabelle 24: T-Lymphozyten bei männlichen und weiblichen Neugeborene.

Angabe mit Mittelwert und Standardabweichung [%]. Gruppenunterschiede wurden mittels Mann-Whitney-U-Test gemessen. Signifikanzniveau $p=0,05$. Die Gruppen bestanden aus $n=16$ männlichen NG und $n=21$ weiblichen NG in Panel I und $n=11$ männliche NG und $n=16$ weibliche NG in Panel II.

T-Lymphozyten		Mittelwert + Standardabweichung [%]	p-Wert
Panel I			
T-Helferzellen	m	74,43 ($\pm 6,59$)	0,229
(Anteil an CD3+CD4+)	w	76,84 ($\pm 7,22$)	
Zytotoxische T-Zellen	m	27,91 ($\pm 7,64$)	0,123
(Anteil an CD3+CD8+)	w	24,24 ($\pm 7,69$)	
Aktivierte TH-Zellen mit $\alpha\beta$-TZR	m	1,46 ($\pm 1,25$)	0,175
(Anteil an TZR-$\alpha\beta$+ Zellen)	w	2,33 ($\pm 2,01$)	
Aktivierte zytotoxische TH-Zellen mit $\alpha\beta$-TZR	m	0,64 ($\pm 0,63$)	0,267
(Anteil an TZR-$\alpha\beta$+ Zellen)	w	0,89 ($\pm 0,8$)	
Gedächtnis Effektor T-Helferzellen	m	49,49 ($\pm 13,62$)	0,457
(Anteil an CD3+CD4+ Zellen)	w	52,07 ($\pm 15,83$)	
Gedächtnis-zentrale T-Helferzellen	m	5,73 ($\pm 2,82$)	0,575
(Anteil an CD3+CD4+ Zellen)	w	6,65 ($\pm 4,1$)	
naive Effektor T-Helferzellen	m	40,85 ($\pm 15,23$)	0,165
(Anteil an CD3+CD4+ Zellen)	w	34,85 ($\pm 11,76$)	
naive zentrale T-Helferzellen	m	3,92 ($\pm 1,35$)	0,617
(Anteil an CD3+CD4+ Zellen)	w	6,41 ($\pm 9,36$)	
Gedächtnis Effektor zytotoxische T-Zellen	m	50,81 ($\pm 13,83$)	0,404
(Anteil an CD3+CD8+ Zellen)	w	53,69 ($\pm 14,08$)	
Gedächtnis zentrale zytotoxische T-Zellen	m	6,18 ($\pm 4,29$)	0,66
(Anteil an CD3+CD8+ Zellen)	w	7,78 ($\pm 6,36$)	
naive Effektor zytotoxische T-Zellen	m	39,42 ($\pm 14,62$)	0,241
(Anteil an CD3+CD8+ Zellen)	w	34,09 ($\pm 10,64$)	
	m	3,58 ($\pm 1,63$)	0,728

Ergebnisse

naive zentrale zytotoxische T-Zellen (Anteil an CD3+CD8+ Zellen)	w	4,47 ($\pm 4,15$)	
Naive Thymus negative TH-Zellen (Anteil an CD3+CD4+ Zellen)	m	24,42 ($\pm 9,77$)	0,005
	w	15,91 ($\pm 5,69$)	
Naive Thymus positive TH-Zellen (Anteil an CD3+CD4+ Zellen)	m	65,73 ($\pm 9,41$)	0,055
	w	70,78 ($\pm 9,62$)	
Panel II			
T-Helferzellen Typ I (Anteil an CD3+)	m	2,85 ($\pm 1,58$)	0,61
	w	2,76 ($\pm 1,86$)	
naive T-Helferzellen Typ I (Anteil an CD3+CD4+ Zellen)	m	87,24 ($\pm 6,98$)	0,544
	w	88,11 ($\pm 6,8$)	
Gedächtnis T-Helferzellen Typ I (Anteil an CD3+CD4+ Zellen)	m	12,76 ($\pm 6,99$)	0,512
	w	11,90 ($\pm 6,8$)	
T-Helferzellen Typ II (Anteil an CD3+)	m	0,69 ($\pm 0,49$)	0,544
	w	0,53 ($\pm 0,29$)	
naive T-Helferzellen Typ II (Anteil an CD3+CD4+ Zellen)	m	66,75 ($\pm 8,65$)	0,904
	w	67,59 ($\pm 11,17$)	
Gedächtnis T-Helferzellen Typ II (Anteil an CD3+CD4+ Zellen)	m	33,25 ($\pm 8,65$)	0,904
	w	32,41 ($\pm 11,17$)	
regulatorische T-Zellen (Anteil an CD3+ Zellen)	m	2,29 ($\pm 0,64$)	0,79
	w	2,38 ($\pm 0,68$)	

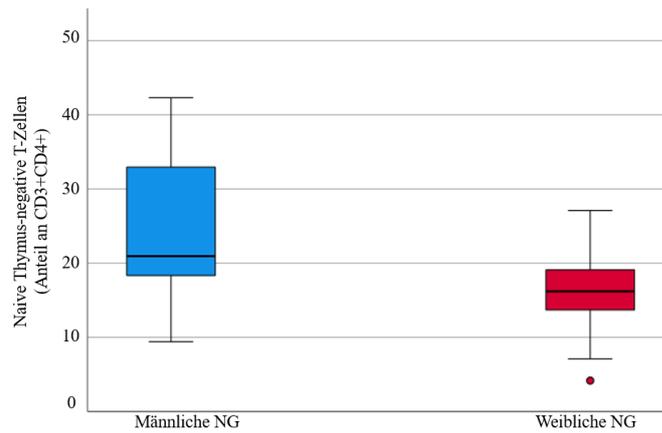


Abbildung 14: T-Lymphozyten von männlichen und weiblichen Neugeborenen.

Zu sehen ist ein Box-Whisker-Plot von naiven Thymusnegativen T-Zellen mit signifikanten Unterschieden. Der Rote Balken steht für NSB von weiblichen NG (w), der blaue Balken für das NSB von männlichen NG (m). Ausreißer sind als Punkte dargestellt. Die y-Achse beschreibt die naiven Thymus negativen T-Zellen anteilig an CD3+CD4+ Zellen [%]. Median m= 21, w=16,2; Min. m=9,4, w= 4,2; Max. m=42,3, w= 27,1).

4.4 Vorerkrankungen als Einflussfaktoren auf die Lymphozyten Subpopulationen im peripheren Blut von Schwangeren

In der Gruppe der Schwangeren wurden eine Kontrollgruppe (n=29) gesunder Probandinnen mit einer Gruppe (n=3) asthmatischer Probandinnen verglichen. Hierbei ergaben sich keine signifikanten Gruppenunterschiede, sowohl beim Vergleich der B-Zell Subpopulationen, als auch beim Vergleich der T-Zell Subpopulationen. Bei dem Vergleich einer Kontrollgruppe (n=24) gesunder Probandinnen mit einer Gruppe (n=8) von Probandinnen mit anamnestisch vorbekannter allergischer Rhinitis konnte ebenfalls kein signifikanter Unterschied bei B- und T-Zellpopulationen detektiert werden.

Des Weiteren wurden die Schwangeren mit vorbekannten atopischen Erkrankungen (n=11) mit einer gesunden Kontrollgruppe (n=21) verglichen. Als atopische Erkrankungen definierten wir Asthma bronchiale, allergische Rhinitis und atopische Dermatitis. Hier zeigten Marginalzonen B-Zellen signifikant höhere Werte in der Kontrollgruppe (p=0,03).

Tabelle 25: B-Lymphozyten Subpopulationen im peripheren Blut der Schwangeren.

Angabe mit Mittelwert und Standardabweichung [%]. Gruppenunterschiede wurden mittels Mann-Whitney-U-Test gemessen. Signifikanzniveau p=0,05. Die Gruppen bestanden aus n=21 nicht vorerkrankten Schwangeren und n=11 Schwangeren mit atopischer Vorerkrankung.

B-Lymphozyten	Atopie Mutter	Mittelwert + Standardabweichung [%]	p-Wert
Unreife B-Zellen	1	29,2 (±9,7)	0,53
(Anteil an CD19+)	0	27,6 (±10,2)	
Naive B-Zellen	1	38,4(±9,3)	0,35
(Anteil an CD19+)	0	41,1 (±12)	
Marginalzonen B-Zellen (Anteil an CD19+)	1	0,6 (±0,4)	0,03
	0	1,3 (±1)	
Klassengewechselte B-Zellen	1	6,1 (±3,4)	0,76
(Anteil an CD19+)	0	6,9 (±4,5)	
späte Gedächtnis B-Zellen	1	1,86 (±1,3)	0,41
(Anteil an CD19+)	0	2,3 (±1,4)	
Plasmablasten	1	4,3 (±2,8)	0,93
(Anteil an CD19+)	0	4,3 (±3,1)	
Transitionale B-Zellen	1	49,9 (±12,5)	0,39
(Anteil an CD19+)	0	53,7 (±13)	

Ergebnisse

CD20+CD27+CD43+	1	2,5 ($\pm 1,8$)	0,43
B1-Zellen	0	3,2 ($\pm 1,9$)	
(Anteil an CD20+)			
CD20+CD27+CD43+CD70-	1	1,34 (1,02)	0,94
B1-Zellen	0	1,3 (0,79)	
(Anteil an CD20+)			
CD20+CD27+CD43+CD69-	1	1,52 (1,25)	0,29
B1-Zellen	0	2,11 (1,51)	
(Anteil an CD20+)			
CD20+CD27+CD43+CD38low	1	0,24 (0,19)	0,35
B1-Zellen	0	0,38(0,34)	
(Anteil an CD20+)			
CD19+CD5+ B1-Zellen	1	3,33 (2,08)	0,43
(Anteil an lebenden Zellen)	0	4,33 (4,1)	
B2-Zellen	1	1 ($\pm 0,6$)	0,61
(Anteil an CD20+)	0	2 ($\pm 2,1$)	

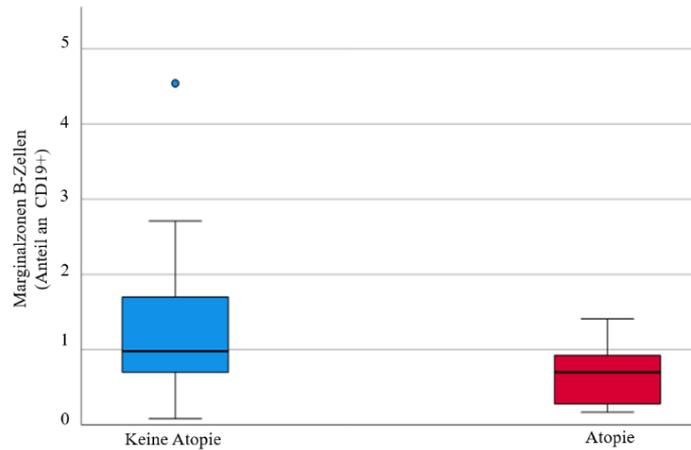


Abbildung 15: Atopie bei Schwangeren Marginalzonen-B-Zellen.

Zu sehen ist ein Box-Whisker-Plot der Marginalzonen B-Zellen im PB von Schwangeren. Der rote Balken steht für PB von gesunden Müttern ohne eine atopisches Vorerkrankung (G), der blaue Balken für Mütter mit einer atopischen Vorerkrankung (AV). Ausreißer sind als Punkte angegeben. Die y-Achse beschreibt die jeweilige Leukozytensubpopulation anteilig an CD19+ [%]. Der Whisker-Box-Plot ist angegeben mit Median G= 0,98 AV=0,7, Minimum G=0,08, AV=0,17 und Maximum G=4,54, AV=1,41.

4.5 Vorerkrankungen der Mütter als Einflussfaktoren auf die Lymphozytensubpopulationen im Nabelschnurblut von Neugeborenen

4.5.1 B-Lymphozyten

Es wurde das Nabelschnurblut einer Gruppe von Neugeborenen mit gesunden Müttern, sowie das Nabelschnurblut je einer Gruppe von Neugeborenen, bei deren Mütter anamnestisch Asthma oder allergische Rhinitis bekannt war, untersucht und hinsichtlich je 14 B-Zell Subpopulationen miteinander verglichen. Dabei ergab sich im Vergleich der Kontrollgruppe (n=31) mit der Gruppe der Neugeborenen mit asthmatischen Müttern (n=3) kein signifikanter Unterschied. Bei dem Vergleich der Kontrollgruppe (n=26) mit NSB von Neugeborenen, deren Mütter eine allergische Rhinitis angegeben hatten, zeigten sich signifikant höhere Werte im NSB bei vorerkrankten Müttern in den Gruppen der unreifen B-Zellen (p=0,01), der klassengewechselten B-Zellen (p=0,01) und der Plasmablasten (p=0,01). Transitionalen B-Zellen waren in der Kontrollgruppe signifikant erhöht (p=0,01). In den übrigen Subgruppen zeigten sich keine signifikanten Unterschiede. Die Mittelwerte und Standardabweichungen sind in **Tabelle 26** nachzuvollziehen.

Tabelle 26: B-Lymphozytensubpopulationen im Nabelschnurblut bei allergischer Rhinitis.

Angabe mit Mittelwert und Standardabweichung [%]. Gruppenunterschiede wurden mittels Mann-Whitney-U-Test gemessen. Signifikanzniveau p=0,05. Die Gruppen bestanden aus n=26 Kindern von nicht vorerkrankten Schwangeren und n=8 Schwangeren mit allergischer Rhinitis.

B-Lymphozyten	Allergische Rhinitis	Mittelwert + Standardabweichung [%]	p-Wert
Unreife B-Zellen	1	9,11 (±3,80)	0,01
(Anteil an CD19+)	0	5,26 (±3,28)	
Naive B-Zellen	1	69,63 (±10,74)	0,1
(Anteil an CD19+)	0	76,26 (±8,41)	
Marginalzonen B-Zellen	1	1,47 (±2,19)	0,39
(Anteil an CD19+)	0	1 (±1,51)	
Klassengewechselte B-Zellen	1	8,06 (±3,66)	0,01
(Anteil an CD19+)	0	4,5 (±2,72)	
späte Gedächtnis B-Zellen	1	2,84 (±2,98)	0,59
(Anteil an CD19+)	0	2,00 (±1,81)	
Plasmablasten	1	7,84 (±3,57)	0,01

Ergebnisse

(Anteil an CD19+)	0	4,36 ($\pm 2,68$)	
Transitionale B-Zellen	1	78,2 ($\pm 9,12$)	0,01
(Anteil an CD19+)	0	86,85 ($\pm 7,03$)	
B1-Zellen	1	3,48 ($\pm 3,08$)	0,27
(Anteil an CD20+)	0	2,18 ($\pm 1,93$)	
B1-Zellen	1	2,27 (1,43)	0,4
CD20+CD27+CD43+CD69-	0	1,77 (1,41)	
(Anteil an CD20+)			
B1-Zellen	1	1,18 (0,67)	0,24
CD20+/CD27+CD43+CD70-	0	0,93 (0,77)	
(Anteil an CD20+)			
B1-Zellen	1	0,02 (0,01)	0,9
CD20+CD27+CD43+CD38-	0	0,03 (0,04)	
(Anteil an CD20+)			
B1-Zellen CD19+ CD5+	1	15,15 (7,21)	0,8
(Anteil an lebenden Zellen)	0	13,81(5,52)	
B2-Zellen	1	0,23 ($\pm 0,18$)	0,24
(Anteil an CD20+)	0	0,27 ($\pm 0,38$)	

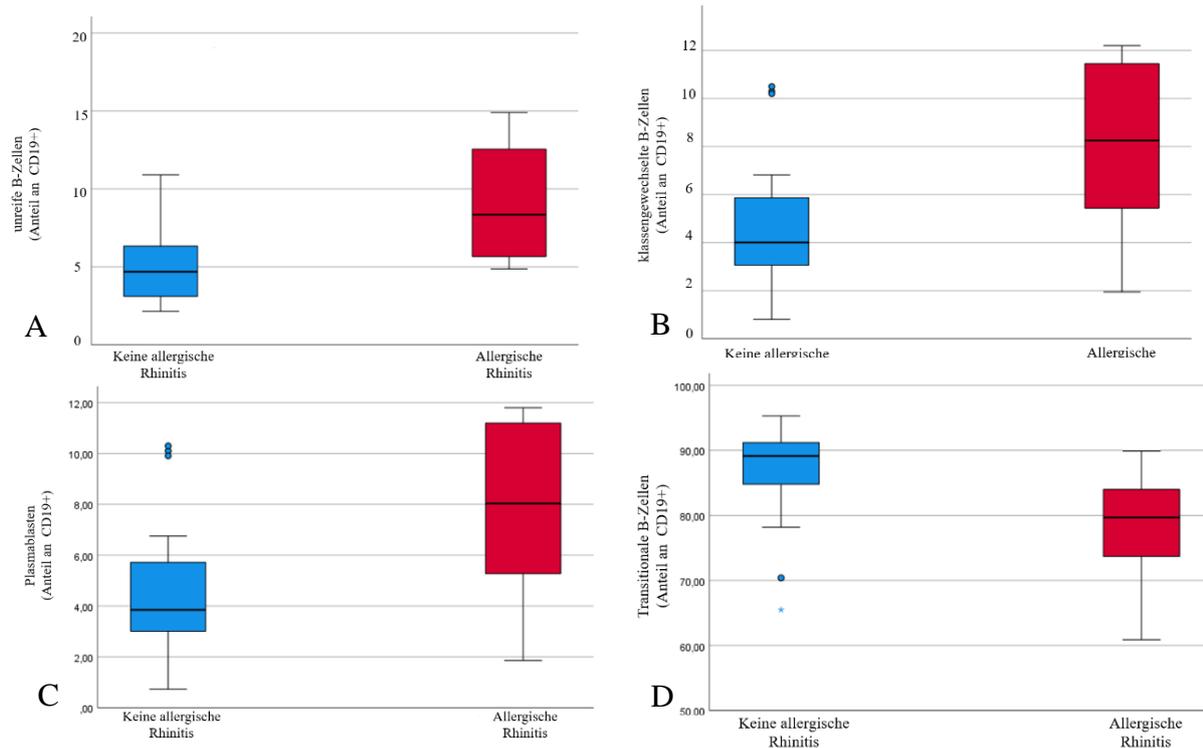


Abbildung 16: B-Lymphozyten im Nabelschnurblut bei allergischer Rhinitis der Mutter.

Zu sehen sind Box-Whisker-Plots der B-Zellsubpopulationen mit signifikanten Unterschieden. Rote Balken stehen für NSB von Kindern mit Müttern mit einer allergischen Rhinitis (AR), blaue Balken für Kindern mit gesunden Müttern ohne eine allergische Rhinitis (G). Ausreißer sind als Punkte angegeben. Die y-Achse beschreibt die jeweilige Leukozytensubpopulation anteilig an CD19+ Zellen [%]. Die Whisker-Box-Plots sind angegeben mit Median (M), Minimum (Min.) und Maximum (Max.). **A: Unreife B-Zellen** M G=4,69, AR=8,35 (Min. G=2,15, AR=4,56; Max. G=18,2 AR=14,9), **B: klassengewechselte B-Zellen** M G=4, AR=8,25 (Min. G=0,81, AR=1,95;Max. G=10,5 AR=12,5), **C: Plasmablasten** M G=3,8, AR=8,03 (Min. G=0,73, AR=1,86;Max. G=10,3 AR=11,8), **D: Transitionale B-Zellen** M G=89,15, AR=79,7 (Min. G=65,5, AR=60,9; Max. G=95,3= AR=89,9).

Auch zur Untersuchung des NSB verglichen wir die Testgruppe von Kindern mit atopischen Müttern (n=11) (Asthma bronchiale, allergische Rhinitis und atopische Dermatitis) mit Kindern von Schwangeren ohne Vorerkrankungen (n=23). Wir fanden signifikant Unterschiede für folgende Subpopulationen: unreife B-Zelle (p=0,05), klassengewechselte B-Zellen (0,04), Plasmablasten (p=0,046) und transitionale B-Zelle n (p=0,009). Mittelwerte und Standardabweichung sind **Tabelle 27** zu entnehmen.

Tabelle 27: B-Lymphozytensubpopulationen im Nabelschnurblut bei Atopie der Mutter.

Angabe mit Mittelwert und Standardabweichung [%]. Gruppenunterschiede wurden mittels Mann-Whitney-U-Test gemessen. Signifikanzniveau $p=0,05$. Die Gruppen bestanden aus $n=23$ NSB von Kindern mit nicht vorerkrankten Müttern und $n=11$ NSB von Kindern mit Müttern mit atopischer Vorerkrankung.

B-Lymphozyten	Atopie	Mittelwert + Standardabweichung [%]	p-Wert
Unreife B-Zellen	1	8,73 ($\pm 5,21$)	0,05
(Anteil an CD19+)	0	4,95 ($\pm 1,95$)	
Naive B-Zellen	1	70,69 ($\pm 12,58$)	0,291
(Anteil an CD19+)	0	76,61 ($\pm 6,75$)	
Marginalzonen B-Zellen	1	1,15 ($\pm 1,92$)	0,8
(Anteil an CD19+)	0	1,10 ($\pm 1,58$)	
Klassengewechselte B-Zellen	1	7,23 ($\pm 4,04$)	0,04
(Anteil an CD19+)	0	4,44 ($\pm 2,48$)	
späte Gedächtnis B-Zellen	1	2,46 ($\pm 2,58$)	0,4
(Anteil an CD19+)	0	2,08 ($\pm 1,92$)	
Plasmablasten	1	7,03 ($\pm 3,96$)	0,046
(Anteil an CD19+)	0	4,29 ($\pm 2,44$)	
Transitionale B-Zellen	1	79,3 ($\pm 10,19$)	0,009
(Anteil an CD19+)	0	87,46 ($\pm 5,82$)	
B1-Zellen	1	2,73 ($\pm 2,89$)	0,74
(Anteil an CD20+)	0	2,37 ($\pm 1,97$)	
B1-Zellen	1	1,78 (1,47)	0,51
CD20+CD27+CD43+CD69-	0	1,95 (1,4)	
(Anteil an CD20+)			
B1-Zellen	1	0,97 (0,67)	1,0
CD20+/CD27+CD43+CD70-	0	1,01 (0,79)	
(Anteil an CD20+)			
B1-Zellen	1	0,02 (0,01)	0,26
CD20+CD27+CD43+CD38-	0	0,03 (0,05)	
(Anteil an CD20+)			
B1-Zellen CD19+ CD5+	1	15,74 (7,61)	0,59
(Anteil an lebenden Zellen)	0	13,35 (4,83)	
B2-Zellen	1	0,32 ($\pm 0,4$)	0,2
(Anteil an CD20+)	0	0,23 ($\pm 0,31$)	

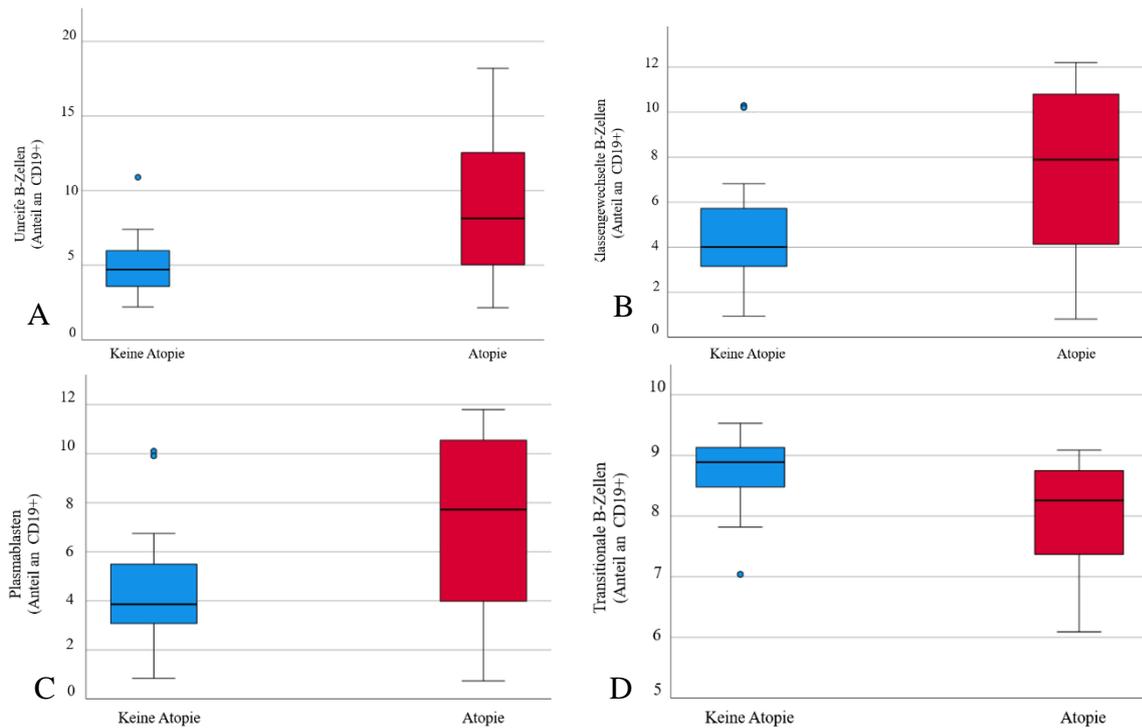


Abbildung 17: B-Zellen im Nabelschnurblut bei Müttern mit Atopie.

Zu sehen sind Box-Whisker-Plots der B-Zellsubpopulationen mit signifikanten Unterschieden. Rote Balken stehen für NSB von Kindern mit Müttern mit atopischer Vorerkrankung, blaue Balken für Kindern mit Müttern ohne atopische Vorerkrankung. Ausreißer sind als Punkte angegeben. Die y-Achse beschreibt die jeweilige Leukozytensubpopulation anteilig an CD19+ Zellen [%]. Die Whisker-Box-Plots sind angegeben mit Median, Minimum und Maximum. **A: Unreife B-Zellen** M G=4,72, A=8,14 (Min. G=2,12, A=2,15; Max. G=10,9 A=18,2), **B: klassengewechselte B-Zellen** M G=4, A=7,89 (Min. G=0,81, A=94;Max. G=10,3 A=12,2), **C: Plasmablasten** M G=3,8, A=7,72 (Min. G=0,84, A=0,73;Max. G=10,1 A=11,8), **D: Transitionale B-Zellen** M G=89, A=82,6 (Min. G=70,4, A=60,9; Max. G=95,3= A=90,9).

4.5.2 T-Lymphozyten

Es wurde das Nabelschnurblut einer Gruppe von Neugeborenen mit gesunden Müttern, sowie das Nabelschnurblut je einer Gruppe von Neugeborenen, bei deren Müttern anamnestisch Asthma oder Heuschnupfen bekannt war untersucht und hinsichtlich je 21 T-Zell Subpopulationen miteinander verglichen. Wie bereits oben beschrieben erfolgte die Messung der T-Zellen in zwei separaten Panels mit einer unterschiedlichen Probenanzahl. Beim Vergleich des NSB bei mütterlich vorbekanntem Asthma (n=3) und NSB bei gesunden Müttern (n=31) wurden signifikant höhere Werte bei der Subpopulation der naiven Thymuspositiven T-Helferzellen ($p=0,008$) in der Kontrollgruppe gemessen.

Tabelle 28: T-Lymphozyten im Nabelschnurblut bei Müttern mit Asthma.

Angabe mit Mittelwert und Standardabweichung [%]. Gruppenunterschiede wurden mittels Mann-Whitney-U-Test gemessen. Signifikanzniveau $p=0,05$. Im Panel I waren $n=31$ Kindern von nicht vorerkrankten Müttern und $n=3$ Mütter mit Asthma bronchiale. Im Panel II waren $n=23$ Kinder von nicht vorerkrankten Müttern und $n=1$ Mutter mit Asthma bronchiale.

T-Lymphozyten		Mittelwert + Standardabweichung [%]	p-Wert
Panel I			
T-Helferzellen	0	74,71 ($\pm 6,85$)	0,41
(Anteil an CD3+CD4+)	1	78,27 ($\pm 4,83$)	
Zytotoxische Zellen	0	26,87 ($\pm 7,83$)	0,35
(Anteil an CD3+CD8+)	1	21,53 ($\pm 5,97$)	
Akt. TH-Zellen mit $\alpha\beta$-TZR	0	93,53 ($\pm 1,76$)	0,29
(Anteil an TZR-$\alpha\beta$+ Zellen)	1	92,33 ($\pm 2,34$)	
Akt. zytotoxische TH-Zellen mit $\alpha\beta$-TZR	0	25,28 ($\pm 7,79$)	0,19
(Anteil an TZR-$\alpha\beta$+ Zellen)	1	18,97 ($\pm 7,91$)	
Gedächtnis Effektor T-Helferzellen	0	53,00 ($\pm 13,13$)	0,08
(Anteil an CD3+CD4+ Zellen)	1	32,04 ($\pm 26,43$)	
Gedächtnis-zentrale T-Helferzellen	0	6,10 ($\pm 3,50$)	0,26
(Anteil an CD3+CD4+ Zellen)	1	8,90 ($\pm 5,14$)	
naive Effektor T-Helferzellen	0	36,85 ($\pm 14,51$)	0,41
(Anteil an CD3+CD4+ Zellen)	1	39,23 ($\pm 5,46$)	
naive zentrale T-Helferzellen	0	4,03 ($\pm 1,71$)	0,07
(Anteil an CD3+CD4+ Zellen)	1	19,83 ($\pm 22,98$)	
Gedächtnis Effektor zytotoxische T-Zellen	0	53,77 ($\pm 12,77$)	0,41
(Anteil an CD3+CD8+ Zellen)	1	42,47 ($\pm 27,47$)	
Gedächtnis zentrale zytotoxische T-Zellen	0	5,84 ($\pm 3,86$)	0,14
(Anteil an CD3+CD8+ Zellen)	1	12,94 ($\pm 11,45$)	
naive Effektor zytotoxische T-Zellen	0	36,91 ($\pm 13,32$)	0,96
(Anteil an CD3+CD8+ Zellen)	1	35,37 ($\pm 6,86$)	
	0	3,49 ($\pm 1,91$)	0,29

Ergebnisse

naive zentrale zytotoxische T-Zellen	1	9,24 (\pm	
(Anteil an CD3+CD8+ Zellen)		9,65)	
Naive Thymus negative TH-Zellen	0	19,25 (\pm 8,37)	0,78
(Anteil an CD3+CD4+ Zellen)	1	17,76 (\pm 14,31)	
Naive Thymus positive Zellen	0	70,41 (\pm 8,85)	0,01
(Anteil an CD3+CD4+ Zellen)	1	53,10 (\pm 9,09)	
Panel II			
T-Helferzellen Typ I	0	2,47 (\pm 1,35)	0,5
(Anteil an CD3+)	1	1,39	
naive T-Helferzellen Typ I	0	86,76 (\pm 6,82)	0,75
(Anteil an CD3+CD4+ Zellen)	1	90,4	
Gedächtnis T-Helferzellen Typ I	0	13,24 (\pm 6,82)	0,75
(Anteil an CD3+CD4+ Zellen)	1	9,64	
T-Helferzellen Typ II	0	0,61 (\pm 0,40)	1,00
(Anteil an CD3+)	1	0,5	
naive T-Helferzellen Typ II	0	65,95 (\pm 10,15)	0,83
(Anteil an CD3+CD4+ Zellen)	1	67,5	
Gedächtnis T-Helferzellen Typ II	0	34,05 (\pm 10,15)	0,83
(Anteil an CD3+CD4+ Zellen)	1	32,5	
regulatorische T-Zellen	0	2,38 (\pm 0,66)	0,5
(Anteil an CD3+ Zellen)	1	2,8	

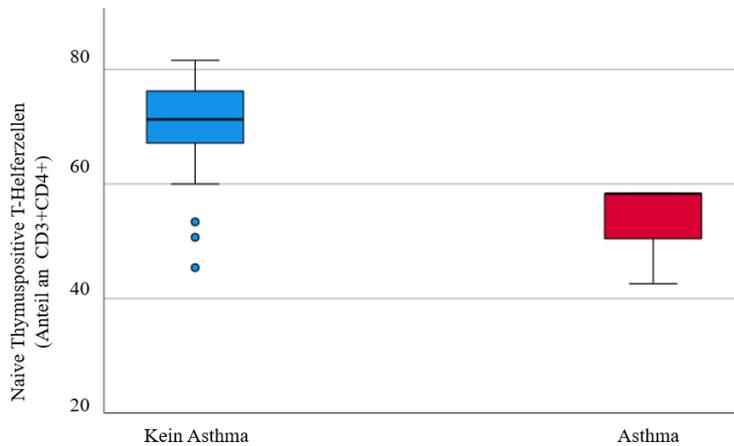


Abbildung 18: T-Lymphozyten im Nabelschnurblut bei Müttern mit Asthma.

Zu sehen ist ein Box-Whisker-Plot von naiven Thymuspositiven T-Helferzellen mit signifikanten Unterschieden. Der rote Balken steht für NSB von Kindern mit Müttern mit Asthma bronchiale (AB), der blaue Balken für Kindern mit gesunden Müttern ohne Asthma bronchiale (G). Ausreißer sind als Punkte angegeben. Die y-Achse beschreibt die jeweilige Leukozytensubpopulation anteilig an CD3+CD4+ [%]. Der Whisker-Box-Plot ist angegeben mit Median G=71,3 AB=58,9, Minimum G=45,6, AB=42,6 und Maximum G=81,6 AB=58,4

Beim Vergleich des NSB bei anamnestisch vorbekannter mütterlicher allergischer Rhinitis und NSB der Kontrollgruppe zeigte die Versuchsgruppe signifikant höhere Werte in der Gruppe der naiven Effektor T-Helferzellen ($p=0,017$). Im T1 Panel wurden hier 26 NSB-Proben von gesunden Schwangeren mit 8 NSB Proben mit vorerkrankten Schwangeren verglichen. Im T2 Panel waren es 18 gesunde und 6 vorerkrankte NSB.

Tabelle 29: T-Lymphozyten Subpopulationen im Nabelschnurblut bei Müttern mit allergischer Rhinitis.

Angabe mit Mittelwert und Standardabweichung [%]. Gruppenunterschiede wurden mittels Mann-Whitney-U-Test gemessen. Signifikanzniveau $p=0,05$. Im Panel I waren $n=26$ Kindern von nicht vorerkrankten Schwangeren und $n=8$ Schwangeren mit allergischer Rhinitis. Im Panel II waren $n=18$ Kindern von nicht vorerkrankten Schwangeren und $n=6$ Schwangere mit allergischer Rhinitis

T-Lymphozyten		Mittelwert + Standardabweichung [%]	p-Wert
Panel I			
T-Helferzellen (Anteil an CD3+CD4+)	0	75,74 ($\pm 6,75$)	0,288
	1	72,70 ($\pm 6,48$)	
Zytotoxische Zellen	0	25,68 ($\pm 7,96$)	0,253
	1	28,73 ($\pm 7,06$)	

Ergebnisse

(Anteil an CD3+CD8+)			
Aktivierete TH-Zellen mit $\alpha\beta$-TZR	0	93,75 ($\pm 1,53$)	0,064
(Anteil an TZR-$\alpha\beta$+ Zellen)	1	92,36 ($\pm 2,31$)	
Akt. zytotoxische TH-Zellen mit $\alpha\beta$-TZR	0	24,02 ($\pm 8,28$)	0,25
(Anteil an TZR-$\alpha\beta$+ Zellen)	1	27,00 ($\pm 6,39$)	
Gedächtnis Effektor T-Helferzellen	0	53,24 ($\pm 15,31$)	0,06
(Anteil an CD3+CD4+ Zellen)	1	44,38 ($\pm 14,28$)	
Gedächtnis-zentrale T-Helferzellen	0	6,93 ($\pm 3,86$)	0,13
(Anteil an CD3+CD4+ Zellen)	1	4,47 ($\pm 2,21$)	
naive Effektor T-Helferzellen	0	33,91 ($\pm 11,36$)	0,02
(Anteil an CD3+CD4+ Zellen)	1	47,30 ($\pm 17,18$)	
naive zentrale T-Helferzellen	0	5,91 ($\pm 8,46$)	0,95
(Anteil an CD3+CD4+ Zellen)	1	3,86 ($\pm 1,27$)	
Gedächtnis Effektor zytotoxische T-Zellen	0	53,62 ($\pm 14,90$)	0,41
(Anteil an CD3+CD8+ Zellen)	1	50,01 ($\pm 12,66$)	
Gedächtnis zentrale zytotoxische T-Zellen	0	7,06 ($\pm 5,50$)	0,33
(Anteil an CD3+CD8+ Zellen)	1	4,54 ($\pm 2,78$)	
naive Effektor zytotoxische T-Zellen	0	34,90 ($\pm 11,79$)	0,16
(Anteil an CD3+CD8+ Zellen)	1	42,86 ($\pm 14,93$)	
naive zentrale zytotoxische T-Zellen	0	4,43 ($\pm 3,76$)	0,08
(Anteil an CD3+CD8+ Zellen)	1	2,60 ($\pm 1,26$)	
Naive Thymus negative TH-Zellen	0	19,27 ($\pm 9,28$)	0,62
(Anteil an CD3+CD4+ Zellen)	1	18,61 ($\pm 7,21$)	
Naive Thymus positive Zellen	0	67,65 ($\pm 10,50$)	0,19
(Anteil an CD3+CD4+ Zellen)	1	72,88 ($\pm 7,62$)	
Panel II			
T-Helferzellen Typ I	0	2,65 ($\pm 1,37$)	0,16
(Anteil an CD3+)	1	1,75 ($\pm 1,09$)	
naive T-Helferzellen Typ I	0	85,91 ($\pm 7,41$)	0,28
(Anteil an CD3+CD4+ Zellen)	1	89,92 ($\pm 2,47$)	
Gedächtnis T-Helferzellen Typ I	0	14,09 ($\pm 7,41$)	0,28
(Anteil an CD3+CD4+ Zellen)	1	10,09	

Ergebnisse

T-Helferzellen Typ II	0	0,66 ($\pm 0,44$)	0,42
(Anteil an CD3+)	1	0,45 ($\pm 0,19$)	
naive T-Helferzellen Typ II	0	64,12 ($\pm 9,61$)	0,08
(Anteil an CD3+CD4+ Zellen)	1	71,68 ($\pm 9,40$)	
Gedächtnis T-Helferzellen Typ II	0	35,88 ($\pm 9,61$)	0,08
(Anteil an CD3+CD4+ Zellen)	1	28,32 ($\pm 9,40$)	
regulatorische T-Zellen	0	2,31 ($\pm 0,65$)	0,16
(Anteil an CD3+ Zellen)	1	2,68 ($\pm 0,62$)	

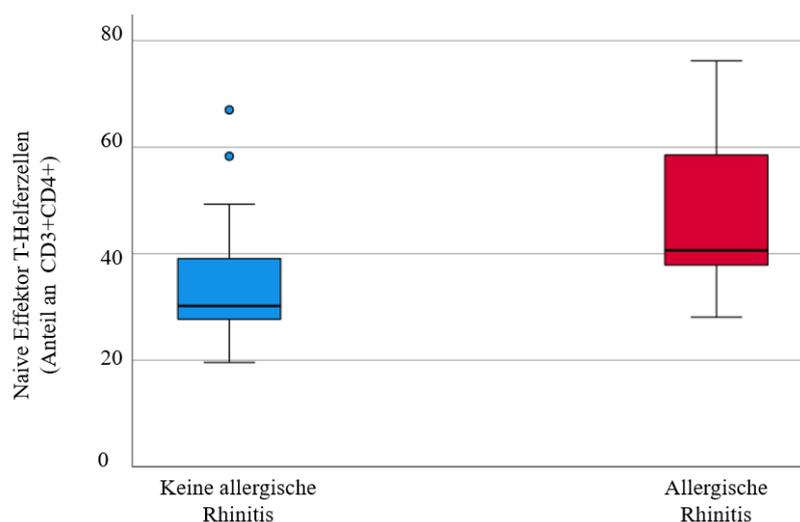


Abbildung 19: T-Lymphozyten im Nabelschnurblut bei Müttern mit Allergischer Rhinitis

Zu sehen ist ein Box-Whisker-Plot von naiven Effektor T-Helferzellen mit signifikanten Unterschieden ($p=0,02$). Der rote Balken steht für NSB von Kindern mit Müttern mit allergischer Rhinitis (AR), der blaue Balken für Kinder mit Müttern ohne allergische Rhinitis (G). Ausreißer sind als Punkte angegeben. Die y-Achse beschreibt die jeweilige Leukozytensubpopulation anteilig an CD3+CD4+ Zellen [%]. Der Whisker-Box-Plot ist angegeben mit Median G=30,2 AR=40,65, Minimum G=19,6, AR=28,1 und Maximum G=67 AR=76,2.

Der Vergleich des NSB von atopisch vorerkrankten Schwangeren ergab signifikante Unterschiede in den Subpopulationen der naiven TH2-Zellen ($p=0,04$), sowie Gedächtnis TH2-Zellen ($p=0,04$).

Tabelle 30: T-Lymphozyten im Nabelschnurblut bei Schwangeren mit Atopie.

Angabe mit Mittelwert und Standardabweichung [%]. Gruppenunterschiede wurden mittels Mann-Whitney-U-Test gemessen. Signifikanzniveau $p = 0,05$. Die Gruppen bestanden im Panel I aus $n=23$ NSB von Kinder mit nicht-vorerkrankten Müttern und $n=11$ NSB von Kindern mit Müttern mit atopischer Vorerkrankung. Im Panel II aus $n=19$ NSB von Kinder mit nicht-vorerkrankten Müttern und $n=5$ Kindern mit Müttern mit atopischer Vorerkrankung.

T-Lymphozyten		Mittelwert + Standardabweichung [%]	p-Wert
Panel I			
T-Helferzellen	0	74,68 ($\pm 7,14$)	0,67
(Anteil an CD3+CD4+)	1	77,02 ($\pm 3,08$)	
Zytotoxische Zellen	0	26,48 ($\pm 7,96$)	0,93
(Anteil an CD3+CD8+)	1	25,96 ($\pm 7,33$)	
Aktivierte TH-Zellen mit $\alpha\beta$-TZR	0	93,29 ($\pm 1,84$)	0,45
(Anteil an TZR- $\alpha\beta$ + Zellen)	1	94,20 ($\pm 1,48$)	
Aktivierte zytotoxische TH-Zellen mit $\alpha\beta$-TZR	0	24,84 ($\pm 8,19$)	0,08
(Anteil an TZR- $\alpha\beta$ + Zellen)	1	24,02 ($\pm 6,59$)	
Gedächtnis Effektor T-Helferzellen	0	49,74 ($\pm 15,75$)	0,14
(Anteil an CD3+CD4+ Zellen)	1	59,32 ($\pm 10,46$)	
Gedächtnis-zentrale T-Helferzellen	0	6,01 ($\pm 3,37$)	0,39
(Anteil an CD3+CD4+ Zellen)	1	8,34 ($\pm 5,06$)	
naive Effektor T-Helferzellen	0	38,66 ($\pm 14,31$)	0,10
(Anteil an CD3+CD4+ Zellen)	1	27,76 ($\pm 6,05$)	
naive zentrale T-Helferzellen	0	5,58 ($\pm 7,98$)	0,67
(Anteil an CD3+CD4+ Zellen)	1	4,56 ($\pm 3,22$)	
Gedächtnis Effektor zytotoxische T-Zellen	0	51,30 ($\pm 14,86$)	0,23
(Anteil an CD3+CD8+ Zellen)	1	61,34 ($\pm 5,96$)	
Gedächtnis zentrale zytotoxische T-Zellen	0	6,32 ($\pm 5,2$)	0,48
(Anteil an CD3+CD8+ Zellen)	1	7,31 ($\pm 4,65$)	
naive Effektor zytotoxische T-Zellen	0	38,21 ($\pm 13,11$)	0,09
(Anteil an CD3+CD8+ Zellen)	1	28,46 ($\pm 7,28$)	
	0	4,18 ($\pm 3,65$)	0,42

Ergebnisse

naive zentrale zytotoxische T-Zellen	1	2,92 ($\pm 1,23$)	
(Anteil an CD3+CD8+ Zellen)			
Naive Thymus negative TH-Zellen	0	19,85 ($\pm 9,18$)	0,21
(Anteil an CD3+CD4+ Zellen)	1	14,82 ($\pm 3,60$)	
Naive Thymus positive Zellen	0	68,34 ($\pm 10,30$)	0,54
(Anteil an CD3+CD4+ Zellen)	1	72,04 ($\pm 8,72$)	
Panel II			
T-Helferzellen Typ I	0	2,63 ($\pm 1,33$)	0,10
(Anteil an CD3+)	1	1,65 ($\pm 1,19$)	
naive T-Helferzellen Typ I	0	86,09 ($\pm 7,24$)	0,30
(Anteil an CD3+CD4+ Zellen)	1	90,04 ($\pm 2,74$)	
Gedächtnis T-Helferzellen Typ I	0	13,91 ($\pm 7,24$)	0,30
(Anteil an CD3+CD4+ Zellen)	1	9,97 ($\pm 2,73$)	
T-Helferzellen Typ II	0	0,64 ($\pm 0,43$)	0,84
(Anteil an CD3+)	1	0,49 ($\pm 0,18$)	
naive T-Helferzellen Typ II	0	64,02 ($\pm 9,35$)	0,04
(Anteil an CD3+CD4+ Zellen)	1	73,60 ($\pm 9,11$)	
Gedächtnis T-Helferzellen Typ II	0	35,98 ($\pm 9,35$)	0,04
(Anteil an CD3+CD4+ Zellen)	1	26,40 ($\pm 9,11$)	
regulatorische T-Zellen	0	2,33 ($\pm 0,63$)	0,24
(Anteil an CD3+ Zellen)	1	2,69 ($\pm 0,70$)	

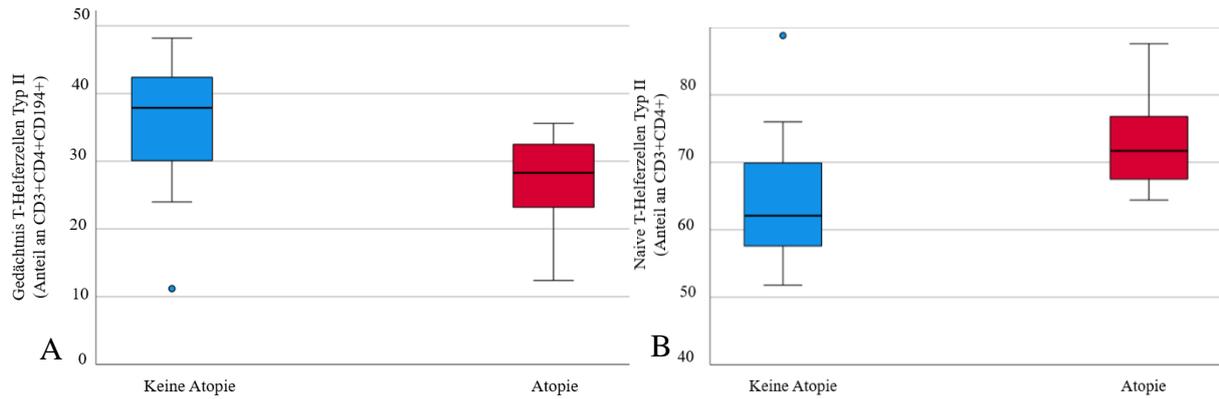


Abbildung 20: T-Lymphozyten im Nabelschnurblut bei Müttern mit Atopie.

Zu sehen sind Box-Whisker-Plots der T-Zellsubpopulationen mit signifikanten Unterschieden. Rote Balken stehen für NSB von Reifgeborenen von Müttern mit atopischer Vorerkrankung, blaue Balken für NSB von NG von Müttern ohne atopische Vorerkrankung. Ausreißer sind als Punkte angegeben. Die y-Achse beschreibt die jeweilige Leukozytensubpopulation anteilig an CD3+CD4+ Zellen [%]. Die Whisker-Box-Plots sind angegeben mit Median, Minimum und Maximum. **A: Gedächtnis T-Helferzellen Typ II** M G=37,9 A=28,3 (Min. G=11,2, A=12,4; Max G=48,2, A=35,6), **B: Naive T-Helferzellen Typ II** M G=62,1 A=71,7 (Min. G=51,8, A=64,4; Max G=88,8, A=87,6).

5 Diskussion

5.1 Vergleich der Lymphozytensubpopulationen von Mutter (peripheres Blut) und Kind (Nabelschnurblut)

Die Entwicklung des menschlichen Immunsystems beginnt schon intrauterin und ist bei Geburt noch nicht vollständig ausgereift. Daher unterscheidet sich die Größe der Zellpopulationen im NSB von der im peripherem Blut von Erwachsenen [135,136]. Wir konnten – in Übereinstimmung mit früheren Publikationen – nachweisen, dass im Nabelschnurblut mehr Lymphozyten enthalten sind als im peripheren Blut der Mütter. Bei unseren Messungen konnten signifikante Unterschiede zwischen dem NSB und peripheren Blut von Schwangeren in vielen Subpopulationen gemessen werden. Im Folgenden wird genauer auf die einzelnen Gruppenunterschiede eingegangen.

Unreife B-Zellen werden vom Knochenmark ins Blut ausgeschwemmt und stellen eine heterogene Gruppe dar [137]. Sie wandern in die Milz, Lymphknoten und andere lymphatische Gewebe und reifen dort zu naiven B-Zellen [8,138,139]. Unreife B-Zellen wurden als CD19+CD27-IgD-IgM- definiert. Der Oberflächenmarker CD27 dient hierbei der Unterscheidung zwischen „nicht-Gedächtnis“- (CD27-) und „Gedächtnis“-B-Zellen (CD27+). In der Durchflusszytometrie zeigten unreife B-Zellen einen signifikanten Unterschied ($p < 0,001$) zwischen NSB und PB der Schwangeren (NSB 6,4% \pm 0,62; PB 27,87% \pm 1,54). Piatosa et al. bezeichnen diese Zellgruppe als „Doppelt-negative B-Lymphozyten“. Die Messwerte zeigen einen ähnlichen Trend, allerdings wiesen sie nach, dass diese Population im NSB im Vergleich zu Kindern älterer Altersgruppen in höherer Zahl vorkommt. [7] Die hier vorliegenden Messwerte für unreife B-Zellen stehen im Gegensatz zu den Werten in der Literatur. Der Anteil der unreifen B-Zellen im peripheren Blut wurden hier deutlich höher gemessen, als die in der Literatur gefundenen Referenzwerte von 3,3% Anteil an CD19+ B-Zellen (Altersgruppe 26-50 Jahre). Zwar ist auch in der Arbeit von Morbach et al. der prozentuale Population der CD19+CD27-IgD-IgM- Zellen im adulten Blut größer, allerdings stimmen die Relationen nicht mit unseren Messwerten überein [140]. Die Heterogenität der unreifen B-Zellen wird auch in den großen Ranges bei den in der Literatur angegebenen Werten deutlich [7]. Das gleiche gilt auch für unsere Messwerte. Um unsere Ergebnisse für diese Population besser einordnen zu können, sollten die Ergebnisse mit dem peripheren Blut zu einem späteren Zeitpunkt im Leben verglichen werden.

Naive B-Zellen exprimieren IgD auf ihrer Oberfläche, aber noch kein CD27. Piatosa et al. zeigen, dass der Großteil der B-Zellen im NSB aus naiven B-Zellen besteht, während sie im peripheren Blut von Erwachsenen einen kleineren Teil ausmachen [7]. Auch bei unseren Messungen konnte eine große Anzahl an naiven B-Zellen im NSB gemessen werden ($73,86\% \pm 1,63$), die sich signifikant ($p < 0,001$) von naiven B-Zellen im peripheren Blut der Schwangeren unterschied ($41\% \pm 1,8$). Bei naiven B-Zellen handelt es sich um eine Subpopulation an reifen Zellen, die noch keinen Antigenkontakt hatte. Zum Zeitpunkt der Geburt stand das kindliche Immunsystem nur in geringem Kontakt zu Antigenen, die vorrangig von der Mutter stammen. Nach der Geburt ändert sich dies und es kommt zu einer massiven Veränderung in der Zusammensetzung der Immunzellen, unter anderem ausgelöst durch Antigenstimulation aus der Umwelt [141,142]. Im ersten Lebensjahr nimmt die Anzahl an naiven B-Zellen zu und anschließend über die Folgejahre ab, wobei sie im Alter zwischen 5 und 10 Jahren ein Plateau erreicht [7].

Die naiven B-Zellen entwickeln sich über die Zwischenstufe der transitionalen B-Zellen zu B-Gedächtniszellen und Plasmablasten. Unsere Ergebnisse ergaben einen signifikanten Unterschied ($p < 0,001$) zwischen den transitionalen B-Zellen im NSB und denen im peripheren Blut (NSB $84,27\% \pm 1,44$; PB $52,92\% \pm 2,05$). Piatosa et al. [7] beschreiben auch eine Abnahme der transitionalen B-Zellen im Verlauf der Entwicklung. Sie definieren transitionale B-Zellen allerdings als CD19+IgMhighCD38high. Deshalb sind die Werte der beiden Arbeiten nur begrenzt vergleichbar. Die Subpopulation der transitionalen B-Zellen wurde in dieser Arbeit definiert als CD19+CD20+CD27-CD38+ Zellen [5,143]. Sie bilden eine Zwischenstufe zwischen den unreifen Zellen des Knochenmarks und den reifen Zellen der Peripherie [143–145].

In den ersten fünf Lebensjahren ändert sich die Zusammensetzung der B-Zell-Subpopulation und die absolute Anzahl der B-Zellen verringert sich. In dieser Zeitspanne kommt es zu einer Abnahme der transitionalen B-Zellen und naiven B-Zellen, wohingegen die Fraktion der Gedächtnis B-Zellen ansteigt [140]. Daraus lässt sich schlussfolgern, dass die Abnahme der B-Zell Population vor allem mit der sinkenden Zahl an transitionalen B-Zellen und naiven B-Zellen- im Zuge einer Verringerung des Knochenmarks- zusammenhängt [140].

B-Zellen, die IgM und IgD produzieren und einen B-Zellrezeptor exprimieren werden als reif bezeichnet und differenzieren zu Gedächtnis B-Zellen und Plasmablasten [4]. Die Forschungsgruppe um Piatosa et al. konnte nachweisen, dass die Anzahl an Gedächtnis B-Zellen in der Entwicklung des Immunsystem und durch den vermehrten Antigenkontakt zunimmt und im

Alter von 10-16 Jahren das ausgereifte Niveau erreichen [7]. Dies lässt sich durchflusszytometrisch durch die Änderung von CD27⁻ zu CD27⁺ Zellen nachweisen [7,138]. Allerdings zeigten sich in der hier vorliegenden Arbeit ähnliche Werte im NSB und peripheren Blut der Schwangeren, wobei die Zahl der späten Gedächtnis B-Zellen (CD19⁺, CD27⁺, CD38⁺, IgM⁺) im NSB der Kinder sogar etwas höher war (NSB 2,31±0,35; PB 2,04±0,23).

Eine mögliche Erklärung für die vorliegenden Messergebnisse könnte sein, dass die Schwangeren infolge der Isolation während des Lockdowns deutlich weniger Stimulation des Immunsystems erfahren haben und sich dadurch nur sehr wenige neu gebildete B-Gedächtniszellen im Blut befinden. Die größten Reservoirs für Gedächtnis B-Zellen bilden die Milz und Tonsillen [3]. Frühere Studien postulieren, dass Gedächtnis-B-Zellen vor dem 2. Lebensjahr nicht in der Lage sind, die Marginalzone der Milz zu besiedeln. Stattdessen findet man hier naive B-Zellen. Im weiteren Verlauf werden diese durch Gedächtnis B-Zellen ersetzt. Dies scheint auch ein Grund dafür zu sein, warum das Immunsystem von Kindern nicht in der Lage ist, eine schnelle sekundäre humorale Immunantwort, die mit der eines Erwachsenen vergleichbar ist, zu initiieren [146]. Folglich kämen Gedächtnis-B-Zellen im NSB vermehrt vor, während sie beim Erwachsenen vorrangig in der Milz und den sekundär lymphatischen Organen sind. Eine andere Ursache könnte auch eine generelle Veränderung von Immunzellen im Rahmen der Toleranzmechanismen in einer Schwangerschaft sein. Generell lässt sich sagen, dass der prozentuale Anteil sowie die absolute Zahl der B-Zellen im Verlauf der Schwangerschaft abnimmt [147].

Sanz et al. beschreiben, dass die Subpopulation der CD19⁺CD27⁺IgM⁺IgG⁺ MZ-B-Zellen nur eine kleine Gruppe im NSB darstellt und im Rahmen der Entwicklung der Marginalzone im peripheren Blut zunimmt [4]. Die MZ-B-Zellen in dieser Arbeit machten sowohl im NSB als auch im peripheren Blut der Schwangeren nur einen geringen Anteil an den CD19⁺ Zellen aus (NSB 1,17±0,28, PB 1%±0,15). MZ-B-Zellen sind insbesondere in den lymphatischen Organen wie der Milz und Lymphknoten lokalisiert [142,148]. Da in dieser Arbeit nur Werte zu zwei festen Zeitpunkten im Leben vorliegen, lässt sich keine Aussage über die Veränderung der Population der Marginalzonen B-Zellen im Verlauf der Entwicklung treffen. Hierfür wären sequentielle Blutkontrollen in verschiedenen Altersgruppen notwendig.

Klassengewechselte B-Zellen waren im peripheren Blut der Schwangeren geringfügig höher, als im NSB (PB 6,17 (±4,09); NG 5,48 (±3,28)). Diese Zellen sind bereits in der Lage IgG zu sezernieren und spielen somit eine entscheidende Rolle in der spezifischen Immunantwort. Sie

besitzen die Fähigkeit, bereits bekannte Antigene schneller zu erkennen und eine verstärkte Produktion von spezifischen Antikörpern gegen diese Antigene zu induzieren [149].

Plasmablasten bilden eine kleine Gruppe der B-Zellen mit meist Werten unter 5% und zeigen keine signifikanten Veränderungen im Verlauf der Entwicklung des Immunsystems [140]. In dieser Arbeit zeigten die Ergebnisse für NSB- und PB-Werte in diesem prozentualen Bereich (NSB $5,31 \pm 0,53$; PB $4,04 \pm 0,49$), auch wenn die Zahl an Plasmablasten geringfügig über 5% lag. Da Plasmablasten eine wichtige Rolle bei der Entstehung von Autoimmunerkrankungen spielen, ist es erwähnenswert, dass Plasmablasten weder im NSB, noch im peripheren Blut der Schwangeren, 5% deutlich übersteigen. Eine Vermehrung der Plasmablasten deutlich über 5% könnte ein Indikator für eine systemische Autoimmunerkrankung sein und korreliert mit der Krankheitsaktivität [140]. Zwar ist die Plasmablasten Fraktion in den hier vorliegenden NSB-Messungen nicht signifikant über 5% ($5,31\% \pm 0,53$), dennoch wäre es interessant, dieses Messergebnis in weiteren Studien zu verfolgen. Insbesondere im Hinblick auf die Entstehung von Autoimmunerkrankungen im Verlauf der kindlichen Entwicklung.

Die Auswahl der Marker Kombinationen der Oberflächenmarker der einzelnen Subpopulationen wurde an bereits aus der Literatur bekannte Definitionen angelehnt [14,15,150]. An dieser Stelle nehmen die B1-Zellen eine Sonderstellung ein. In den letzten Jahren gab es verschiedene Definitionen für B1-Zellen. Abzugrenzen sind hier auch die murinen CD19+CD5+ B1-Zellen. CD43 ist ein Marker, der vor allem auf B1-Zellen zu finden ist, CD70 und CD69 findet man auf aktivierten B-Zellen, nicht jedoch auf B1-Zellen. CD38 wird oft als Marker für aktivierte oder reife B-Zellen verwendet. B1-Zellen exprimieren diesen aber nur in geringem Maße. Die Ergebnisse in diesen verschieden definierten Gruppen waren in den vorliegenden Messungen immer ähnlich. Dies stützt die Plausibilität unserer Ergebnisse, da dies bedeutet, dass unabhängig der exakten Definition, Zellen, die am ehesten der Fraktion der B1-Zellen zugehörig sind, ähnliche Messergebnisse erzielen.

B1-Zellen machen einen großen Anteil der B-Lymphozyten bei Neugeborenen aus (50%). Ihr Anteil verringert sich im Laufe der Entwicklung auf etwa 10% [14]. Zwar reagieren B1-Zellen beim Erwachsenen mit einem breiten Spektrum an Antigenen, allerdings nur mit einer geringeren Affinität. Deshalb weist man ihnen eine Rolle in der angeborenen Immunität bei Neugeborenen zu. Es ergaben sich signifikante Unterschiede zwischen NSB und PB. Die B1-Zellen, die mit den Oberflächenmarkerkombinationen CD20+CD27+CD43+, CD20+CD27+CD43+CD70- und CD20+CD27+CD43+CD69- markiert wurden, zeigten keine

signifikanten Unterschiede. Die Zellen mit den Oberflächenmarkerkombinationen CD20+CD27+CD43+CD38- (PB 0,32(\pm 0,3); NSB 0,04 (\pm 0,07)) und murine B1-Zellen CD19+CD5+ (PB 4,05 (\pm 3,69); NSB 14,08 (\pm 5,8)) wiesen signifikante Unterschiede auf. Einschränkend muss hinzugefügt werden, dass die Zellzahlen hier sehr gering waren. Die ersten vier Markerkombinationen zeigten einen ähnlichen Trend der Messwerte. Die murinen B1-Zellen ergaben abweichende Werte, mit signifikant höheren Messwerten im NSB.

Frühere Studien zeigten, dass die Anzahl an B1-Zellen im Laufe der Entwicklung abnimmt, während sie in der Maus mit den Jahren zunimmt [14,17,18]. Griffin et al. beschrieben eine Spanne von weniger als 1%-9% sowie einen im Alter abnehmenden Trend [150]. Es finden sich aber auch Arbeiten mit einem im Vergleich zu Erwachsenen geringeren Anteil der B1-Zellen im NSB [151]. Für ein besseres Verständnis für die Funktion der B1-Zellen ist es unerlässlich, eine einheitliche Definition für diese Subpopulation festzulegen, um Messwerte besser in der Literatur vergleichen zu können.

B2-Zellen machen den Großteil der B-Zellen aus. Hier ergaben unsere Messungen einen signifikanten Unterschied zwischen NSB und peripherem Blut von Schwangeren (NSB 0,27 \pm 0,05; PB 15,07 \pm 0,29). Im Gegensatz zu B1-Zellen, die häufiger im NSB vorkommen, dominieren nach der Geburt und bis ins Erwachsenenalter die B2-Zellen, da sie sich nach der Geburt hauptsächlich aus Knochenmarkvorläufern entwickeln [3].

Der Anteil an unreifen und naiven T-Lymphozyten im NSB ist höher als bei Erwachsenen [152]. Anders als B-Lymphozyten sind T-Zellen im NSB insgesamt nicht nur naiv, sondern vielmehr unreif [153]. Es zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen NSB und peripherem Blut über alle Gruppen hinweg, mit der Ausnahme der naiven Effektor TH-Zellen, Gedächtniszentrale-zytotoxische T-Zellen und T-Helferzellen Typ I.

T-Helferzellen waren im NSB signifikant höher (PB 62,595 \pm 8,53; NSB 75,795 \pm 6,96), während zytotoxische T-Zellen, wie bereits bekannt [154] einen signifikant höheren Anteil im peripheren Blut der Schwangere zeigten (PB 33,08 \pm 7,29; NSB 25,83 \pm 7,78).

Die Subpopulationen der aktivierten T-Helferzellen mit $\alpha\beta$ -TZR (PB 3,16 \pm 2,04; NSB 1,96 \pm 1,75) und die aktivierten zytotoxischen T-Zellen mit $\alpha\beta$ -TZR (PB 3,34 \pm 1,71; NSB 0,79 \pm 0,73) zeigten im peripheren Blut signifikant höhere Werte. Die Aktivierung der T-Zellen mit $\alpha\beta$ -TZR beginnt, wenn die Zelle spezifische Antigene erkennt, die von antigenpräsentie-

renden Zellen präsentiert werden [155]. Die Aktivierung führt zu einer Vermehrung und weiteren Differenzierung. Wegen des mangelnden Antigenkontakts der Zellen im NSB intrauterin, hat die Aktivierung der T-Zellen noch nicht oder nur in geringem Maß stattgefunden.

Gedächtnis-Effektor-T-Helferzellen (PB 20,07±9,03), NSB 50,95±14,77) und naive Effektor-T-Helferzellen (PB 30,85±10,8; NSB 37,45±13,51) im NSB zeigten höhere Werte als bei den Schwangeren, bei den Gedächtnis-Effektor-T-Helferzellen waren sie im signifikanten Bereich (<0,001). Effektorzellen sind kurzlebige Zellen, die nach Antigenkontakt und T-Zellaktivierung entstehen. Die Gedächtnis-Effektor T-Zellen haben Potential zum längerfristigen Überleben und befinden sich in kürzlich infiziertem Gewebe. Sie sind in der Lage, bei erneuter Infektion eine schnellere Immunreaktion zu etablieren [156]. Naive T-Zellen kommen im NSB vermehrt vor [154]. Die Tatsache, dass auch Gedächtnis-Effektor-T-Helferzellen in höherer Anzahl im NSB gemessen wurden, legt nahe, dass bereits intrauterin ein immunologisches Gedächtnis heranreift. Dies geschieht am ehesten durch den Antigenkontakt, welchen der Fetus über die Mutter erfährt.

Die Populationen der Gedächtnis-zentralen T-Helferzellen (PB 18,75±6,16; NSB 6,25 ±3,59) und naiven zentralen T-Helferzellen (PB 30,33±9,48; NSB 5,33±7,14) waren im Mutterblut signifikant höher. Zentrale T-Zellen siedeln sich nach einer primären Immunantwort in lymphatischen Organen wie Lymphknoten und der Milz an. Sie haben eine längere Lebensdauer als Effektor-T-Zellen. Bei erneutem Antigenkontakt können sie sich teilen und Gedächtnis-Effektor T-Zellen produzieren [156]. Da für die Differenzierung der Gedächtnis-zentralen T-Zellen ein erster Antigenkontakt nötig ist, macht diese Population im NSB noch einen geringeren Anteil aus.

Naive CD4 T-Zellen aus dem NSB unterscheiden sich von adulten naiven CD4-T-Zellen in der Oberflächenexpression von CD26. Nur ein Bruchteil der Effektor/Gedächtnis-T-Zellen im Blut von Erwachsenen exprimiert CD26, während praktisch alle T-Zellen im NSB hohe Mengen an CD26 exprimieren [157]. In dieser Arbeit wurde der Oberflächenmarker CD26 nicht in die Definition eingeschlossen. Um die Werte in dieser Studie besser einordnen zu können, sollte in nachfolgenden Kohorten dieser Marker mitaufgenommen werden.

Gedächtnis-Effektor-zytotoxische T-Zellen (PB 24,02±10,83; NSB 52,44±13,85), naive Effektor-zytotoxische-T-Zellen (PB 43,08±11,19; NSB 36,39±12,61) und naive zentrale zytotoxische T-Zellen (PB 24,81±8,86; NSB 4,08±3,30) waren signifikant höher im Mutterblut. Auch Gedächtnis zentrale zytotoxische T-Zellen zeigten eine höhere, wenngleich nicht signifikante

Zellzahl in der Kohorte der Schwangere. In der Literatur ist bereits beschrieben, dass zytotoxische T-Zellen im NSB in geringer Zahl vorkommen [154].

Naive Thymus-negative T-Helferzellen (PB 13,44±4,71; NSB 19,59±8,72) waren signifikant höher im NSB, während naive Thymus-positive T-Zellen (PB 37,33±10,64; NSB 68,59±9,73) signifikant höher im peripheren Blut gemessen wurden. Thymus-negative T-Zellen haben die Reifung im Thymus noch nicht durchlaufen, während es sich bei Thymus-positiven T-Zellen um reife T-Zellen handelt, die bei einer späteren Aktivierung an einer Immunantwort beteiligt sind [3].

Naive T-Helferzellen Typ I (PB 56,27±11,67; NSB 87,75±6,76) und Typ II (PB 43,73±11,66; NSB 12,25±6,76) waren signifikant höher im NSB. Diese Messung stimmt auch mit der Literatur überein [169].

Typ 2-T-Helferzellen (TH2) (PB 1,31±0,29; NSB 0,59±0,38) waren signifikant höher im Mutterblut. Die Funktion der TH2-Zellen besteht darin, die Bildung von Antikörpern gegen extrazelluläre Pathogene und Allergene zu fördern. Ein übermäßiger Anteil an TH2-Zellen kann zur Entwicklung allergischer Erkrankungen wie Asthma bronchiale führen. Bisher ging man davon aus, dass die perinatale Immunantwort von Neugeborenen einer TH2-dominierten Immunantwort entspricht. Neuere Daten zeigen aber, dass es sich bei der perinatalen Immunantwort um komplexere Mechanismen handeln muss [172]. So wird durch die TH1/TH2-Polarisierung vermehrt IFN- γ bzw. IL-5 im Vergleich zu adultem Blut produziert [172].

Gedächtnis-T-Helferzellen Typ I (PB 68,5±10,3; NSB 32,75±10,05) und Typ II (PB 68,57±10,3; NSB 32,75±10,05) zeigten signifikant höhere Werte im Blut der Schwangeren. Da der Fetus noch keinen oder nur den über die Mutter vermittelten Antigenkontakt hatte, wurden noch nicht viele Gedächtnis-T-Helferzellen gebildet [169].

Regulatorische T-Zellen waren signifikant höher in der Gruppe der Schwangere (PB 3,43±0,26; NSB 2,34±0,66). In der Schwangerschaft wird die feto-maternale Toleranz über Treg-Zellen aufrechterhalten. Eine verminderte Anzahl an Treg-Zellen wird in Verbindung mit Fehlgeburten gebracht [173], [174].

5.2 Vergleich von NSB von männlichen und weiblichen Neugeborenen

Diese Arbeit liefert geschlechterspezifische Referenzwerte für die Mittelwerte von 13 B-Zell- und 21 T-Zellsubpopulationen. Darüber hinaus konnten in diesen Subpopulationen signifikante Unterschiede zwischen männlichen und weiblichen Neugeborenen nachgewiesen werden. Obwohl geschlechtsbezogene Unterschiede in der Immunreaktion bei Kindern und Erwachsenen bereits bekannt sind, ist sehr wenig über geschlechterspezifische immunologische Unterschiede zum Zeitpunkt der Geburt bekannt. Die Forschungsdaten zu diesem Thema sind spärlich und die pathophysiologischen Grundlagen und Mechanismen bisher unklar. Geschlechtsunterschiede in der Immunantwort lassen sich auf zwei Hauptfaktoren zurückführen: den Einfluss von Sexualhormonen wie Testosteron und Östrogen sowie Unterschiede in der Anzahl von immunrelevanten Genen auf dem X-Chromosom [42,45,176].

Die Produktion von Androgenen im männlichen Fetus beginnt bereits ab der zehnten Schwangerschaftswoche. Dieser frühe Beginn der Produktion von Sexualhormonen betrifft auch das sich entwickelnde Immunsystem. Auf die Reifung von B-Zellen hat Testosteron *in vitro*, in nicht-toxischen Dosen, keinen Einfluss. Estradiol hingegen erhöht *in vitro* die Anhäufung von B-Zellen, beeinflusst aber in nicht-toxischen Dosen nicht die Proliferationsreaktion. Diese Wirkung hat es sowohl auf die Lymphozyten von männlichen wie auch von weiblichen Feten [148]. Auch T-Zellsubpopulationen werden von Sexualhormonen beeinflusst. Hier unterdrückt Testosteron die Lymphopoese in frühen Stadien. Im weiteren Reifungsprozess exprimieren T-Zellen keine Androgenrezeptoren mehr. Östrogenrezeptoren hingegen werden in jedem Entwicklungsstadium von T-Zellen exprimiert, was dazu führt, dass Östrogen im gesamten Reifungsprozess Einfluss auf die Lymphopoese nimmt: Niedrige Dosen von Östrogen erhöhen CD4⁺-Zellen, während hohe Dosen die CD4⁻- und CD8⁻-Zellzahlen reduzieren [177]. In dieser Arbeit waren die Mittelwerte von vier der 14 T-Zellteilpopulationen (zytotoxische T-Zellen, naive Effektor-TH-Zellen, naive Effektor zytotoxische T-Zellen, naive thymusnegative TH-Zellen) tendenziell höher im NSB von männlichen Neugeborenen. Die verbleibenden T-Zell-Teilpopulationen zeigten im NSB weiblicher Neugeborener höhere Werte.

Wie bereits zuvor in dieser Arbeit erwähnt, ermöglicht NSB einen besonderen Einblick in die intrauterinen Lymphozytenprofile, da es eine Schnittstelle zwischen pränataler und postnataler Physiologie darstellt. In unserer Analyse waren B-Zell-Populationen im NSB von männlichen

Neugeborenen im Vergleich zu weiblichen höher, mit Ausnahme von naiven B-Zellen, transitionalen B-Zellen und B1-Zellen CD20+CD27+CD43+CD38low B1-Zellen. Diese Ergebnisse stehen im Gegensatz zum Verhältnis von B-Zellen im Blut Erwachsener, bei denen beschrieben ist, dass die B-Zellzahl bei Frauen höher ist als bei Männern [76]. Mögliche Gründe dafür könnten abweichende Sexualhormonspiegel im Mutterleib im Vergleich zu den Spiegeln postpartal sein. Grundsätzlich gilt: Östrogen stimuliert die Proliferation von B-Zellen, während Testosteron diese unterdrückt [176]. Nach der Geburt steigen die Testosteronspiegel bei männlichen Neugeborenen in den ersten drei Monaten zunächst an, bevor sie auf wesentlich niedrigere Werte absinken, und schließlich ihre physiologisch niedrigen präpubertären Werte erreichen (etwa im Alter von 7-12 Monate). Weibliche Neugeborene hingegen erfahren unmittelbar nach der Geburt einen Rückgang des Testosterons. Mit Vollendung des ersten Lebensjahres bis zur Adoleszenz sind keine geschlechtsspezifischen Unterschiede in den Testosteronspiegeln beschrieben [45,162]. Diese Tatsache lässt vermuten, dass Sexualhormone während dieser Lebensphase weniger relevant sind und andere Faktoren möglicherweise eine wichtigere Rolle bei der Entwicklung des Immunsystems spielen.

Als weiteren Einflussfaktor auf die Entwicklung des Immunsystems muss das X-Chromosom berücksichtigt werden. Der Einfluss von immunrelevanten Genen auf dem X-Chromosom, der nicht zuletzt auch zu Geschlechtsunterschieden bei der Entwicklung von immunvermittelten Krankheiten führt, beginnt bereits früh im Leben [45]. So führt die X-Disomie zu einer höheren genetischen Vielfalt in immunrelevanten Genen bei Weibchen. Als Beispiel sei hier der Tolllike-Rezeptor (TLR) 7/8, für den das X-Chromosom codiert, zu nennen. Dieser ist in der Lage, virale einsträngige RNA (ss-RNA) zu erkennen und schützende Zytokinreaktionen, insbesondere IFN-Reaktionen, hervorzurufen. Zwar unterscheiden sich männliche und weibliche angeborene Immunzellen insgesamt nicht signifikant in ihrer TLR-7/8-Expression, dennoch zeigte ein humanisiertes Mausmodell den positiven Einfluss der X-Chromosomen „Dosis“ auf die TLR7-Ligation auf plasmazytoide dendritische Zellen und die dadurch vermittelte IFN- α - und TNF-Immunreaktion [179].

Des Weiteren finden sich Loci von mi-RNA in höherer Anzahl auf X-Chromosomen als auf Y-Chromosomen und Autosomen. Mikro-RNAs (mi-RNA), als nicht-kodierende RNAs, sind mit entzündlichen Erkrankungen assoziiert [179]. Die X-chromosomale miR223 scheint eine entscheidende Rolle zu spielen: Studien legen nahe, dass miR223-negative Mäuse nach *Candida albicans*-Infektion mehr entzündliche Symptome aufwiesen als nicht-defiziente Mäuse; miR223 soll die Granulozytenbildung und -reifung negativ beeinflussen [164,165].

Es wird davon ausgegangen, dass Männer stärker zu infektionsbedingten Entzündungen, wie Atemwegsinfektionen neigen. Schwere Verläufe von Atemwegsinfektionen treten bei Männern häufiger auf als bei Frauen, obwohl diese empfänglicher für Atemwegsinfektionen sind. Dies könnte auf Unterschiede in der angeborenen Immunreaktion und ihren geschlechtsspezifischen Unterschieden zurückzuführen sein. Eine mögliche Erklärung ist ein beobachtetes Ungleichgewicht von TLR-2 und TLR-4: bei männlichen Mäusen wurde eine höhere Expression von TLR-4 in Makrophagen nach endotoxischem Schock festgestellt, was zu einer umfangreichen Produktion proinflammatorischer Zytokine führt [74]. Ein protektiver Faktor hingegen scheint die Expression von TLR-2 zu sein. Dieser ist bei weiblichen Mäusen vermehrt exprimiert, welches die Resistenz gegen virale Infektionen (insbesondere Coxsackie-Viren) erhöht [49]. Das X-Chromosom und die damit verbundenen immunrelevanten Gene wie die TLR 7/8 kodierenden Gene könnten ebenfalls für geschlechtsspezifische Unterschiede in der infektionsbedingten Entzündung verantwortlich sein [182].

Frühere Untersuchungen zeigten einen postnatalen Anstieg der CD19⁺-B-Zellen und CD3⁺-T-Zellen bis zum 2. Lebensjahr, gefolgt von einem allmählichen Rückgang bis zum Erwachsenenalter. Während CD3⁺CD4⁺-T-Lymphozyten diesem Trend folgen, bleibt die Teilpopulation der CD3⁺CD8⁺-T-Lymphozyten für die ersten beiden Lebensjahre stabil und nimmt dann kontinuierlich ab, bis sie ähnliche Werte wie bei Erwachsene erreicht [149]. In den genannten Studien wurden allerdings keine geschlechtsspezifischen Unterschiede berücksichtigt. Es ist jedoch wichtig, unterschiedliche Einflüsse auf Lymphozytenpopulationen wie X-chromosomale Gene innerhalb dieses Zeitraums zu berücksichtigen, wenn Daten zum sich entwickelnden Immunsystem analysiert werden. Es gibt nur begrenzte Hinweise auf geschlechtsspezifische Veränderungen in Lymphozytenteilpopulationen, und weitere Forschung ist erforderlich, um alle Faktoren mit einzubeziehen, die zu diesen beobachteten Veränderungen führen.

Obwohl viele Daten zu geschlechtsspezifischen Unterschieden bei CD4⁺- und CD8⁺-T-Zellen im Allgemeinen vorhanden sind, gibt es weiterhin nur wenige Beweise für geschlechtsspezifische Unterschiede in kleineren Lymphozytenteilpopulationen. Wir liefern Referenzwerte für die Mittelwerte von 21 verschiedenen T-Zell-Teilpopulationen. Weitere Studien sind erforderlich, um mehr Daten über geschlechtsspezifische Unterschiede in diesen Untergruppen zu sammeln und geschlechtsspezifische Risikofaktoren für bestimmte Krankheiten zu identifizieren.

Unabhängig von den spärlichen Daten zu geschlechtsspezifischen Unterschieden in der Immunität (oder der Immunentwicklung) von Neugeborenen zeigen veröffentlichte Forschungsergebnisse, dass männliche Neugeborene eher zu einer robusten angeborenen Immunität neigen, die sich durch höhere NK-Zellen-, Monozyten- und Basophilenzahlen auszeichnet. Männliche Neugeborene zeigen zusätzlich eine stärkere proinflammatorische Reaktion im Vergleich zu weiblichen Neugeborenen [42]. Frauen hingegen haben höhere CD4⁺-T-Zellen und CD4/CD8-Verhältnisse, niedrigere CD8⁺-T-Zellen und niedrigere Treg-Zellfrequenzen [42]. Die Anzahl der B-Zellen, IgG und IgM ist bei beiden Geschlechtern ähnlich, während männliche Neugeborene höhere IgA- und IgE-Werte aufweisen [42]. Unsere Daten legen nahe, dass es keine Veränderungen in der Gesamtpopulation von B- oder T-Zellen gibt, aber Veränderungen in ihren Teilpopulationen. Teilpopulationen von B- und T-Lymphozyten sind sehr inhomogene Gruppen, die unterschiedlichen Einflüssen unterliegen und unterschiedlich auf bestimmte Reize reagieren. Weitere Studien sind erforderlich, um die Faktoren zu identifizieren, die zu Veränderungen in Lymphozytenteilpopulationen führen [42].

Geschlechtsspezifische Unterschiede in der Immunantwort sind während der gesamten Kindheit zu beobachten. Männer zeigen höhere Entzündungswerte und NK-Zellen, während CD4/CD8-Verhältnisse, CD8⁺-Zellen, CD4⁺-Zellen und B-Zell-Zahlen in beiden Geschlechtern ähnlich sind [42,167]. Der Beginn der Pubertät markiert eine Verschiebung in der geschlechtsspezifischen Immunantwort, die potenziell durch Sexualsteroiden beeinflusst wird. Bei erwachsenen Frauen gibt es eine höhere Entzündungsreaktion, höhere CD4/CD8-Verhältnisse und höhere CD4⁺-Zellzahlen, wohingegen erwachsene Männer höhere CD8⁺-Zellzahlen, B-Zellen und Immunglobuline und Treg-Zellen aufweisen [42]. Nach den Wechseljahren zeigen Männer eine stärkere proinflammatorische Reaktion, während Frauen eine erhöhte T-Zell-Aktivierung aufweisen. Andere geschlechtsspezifische Unterschiede wie die Anzahl der CD4⁺CD8⁺-Zellen und das CD4/CD8-Verhältnis bleiben gleich verteilt [42].

Diese Arbeit konnte einen signifikanten Unterschied bei MZ-B-Zellen ($p=0,025$) nachweisen. Obwohl sie nur 5% aller B-Zellen ausmachen, spielen sie eine wichtige Rolle bei der frühen Immunantwort. MZ-B-Zellen befinden sich an einer strategischen Schnittstelle zwischen Blut und Lymphknoten und sind daher in der Lage, sofort mit Antikörperantworten und bakteriellen Pathogenen zu reagieren [148]. Sie schließen die Lücke zwischen früher Immunantwort und späten adaptiven Antikörperreaktionen von folliculären B-Zellen [162]. Dieses Ergebnis widerspricht veröffentlichten Daten, da bei Frauen jeden Alters eine höhere Gesamtzahl von B-

Zellen festgestellt wurde. Letzteres könnte ein Beispiel für Veränderungen in der Zusammensetzung der Lymphozytenpopulationen nach der Geburt sein, die zu geschlechtsspezifischen Unterschieden bei Krankheiten, während der neonatalen Periode und später im Leben beitragen können.

Alle B1-Zelldefinitionen zeigten ebenfalls einen signifikanten Unterschied, , mit Ausnahme der CD19+CD5+ B1-Zellen: CD20+CD27+CD43+ B1-Zellen ($p=0,01$), CD20+CD27+CD43+CD70- B1-Zellen ($p=0,007$), CD20+CD27+CD43+CD69- B1-Zellen ($p=0,025$) und CD20+CD27+CD43+CD38^{low} B1-Zellen ($p=0,021$). B1-Zellen stellen den Hauptteil der B-Lymphozyten bei Neugeborenen dar, sinken jedoch bis zum Erwachsenenalter auf etwa 10% [29]. Dies verdeutlicht, dass B1-Zellen eine dynamische Komponente des Immunsystems sind, die kontinuierlichen Veränderungen während der Entwicklung einer "ausgereiften" Immunantwort unterliegen. B1-Zellen spielen eine entscheidende Rolle im angeborenen Immunsystem. Bestimmte zugrunde liegende Pathomechanismen bleiben jedoch unklar [184]. Die Festlegung einer einheitlichen Definition von Immunmarkern ist entscheidend, um die Vergleichbarkeit von Studien sicherzustellen, die B1-Zell-(Sub-)Populationen untersuchen. Ein wichtiges Ergebnis unserer Studie ist eine höhere Anzahl von B1-Zellen bei männlichen Neugeborenen. B1-Zellen werden mit der Pathogenese von Asthma und Allergien in Verbindung gebracht, insbesondere im Hinblick auf die Produktion von IgE-Antikörpern, die Regulation entzündlicher Prozesse [169,170] und die Entwicklung von Autoimmunerkrankungen, die vor allem Frauen betreffen [37]. Unsere Ergebnisse legen nahe, dass es nach der Geburt Veränderungen in der Zusammensetzung von B1-Zellen gibt, die möglicherweise auf Umwelteinflüsse, Antigenexposition oder die Entwicklung der adaptiven Immunantwort zurückzuführen sind.

Thymus-negative T-Zellen waren bei männlichen Neugeborenen signifikant höher ($p=0,005$). Angeborene T-Zellen wandern aus dem Knochenmark in den Thymus, wo sie sowohl positive als auch negative Selektion durchlaufen. Während des positiven Selektionsprozesses erhalten TH-Zellen, die in der Lage sind, MHC-Komplexe zu binden, ein positives Wachstumssignal und treten in den Zellzyklus ein. Diese positive Selektion findet im postnatalen Thymus statt und deutet darauf hin, dass die Reifung von TH-Zellen zum Zeitpunkt der Geburt noch im Gange ist [148]. Thymus-negative T-Zellen sind angeborene Zellen, die die positive und negative Selektion noch nicht abgeschlossen haben. Nach der negativen Selektion tragen reife T-Zellen, die das Thymusgewebe verlassen, in der Regel den CD31-Marker. Die negative Selektion

tion spielt eine bedeutende Rolle bei der Verhinderung der Entwicklung von autoimmunreaktiven Zellen. Im Thymus werden gewebespezifische Antigene exprimiert. Autoimmune Regulator-Gene (AIRE) kontrollieren die Expression dieser Antigene. Mutationen in diesem Gen können zu einer Autoimmunerkrankung führen, die als Autoimmune Polyendokrinopathie Typ 1 (APS-1) bekannt ist [3]. Änderungen in der Anzahl von Thymus-negativen T-Zellen könnten an der Entwicklung von Autoimmunerkrankungen wie APS-1 beteiligt sein. Es gibt Studien, die auf einen Zusammenhang zwischen einem Versagen der negativen Thymusselektion und rheumatoider Arthritis hinweisen [187]. Veränderungen in der Anzahl von thymusnegativen Zellen könnten potenziell zu einer Dysregulation im Immunsystem und zu einer verminderten oder falschen Erkennung von Pathogenen führen.

5.3 Vergleich von Blutproben bei vorbekannten atopischen Erkrankungen

Es wurden die Werte der B- und T-Lymphozytenpopulationen im NSB der Neugeborenen deren Mütter eine atopische Erkrankung wie Asthma bronchiale, allergische Rhinitis oder atopische Dermatitis angegeben hatten, mit den Leukozytenpopulationen der Neugeborenen von gesunden Müttern verglichen. Darüber hinaus wurde das periphere Blut von vorerkrankten und gesunden Schwangeren verglichen.

Im Nabelschnurblut der Kinder mit asthmatisch vorerkrankten Müttern (AB) zeigte sich ein signifikant erniedrigter Anteil ($p=0,01$) an Thymus-positiven T-Zellen im Vergleich zu Kindern mit gesunden Müttern (G) (AB $70,41\pm 8,85$; G $53,1\pm 9,09$).

Auch im NSB von Kindern mit an allergischer Rhinitis (AR) vorerkrankten Müttern konnten signifikante Unterschiede gemessen werden. Unreife B-Zellen (AR $9,11\pm 3,8$; G $5,26\pm 3,28$), Klassengewechselte B-Zellen (AR $8,06\pm 3,66$; G $4,5\pm 2,72$), Plasmablasten (AR $7,84\pm 3,57$; G $4,36\pm 2,68$) waren signifikant höher ($p = 0,01$) im NSB von Kindern mit Müttern mit allergischer Rhinitis. Die Transitionalen B-Zellen (AR $78,2\pm 9,12$; G $86,85\pm 7,03$; $p = 0,01$) und naive Effektor T-Helferzellen (AR $33,91\pm 11,36$; G $47,30\pm 17,18$; $p= 0,02$) waren im NSB von Kindern mit gesunden Müttern signifikant höher.

Um eine größere Studienkohorte zu schaffen wurden atopische Erkrankungen zusammengefasst und mit Kinder von nicht-vorerkrankten Müttern verglichen. Hier zeigten sich signifikante Unterschiede in den Populationen der unreifen B-Zellen (A $8,73\pm 5,21$; G $4,95\pm 1,95$; $p = 0,05$), klassengewechselten B-Zellen (A $7,23\pm 4,04$; G $4,44\pm 2,48$; $p = 0,04$), Plasmablasten (A $7,03\pm 3,96$; G $4,29\pm 2,44$; $p = 0,046$) und Transitionalen B-Zellen (A $79,3\pm 10,19$; G $87,46\pm 5,82$; $p = 0,009$), naiven T-Helferzellen Typ II (A $64,02\pm 9,35$; G $73,60\pm 9,11$; $p = 0,04$) und Gedächtnis T-Helferzellen Typ II (A $35,98\pm 9,35$; G $26,40\pm 9,11$; $p = 0,04$), im Vergleich zu den nicht-vorerkrankten Müttern.

Im peripheren Blut der Schwangeren unterschieden sich die MZ-B-Zellen signifikant ($p = 0,03$) zwischen den atopisch vorerkrankten ($0,6\pm 0,4$) und gesunden Schwangeren ($1,3\pm 1$).

Eine signifikante Verminderung von Treg-Zellen bei Atopikern ist vorbeschrieben [128]. Dieser Zusammenhang konnte in unseren Messungen weder bei den atopisch vorerkrankten Schwangeren noch bei Neugeborenen mit atopischen Müttern nachgewiesen werden.

Allerdings zeigte sich insgesamt eine Veränderung im CD4-Kompartiment, die auf eine Aktivierung des Immunsystems im Rahmen von atopischen Erkrankungen hindeutet. Damit konnten wir vorherige Ergebnisse bestätigen. Zusätzlich konnten wir in einer kleinen Studienkohorte erstmals zeigen, dass diese Aktivierung schon bei Kindern von Atopikern im NSB nachzuweisen ist.

5.4 Stärken und Schwächen der Arbeit

In anderen Studien wurden zwar größere Kohorten untersucht, dafür aber weniger Leukozyten-subpopulationen gemessen als in dieser Arbeit. Hier wird ein sehr breiter Überblick über eine große Anzahl an Leukozyten-subpopulationen – insgesamt 14 B-Zellsubpopulationen und 21 T-Zellsubpopulationen - geliefert.

Die Festlegung des Geburtsmodus „geplante *Sectio caesarea*“ als Einschlusskriterium kann kontrovers diskutiert werden. Es gibt bereits Studien darüber, dass Kinder, die per *Sectio caesarea* entbunden werden im Verlauf der Entwicklung ein höheres Risiko für verschiedene Erkrankungen, wie Asthma, Heuschnupfen, Allergien und Gastroenteritis zeigen [172–174]. Andererseits wird durch die Festlegung eines bestimmten Geburtsmodus als Einschlusskriterium, eine bessere Vergleichbarkeit der Ergebnisse gewährleistet. Eine Spontangeburt birgt potentielle Störfaktoren, wie eine unterschiedliche Wehendauer, die Freisetzung von unterschiedlichen Zytokinen, verschiedene Optionen in der Schmerzmittelgabe, sowie potentielle Geburtskomplikationen. Es gibt diverse Studien die zeigen, dass der Geburtsmodus Einfluss auf die Entwicklung des Mikrobioms des Kindes hat [138]. Mögliche Gründe hierfür könnten sein, dass das Kind bei einer spontanen Geburt dem vaginalen und enteralen Mikrobiom der Mutter ausgesetzt wird, während das Kind bei einer *Sectio cesarea* unmittelbar mit dem Krankenhauspersonal und der Klinikumgebung in Berührung kommt [139–141].

Außerdem wurden nur Schwangere in die Studie aufgenommen, bei denen zum Zeitpunkt der Geburt keine Infektion vorlag und in den letzten zwei Wochen präpartal keine Antibiotikaeinnahme stattgefunden hatte. Einige Studien liefern Hinweise darauf, dass bereits eine prä- oder perinatale Antibiotikagabe Einfluss auf die Immunentwicklung und die Entstehung von atopischen Erkrankungen des Neugeborenen hat [142,143]. Die Angaben zur mütterlichen Anamnese wurden mit Fragebögen erhoben, was weniger zuverlässig ist als die ärztlich erhobene Anamnese.

Das Immunsystem von FG ist unreifer als das von RG. Sie haben eine geringere Anzahl an Monozyten und Neutrophilen, die Produktion von Zytokinen und die Aktivierung von T-Zellen ist eingeschränkt im Vergleich zu RG [179]. Deshalb wurde in dieser Arbeit nur das NSB von RG eingeschlossen.

Zusammenfassend gewährleisteten die strengen Ein- und Ausschlusskriterien eine möglichst homogene Studienkohorte, die durch Minimierung möglicher Störfaktoren die bestmögliche Vergleichbarkeit der Messwerte erbringt. Dies wurde zu Lasten der Gesamtgröße der Studienkohorte hingenommen.

Das Lockdown-Projekt startete im Februar 2021. Zu diesem Zeitpunkt herrschte im Saarland noch ein Lockdown mit geschlossenen Restaurants, Geschäften und Freizeiteinrichtungen [145]. Die Messergebnisse sind dementsprechend unter Berücksichtigung der damals vorherrschenden Maßnahmen zur Kontaktminimierung zu interpretieren.

Die Methode betreffend sei erwähnt, dass in dieser Arbeit asservierte Proben mononukleärer Zellen untersucht wurden. Dies ist naturgemäß mit einer geringeren Ausbeute an vitalen Zellen verbunden, erlaubt jedoch die zeitlich versetzte Analyse. Aufgrund der begrenzten Zellzahl wurden einige Proben für die Untersuchungen von T-Zell-Subpopulationen und andere für die Untersuchung von B-Zell-Subpopulationen verwendet. In einer zukünftigen Studie sollte eine Methode verwendet werden, die z.B. durch ein leistungsstärkeres Durchflusszytometer mehr Zellpopulationen mit geringerem Blutvolumen darstellen kann.

Bezüglich der statistischen Auswertung, muss angemerkt werden, dass sich durch die große Anzahl an statistisch verglichenen Zellsubpopulationen ein höheres Risiko von Typ-I-Fehler (falsch positive Ergebnisse) ergibt.

5.5 Konklusion

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass sich die Zusammensetzung der B- und T-Lymphozytensubpopulationen im NSB und PB der Schwangeren signifikant unterscheidet. Dies deutet darauf hin, dass die Leukozytensubpopulationen, im Rahmen der Entwicklung eines reifen Immunsystems, Veränderungen unterworfen sind. Besonders hervorzuheben sind die signifikanten Unterschiede in den B-Lymphozytensubpopulationen im Nabelschnurblut und im peripheren Blut der Schwangeren. Für einige dieser Subpopulationen, stimmten die Ergebnisse mit den bisherigen Erkenntnissen über die immunologische Entwicklung überein. Überraschend war jedoch, dass im Gegensatz zur Literatur kein höherer Anteil der Gedächtnis-B-Zellen bei Schwangeren, sondern ein erhöhter Anteil im Nabelschnurblut gefunden wurde. Diese Ergebnisse könnten in Zusammenhang mit dem verminderten Antigenkontakt der Schwangeren während des Lockdowns stehen. Obwohl sich das immunologische Gedächtnis im Laufe des Lebens weiter ausbildet, deuten die Daten darauf hin, dass eine Grundlage für die immunologische

Entwicklung bereits intrauterin gelegt wird. Dies unterstreicht die Dynamik des Leukozyten-Repertoires, das sich im Laufe des Lebens an äußere Einflüsse anpasst.

Signifikante Unterschiede im Nabelschnurblut von männlichen und weiblichen Neugeborenen wurden bei MZ-B-Zellen und B1-Zellen (CD20+CD27+CD43+CD69-, CD20+CD27+CD43+CD70-, CD20+CD27+CD43+, CD20+CD27+CD43+CD38^{low}) festgestellt. B1-Zellen stehen im Zusammenhang mit einem erhöhten Risiko für Autoimmunerkrankungen, die bei Frauen häufiger auftreten. Diese Erkenntnisse sind entscheidend für die Erforschung geschlechterspezifischer Krankheitsrisiken sowie für die Entwicklung individueller Therapiepläne, Medikamentendosierungen und Impfschemata. Die Erforschung der Mechanismen geschlechterspezifischer Unterschiede in der Immunantwort könnte neue pränatale Diagnoseansätze eröffnen, die Risikofaktoren für Erkrankungen wie Autoimmunerkrankungen frühzeitig erkennen und präventive Therapien ermöglichen, um deren spätere Entstehung zu verhindern.

Durch die Untersuchung von PB und NSB hinsichtlich der Unterschiede bei atopisch vorerkrankten Müttern und gesunden Müttern, konnten frühere Erkenntnisse über eine Aktivierung der CD4⁺ Immunantwort bei Atopikern bestätigt werden. Darüber hinaus liefern die hier beschriebenen Daten erste Hinweise darauf, dass schon im NSB Unterschiede zwischen atopisch vorbelasteten Kindern und nicht vorbelasteten Kindern zu finden sind. Dies legt nahe, dass die erbliche Komponente eine große Rolle bei der Entstehung atopischer Erkrankungen spielt. Diesen Ergebnissen sollten weitere Forschungsarbeiten in größeren Studienkohorten folgen. Zudem sollte mit fortgeschrittenem Alter der Kinder das Auftreten von atopischen Erkrankungen mit unseren Ergebnissen korreliert werden.

6 Literaturverzeichnis

1. Vollmar A, Zündorf I, Dingermann T. Immunologie: Grundlagen und Wirkstoffe ; mit 216 Tabellen. 2., völlig neu bearb. und erw. Aufl. Stuttgart: Wiss. Verlagsgesell; 2013.
2. Rink L, Kruse A, Haase H. Das Immunsystem: Eine Übersicht. In: Rink L, Kruse A, Haase H, editors. Immunologie für Einsteiger. Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag; 2012. pp. 1–17. doi:10.1007/978-3-8274-2440-2_1
3. Murphy K, Weaver C. Die Entwicklung der B- und T-Lymphocyten. *Janeway Immunologie*. 2018; 377–440. doi:10.1007/978-3-662-56004-4_8
4. Sanz I, Wei C, Lee FE-H, Anolik J. Phenotypic and functional heterogeneity of human memory B cells. *Semin Immunol*. 2008;20: 67–82. doi:10.1016/j.smim.2007.12.006
5. Henriques A, Silva I, Inês L, Souto-Carneiro MM, Pais ML, Trindade H, et al. CD38, CD81 and BAFFR combined expression by transitional B cells distinguishes active from inactive systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Med*. 2016;16: 227–232. doi:10.1007/s10238-015-0348-3
6. Lee J, Kuchen S, Fischer R, Chang S, Lipsky PE. Identification and characterization of a human CD5+ pre-naive B cell population. *J Immunol*. 2009;182: 4116–4126. doi:10.4049/jimmunol.0803391
7. Piątosa B, Wolska-Kuśnierz B, Pac M, Siewiera K, Gałkowska E, Bernatowska E. B cell subsets in healthy children: reference values for evaluation of B cell maturation process in peripheral blood. *Cytometry B Clin Cytom*. 2010;78: 372–381. doi:10.1002/cyto.b.20536
8. Dehne J. Charakterisierung und Quantifizierung von Lymphozyten-Subpopulationen bei Kindern und Jugendlichen mit allergischen Erkrankungen. Philipps-Universität Marburg; 2016.
9. Monson NL. The natural history of B cells. *Current Opinion in Neurology*. 2008;21: S3. doi:10.1097/01.wco.0000313358.53553.c7
10. Mei HE, Yoshida T, Muehlinghaus G, Hiepe F, Dörner T, Radbruch A, et al. Phenotypic Analysis of B-Cells and Plasma Cells. In: Cope AP, editor. *Arthritis Research: Methods and Protocols Volume 2*. Totowa, NJ: Humana Press; 2007. pp. 3–18. doi:10.1007/978-1-59745-402-5_1
11. Sidman CL, Shultz LD, Hardy RR, Hayakawa K, Herzenberg LA. Production of immunoglobulin isotypes by Ly-1+ B cells in viable motheaten and normal mice. *Science*. 1986;232: 1423–1425. doi:10.1126/science.3487115
12. Hayakawa K, Hardy RR, Stall AM, Herzenberg LA, Herzenberg LA. Immunoglobulin-bearing B cells reconstitute and maintain the murine Ly-1 B cell lineage. *Eur J Immunol*. 1986;16: 1313–1316. doi:10.1002/eji.1830161021

13. Budeus B, Kibler A, Brauser M, Homp E, Bronischewski K, Ross JA, et al. Human Cord Blood B Cells Differ from the Adult Counterpart by Conserved Ig Repertoires and Accelerated Response Dynamics. *J Immunol.* 2021;206: 2839–2851. doi:10.4049/jimmunol.2100113
14. Griffin DO, Holodick NE, Rothstein TL. Human B1 cells in umbilical cord and adult peripheral blood express the novel phenotype CD20+ CD27+ CD43+ CD70-. *J Exp Med.* 2011;208: 67–80. doi:10.1084/jem.20101499
15. Quách TD, Rodríguez-Zhurbenko N, Hopkins TJ, Guo X, Hernández AM, Li W, et al. Distinctions among Circulating Antibody-Secreting Cell Populations, Including B-1 Cells, in Human Adult Peripheral Blood. *J Immunol.* 2016;196: 1060–1069. doi:10.4049/jimmunol.1501843
16. Hayakawa K, Hardy RR, Herzenberg LA. Peritoneal Ly-1 B cells: genetic control, auto-antibody production, increased lambda light chain expression. *Eur J Immunol.* 1986;16: 450–456. doi:10.1002/eji.1830160423
17. Perez-Andres M, Grosserichter-Wagener C, Teodosio C, van Dongen JJM, Orfao A, van Zelm MC. The nature of circulating CD27+CD43+ B cells. *J Exp Med.* 2011;208: 2565–2566. doi:10.1084/jem.20112203
18. Descatoire M, Weill J-C, Reynaud C-A, Weller S. A human equivalent of mouse B-1 cells? *J Exp Med.* 2011;208: 2563–2564. doi:10.1084/jem.20112232
19. Haas KM, Blevins MW, High KP, Pang B, Swords WE, Yammani RD. Aging promotes B-1b cell responses to native, but not protein-conjugated, pneumococcal polysaccharides: implications for vaccine protection in older adults. *J Infect Dis.* 2014;209: 87–97. doi:10.1093/infdis/jit442
20. Rodriguez-Zhurbenko N, Quach TD, Hopkins TJ, Rothstein TL, Hernandez AM. Human B-1 Cells and B-1 Cell Antibodies Change With Advancing Age. *Front Immunol.* 2019;10: 483. doi:10.3389/fimmu.2019.00483
21. Nisitani S, Murakami M, Akamizu T, Okino T, Ohmori K, Mori T, et al. Preferential Localization of Human CD5+ B Cells in the Peritoneal Cavity. *Scandinavian Journal of Immunology.* 1997;46: 541–545. doi:10.1046/j.1365-3083.1997.d01-166.x
22. Deng J, Wang X, Chen Q, Sun X, Xiao F, Ko K-H, et al. B1a cells play a pathogenic role in the development of autoimmune arthritis. *Oncotarget.* 2016;7: 19299–19311. doi:10.18632/oncotarget.8244
23. Hardy RR, Hayakawa K, Shimizu M, Yamasaki K, Kishimoto T. Rheumatoid factor secretion from human Leu-1+ B cells. *Science.* 1987;236: 81–83. doi:10.1126/science.3105057
24. Hagendorens MM, Ebo DG, Schuerwegh AJ, Huybrechs A, Van Bever HP, Bridts CH, et al. Differences in circulating dendritic cell subtypes in cord blood and peripheral blood of healthy and allergic children. *Clin Exp Allergy.* 2003;33: 633–639. doi:10.1046/j.1365-2222.2003.01649.x

25. Warnatz K, Schlesier M. Flowcytometric phenotyping of common variable immunodeficiency. *Cytometry Part B: Clinical Cytometry*. 2008;74B: 261–271. doi:10.1002/cyto.b.20432
26. Wong CK, Ho CY, Ko FWS, Chan CHS, Ho ASS, Hui DSC, et al. Proinflammatory cytokines (IL-17, IL-6, IL-18 and IL-12) and Th cytokines (IFN- γ , IL-4, IL-10 and IL-13) in patients with allergic asthma. *Clin Exp Immunol*. 2001;125: 177–183. doi:10.1046/j.1365-2249.2001.01602.x
27. Janeway CA, Travers P. Janeway C. A und Travers P. (1997): *Immunologie*, 2. Auflage, Spektrum-Verlag. 2. Spektrum Verlag; 1997.
28. Murphy K, Weaver C. Die Entwicklung der B- und T-Lymphocyten. *Janeway Immunologie*. 2018; 377–440. doi:10.1007/978-3-662-56004-4_8
29. Risso A, Smilovich D, Capra MC, Baldissarro I, Yan G, Bargellesi A, et al. CD69 in resting and activated T lymphocytes. Its association with a GTP binding protein and biochemical requirements for its expression. *J Immunol*. 1991;146: 4105–4114.
30. Sallusto F, Geginat J, Lanzavecchia A. Central memory and effector memory T cell subsets: function, generation, and maintenance. *Annu Rev Immunol*. 2004;22: 745–763. doi:10.1146/annurev.immunol.22.012703.104702
31. Sallusto F, Lenig D, Förster R, Lipp M, Lanzavecchia A. Two subsets of memory T lymphocytes with distinct homing potentials and effector functions. *Nature*. 1999;401: 708–712. doi:10.1038/44385
32. Kohler S, Thiel A. Life after the thymus: CD31+ and CD31– human naive CD4+ T-cell subsets. *Blood*. 2009;113: 769–774. doi:10.1182/blood-2008-02-139154
33. Acosta-Rodriguez EV, Napolitani G, Lanzavecchia A, Sallusto F. Interleukins 1 β and 6 but not transforming growth factor- β are essential for the differentiation of interleukin 17-producing human T helper cells. *Nat Immunol*. 2007;8: 942–949. doi:10.1038/ni1496
34. Zhu J, Paul WE. CD4 T cells: fates, functions, and faults. *Blood*. 2008;112: 1557–1569. doi:10.1182/blood-2008-05-078154
35. Smithgall MD, Comeau MR, Yoon B-RP, Kaufman D, Armitage R, Smith DE. IL-33 amplifies both Th1- and Th2-type responses through its activity on human basophils, allergen-reactive Th2 cells, iNKT and NK cells. *Int Immunol*. 2008;20: 1019–1030. doi:10.1093/intimm/dxn060
36. Cosmi L, Annunziato F, Galli MIG null, Maggi RME null, Nagata K, Romagnani S. CRTH2 is the most reliable marker for the detection of circulating human type 2 Th and type 2 T cytotoxic cells in health and disease. *Eur J Immunol*. 2000;30: 2972–2979. doi:10.1002/1521-4141(200010)30:10<2972::AID-IMMU2972>3.0.CO;2-#
37. D’Ambrosio D, Iellem A, Bonecchi R, Mazzeo D, Sozzani S, Mantovani A, et al. Selective up-regulation of chemokine receptors CCR4 and CCR8 upon activation of polarized human type 2 Th cells. *J Immunol*. 1998;161: 5111–5115.

38. Sallusto F, Lenig D, Mackay CR, Lanzavecchia A. Flexible Programs of Chemokine Receptor Expression on Human Polarized T Helper 1 and 2 Lymphocytes. *J Exp Med*. 1998;187: 875–883.
39. Dardalhon V, Awasthi A, Kwon H, Galileos G, Gao W, Sobel RA, et al. Interleukin 4 inhibits TGF- β -induced-Foxp3⁺T cells and generates, in combination with TGF- β , Foxp3⁻ effector T cells that produce interleukins 9 and 10. *Nat Immunol*. 2008;9: 1347–1355. doi:10.1038/ni.1677
40. Woodfolk JA. T-cell responses to allergens. *J Allergy Clin Immunol*. 2007;119: 280–294; quiz 295–296. doi:10.1016/j.jaci.2006.11.008
41. Tosello V, Odunsi K, Souleimanian NE, Lele S, Shrikant P, Old LJ, et al. Differential expression of CCR7 defines two distinct subsets of human memory CD4⁺CD25⁺ Tregs. *Clin Immunol*. 2008;126: 291–302. doi:10.1016/j.clim.2007.11.008
42. Klein SL, Flanagan KL. Sex differences in immune responses. *Nat Rev Immunol*. 2016;16: 626–638. doi:10.1038/nri.2016.90
43. Berghöfer B, Frommer T, Haley G, Fink L, Bein G, Hackstein H. TLR7 Ligands Induce Higher IFN- α Production in Females¹. *The Journal of Immunology*. 2006;177: 2088–2096. doi:10.4049/jimmunol.177.4.2088
44. Lyn-Cook BD, Xie C, Oates J, Treadwell E, Word B, Hammons G, et al. Increased expression of Toll-like receptors (TLRs) 7 and 9 and other cytokines in systemic lupus erythematosus (SLE) patients: ethnic differences and potential new targets for therapeutic drugs. *Mol Immunol*. 2014;61: 38–43. doi:10.1016/j.molimm.2014.05.001
45. Libert C, Dejager L, Pinheiro I. The X chromosome in immune functions: when a chromosome makes the difference. *Nat Rev Immunol*. 2010;10: 594–604. doi:10.1038/nri2815
46. Fox HS, Bond BL, Parslow TG. Estrogen regulates the IFN-gamma promoter. *The Journal of Immunology*. 1991;146: 4362–4367. doi:10.4049/jimmunol.146.12.4362
47. Asaba J, Bandyopadhyay M, Kindy M, Dasgupta S. Estrogen receptor signal in regulation of B cell activation during diverse immune responses. *Int J Biochem Cell Biol*. 2015;68: 42–47. doi:10.1016/j.biocel.2015.08.012
48. Polanczyk MJ, Carson BD, Subramanian S, Afentoulis M, Vandenbark AA, Ziegler SF, et al. Cutting Edge: Estrogen Drives Expansion of the CD4⁺CD25⁺ Regulatory T Cell Compartment¹. *The Journal of Immunology*. 2004;173: 2227–2230. doi:10.4049/jimmunol.173.4.2227
49. Scotland RS, Stables MJ, Madalli S, Watson P, Gilroy DW. Sex differences in resident immune cell phenotype underlie more efficient acute inflammatory responses in female mice. *Blood*. 2011;118: 5918–5927. doi:10.1182/blood-2011-03-340281
50. Davis JS, Rueda BR. The corpus luteum: an ovarian structure with maternal instincts and suicidal tendencies. *Front Biosci*. 2002;7: d1949-1978. doi:10.2741/davis1

51. Teilmann SC, Clement CA, Thorup J, Byskov AG, Christensen ST. Expression and localization of the progesterone receptor in mouse and human reproductive organs. *Journal of Endocrinology*. 191: 525–535. doi:10.1677/joe.1.06565
52. Butts CL, Shukair SA, Duncan KM, Bowers E, Horn C, Belyavskaya E, et al. Progesterone inhibits mature rat dendritic cells in a receptor-mediated fashion. *International Immunology*. 2007;19: 287–296. doi:10.1093/intimm/dx1145
53. Piccinni MP, Giudizi MG, Biagiotti R, Beloni L, Giannarini L, Sampognaro S, et al. Progesterone favors the development of human T helper cells producing Th2-type cytokines and promotes both IL-4 production and membrane CD30 expression in established Th1 cell clones. *The Journal of Immunology*. 1995;155: 128–133. doi:10.4049/jimmunol.155.1.128
54. Jones LA, Kreem S, Shweash M, Paul A, Alexander J, Roberts CW. Differential Modulation of TLR3- and TLR4-Mediated Dendritic Cell Maturation and Function by Progesterone. *The Journal of Immunology*. 2010;185: 4525–4534. doi:10.4049/jimmunol.0901155
55. Roberts CW, Walker W, Alexander J. Sex-Associated Hormones and Immunity to Protozoan Parasites. *Clinical Microbiology Reviews*. 2001;14: 476–488. doi:10.1128/CMR.14.3.476-488.2001
56. Liva SM, Voskuhl RR. Testosterone Acts Directly on CD4+ T Lymphocytes to Increase IL-10 Production. *The Journal of Immunology*. 2001;167: 2060–2067. doi:10.4049/jimmunol.167.4.2060
57. Pergola C, Dodt G, Rossi A, Neunhoeffler E, Lawrenz B, Northoff H, et al. ERK-mediated regulation of leukotriene biosynthesis by androgens: A molecular basis for gender differences in inflammation and asthma. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2008;105: 19881–19886. doi:10.1073/pnas.0809120105
58. Roden AC, Moser MT, Tri SD, Mercader M, Kuntz SM, Dong H, et al. Augmentation of T Cell Levels and Responses Induced by Androgen Deprivation. *The Journal of Immunology*. 2004;173: 6098–6108. doi:10.4049/jimmunol.173.10.6098
59. Khulan B, Cooper WN, Skinner BM, Bauer J, Owens S, Prentice AM, et al. Periconceptional maternal micronutrient supplementation is associated with widespread gender related changes in the epigenome: a study of a unique resource in the Gambia. *Human Molecular Genetics*. 2012;21: 2086–2101. doi:10.1093/hmg/dd026
60. Meakin AS, Cuffe JSM, Darby JRT, Morrison JL, Clifton VL. Let's Talk about Placental Sex, Baby: Understanding Mechanisms That Drive Female- and Male-Specific Fetal Growth and Developmental Outcomes. *Int J Mol Sci*. 2021;22: 6386. doi:10.3390/ijms22126386
61. Christians JK, Shergill HK, Albert AYK. Sex-dependent effects of prenatal food and protein restriction on offspring physiology in rats and mice: systematic review and meta-analyses. *Biol Sex Differ*. 2021;12: 21. doi:10.1186/s13293-021-00365-4

62. Sinha A, Madden J, Ross-Degnan D, Soumerai S, Platt R. Reduced Risk of Neonatal Respiratory Infections Among Breastfed Girls but Not Boys. *Pediatrics*. 2003;112: e303. doi:10.1542/peds.112.4.e303
63. Gluckman PD, Hanson MA, Spencer HG, Bateson P. Environmental influences during development and their later consequences for health and disease: implications for the interpretation of empirical studies. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2005;272: 671–677. doi:10.1098/rspb.2004.3001
64. Carr BR, Parker CR, Ohashi M, MacDonald PC, Simpson ER. Regulation of human fetal testicular secretion of testosterone: Low-density lipoprotein-cholesterol and cholesterol synthesized de novo as steroid precursor. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 1983;146: 241–247. doi:10.1016/0002-9378(83)90743-3
65. Liu C-A, Wang C-L, Chuang H, Ou C-Y, Hsu T-Y, Yang KD. Prediction of Elevated Cord Blood IgE Levels by Maternal IgE Levels, and the Neonate's Gender and Gestational Age. 2003;26.
66. Sharma AA, Jen R, Brant R, Ladd M, Huang Q, Skoll A, et al. Hierarchical Maturation of Innate Immune Defences in Very Preterm Neonates. *Neonatology*. 2014;106: 1–9. doi:10.1159/000358550
67. Lee B-W, Yap H-K, Chew F-T, Quah T-C, Prabhakaran K, Chan GSH, et al. Age- and sex-related changes in lymphocyte subpopulations of healthy Asian subjects: From birth to adulthood. *Cytometry*. 1996;26: 8–15. doi:10.1002/(SICI)1097-0320(19960315)26:1<8::AID-CYTO2>3.0.CO;2-E
68. Bellamy G j., Hinchliffe R f., Crawshaw K c., Finn A, Bell F. Total and differential leucocyte counts in infants at 2, 5 and 13 months of age. *Clinical & Laboratory Haematology*. 2000;22: 81–87. doi:10.1046/j.1365-2257.2000.00288.x
69. Casimir GJ, Heldenbergh F, Hanssens L, Mulier S, Heinrichs C, Lefevre N, et al. Gender differences and inflammation: an in vitro model of blood cells stimulation in prepubescent children. *J Inflamm*. 2010;7: 28. doi:10.1186/1476-9255-7-28
70. Lisse IM, Aaby P, Whittle H, Jensen H, Engelmann M, Christensen LB. T-lymphocyte subsets in West African children: Impact of age, sex, and season. *The Journal of Pediatrics*. 1997;130: 77–85. doi:10.1016/S0022-3476(97)70313-5
71. Leposavic G, Perisic M, Pilipovic I. Role of gonadal hormones in programming developmental changes in thymopoietic efficiency and sexual diergism in thymopoiesis. *Immunol Res*. 2012;52: 7–19. doi:10.1007/s12026-012-8278-6
72. Steegenga WT, Mischke M, Lute C, Boekschoten MV, Pruis MG, Lendvai A, et al. Sexually dimorphic characteristics of the small intestine and colon of prepubescent C57BL/6 mice. *Biology of Sex Differences*. 2014;5: 11. doi:10.1186/s13293-014-0011-9
73. Yang Y, Kozloski M. Sex Differences in Age Trajectories of Physiological Dysregulation: Inflammation, Metabolic Syndrome, and Allostatic Load. *The Journals of Gerontology: Series A*. 2011;66A: 493–500. doi:10.1093/gerona/glr003

74. Lamason R, Zhao P, Rawat R, Davis A, Hall JC, Chae JJ, et al. Sexual dimorphism in immune response genes as a function of puberty. *BMC Immunology*. 2006;7: 2. doi:10.1186/1471-2172-7-2
75. Castelo-Branco C, Soveral I. The immune system and aging: a review. *Gynecological Endocrinology*. 2014;30: 16–22. doi:10.3109/09513590.2013.852531
76. Abdullah M, Chai P-S, Chong M-Y, Tohit ERM, Ramasamy R, Pei CP, et al. Gender effect on in vitro lymphocyte subset levels of healthy individuals. *Cellular Immunology*. 2012;272: 214–219. doi:10.1016/j.cellimm.2011.10.009
77. Uppal SS, Verma S, Dhot PS. Normal values of CD4 and CD8 lymphocyte subsets in healthy indian adults and the effects of sex, age, ethnicity, and smoking. *Cytometry Part B: Clinical Cytometry*. 2003;52B: 32–36. doi:10.1002/cyto.b.10011
78. Furman D, Hejblum BP, Simon N, Jovic V, Dekker CL, Thiébaud R, et al. Systems analysis of sex differences reveals an immunosuppressive role for testosterone in the response to influenza vaccination. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2014;111: 869–874. doi:10.1073/pnas.1321060111
79. Fan H, Dong G, Zhao G, Liu F, Yao G, Zhu Y, et al. Gender Differences of B Cell Signature in Healthy Subjects Underlie Disparities in Incidence and Course of SLE Related to Estrogen. *Journal of Immunology Research*. 2014;2014: e814598. doi:10.1155/2014/814598
80. Atopy Defined | AAAAI. [cited 5 Jan 2023]. Available: <https://www.aaaai.org/tools-for-the-public/allergy,-asthma-immunology-glossary/atopy-defined>
81. Bantz SK, Zhu Z, Zheng T. The Atopic March: Progression from Atopic Dermatitis to Allergic Rhinitis and Asthma. *J Clin Cell Immunol*. 2014;5: 202. doi:10.4172/2155-9899.1000202
82. Anandan C, Nurmatov U, Van Schayck OCP, Sheikh A. Is the prevalence of asthma declining? Systematic review of epidemiological studies. *Allergy*. 2010;65: 152–167. doi:10.1111/j.1398-9995.2009.02244.x
83. Douwes J, Pearce N. Asthma and the westernization ‘package.’ *International Journal of Epidemiology*. 2002;31: 1098–1102. doi:10.1093/ije/31.6.1098
84. Zar HJ, Ehrlich RI, Workman L, Weinberg EG. The changing prevalence of asthma, allergic rhinitis and atopic eczema in African adolescents from 1995 to 2002. *Pediatric Allergy and Immunology*. 2007;18: 560–565. doi:10.1111/j.1399-3038.2007.00554.x
85. Strachan DP. Hay fever, hygiene, and household size. *BMJ*. 1989;299: 1259–1260.
86. Klimek L, Wollenberg B, Guntinas-Lichius O, Pfaar O, Koennecke M. [Reasons for the development of allergies in children]. *HNO*. 2019;67: 90–97. doi:10.1007/s00106-018-0595-1
87. Jutel M, Akdis CA. T-cell Subset Regulation in Atopy. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2011;11: 139–145. doi:10.1007/s11882-011-0178-7

88. Klimek L. Immunsystem und Allergien – eine unheilige Allianz. *Internist*. 2022;63: 467–475. doi:10.1007/s00108-022-01327-7
89. Schaub B, Liu J, Höppler S, Haug S, Sattler C, Lluís A, et al. Impairment of T-regulatory cells in cord blood of atopic mothers. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2008;121: 1491-1499.e13. doi:10.1016/j.jaci.2008.04.010
90. Voehringer D, Reese TA, Huang X, Shinkai K, Locksley RM. Type 2 immunity is controlled by IL-4/IL-13 expression in hematopoietic non-eosinophil cells of the innate immune system. *Journal of Experimental Medicine*. 2006;203: 1435–1446. doi:10.1084/jem.20052448
91. Geha RS, Jabara HH, Brodeur SR. The regulation of immunoglobulin E class-switch recombination. *Nat Rev Immunol*. 2003;3: 721–732. doi:10.1038/nri1181
92. Bochner BS, Hudson SA, Xiao HQ, Liu MC. Release of both CCR4-active and CXCR3-active chemokines during human allergic pulmonary late-phase reactions. *J Allergy Clin Immunol*. 2003;112: 930–934. doi:10.1016/j.jaci.2003.08.012
93. Seumois G, Chavez L, Gerasimova A, Lienhard M, Omran N, Kalinke L, et al. Epigenomic analysis of primary human T cells reveals enhancers associated with TH2 memory cell differentiation and asthma susceptibility. *Nat Immunol*. 2014;15: 777–788. doi:10.1038/ni.2937
94. Ngoc LP, Gold DR, Tzianabos AO, Weiss ST, Celedón JC. Cytokines, allergy, and asthma. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*. 2005;5: 161. doi:10.1097/01.all.0000162309.97480.45
95. Ohkura N, Kitagawa Y, Sakaguchi S. Development and Maintenance of Regulatory T cells. *Immunity*. 2013;38: 414–423. doi:10.1016/j.immuni.2013.03.002
96. Arck PC, Hecher K. Fetomaternal immune cross-talk and its consequences for maternal and offspring's health. *Nat Med*. 2013;19: 548–556. doi:10.1038/nm.3160
97. Ho S-M. Environmental epigenetics of asthma: An update. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2010;126: 453–465. doi:10.1016/j.jaci.2010.07.030
98. Smyth LJC, Eustace A, Kolsum U, Blaikely J, Singh D. Increased airway T regulatory cells in asthmatic subjects. *Chest*. 2010;138: 905–912. doi:10.1378/chest.09-3079
99. Shi H-Z, Li S, Xie Z-F, Qin X-J, Qin X, Zhong X-N. Regulatory CD4+CD25+ T lymphocytes in peripheral blood from patients with atopic asthma. *Clinical Immunology*. 2004;113: 172–178. doi:10.1016/j.clim.2004.06.009
100. Hinz D, Bauer M, Röder S, Olek S, Huehn J, Sack U, et al. Cord blood Tregs with stable FOXP3 expression are influenced by prenatal environment and associated with atopic dermatitis at the age of one year. *Allergy*. 2012;67: 380–389. doi:10.1111/j.1398-9995.2011.02767.x
101. Schaub B, Lauener R, von Mutius E. The many faces of the hygiene hypothesis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2006;117: 969–977. doi:10.1016/j.jaci.2006.03.003

102. Ravn NH, Halling A-S, Berkowitz AG, Rinnov MR, Silverberg JI, Egeberg A, et al. How does parental history of atopic disease predict the risk of atopic dermatitis in a child? A systematic review and meta-analysis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2020;145: 1182–1193. doi:10.1016/j.jaci.2019.12.899
103. Hossenbaccus L, Linton S, Ramchandani R, Gallant MJ, Ellis AK. Insights into allergic risk factors from birth cohort studies. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*. 2021;127: 312–317. doi:10.1016/j.anai.2021.04.025
104. Arshad SH, Karmaus W, Raza A, Kurukulaaratchy RJ, Matthews SM, Holloway JW, et al. The effect of parental allergy on childhood allergic diseases depends on the sex of the child. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2012;130: 427-434.e6. doi:10.1016/j.jaci.2012.03.042
105. Pfefferle PI, Büchele G, Blümer N, Roponen M, Ege MJ, Krauss-Etschmann S, et al. Cord blood cytokines are modulated by maternal farming activities and consumption of farm dairy products during pregnancy: The PASTURE Study. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2010;125: 108-115.e3. doi:10.1016/j.jaci.2009.09.019
106. Gao Y, Nanan R, Macia L, Tan J, Sominsky L, Quinn TP, et al. The maternal gut microbiome during pregnancy and offspring allergy and asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2021;148: 669–678. doi:10.1016/j.jaci.2021.07.011
107. Koch-Institut R. *Epidemiologisches Bulletin* 7/2021. 2021.
108. Childhood Asthma after Bacterial Colonization of the Airway in Neonates | NEJM. [cited 11 May 2023]. Available: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/nejmoa052632>
109. Reduced diversity of the intestinal microbiota during infancy is associated with increased risk of allergic disease at school age - ScienceDirect. [cited 11 May 2023]. Available: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0091674911008542>
110. Lluís A, Schedel M, Liu J, Illi S, Depner M, von Mutius E, et al. Asthma-associated polymorphisms in 17q21 influence cord blood ORMDL3 and GSDMA gene expression and IL-17 secretion. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2011;127: 1587-1594.e6. doi:10.1016/j.jaci.2011.03.015
111. Eder W, Klimecki W, Yu L, von Mutius E, Riedler J, Braun-Fahrlander C, et al. Toll-like receptor 2 as a major gene for asthma in children of European farmers. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2004;113: 482–488. doi:10.1016/j.jaci.2003.12.374
112. Schedel M, Pinto LA, Schaub B, Rosenstiel P, Cherkasov D, Cameron L, et al. IRF-1 Gene Variations Influence IgE Regulation and Atopy. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008;177: 613–621. doi:10.1164/rccm.200703-373OC
113. Suttner K, Ruoss I, Rosenstiel P, Depner M, Pinto LA, Schedel M, et al. HLX1 gene variants influence the development of childhood asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2009;123: 82-88.e6. doi:10.1016/j.jaci.2008.09.047

114. Casaca VI, Illi S, Suttner K, Schleich I, Ballenberger N, Klucker E, et al. TBX21 and HLX1 Polymorphisms Influence Cytokine Secretion at Birth. *PLOS ONE*. 2012;7: e31069. doi:10.1371/journal.pone.0031069
115. Tomita K, Sakashita M, Hirota T, Tanaka S, Masuyama K, Yamada T, et al. Variants in the 17q21 asthma susceptibility locus are associated with allergic rhinitis in the Japanese population. *Allergy*. 2013;68: 92–100. doi:10.1111/all.12066
116. Ramasamy A, Curjuric I, Coin LJ, Kumar A, McArdle WL, Imboden M, et al. A genome-wide meta-analysis of genetic variants associated with allergic rhinitis and grass sensitization and their interaction with birth order. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2011;128: 996–1005. doi:10.1016/j.jaci.2011.08.030
117. Brand S, Teich R, Dicke T, Harb H, Yildirim AÖ, Tost J, et al. Epigenetic regulation in murine offspring as a novel mechanism for transmaternal asthma protection induced by microbes. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2011;128: 618-625.e7. doi:10.1016/j.jaci.2011.04.035
118. Schaub B, Liu J, Höppler S, Schleich I, Huehn J, Olek S, et al. Maternal farm exposure modulates neonatal immune mechanisms through regulatory T cells. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2009;123: 774-782.e5. doi:10.1016/j.jaci.2009.01.056
119. Linna O, Kokkonen J, Lahtela P, Tammela O. Ten-year prognosis for generalized infantile eczema. *Acta Paediatr*. 1992;81: 1013–1016. doi:10.1111/j.1651-2227.1992.tb12165.x
120. Nutten S. Atopic Dermatitis: Global Epidemiology and Risk Factors. *Annals of Nutrition and Metabolism*. 2015;66: 8–16. doi:10.1159/000370220
121. Wittmann M, Purwar R, Hartmann C, Gutzmer R, Werfel T. Human keratinocytes respond to interleukin-18: implication for the course of chronic inflammatory skin diseases. *J Invest Dermatol*. 2005;124: 1225–1233. doi:10.1111/j.0022-202X.2005.23715.x
122. Hunter CA. New IL-12-family members: IL-23 and IL-27, cytokines with divergent functions. *Nat Rev Immunol*. 2005;5: 521–531. doi:10.1038/nri1648
123. Beeh K-M, Buhl R. Pathogenese des Asthma bronchiale – Eröffnung neuer therapeutischer Perspektiven: *Med Klin*. 2001;96: 15–25. doi:10.1007/PL00002148
124. Harb H, Renz H. Update on epigenetics in allergic disease. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2015;135: 15–24. doi:10.1016/j.jaci.2014.11.009
125. Worldwide variations in the prevalence of asthma symptoms: the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). *Eur Respir J*. 1998;12: 315–335. doi:10.1183/09031936.98.12020315
126. Mutius E von. The burden of childhood asthma. *Archives of Disease in Childhood*. 2000;82: ii2–ii5. doi:10.1136/adc.82.suppl_2.ii2
127. Schmitz R, Thamm M, Ellert U, Kalcklösch M, Schlaud M, KiGGS Study Group. [Prevalence of common allergies in children and adolescents in Germany: results of the KiGGS

- study: first follow-up (KiGGS Wave 1)]. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*. 2014;57: 771–778. doi:10.1007/s00103-014-1975-7
128. Lee J-H, Yu H-H, Wang L-C, Yang Y-H, Lin Y-T, Chiang B-L. The levels of CD4+CD25+ regulatory T cells in paediatric patients with allergic rhinitis and bronchial asthma. *Clin Exp Immunol*. 2007;148: 53–63. doi:10.1111/j.1365-2249.2007.03329.x
129. Mészáros G, Szalay B, Toldi G, Mezei G, Tamási L, Vásárhelyi B, et al. FoxP3+ regulatory T cells in childhood allergic rhinitis and asthma. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2009;19: 238–240.
130. Newacheck PW, Stoddard JJ. Prevalence and impact of multiple childhood chronic illnesses. *The Journal of Pediatrics*. 1994;124: 40–48. doi:10.1016/S0022-3476(94)70252-7
131. Wang D-Y. Risk factors of allergic rhinitis: genetic or environmental? *Therapeutics and Clinical Risk Management*. 2005;1: 115–123. doi:10.2147/term.s1211562907
132. Cucinotta D, Vanelli M. WHO Declares COVID-19 a Pandemic. *Acta Biomed*. 2020;91: 157–160. doi:10.23750/abm.v91i1.9397
133. Besprechung der Bundeskanzlerin mit den Regierungschefinnen und Regierungschefs der Länder vom 22.03.2020. In: *Die Bundesregierung informiert | Startseite* [Internet]. 22 Mar 2020 [cited 11 May 2023]. Available: <https://www.bundesregierung.de/breg-de/themen/coronavirus/besprechung-der-bundeskanzlerin-mit-den-regierungschefinnen-und-regierungschefs-der-laender-vom-22-03-2020-1733248>
134. Chronik zum Coronavirus SARS-CoV-2. [cited 12 May 2023]. Available: <https://www.bundesgesundheitsministerium.de/coronavirus/chronik-coronavirus.html>
135. LeBien TW, Tedder TF. B lymphocytes: how they develop and function. *Blood*. 2008;112: 1570–1580. doi:10.1182/blood-2008-02-078071
136. Comans-Bitter WM, de Groot R, van den Beemd R, Neijens HJ, Hop WC, Groeneveld K, et al. Immunophenotyping of blood lymphocytes in childhood. Reference values for lymphocyte subpopulations. *J Pediatr*. 1997;130: 388–393. doi:10.1016/s0022-3476(97)70200-2
137. Zhang X. Regulatory functions of innate-like B cells. *Cell Mol Immunol*. 2013;10: 113–121. doi:10.1038/cmi.2012.63
138. Banchereau J, Rousset F. Human B lymphocytes: phenotype, proliferation, and differentiation. *Adv Immunol*. 1992;52: 125–262. doi:10.1016/s0065-2776(08)60876-7
139. Viau M, Zouali M. B-lymphocytes, innate immunity, and autoimmunity. *Clin Immunol*. 2005;114: 17–26. doi:10.1016/j.clim.2004.08.019
140. Morbach H, Eichhorn EM, Liese JG, Girschick HJ. Reference values for B cell subpopulations from infancy to adulthood. *Clinical & Experimental Immunology*. 2010;162: 271–279. doi:10.1111/j.1365-2249.2010.04206.x

141. Henneke P, Kierdorf K, Hall LJ, Sperandio M, Hornef M. Perinatal development of innate immune topology. *eLife*. 2017;10: e67793. doi:10.7554/eLife.67793
142. Cerutti A, Cols M, Puga I. Marginal zone B cells: virtues of innate-like antibody-producing lymphocytes. *Nat Rev Immunol*. 2013;13: 118–132. doi:10.1038/nri3383
143. Sims GP, Ettinger R, Shirota Y, Yarboro CH, Illei GG, Lipsky PE. Identification and characterization of circulating human transitional B cells. *Blood*. 2005;105: 4390–4398. doi:10.1182/blood-2004-11-4284
144. Wehr C, Kivioja T, Schmitt C, Ferry B, Witte T, Eren E, et al. The EUROclass trial: Defining subgroups in common variable immunodeficiency. *Blood*. 2008;111: 77–85. doi:10.1182/blood-2007-06-091744
145. Palanichamy A, Barnard J, Zheng B, Owen T, Quach T, Wei C, et al. Novel human transitional B cell populations revealed by B cell depletion therapy. *J Immunol*. 2009;182: 5982–5993. doi:10.4049/jimmunol.0801859
146. Zandvoort A, Lodewijk M e., De Boer N k., Dammers P m., Kroese F g. m., Timens W. CD27 expression in the human splenic marginal zone: the infant marginal zone is populated by naive B cells. *Tissue Antigens*. 2001;58: 234–242. doi:10.1034/j.1399-0039.2001.580403.x
147. Lima J, Martins C, Leandro MJ, Nunes G, Sousa M-J, Branco JC, et al. Characterization of B cells in healthy pregnant women from late pregnancy to post-partum: a prospective observational study. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2016;16: 139. doi:10.1186/s12884-016-0927-7
148. Lopes-Carvalho T, Kearney JF. Development and selection of marginal zone B cells. *Immunological Reviews*. 2004;197: 192–205. doi:10.1111/j.0105-2896.2004.0112.x
149. Lutz J, Dittmann K, Bösl MR, Winkler TH, Wienands J, Engels N. Reactivation of IgG-switched memory B cells by BCR-intrinsic signal amplification promotes IgG antibody production. *Nat Commun*. 2015;6: 8575. doi:10.1038/ncomms9575
150. Griffin D, Rothstein T. Human B1 Cell Frequency: Isolation and Analysis of Human B1 Cells. *Frontiers in Immunology*. 2012;3. Available: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2012.00122>
151. Prabhu SB, Rathore DK, Nair D, Chaudhary A, Raza S, Kanodia P, et al. Comparison of Human Neonatal and Adult Blood Leukocyte Subset Composition Phenotypes. *PLOS ONE*. 2016;11: e0162242. doi:10.1371/journal.pone.0162242
152. Beck R, Lam-Po-Tang PR. Comparison of cord blood and adult blood lymphocyte normal ranges: a possible explanation for decreased severity of graft versus host disease after cord blood transplantation. *Immunol Cell Biol*. 1994;72: 440–444. doi:10.1038/icb.1994.65
153. Harris DT, Schumacher MJ, Locascio J, Besencon FJ, Olson GB, DeLuca D, et al. Phenotypic and functional immaturity of human umbilical cord blood T lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1992;89: 10006–10010.

154. Szabolcs P, Park K-D, Reese M, Marti L, Broadwater G, Kurtzberg J. Coexistent naïve phenotype and higher cycling rate of cord blood T cells as compared to adult peripheral blood. *Experimental Hematology*. 2003;31: 708–714. doi:10.1016/S0301-472X(03)00160-7
155. Shah K, Al-Haidari A, Sun J, Kazi JU. T cell receptor (TCR) signaling in health and disease. *Sig Transduct Target Ther*. 2021;6: 1–26. doi:10.1038/s41392-021-00823-w
156. Golubovskaya V, Wu L. Different Subsets of T Cells, Memory, Effector Functions, and CAR-T Immunotherapy. *Cancers (Basel)*. 2016;8: 36. doi:10.3390/cancers8030036
157. Jacks RD, Keller TJ, Nelson A, Nishimura M, White P, Iwashima M. Cell intrinsic characteristics of human cord blood naïve CD4 T cells. *Immunol Lett*. 2018;193: 51–57. doi:10.1016/j.imlet.2017.11.011
158. Tsuda S, Nakashima A, Shima T, Saito S. New Paradigm in the Role of Regulatory T Cells During Pregnancy. *Front Immunol*. 2019;10: 573. doi:10.3389/fimmu.2019.00573
159. Sakaguchi S, Yamaguchi T, Nomura T, Ono M. Regulatory T cells and immune tolerance. *Cell*. 2008;133: 775–787. doi:10.1016/j.cell.2008.05.009
160. Bereshchenko O, Bruscoli S, Riccardi C. Glucocorticoids, Sex Hormones, and Immunity. *Front Immunol*. 2018;9: 1332. doi:10.3389/fimmu.2018.01332
161. Lai J-J, Lai K-P, Zeng W, Chuang K-H, Altuwaijri S, Chang C. Androgen Receptor Influences on Body Defense System via Modulation of Innate and Adaptive Immune Systems: Lessons from Conditional AR Knockout Mice. *The American Journal of Pathology*. 2012;181: 1504–1512. doi:10.1016/j.ajpath.2012.07.008
162. Forest MG, Cathiard AM, Bertrand JA. Evidence of testicular activity in early infancy. *J Clin Endocrinol Metab*. 1973;37: 148–151. doi:10.1210/jcem-37-1-148
163. Laffont S, Rouquié N, Azar P, Seillet C, Plumas J, Aspod C, et al. X-Chromosome complement and estrogen receptor signaling independently contribute to the enhanced TLR7-mediated IFN- α production of plasmacytoid dendritic cells from women. *J Immunol*. 2014;193: 5444–5452. doi:10.4049/jimmunol.1303400
164. Johnnidis JB, Harris MH, Wheeler RT, Stehling-Sun S, Lam MH, Kirak O, et al. Regulation of progenitor cell proliferation and granulocyte function by microRNA-223. *Nature*. 2008;451: 1125–1129. doi:10.1038/nature06607
165. Haneklaus M, Gerlic M, O’Neill LAJ, Masters SL. miR-223: infection, inflammation and cancer. *J Intern Med*. 2013;274: 215–226. doi:10.1111/joim.12099
166. Kondo Y, Miyazato A, Okamoto K, Tanaka H. Impact of Sex Differences on Mortality in Patients With Sepsis After Trauma: A Nationwide Cohort Study. *Front Immunol*. 2021;12: 678156. doi:10.3389/fimmu.2021.678156
167. Chamekh M, Deny M, Romano M, Lefèvre N, Corazza F, Duchateau J, et al. Differential Susceptibility to Infectious Respiratory Diseases between Males and Females Linked to

- Sex-Specific Innate Immune Inflammatory Response. *Front Immunol.* 2017;8: 1806. doi:10.3389/fimmu.2017.01806
168. Baumgarth N. The double life of a B-1 cell: self-reactivity selects for protective effector functions. *Nat Rev Immunol.* 2011;11: 34–46. doi:10.1038/nri2901
169. Rothstein TL, Griffin DO, Holodick NE, Quach TD, Kaku H. Human B-1 cells take the stage. *Annals of the New York Academy of Sciences.* 2013;1285: 97–114. doi:10.1111/nyas.12137
170. Kawikova I, Paliwal V, Szczepanik M, Itakura A, Fukui M, Campos RA, et al. Airway hyper-reactivity mediated by B-1 cell immunoglobulin M antibody generating complement C5a at 1 day post-immunization in a murine hapten model of non-atopic asthma. *Immunology.* 2004;113: 234–245. doi:10.1111/j.1365-2567.2004.01936.x
171. Fournier C. Where Do T Cells Stand in Rheumatoid Arthritis? *Joint Bone Spine.* 2005;72: 527–532. doi:10.1016/j.jbspin.2004.12.012
172. Håkansson S, Källén K. Caesarean section increases the risk of hospital care in childhood for asthma and gastroenteritis. *Clinical & Experimental Allergy.* 2003;33: 757–764. doi:10.1046/j.1365-2222.2003.01667.x
173. Thavagnanam S, Fleming J, Bromley A, Shields MD, Cardwell CR. A meta-analysis of the association between Caesarean section and childhood asthma. *Clinical & Experimental Allergy.* 2008;38: 629–633. doi:10.1111/j.1365-2222.2007.02780.x
174. Salam MT, Margolis HG, McConnell R, McGregor JA, Avol EL, Gilliland FD. Mode of Delivery Is Associated With Asthma and Allergy Occurrences in Children. *Annals of Epidemiology.* 2006;16: 341–346. doi:10.1016/j.annepidem.2005.06.054
175. Mueller NT, Bakacs E, Combellick J, Grigoryan Z, Dominguez-Bello MG. The infant microbiome development: mom matters. *Trends in Molecular Medicine.* 2015;21: 109–117. doi:10.1016/j.molmed.2014.12.002
176. Fanaro S, Chierici R, Guerrini P, Vigi V. Intestinal microflora in early infancy: composition and development. *Acta Paediatrica.* 2003;92: 48–55. doi:10.1111/j.1651-2227.2003.tb00646.x
177. Penders J, Gerhold K, Thijs C, Zimmermann K, Wahn U, Lau S, et al. New insights into the hygiene hypothesis in allergic diseases. *Gut Microbes.* 2014;5: 239–244. doi:10.4161/gmic.27905
178. Penders J, Thijs C, Vink C, Stelma FF, Snijders B, Kummeling I, et al. Factors Influencing the Composition of the Intestinal Microbiota in Early Infancy. *Pediatrics.* 2006;118: 511–521. doi:10.1542/peds.2005-2824
179. Melville J, Moss T. The immune consequences of preterm birth. *Frontiers in Neuroscience.* 2013;7. Available: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnins.2013.00079>

7 Publikationen

Publikationen von Ergebnissen dieser Arbeit

Bous, M.; **Schmitt, C.**; Hans, M.C.; Weber, R.; Nourkami-Tutdibi, N.; Tenbruck, S.; Haj Hamoud, B.; Wagenpfeil, G.; Kaiser, E.; Solomayer, E.-F.; et al.. Sex Differences in the Frequencies of B and T Cell Subpopulations of Human Cord Blood. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *24*, 11511. <https://doi.org/10.3390/ijms241411511>. Impact Factor 2022: 5,6.

Weitere Publikationen

Schmitt C, Heine S, Simon A, Wagner A. Tularemia In A 14-Year-Old Female Pediatric Patient - A Case Report. *Klin Padiatr.* 2024 Mar 1. English. doi: 10.1055/a-2250-5353. Epub ahead of print. PMID: 38428468. Impact Factor 2023: 1,2

8 Danksagung

Die Erstellung dieser Arbeit wäre ohne verschiedene Personen, denen ich an dieser Stelle besonders danken möchte, nicht möglich gewesen.

Zu Beginn möchte ich mich bei meinem Doktorvater Herrn Professor Dr. Michael Zemlin bedanken, für die Möglichkeit mich mit diesem Thema zu beschäftigen, sowie für die Ermutigung und Unterstützung der Publikation meiner Ergebnisse.

Des Weiteren geht ein großes Dankeschön an meine Betreuerinnen Dr. Sybelle Goedicke-Fritz und Dr. Michelle Bous, die immer ein offenes Ohr für mich hatten und auf die ich mich immer verlassen konnte.

Außerdem möchte ich Dr. Regine Weber, Dr. Elisabeth Kaiser, Murielle Hans und Ellen Maurer für die ständige Hilfsbereitschaft danken. Danke, für alle Ratschläge und eure Unterstützung. Danke an das gesamte Laborteam der Allgemeinen Pädiatrie und Neonatologie für die schöne Zeit im Labor.

Zudem möchte ich mich bei Frau Dr. Gudrun Wagenpfeil bedanken, die mich bei meiner Datenauswertung unterstützt hat und auch sonst mit Rat und Tat zur Seite stand.

Besonders danken möchte ich meiner gesamten Familie, die mir auf meinem bisherigen Lebensweg pausenlos den Rücken gestärkt und mir so viel ermöglicht hat. Danke, dass es Euch gibt!

9 Lebenslauf

Aus datenschutzrechtlichen Gründen wird der Lebenslauf in der elektronischen Fassung der Dissertation nicht veröffentlicht.



10 Anhang

10.1 Fragebögen

Auswirkungen des Lockdowns in Deutschland auf die Modulation von Immunantworten im frühen Kindesalter

Fragebogen für die Eltern:

Allgemeine Fragen

Alter des Vaters _____

Alter der Mutter _____

Berechneter Entbindungstermin _____

Tatsächlicher Entbindungstermin _____

Körpergröße der Mutter _____

Körpergröße des Vaters _____

Bitte im Folgenden Zutreffendes ankreuzen:

Waren Sie oder Ihr Partner oder Ihre Kinder mit dem Coronavirus Sars-CoV-2 infiziert?

<input type="checkbox"/> nein	<input type="checkbox"/> ja, Infektion bei Mutter des Kindes	<input type="checkbox"/> ja, Infektion bei Vater des Kindes	<input type="checkbox"/> ja, Infektion bei in Haushalt lebenden Kindern	<input type="checkbox"/> ja, Infektion bei allen Haushaltsmitgliedern
Wenn ja:				
Wann? (Zeitraum)				
Behandlung im Krankenhaus?	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein			
welche Symptome haben sich jeweils gezeigt? (bitte ankreuzen)	<input type="checkbox"/> Husten <input type="checkbox"/> Atemnot/ Kurzatmigkeit <input type="checkbox"/> Fieber <input type="checkbox"/> Durchfall <input type="checkbox"/> Halsschmerzen <input type="checkbox"/> Schnupfen <input type="checkbox"/> Geschmacksverlust	<input type="checkbox"/> Husten <input type="checkbox"/> Atemnot/ Kurzatmigkeit <input type="checkbox"/> Fieber <input type="checkbox"/> Durchfall <input type="checkbox"/> Halsschmerzen <input type="checkbox"/> Schnupfen <input type="checkbox"/> Geschmacksverlust	<input type="checkbox"/> Husten <input type="checkbox"/> Atemnot/ Kurzatmigkeit <input type="checkbox"/> Fieber <input type="checkbox"/> Durchfall <input type="checkbox"/> Halsschmerzen <input type="checkbox"/> Schnupfen <input type="checkbox"/> Geschmacksverlust	<input type="checkbox"/> Husten <input type="checkbox"/> Atemnot/ Kurzatmigkeit <input type="checkbox"/> Fieber <input type="checkbox"/> Durchfall <input type="checkbox"/> Halsschmerzen <input type="checkbox"/> Schnupfen <input type="checkbox"/> Geschmacksverlust

Anhang

	0 Geruchsverlust 0 Müdigkeit 0 Kopfschmerzen 0 Gliederschmerzen			
--	--	--	--	--

Familienstand	0 verheiratet	0 liiert	0 geschieden	0 alleine lebend		
Schulabschluss						
Der Mutter des Kindes	0 Hauptschule	0 Mittlere Reife	0 Abitur	0 Hochschule/ Universität	0 Kein Abschluss	0 Sonstiger Abschluss
Des Vaters des Kindes	0 Hauptschule	0 Mittlere Reife	0 Abitur	0 Hochschule/ Universität	0 Kein Abschluss	0 Sonstiger Abschluss
Erwerbstätigkeit						
Der Mutter des Kindes	0 Nicht berufstätig	0 Voll berufstätig	0 Halbtags berufstätig	0 Teilzeit berufstätig		
Des Vaters des Kindes	0 Nicht berufstätig	0 Voll berufstätig	0 Halbtags berufstätig	0 Teilzeit berufstätig		

Beschreibung der jetzigen bzw. wenn momentan nicht mehr berufstätig die letzte ausgeübte Tätigkeit (bitte eintragen)

Anhang

	Beruf	Branche	Beginn/Ende (Jahr)
Der Mutter des Kindes			
Des Vaters des Kindes			

Erwerbstätigkeit während des Corona- Lockdowns?			
Der Mutter des Kindes	0 ja	0 nein	0 teilweise
Des Vaters des Kindes	0 ja	0 nein	0 teilweise

wenn erwerbstätig: im Homeoffice arbeitend?			
Der Mutter des Kindes	0 ja	0 nein	0 teilweise
Des Vaters des Kindes	0 ja	0 nein	0 teilweise

Haben sie und/oder ihr Partner ihren Job in der Coronakrise verloren?			
Der Mutter des Kindes	0 ja	0 nein	0 teilweise
Des Vaters des Kindes	0 ja	0 nein	0 teilweise

Anhang

Leben weitere Kinder im Haushalt? Wenn ja, wie viele? 0 nein

0 ja, _____ weitere Kinder

Wurden die Kinder während des Lockdowns zu Hause betreut?						
	Alter					
Kind 1		0 ja	0 nein	0 von der Mutter	0 vom Vater	0 von beiden Elternteilen
Kind 2		0 ja	0 nein	0 von der Mutter	0 vom Vater	0 von beiden Elternteilen
Kind 3		0 ja	0 nein	0 von der Mutter	0 vom Vater	0 von beiden Elternteilen
Kind 4		0 ja	0 nein	0 von der Mutter	0 vom Vater	0 von beiden Elternteilen
Kind 5		0 ja	0 nein	0 von der Mutter	0 vom Vater	0 von beiden Elternteilen
Kind 6		0 ja	0 nein	0 von der Mutter	0 vom Vater	0 von beiden Elternteilen

Wie groß war für Sie persönlich die Mehrbelastung, die durch die Kinderbetreuung entstanden ist?

(bitte Entsprechendes ankreuzen: 0-keine Mehrbelastung, 5-extreme Mehrbelastung)

Anhang

0 0	0 1	0 2	0 3	0 4	0 5
-----	-----	-----	-----	-----	-----

Hygiene in der Lockdown-Zeit						
Bitte die am ehesten zutreffende Antwort ankreuzen (0- trifft überhaupt nicht zu, 5-trifft voll und ganz zu)						
Ich habe die generellen Hygienevorschriften eingehalten.	0	0	0	0	0	0
	0	1	2	3	4	5
Ich habe bei jedem Verlassen der Wohnung einen Mundschutz getragen.	0	0	0	0	0	0
	0	1	2	3	4	5
Ich habe bei jedem Einkauf einen Mundschutz getragen.	0	0	0	0	0	0
	0	1	2	3	4	5
Ich habe immer mindestens 1,5 m Abstand zu meinen Mitmenschen gehalten.	0	0	0	0	0	0
	0	1	2	3	4	5
Ich habe nach jedem Kontakt mit meinen Mitmenschen die Hände mit alkoholischen Lösungen desinfiziert.	0	0	0	0	0	0
	0	1	2	3	4	5
Ich habe öfters als gewöhnlich meine Hände mit alkoholischen Lösungen desinfiziert.	0	0	0	0	0	0
	0	1	2	3	4	5

Anhang

Händedesinfektion: durchschnittlich wie oft pro Tag?	0	0	0	0	0	0
	0	1	2	3	4	5
Ich habe bei jeder Rückkehr in meine Wohnung die Hände gewaschen.	0	0	0	0	0	0
	0	1	2	3	4	5
Ich habe häufiger als gewöhnlich meine Hände gewaschen.	0	0	0	0	0	0
	0	1	2	3	4	5
*Händewaschen: durchschnittlich wie oft pro Tag?	0	0	0	0	0	0
	0	1	2	3	4	5
Geänderte Gewohnheiten während des Lockdowns	0	0	0	0	0	0
	0	1	2	3	4	5
Ich habe den Kontakt zu Personen, die außerhalb meines Haushaltes wohnen, während des Lockdowns komplett abgebrochen.	0	0	0	0	0	0
	0	1	2	3	4	5
Ich habe mich gesünder als gewöhnlich ernährt.	0	0	0	0	0	0
	0	1	2	3	4	5
Ich habe mehr Sport als gewöhnlich getrieben.	0	0	0	0	0	0
	0	1	2	3	4	5

Anhang

Ich habe mehr Alkohol als gewöhnlich getrunken.	0	0	0	0	0	0
	0	1	2	3	4	5
*wenn ja: wie viele Gläser/Flaschenvon welchem Getränk pro Tag?	0	0	0	0	0	0
	0	1	2	3	4	5
Ich habe mehr als gewöhnlich geraucht.	0	0	0	0	0	0
	0	1	2	3	4	5
*wenn ja : wie viele Zigaretten pro Tag?	0	0	0	0	0	0
	0	1	2	3	4	5

<p>Wurde bei Ihnen oder dem Vater des Kindes eine/mehrere der folgenden Erkrankungen (Bitte Zutreffendes im Folgenden ankreuzen und auf die Linie die entsprechende Erkrankung notieren)</p>		
Mutter des Kindes	<input type="checkbox"/> Asthma bronchiale <input type="checkbox"/> Heuschnupfen <input type="checkbox"/> Neurodermitis (atopisches Ekzem) <input type="checkbox"/> Autoimmunerkrankungen, wie z.B. Diabetes mellitus, Rheumatoide Arthritis <input type="checkbox"/> Darmerkrankungen, wie z.B. Colitis ulcerosa, Morbus Crohn	<p>Genaueres Krankheitsbild:</p>

Anhang

	<input type="checkbox"/> Schilddrüsenerkrankungen, wie z.B. Hashimoto-Thyreoiditis <input type="checkbox"/> andere Erkrankungen	
Vater des Kindes	<input type="checkbox"/> Asthma bronchiale <input type="checkbox"/> Heuschnupfen <input type="checkbox"/> Neurodermitis (atopisches Ekzem) <input type="checkbox"/> Autoimmunerkrankungen, wie z.B. Diabetes mellitus, Rheumatoide Arthritis <input type="checkbox"/> Darmerkrankungen, wie z.B. Colitis ulcerosa, Morbus Crohn <input type="checkbox"/> Schilddrüsenerkrankungen, wie z.B. Hashimoto-Thyreoiditis <input type="checkbox"/> andere Erkrankungen	Genaueres Krankheitsbild:

Wurde während ihrer Schwangerschaft eine der folgenden Erkrankungen diagnostiziert?

(Bitte Zutreffendes im Folgenden ankreuzen und auf die Linie die entsprechende Erkrankung notieren)

Anhang

Mutter des Kindes	<input type="checkbox"/> Asthma bronchiale <input type="checkbox"/> Heuschnupfen <input type="checkbox"/> Neurodermitis (atopisches Ekzem) <input type="checkbox"/> Autoimmunerkrankungen, wie z.B. Diabetes mellitus, Rheumatoide Arthritis <input type="checkbox"/> Darmerkrankungen, wie z.B. Colitis ulcerosa, Morbus Crohn <input type="checkbox"/> Schilddrüsenerkrankungen, wie z.B. Hashimoto-Thyreoiditis <input type="checkbox"/> andere Erkrankungen	Genaueres Krankheitsbild:
-------------------	---	---------------------------

Haben Sie während der Schwangerschaft regelmäßig Medikamente genommen?					
0 nein	0 ja	Wenn ja, welche?	Dosis?	Ab welcher SSW?	Bis zu welcher SSW?

Anhang

<p>Wurde bei einem oder mehrerer ihrer Kinder eine der folgenden Erkrankungen diagnostiziert? (Bitte Zutreffendes im Folgenden ankreuzen und auf die Linie die entsprechende Erkrankung notieren)</p>		
<p>0 nein 0 ja</p>	<p>0 Asthma bronchiale</p> <p>0 Heuschnupfen</p> <p>0 Neurodermitis (atopisches Ekzem)</p> <p>0 Autoimmunerkrankungen, wie z.B. Diabetes mellitus, Rheumatoide Arthritis</p> <p>0 Darmerkrankungen, wie z.B. Colitis ulcerosa, Morbus Crohn</p> <p>0 Schilddrüsenerkrankungen, wie z.B. Hashimoto-Thyreoiditis</p> <p>0 andere Erkrankungen</p>	<p>Genaueres Krankheitsbild:</p>

Anhang

--	--	--

Gab es während dieser Schwangerschaft Komplikationen (z.B. Gestationsdiabetes (Zuckererkrankungen während der Schwangerschaft), vorzeitige Wehen, Infektionen)?		
0 nein	0 ja	Wenn ja, welche?

Auswirkungen des Lockdowns/ der Pandemie

Bitte kreuzen Sie das am ehesten Zutreffende an (0- überhaupt nicht, 5-extrem).						
Wie sehr haben sie sich durch die Ausbreitung des Coronavirus SARS-CoV-2 und die Gesamtsituation bedroht gefühlt?	0 0	0 1	0 2	0 3	0 4	0 5
Wie groß würden Sie den Verlust einschätzen, den Sie persönlich durch die SARS-CoV-2-Pandemie erlitten haben?	0 0	0 1	0 2	0 3	0 4	0 5
Wie groß würden Sie die Veränderungen durch die SARS-CoV-2-Pandemie einschätzen?	0 0	0 1	0 2	0 3	0 4	0 5
Wie groß schätzen Sie die Tragweite der SARS-CoV-2-Pandemie für Sie persönlich ein?	0 0	0 1	0 2	0 3	0 4	0 5
Ich hatte das Gefühl bezüglich der Corona-Pandemie gut informiert zu sein.	0 0	0 1	0 2	0 3	0 4	0 5
Ich habe mir aufgrund der Corona-Pandemie mehr Sorgen bezüglich der bevorstehenden Geburt gemacht.	0 0	0 1	0 2	0 3	0 4	0 5
Ich habe mir aufgrund der Corona-Pandemie mehr Sorgen bezüglich der Gesundheit meines Kindes gemacht.	0 0	0 1	0 2	0 3	0 4	0 5

Bitte kreuzen Sie im Folgenden die am ehesten zutreffende Antwortmöglichkeit an.					
Haben Sie in den letzten Wochen wegen Sorgen schlechter geschlafen?	nein, nicht	gar üblich	nicht schlechter als üblich	schlechter als üblich	viel schlechter als üblich
Haben Sie das Gefühl gehabt, dauernd unter Druck zu stehen?	nein, nicht	gar üblich	nicht mehr als üb- lich	mehr als üblich	viel mehr als üb- lich
Haben Sie sich in den letzten Wochen auf das, was Sie gemacht haben, konzentrieren können?	besser üblich	als üblich	so wie üblich	schlechter als üblich	viel schlechter als übrig
Haben Sie in den letzten Wochen das Gefühl gehabt, für etwas nützlich zu sein?	mehr üblich	als üblich	so wie üblich	weniger als üblich	viel weniger als üblich
Haben Sie in den letzten Wochen das Gefühl gehabt, sich mit Ihren Problemen auseinander zu setzen?	besser üblich	als üblich	so wie üblich	weniger als üb- lich	viel weniger als üblich
Ist es Ihnen in den letzten Wochen schwergefallen, Entscheidungen zu treffen?	nein, nicht	gar üblich	so wie üblich	schwerer als üblich	viel schwerer als üblich
Haben Sie in den letzten Wochen den Eindruck gehabt, dass Sie mit Ihren Schwierigkeiten nicht zu Rande gekommen sind?	nein, nicht	gar üblich	nicht schlechter als üblich	schlechter als üblich	viel schlechter als üblich
Alles in allem, haben Sie sich in den letzten Wochen einigermaßen zufrieden gefühlt?	mehr üblich	als üblich	so wie üblich	weniger als üb- lich	viel weniger als üblich

Anhang

Konnten Sie in den letzten Wochen Ihren Alltagsverpflichtungen mit Freude nachgehen?	mehr als üblich	so wie üblich	weniger als üb- lich	viel weniger als üblich
Haben Sie sich in den letzten Wochen unglücklich und deprimiert gefühlt?	nein, gar nicht	nicht mehr als üb- lich	mehr als üblich	viel mehr als üb- lich
Haben Sie in den letzten Wochen einen Mangel an Selbstvertrauen ge- spürt?	nein, gar nicht	nicht mehr als üb- lich	mehr als üblich	viel mehr als üb- lich
Haben Sie sich in den letzten Wochen wertlos gefühlt?	nein, gar nicht	nicht mehr als üblich	mehr als üblich	viel mehr als üb- lich

Verarbeitung des Corona-Lockdowns:				
Bitte denken Sie zurück an die Zeit des Lockdowns und der Pandemie (im Folgenden als das "Ereignis" beschrieben.				
Geben Sie im Folgenden an, wie Sie in der vergangenen Woche zu diesem Ereignis gestanden haben, indem Sie für jede der folgenden Reaktionen ankreuzen, wie häufig diese bei Ihnen aufgetreten ist.				
	0 überhaupt nicht	0 selten	0 manchmal	0 oft
Immer, wenn ich an das Ereignis erinnert wurde, kehrten die Gefühle wieder.				
Ich hatte Schwierigkeiten, nachts durchzuschlafen.				

Anhang

Andere Dinge erinnerten mich immer wieder daran.				
Ich fühlte mich reizbar und ärgerlich.				
Ich versuchte, mich nicht aufzuregen, wenn ich daran dachte oder daran erinnert wurde.				
Auch ohne es zu beabsichtigen, musste ich daran denken.				
Es kam mir so vor, als ob es gar nicht geschehen wäre oder irgendwie unwirklich war.				
Ich versuchte, Erinnerungen daran aus dem Weg zu gehen.				
Bilder, die mit dem Ereignis zu tun hatten, kamen mir plötzlich in den Sinn.				
Ich war leicht reizbar und schreckhaft.				
Ich versuchte, nicht daran zu denken.				
Ich merkte zwar, dass meine Gefühle durch das Ereignis noch sehr aufgewühlt waren, aber ich beschäftigte mich nicht mit ihnen.				
Die Gefühle, die das Ereignis in mir auslöste, waren ein bisschen wie abgestumpft.				

Anhang

Ich stellte fest, dass ich handelte oder fühlte, als ob ich in die Zeit (des Ereignisses) zurückversetzt sei.				
Ich konnte nicht einschlafen.				
Es kam vor, dass die Gefühle, die mit dem Ereignis zusammenhingen, plötzlich für kurze Zeit viel heftiger wurden.				
Ich versuchte, es (das Ereignis) aus meiner Erinnerung zu streichen.				
Es fiel mir schwer, mich zu konzentrieren.				
Die Erinnerungen daran lösten bei mir körperliche Reaktionen aus, wie Schwitzen, Atemnot, Schwindel oder Herzklopfen.				
Ich träumte davon.				
Ich empfand mich selber als sehr vorsichtig, aufmerksam oder hellhörig.				
Ich versuchte, nicht darüber zu sprechen.				

11 Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe.

Die Arbeit wurde bisher weder im Inland noch im Ausland in gleicher Form in einem anderen Verfahren zur Erlangung des Doktorgrades einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Homburg, 27.10.2024