

**Untersuchung von HLA-Merkmalen
bei Patienten mit Morbus Basedow
mit und ohne autoimmune organspezifische
Zweiterkrankungen
sowie mit und ohne Immunorbitopathie**

D i s s e r t a t i o n

zur Erlangung des akademischen Grades
doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt dem
Rat der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Schiller-Universität Jena

von Katharina Eger
geboren am 27.01.1970 in Erfurt

INHALT

Tabellenverzeichnis	Seite
	IV
Abbildungsverzeichnis	VI
Formelverzeichnis	VII
Abkürzungsverzeichnis	VIII
1 Einführung	1
1.1 Der Haupthistokompatibilitäts-Genkomplex	1
1.2 Das HLA-System und Autoimmunerkrankungen	3
1.3 Zur Klassifikation von Autoimmunerkrankungen	7
1.4 Zur Rolle des HLA-Systems in der Pathogenese des Mb. Basedow und der Immunorbitopathie	8
2 Problemstellung	15
3 Patienten und Methoden	16
3.1 Patientengruppe	16
3.2 Kontrollgruppe	19
3.3 Methoden	19
3.3.1 HLA-Oberflächenantigen-Bestimmung	19
3.3.2 Bestimmung der HLA-DQA-Allele	20
3.3.2.1 Probengewinnung	20
3.3.2.2 DNS-Isolierung	20
3.3.2.3 Amplifizierung der DNS mittels PCR	22
3.3.2.4 Alleltypisierung	23
3.4 Statistik	24
3.4.1 Signifikanztestung	25
3.4.2 Krankheitsassoziation	27
3.4.3 Validität der Ergebnisse	27
4 Ergebnisse	29
4.1 Charakterisierung der Patientengruppe	29
4.2 HLA-Oberflächenantigene und HLA-DQA1-Allele	31
4.2.1 Ergebnisse der Untersuchung der HLA-Oberflächenantigene	31

4.2.2	Ergebnisse der Untersuchung der DQA1 -Allele	38
5	Diskussion	41
5.1	Zur den Patientengruppen	41
5.2	Zur Kontrollgruppe	43
5.3	Zur Methodik	44
5.3.1	Methoden	44
5.3.2	Statistik	46
5.4	HLA-Assoziation und Mb. Basedow	47
5.5	HLA-Assoziation und Mb. Basedow als kombinierte organspezifische Autoimmunerkrankung	50
5.6	HLA-Assoziation und Immunorbitopathie	52
5.7	Zur Rolle des HLA-Systems in der Pathogenese des Mb. Basedow und der Immunorbitopathie	53
5.8	HLA-Merkmale als genetische Marker in der Diagnostik des Mb. Basedow und der Immunorbitopathie	56
6	Schlußfolgerungen	58
7	Zusammenfassung	60
8	Literatur	62
9	Anhang	72
I.	Tabellarische Gesamtdarstellung der Ergebnisse	72
II.	Verwendete Geräte und Chemikalien	89

TABELLENVERZEICHNIS

	Seite
Tabelle 1. HLA-Krankheitsassoziationen. Beispiele von nachgewiesenen Assoziationen zwischen Erkrankung und HLA-Marker	4
Tabelle 2. HLA-assoziierte Krankheiten mit Ursache in HLA-Nachbargenen	6
Tabelle 3. Untersuchte Kandidatengene für den Mb. Basedow (Übersicht)	11
Tabelle 4. HLA-Assoziation und Mb. Basedow: Zusammenfassung der wesentlichen Ergebnisse aus der Literatur (kaukasische Bevölkerungsgruppe)	12
Tabelle 5. Prinzip der Vierfeldertafel	25
Tabelle 6. Quantile $\chi^2_{f,p}$ der χ^2 -Verteilung bei einem Freiheitsgrad $f = 1$	27
Tabelle 7. Untersuchte Patienten und deren Krankheitsspektrum	29
Tabelle 8. Organspezifische Autoimmunerkrankungen, die im Rahmen einer KOSA neben dem Mb. Basedow auftraten	30
Tabelle 9. Übersicht über die Kombinationen der OSA	31
Tabelle 10. HLA-Assoziationen in den Patientengruppen (nur signifikante Ergebnisse dargestellt)	34
Tabelle 11. Assoziation von HLA-B8 in den verschiedenen Patientengruppen	36
Tabelle 12. Assoziation von HLA-DR3 in den verschiedenen Patientengruppen	37
Tabelle 13. Assoziation von HLA-Cw7 in den verschiedenen Patientengruppen	37
Tabelle 14. Assoziation von HLA-A10 in den verschiedenen Patientengruppen	37
Tabelle 15. HLA-DQA1-Allele in den Patientengruppen	40
Tabelle 16. HLA-Assoziation und Immunorbitopathie bei kaukasischen Patienten	53
Tabelle 17. Ergebnisse von Kopplungsanalysen bei Mb. Basedow (Kopplung nachgewiesen)	56
Tabellen im Anhang (tabellarische Gesamtdarstellung der Ergebnisse)	
Tabelle A1. HLA-A-Haplotyp in der Patientengruppe MB _{ges.} und in der Kontrollgruppe	72
Tabelle A2. HLA-A-Haplotyp in den Gruppen MB/SOSA, MB/KOSA und Kontrollgruppe	73

Tabelle A3.	HLA-A-Haplotyp in den Gruppen MB/-IO und MB/+IO und der Kontrollgruppe	74
Tabelle A4.	HLA-B-Haplotyp in der Patientengruppe MB _{ges.} und in der Kontrollgruppe	75
Tabelle A5.	HLA-B-Haplotyp in der Gruppe MB/SOSA und der Kontrollgruppe	76
Tabelle A6.	HLA-B-Haplotyp in der Gruppe MB/KOSA und in der Kontrollgruppe	77
Tabelle A7.	HLA-B-Haplotyp in der Gruppe MB/-IO und in der Kontrollgruppe	78
Tabelle A8.	HLA-B-Haplotyp in der Gruppe MB/+IO und in der Kontrollgruppe	79
Tabelle A9.	HLA-Bw-Haplotyp in den Patientengruppen MB _{ges.} , MB/SOSA, MB/KOSA, MB/-IO, MB/+IO und in der Kontrollgruppe	80
Tabelle A10.	HLA-Cw-Haplotyp in den drei Patientengruppen MB/gesamt, MB/SOSA, MB/KOSA und in der Kontrollgruppe	81
Tabelle A11.	HLA-Cw-Haplotyp in den Gruppen MB/-IO und MB/+IO und in der Kontrollgruppe	82
Tabelle A12.	HLA-DR-Haplotyp in der Gruppe MB _{ges.} und in der Kontrollgruppe	82
Tabelle A13.	HLA-DR-Haplotyp in den Gruppen MB/SOSA, MB/KOSA und Kontrollgruppe	83
Tabelle A14.	HLA-DR-Haplotyp in den Gruppen MB/-IO, MB/+IO und Kontrollgruppe	84
Tabelle A15.	HLA-DRw-Haplotyp in den Gruppen MB/gesamt, MB/SOSA, MB/KOSA, MB/-IO, MB/+IO und in der Kontrollgruppe	85
Tabelle A16.	HLA-DQ-Haplotyp in den Gruppen MB/gesamt, MB/SOSA, MB/KOSA und in der Kontrollgruppe	86
Tabelle A17.	HLA-DQ-Haplotyp in den Gruppen MB/-IO und MB/+IO und in der Kontrollgruppe	87
Tabelle A18.	HLA-DQA1 in den Patientengruppen MB/gesamt, MB/SOSA, MB/KOSA, MB/-IO, MB/+IO und in der Kontrollgruppe	88

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

	Seite
Abbildung 1. Genetische Organisation des MHC auf Chromosom 6	2
Abbildung 2. Häufigkeit von HLA-Merkmalen in der Patientengruppe MB ges. im Vergleich mit der Kontrollgruppe	32
Abbildung 3. Häufigkeit von HLA-Merkmalen in der Patientengruppe MB/SOSA im Vergleich mit der Kontrollgruppe	33
Abbildung 4. Häufigkeit von HLA-Merkmalen in der Patientengruppe MB/KOSA im Vergleich mit der Kontrollgruppe	33
Abbildung 5. Häufigkeit von HLA-Merkmalen in der Patientengruppe MB/-IO im Vergleich mit der Kontrollgruppe	35
Abbildung 6. Häufigkeit von HLA-Merkmalen in der Patientengruppe MB/+IO im Vergleich mit der Kontrollgruppe	36
Abbildung 7. Häufigkeit von HLA-DQA1-Allelen in den Patientengruppen MB ges., MB/SOSA und MB/KOSA im Vergleich mit der Kontrollgruppe	41

FORMELVERZEICHNIS

	Seite
Formel 1. Berechnung der Prüfgröße χ^2	26
Formel 2. Berechnung des nach Bonferroni korrigierten p-Wertes (p_{kor})	26
Formel 3. Berechnung des relativen Risikos (RR)	27
Formel 4. Berechnung des ätiologischen Faktors (EF)	27
Formel 5. Berechnung der Sensitivität	28
Formel 6. Berechnung der Spezifität	28
Formel 7. Berechnung der positiven Korrektheit	29
Formel 8. Berechnung der negativen Korrektheit	29

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

APC	engl.: antigen presenting cells (Antigen-präsentierende Zellen)
Arg 52 +	Allel, das für Arginin an Position 52 kodiert (DQA1*0301, *0401, *0501, *0601 sind für Arginin-52-positiv kodierende Allele)
CD	cluster of differentiation
CM	centromerisch
CT	Computertomographie
CTLA-4	cytotoxic T lymphocyte antigen-4
DNS	Desoxyribonukleinsäure
EF	ätiologischer Faktor
HLA	human leucocyte antigen
IF	Interferon
IL	Interleukin
IO	Immunorbitopathie, Syn. Endokrine Orbitopathie
kb	Kilobasen
KOSA	kombinierte organspezifische Autoimmunerkrankung
LOD	logarithm of Odds
MB	Mb. Basedow
MHC	major histocompatibility complex
MRT	Magnetresonanztomographie
OSA	organspezifische Autoimmunerkrankung
PGAE	pluriglanduläre Autoimmunerkrankung
Ref.	Referenz
RR	relatives Risiko
SAIE	solitäre Autoimmunerkrankung
Sens.	Sensitivität
SOSA	solitäre organspezifische Autoimmunerkrankung
Spez.	Spezifität
SSO	sequenzspezifische Oligonukleotide
TAP	transporters associated with antigen processing
TBI	TSH-binding inhibiting antibody
TM	telomerisch
TNF	Tumornekrose-Faktor
TSAB	thyroid stimulating antibody
TSBAB	thyrotropin stimulation blocking antibody
TSH	thyroid stimulating hormone
TSH-R-AK	TSH-Rezeptor-Antikörper
U/min	Umdrehungen pro Minute
*	ein Stern hinter einem HLA-Merkmal (z.B. HLA-DQA1*0301) ist kennzeichnend für ein Allel (genauer für eine allelische Variante des Gens, z.B. des Gens DQA1); ein HLA-Merkmal ohne Stern bezeichnet ein serologisch definiertes HLA-Antigen

1 EINFÜHRUNG

1.1 Der Haupthistokompatibilitäts-Genkomplex

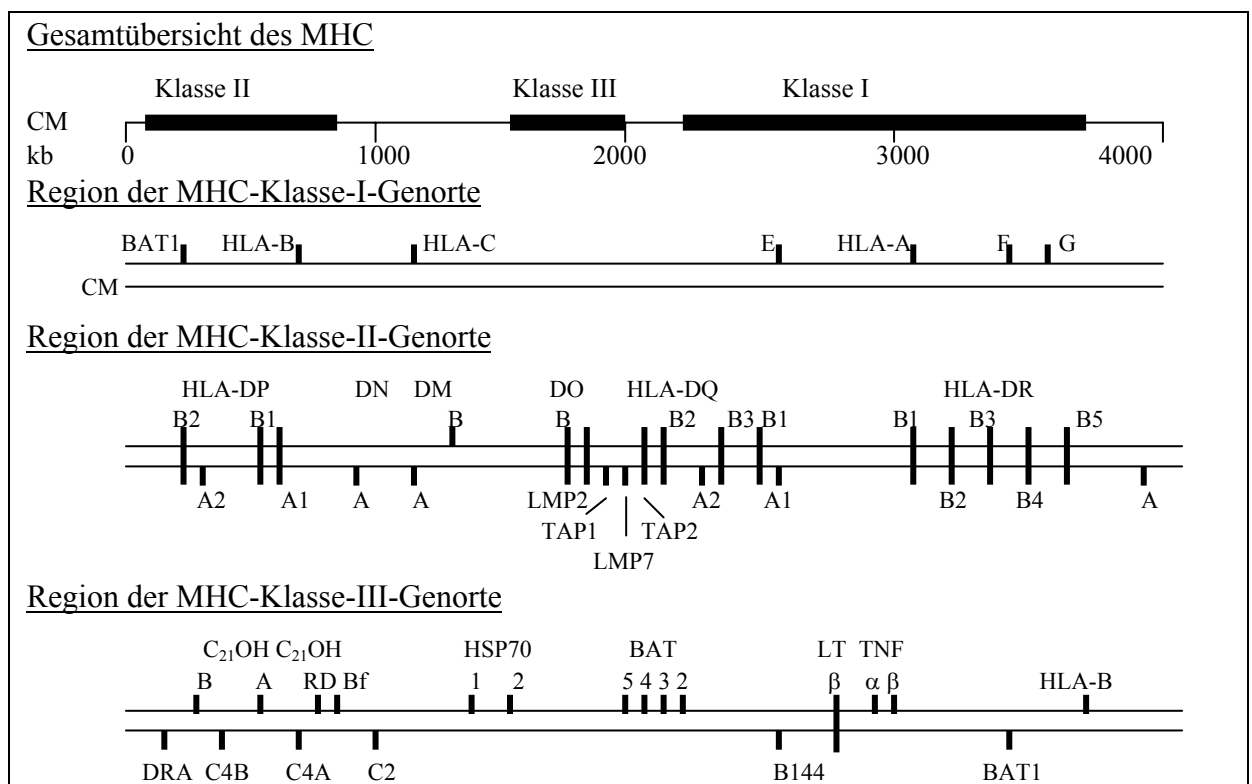
Der *Haupthistokompatibilitäts-Genkomplex* (MHC, major histocompatibility complex) umfaßt eine Gruppe eng gekoppelter Gene, die dadurch definiert sind, daß sie die am schwierigsten zu überwindende Barriere gegen eine Transplantation von Gewebe oder Knochenmark darstellen. Bei jeder bisher untersuchten Säugetierspezies konnte nachgewiesen werden, daß sie über einen Haupthistokompatibilitäts-Genkomplex verfügt. Beim Menschen trägt er die Bezeichnung HLA (human leucocyte antigen) und wird in drei Regionen unterteilt: Region der MHC-Klasse-I-Genorte, der MHC-Klasse-II-Genorte und der MHC-Klasse-III-Genorte (Abb. 1) (2).

Der MHC des Menschen wird auf Chromosom 6 kodiert und umfaßt über 200 Gene, von denen mehr als 40 für Leukozyten-Antigene kodieren. Die übrigen Gene sind zwar nicht evolutionsbiologisch, aber funktionell mit den Leukozyten-Antigenen verbunden. Zum Beispiel befinden sich in enger Nachbarschaft der HLA-DQ-Gene die TAP1 (transporters associated with antigen processing)- und TAP2-Gene, welche eine Rolle bei der Antigenpräsentation an der Zelloberfläche spielen. Weitere Gene des MHC sind ohne Bedeutung für das Immunsystem. Zum Beispiel befinden sich in der Region der MHC-Klasse-III-Gene in enger Nachbarschaft der Komplementgene zwei Gene der C₂₁-Hydroxylase, eines Enzyms aus der Cortisolsynthese. Es sind noch weitere Gene bekannt (z.B. B-associated transcript BAT1-5), deren Funktion unbekannt ist (2, 63).

Alle Histokompatibilitätsantigene bilden ein Heterodimer aus einer α - und einer β -Kette. Während die Klasse-II-Gene sowohl für die α - als auch für die β -Kette kodieren, wird von den Klasse-I-Genen nur für die α -Kette kodiert; die β -Kette, das β_2 -Mikroglobulin, hingegen auf Chromosom 15. Die Buchstaben A und B kennzeichnen, ob für die α - oder β -Kette kodiert wird (z.B. HLA-DQA bedeutet, daß für die α -Kette des HLA-DQ-Heterodimers kodiert wird; HLA-DQB hingegen für die β -Kette).

Die MHC-Genorte sind durch einen erheblichen *Polymorphismus* gekennzeichnet. So weisen z.B. DR2-Haplotypen ein DRB1-Gen, ein DRB2-Pseudogen und ein DRB5-Gen zusätzlich zu DRA auf. Haplotypen mit DR3 weisen die Kombination von DRB1 und DRB3 auf, während Haplotypen mit DR4 die Kombination DRB1 und DRB4 zeigen usw. Dieser Polymorphismus der Klasse-II-Region ist nicht auf die verschiedenen möglichen Allele begrenzt, sondern erstreckt sich auch auf die Anzahl und Art der auf den unterschiedlichen Haplotypen vorliegenden Gene. Dieser Polymorphismus wird noch vergrößert dadurch, daß eine große Zahl verschiedener interisotypischer Hybridmoleküle in cis- und trans-Position gebildet werden kann (z.B. ein Dimer aus DRA und DQB oder aus DQA und DRB) (2, 63).

Abbildung 1. Genetische Organisation des MHC auf Chromosom 6 (nach Albert 1997)



Während MHC-Klasse-I-Moleküle auf nahezu allen Vertebraten-Zellen exprimiert werden, beschränken sich MHC-Klasse-II-Moleküle auf nur wenige Zelltypen, wie z.B. B-Lymphozyten und Makrophagen, welche mit T-Helfer-Zellen in Kontakt treten. Die *Hauptfunktion der MHC-Moleküle* ist es, dem T-Zellrezeptor von CD4⁺ (Helfer-) bzw. CD8⁺ (zytotoxische) T-Zellen ein Antigen zu präsentieren, indem sie Antigene in Form

von Peptid-Fragmenten binden und sie an die Zelloberfläche transportieren. MHC-Klasse-I-Moleküle präsentieren die fremden Proteine den CD8⁺ T-Zellen, MHC-Klasse-II-Moleküle präsentieren diese den CD4⁺ T-Zellen (3, 63). CD4⁺ T-Zellen verstärken die Aktivitäten anderer weißer Blutzellen. T_H1 (T-Helfer-1-) -Zellen aktivieren Makrophagen zur Zerstörung von aufgenommenen Mikroorganismen; T_H2-Zellen stimulieren B-Zellen zur Proliferation und Sekretion von Antikörpern (104). Zytotoxische (CD8⁺) T-Zellen hingegen sind unmittelbar an der Abwehr von Infektionen beteiligt, indem sie infizierte Zellen vernichten (2, 63).

1.2 Das HLA-System und Autoimmunerkrankungen

Erste Hinweise dafür, daß der major histocompatibility complex (MHC) eine Rolle in der Pathogenese von Erkrankungen spielt, wurden 1964 gefunden. Es konnte beobachtet werden, daß in einem Mausinzuchtstamm die Empfänglichkeit für Leukämie hauptsächlich von zwei verschiedenen Genen bestimmt wird, von denen eines mit dem H-2-Komplex, dem MHC-System der Maus, segregiert. Beim Menschen wurden 1967 erstmals Hinweise für einen Zusammenhang von HLA-System und Krankheit gefunden, als festgestellt wurde, daß bei Patienten mit Mb. Hodgkin HLA-4c (nach heutiger Nomenklatur HLA-B5, B35, B18) häufiger vorkommt als in einer gesunden Kontrollpopulation (2). Dadurch wurden zahlreiche Untersuchungen angeregt, die einem Zusammenhang des HLA-Systems mit verschiedenen Erkrankungen nachgingen. Inzwischen sind für zahlreiche Erkrankungen HLA-Krankheitsassoziationen gefunden worden (Tabelle 1).

Die Empfänglichkeit für zahlreiche Erkrankungen scheint demnach auf einer sehr begrenzten genetischen Region des MHC kodiert zu sein. Diese Vermutung legt den Schluß nahe, daß vielen dieser Erkrankungen ein gemeinsames pathogenetisches Prinzip zugrunde liegt. Vor allem für Erkrankungen, die mit der HLA-D-Region assoziiert sind, wurden Autoimmunprozesse in der Pathogenese bewiesen (z.B. Mb. Basedow, Hashimoto-Thyreoiditis, Diabetes mellitus Typ 1, Zöliakie etc.).

Tabelle 1. HLA-Krankheitsassoziationen. Beispiele von nachgewiesenen Assoziationen zwischen Erkrankung und HLA-Marker (nach Albert 1997 und Klein u. Sato 2000b)

Krankheit	stärkste Assoziationen¹	relatives Risiko
Mb. Basedow	DR3	7,8
	DQA1*0501	9,1
Hashimoto-Thyreoiditis	DR11	3,2
Myasthenia gravis	B8	3,4
Multiple Sklerose	DR2	4,1
Mb. Bechterew	B27	87,4
Diabetes mellitus Typ 1	DR4	6,4
	DQB1*0302	9,5
Zöliakie	DR3	10,8
rheumatoide Arthritis	DR4	4,2

HLA-Merkmale werden autosomal dominant vererbt. Es wäre also zu erwarten, daß bei einer hochgradigen Assoziation einer Erkrankung mit einem HLA-Merkmal Hinweise für eine Vererbung gefunden werden. Bei Patienten mit einer HLA-assoziierten Erkrankung ist die Häufigkeit der Erkrankung bei Verwandten ersten Grades zwar größer als in der Gesamtbevölkerung, aber ein autosomal dominanter Erbgang läßt sich bis auf wenige Ausnahmen nicht feststellen, so daß eine niedrige Penetranz vermutet werden muß. Diese Vermutung wird gestützt durch die Beobachtung, daß in Familien, in denen mehr als ein Familienmitglied an einer HLA-assoziierten Erkrankung leidet, trotz mindestens eines gemeinsamen HLA-Haplotyps nicht alle Familienmitglieder mit diesem Haplotyp die Erkrankung aufweisen. Eine Diskordanz für eine HLA-assoziierte Erkrankung wurde auch bei eineiigen Zwillingen beobachtet, jedoch auch eine Konkordanz, so daß an einer genetischen Disposition nicht gezweifelt werden kann (2).

Prinzipiell sind folgende Assoziationen des HLA-Systems mit einer Erkrankung möglich:

- Assoziation mit einem einzelnen HLA-Antigen (z.B. HLA-B27),
- Assoziation mit HLA-Haplotypen (z.B. HLA-A1 und -B8 und -DR3),
- Assoziation mit mehreren Allelen eines Genortes (z.B. HLA-DR3 und -DR7).

¹ Mit Stern (*) gekennzeichnete Symbole markieren HLA-Allele; Symbole ohne Stern bedeuten serologisch definierte HLA-Antigene.

Die Assoziation mit einem einzelnen Antigen wurde für zahlreiche Erkrankungen beschrieben (siehe Tab. 1). Eine Assoziation von Krankheit mit HLA-Haplotypen (z.B. mit A1 und B8 und DR3) konnte bisher statistisch nicht bewiesen werden. Die von einigen Autoren angenommenen Haplotypassoziationen sind eher auf ein Allel eines einzigen Genortes zurückzuführen, das wegen des Kopplungsungleichgewichtes mit Allelen der Nachbargenorte vergesellschaftet vorgefunden wird und zwar sowohl bei den Patienten wie in der Kontrollpopulation (2). Eine weitere Möglichkeit der HLA-Assoziation mit einer Erkrankung ist die Assoziation mit mehreren Allelen des gleichen Genortes (z.B. bei Zöliakie: DR3, DR7, Diabetes mellitus Typ 1: DR3, DR4). Ursache hierfür könnten sein: 1. Heterogenität der Erkrankung, d.h. eine Untergruppe der Erkrankung ist mit dem einen Allel, eine andere Untergruppe mit dem anderen Allel assoziiert; 2. Assoziation des gleichen Krankheitsempfänglichkeitsgens mit zwei unterschiedlichen Allelen des gleichen Genortes; 3. Interaktion zweier unterschiedlicher Krankheitsempfänglichkeitsgene, die mit je einem der beiden assoziierten Allele vergesellschaftet sind und somit Kodierung der Krankheitsempfänglichkeit. Für den dritten Aspekt spricht, daß ein signifikanter Überschuß von heterozygotem DR3/DR4 beim Diabetes mellitus Typ 1 bzw. DR3/DR7 bei der Zöliakie gefunden wird (2).

Beim Diabetes mellitus Typ 1 wurde festgestellt, daß das HLA-Merkmal DR2 signifikant seltener vorkommt als in der gesunden Kontrollpopulation. Dies legt die Frage nahe, ob es HLA-Allele mit protektiver Wirkung gibt. Eine alleinige Verringerung eines Allels reicht jedoch nicht aus, um diese Hypothese zu formulieren, denn eine erhöhte Frequenz z.B. von –DR3 und –DR4 hat eine kompensatorische Frequenzverringern von z.B. –DR2 zur Folge. Das erwartete Maß der Frequenzverringern für ein Allel kann errechnet und mit den beobachteten Frequenzen verglichen werden. Für den Diabetes mellitus Typ 1 wird den Allelen DR2 und DR5 ein protektiver Effekt zugeschrieben (2).

Die Mechanismen der HLA-Krankheitsassoziation sind nach wie vor für die meisten Erkrankungen unklar. Folgende Möglichkeiten sind denkbar:

1. Beteiligung eines Nachbargens; 2. direkte Beteiligung eines HLA-Antigens.

Wenn eine HLA-Krankheitsassoziation festgestellt wird, muß die Möglichkeit bedacht werden, daß nicht das HLA-Gen an sich, sondern ein in dessen enger Nachbarschaft gelegenes Gen an der Pathogenese beteiligt ist. Das scheinbar assoziierte HLA-Gen würde in diesem Fall wegen seines starken Kopplungsungleichgewichtes gegenüber dem eigentlichen Krankheitsgen gehäuft bei den Patienten gefunden. Diese Möglichkeit wurde für verschiedene Erkrankungen nachgewiesen (Tabelle 2) (2, 64).

Tabelle 2. HLA-assoziierte Krankheiten mit Ursache in HLA-Nachbargenen

Krankheit	assoziiertes HLA-Merkmal	ursächliches HLA-Nachbargen
• Adrenogenitales Syndrom (mit oder ohne Salzverlust)	B47, B51, B14	• C21-Hydroxylase-B-Gen (in enger Nachbarschaft zum HLA-B-Genort)
• bare lymphocyte syndrome	DQ	• TAP (transporters associated with antigen processing) - Gen (in enger Nachbarschaft zum HLA-DQ-Genort)
• Narkolepsie	DQ	• Hypocretin Typ 2 – Rezeptor-Gen (HCRTR2-Gen) (in enger Nachbarschaft zu HLA-DQB1*0602 und DQA1*0102)

In enger Nachbarschaft der HLA-Genorte A, B, C und DR liegt eine größere Anzahl von Genen insbesondere im Bereich der MHC-Klasse-III, deren ursächliche Beteiligung an einigen der HLA-assoziierten Krankheiten möglich wäre (Komplementgene C2, Bf und C4, die Gene des Tumornekrosefaktors (TNF) und des Heat-Shock-Proteins 70; Abb. 1). Außerdem gibt es noch eine Reihe weiterer Gene in der HLA-Region, deren Funktion bisher noch vollkommen ungeklärt ist und die theoretisch auch als Kandidatengene in Frage kommen (2).

Bei sehr vielen HLA-assoziierten Erkrankungen finden sich eindeutige Hinweise für eine Autoimmunkrankheit. Daher ist es auch wahrscheinlich, daß die HLA-Antigene selbst direkt oder zumindest indirekt an der Pathogenese beteiligt sind. Es existieren derzeit vorrangig drei Hypothesen, welche Ursachen dieser Annahme zugrunde liegen können (2):

- Hypothese des gemeinsamen Epitops (shared epitope): Bei der rheumatoiden Arthritis des Erwachsenenalters wurden in den assoziierten HLA-Allelen DR1 und DR4 bzw. bei der juvenilen chronischen Arthritis in den HLA-Allelen DR5 und DR8 jeweils identische Sequenzen gefunden. Es wurde angenommen, daß an diesen Bereichen ein arthritogenes Peptid spezifisch gebunden wird (2).
- 67-Cystein-Hypothese: Beim Mb. Bechterew (hochgradige Assoziation mit HLA-B27) wurde im Allel HLA-B27 festgestellt, daß in der Position 67 der α -Kette ein ungepaartes Cysteinmolekül vorliegt und somit keinen Cysteinpartner in der β -Kette zur Ausbildung einer Disulfidbrücke findet. Dieses freie Cystein an Position 67 mit einer freien SH-Gruppe geht nach der Hypothese eine feste Bindung mit einem postulierten arthritogenen Peptid ein (85).
- Bildung von Hybridantigenen: α - und β -Ketten der DQ-Region weisen einen hochgradigen Polymorphismus auf. Dadurch ist es möglich, daß ein DQA-Allel, das von einem Haplotyp kodiert wird, mit einem DQB-Allel, das von einem anderen Haplotyp kodiert wird, ein α/β -Dimer bildet. Dieses Heterodimer wird als Hybridantigen bezeichnet. Bei der Zöliakie z.B. wurde so eine DQA/DQB-Kombination bei praktisch allen Patienten gefunden. Auch beim Diabetes mellitus Typ 1 wurde eine Kombination von DQA/DQB-Allel nachgewiesen, die in cis- oder in trans-Position kodiert sein kann. Die Position 57 der β -Kette (mit Asparagin) und die Position 52 (mit Arginin) der α -Kette scheinen eine wesentliche Rolle dabei zu spielen, ob eine Kette protektiv (im Falle Asparagin-Positivität bzw. Arginin-Negativität) oder permissiv (im Falle Asparagin-Negativität bzw. Arginin-Positivität) ist (60, 68, 85).

1.3 Zur Klassifikation von Autoimmunerkrankungen

Autoimmunerkrankungen werden in *organspezifische* und *nicht organspezifische* Krankheiten eingeteilt. Zu den organspezifischen Autoimmunerkrankungen (OSA) werden alle endokrinologischen Autoimmunerkrankungen gezählt, wie z.B. Mb. Basedow, Hashimoto-Thyreoiditis, Mb. Addison, der Diabetes mellitus Typ 1. Ihnen allen sind folgende Merkmale gemeinsam: Auftreten von Antikörpern, die gegen

Epitope auf endokrinen Zellen (z.B. Pankreas- β -Zellen), gegen Membranbestandteile oder zytoplasmatische Zellbestandteile gerichtet sind. Diese Antikörper bewirken entweder eine Zellzerstörung, eine Funktionsstimulation oder einen wachstumsfördernden Effekt (z.B. beim Mb. Basedow Hypothyreose, Hyperthyreose oder Struma). Diesen organspezifischen Autoimmunerkrankungen ist außerdem gemeinsam, daß sie alle mit bestimmten HLA-Merkmalen assoziiert sind. Nicht organspezifische Autoimmunerkrankungen sind z.B. Sklerodermie, Rheumatoidarthritis, Dermatomyositis. Bei der OSA sind humorale und zelluläre Immunprozesse gegen ein Oberflächenantigen des betroffenen Organs gerichtet; bei der systemischen Autoimmunerkrankung hingegen kommt es zu systemischen Immunkomplexablagerungen in bestimmten Organen (53, 68). Misch- oder Übergangsformen zwischen beiden Gruppen sind möglich (z.B. Multiple Sklerose, autoimmunhämolytische Anämie).

Die Kombination mehrerer organspezifischer Autoimmunerkrankungen bezeichnet man als *pluriglanduläre Autoimmunerkrankung (PGA)*. Die PGA werden heute modifiziert nach Neufeld (81) in folgende Gruppen unterteilt:

Typ I: Mindestens zwei der drei Erkrankungen: Mb. Addison, Hypoparathyreoidismus, chronische mukokutane Candidiasis (Synonym: APECED – autoimmune Polyendokrinopathie-Candidiasis-Ektoderm-Dystrophie).

Typ II: Mb. Addison und Autoimmunthyreopathie (Schmidt-Syndrom) u./o. Diabetes mellitus Typ 1.

Typ III: Autoimmunthyreopathie und andere Autoimmunerkrankung, jedoch ohne Mb. Addison. IIIa: mit Diabetes mellitus Typ 1, IIIb: mit Gastritis Typ A; IIIc: mit Vitiligo u./o. Alopezie.

Typ IV: alle nicht den Typen I-III zuzuordnende PGA.

1.4 Zur Rolle des HLA-Systems in der Pathogenese des Morbus Basedow und der Immunorbitopathie

Auch heute noch trifft für den Mb. Basedow die 1849 vom Merseburger Arzt Karl-Adolf von Basedow beschriebene *klinische Symptomatik* der „Merseburger Trias“ zu:

Tachykardie (als Zeichen der Überfunktion der Schilddrüse), Struma (basedowiana), Exophthalmus. Weitere Zeichen der Schilddrüsenüberfunktion (wie Hyperhidrosis, Gewichtsreduktion, Diarrhoe) und ein prätibiales Myxödem, das bei ca. 4% der Patienten auftritt, sind mögliche Merkmale der Erkrankung (76).

Beim Morbus Basedow sind bei mehr als 98% der Patienten Antikörper nachweisbar, die gegen den TSH-Rezeptor gerichtet sind (TSH-Rezeptor-Antikörper, TSH-R-AK) (28). Sie sind daher ein wichtiger diagnostischer Marker der Erkrankung, obwohl der Nachweis der TSH-R-AK für die Diagnosestellung in den meisten Fällen nicht erforderlich ist. Die Heterogenität der TSH-R-AK umfasst funktionsstimulierende und wachstumstimulierende Antikörper und solche, die den TSH-Rezeptor binden und die Schilddrüsenfunktion blockieren, was zu einer Hyperthyreose, zur Bildung einer diffus vergrößerten Struma oder auch Hypothyreose führen kann. Es können selbst beim selben Patienten verschiedene TSH-R-AK vorkommen. Der Wandel von stimulierenden zu vorwiegend blockierenden TSH-R-AK erklärt beispielsweise das klinische Bild des schwer hyperthyreoten Patienten, der spontan in eine substitutionsbedürftige Unterfunktion geraten kann (76, 114). Als individueller prädiktiver Marker hinsichtlich des Auftretens eines Rezidivs nach Behandlung des Mb. Basedow eignet sich der TSH-R-AK nicht mit ausreichender Aussagekraft (98).

Der Exophthalmus ist Zeichen einer *endokrinen Orbitopathie* (Synonym: Immunorbitopathie, IO; Schilddrüsen-assoziierte Ophthalmopathie), einem Symptomenkomplex aus entzündlichen Veränderungen des peribulbären Gewebes und der Augenmuskeln. Die endokrine Orbitopathie ist mit sensitiven Untersuchungsmethoden (Orbitasonographie, Computertomographie, Kernspintomographie) bei ca. >85% der Patienten mit Mb. Basedow auch im subklinischen Stadium nachweisbar und kann der Hyperthyreose vorausgehen, sie begleiten oder ihr folgen. Das Auftreten von Hyperthyreose und IO ist zeitlich meist eng gekoppelt (13). Nur etwa 5% der Patienten mit einer IO weisen keine Beziehung zu einer Schilddrüsenüberfunktion auf (94). Aufgrund einer autoimmunen Reaktion gegen Strukturen im retro- und periorbitalen Gewebe und in den Augenmuskeln kommt es zu

einer Verdickung dieser Gewebe mit Entwicklung eines Exophthalmus und von Augenmuskelparesen.

Ätiologie und Pathogenese des Mb. Basedow und der IO sind nach wie vor unklar. Es scheint eine komplexe Interaktion zwischen genetischen, prädisponierenden Faktoren und triggernden Umweltfaktoren stattzufinden (108). Es gibt Hinweise dafür, daß bakterielle oder virale Antigene eine Immunantwort auslösen, die Epitop-Gemeinsamkeiten mit bestimmten Schilddrüsenantigenen (z.B. TSH-Rezeptor) aufweisen („molecular mimicry“), und somit ein thyreoidaler Autoimmunprozeß in Gang kommt, an dem vor allem T_H2-Lymphozyten beteiligt sind. Diese stimulieren via IL-4 und IL-5 antigenspezifische B-Lymphozyten, welche entweder stimulierende oder blockierende TSH-R-AK bilden. Insbesondere für *Yersinia enterocolitica*, Retroviren und Coxsackie-B-Viren wird ein Zusammenhang mit dem Zusammenbruch der Selbsttoleranz gegenüber dem TSH-Rezeptor vermutet (27, 41, 56, 66, 107). Weitere *Umweltfaktoren*, die als auslösendes Moment in der Pathogenese des Mb. Basedow eine Rolle zu spielen scheinen, sind Jodaufnahme, psychischer Streß und Nikotinkonsum - möglicherweise über neuroimmunologische bzw. immunmodulatorische Mechanismen (54, 69, 73, 90, 123).

Es existieren eindeutige Hinweise dafür, daß es eine *genetische Prädisposition* für einen Mb. Basedow gibt: 1. gehäuftes Vorkommen der Erkrankung in Familien (Risiko für Geschwister $\lambda_s > 15$) (115); 2. eine hohe Konkordanzrate bei eineiigen Zwillingen (30-60%, bei zweieiigen Zwillingen 3-9%) (23); 3. gehäuftes Vorkommen beim weiblichen Geschlecht (Frauen : Männern = ca. 5 bis 10 : 1) (113, 114); 4. Nachweis von Schilddrüsen-Autoantikörpern als Marker eines präklinischen Mb. Basedow bei bis zu 50% der Geschwister von Patienten mit Mb. Basedow (25). Ein autosomal dominanter Erbgang wird vermutet (87).

Um die Ursache des Mb. Basedow zu erforschen, wurden zwei Prinzipien angewendet: Assoziationsstudien und Kopplungsanalysen (Linkage-Analysen) (4). Ziel von Assoziationsstudien ist es, das Gen zu lokalisieren, das das Risiko erhöht, eine

bestimmte Erkrankung zu entwickeln. Assoziationsstudien basieren auf Vergleichen zwischen der Frequenz eines spezifischen Allels in einer Patientengruppe und in einer gesunden Kontrollgruppe. Die Stärke einer solchen Assoziation wird im Relativen Risiko ausgedrückt. Bei Kopplungsanalysen kann mit Hilfe von DNS-Markern ein hypothetisches Krankheitsgen aufgespürt werden, das sich in der Nähe des DNS-Markers befindet.

Für den Mb. Basedow wurden verschiedene Kandidatengene untersucht (sowohl hinsichtlich einer Assoziation als in Kopplungsanalysen) (Tabelle 3). Für die Gene von CTLA-4 (16, 40, 65, 82, 112, 128), TNF α (7) und TNF β (9) wurde eine Assoziation zum Mb. Basedow gefunden. In Kopplungsanalysen wurde für den Genort CTLA-4 ein Gendefekt jedoch ausgeschlossen (15). Die Untersuchung der anderen in Tab. 3 genannten Gene konnte keinen Zusammenhang mit der Erkrankung sichern.

Tabelle 3. Untersuchte Kandidatengene für den Mb. Basedow (Übersicht)

Literatur	Untersuchtes Gen	Chromosom
Payami et al. 1989, Roman et al. 1992, O'Connor et al. 1993, Yanagawa et al. 1993	HLA-Genkomplex	6p21.3
Badenhoop et al. 1990	TNF- α -Gen	6p21.3
Badenhoop et al. 1992b	TNF- β -Gen	6p21.3
Nakao et al. 1980, Demaine et al. 1989, Tomer et al. 1997b, Barbesino et al. 1998	Gen der schweren Immunglobulin-Kette	14q32
Demaine et al. 1987, Weetman et al. 1987, Demaine et al. 1989, Manglabruks et al. 1991, Pickerill et al. 1993, Barbesino et al. 1998b	T-Zell-Rezeptor (β -Ketten-) -Gen	7q35
Demaine et al. 1989, Barbesino et al. 1998b	T-Zell-Rezeptor (α -Ketten-) -Gen	14q11-12
Blakemore et al. 1995, Cuddihy et al. 1996a	Interleukin-1-Rezeptor-Antagonist-Gen	6q
Cuddihy et al. 1995, Cuddihy et al. 1996b, Watson et al. 1995, De Roux et al. 1996	TSH-Rezeptor-Gen	14q31
Pirro et al. 1995	Thyroid-Peroxidase-Gen	2q
Cuddihy et al. 1996a	Interleukin- (IL-) α -Gen	2q13
Barbesino et al. 1998a	Aromatase-Gen	15q21
Barbesino et al. 1998a	Estrogen-Rezeptor- α -Gen	6q25.1
Rau et al. 1997	TAP1- und TAP2-Gen	6p21
Yanagawa et al. 1995, Nistico et al. 1996, Kotsa et al. 1997, Donner et al. 1997, Barbesino et al. 1998a, Vaiya et al. 1999	CTLA-4 (cytotoxic T lymphocyte antigen-4)-Gen	2q33

Wohl am umfangreichsten wurde das HLA-System untersucht (Tabelle 4). Die Assoziation zwischen HLA-System und Mb. Basedow ist nach wie vor umstritten. Einerseits wurde gezeigt, daß kaukasische Patienten mit Mb. Basedow eine Assoziation zum HLA-Merkmal HLA-B8, -DR3 und zum Allel HLA-DQA1*0501 aufweisen und daß das relative Risiko für diese 2,1 - 5,7 beträgt. Andererseits zeigte die Untersuchung in anderen Bevölkerungsgruppen (japanische, chinesische usw.) Hinweise für zum Teil andere HLA-Assoziationen (110). Es wurden auch gezielt verschiedene Phänotypen des Mb. Basedow auf eine Assoziation mit HLA-Allelen untersucht. Die Ergebnisse fielen sehr unterschiedlich aus. Eine Assoziation zum Schweregrad des Mb. Basedow ließ sich nicht eindeutig demonstrieren, wenngleich HLA-DR3-positive Patienten auf eine Radiojodtherapie schlechter anzusprechen schienen (33, 43, 74, 98). Auch ein Zusammenhang von HLA-Assoziation und Rezidiv nach thyreostatischer Behandlung eines Mb. Basedow wurde untersucht. Die Ergebnisse waren ebenfalls unterschiedlich: Einige Studien wiesen eine positive Korrelation zwischen HLA-B8- oder -DR3-Positivität und Rezidivneigung nach (19, 43, 52, 72, 96), andere Autoren fanden keine Korrelation (6, 12, 33, 74). In der japanischen Bevölkerung wurde eine Assoziation zwischen DRB1*08032 und Methimazol-induzierter Agranulozytose bei Patienten mit Mb. Basedow festgestellt (105).

Tabelle 4. HLA-Assoziation und Mb. Basedow: Zusammenfassung der wesentlichen Ergebnisse aus der Literatur (kaukasische Bevölkerungsgruppe)

Literatur	Anzahl der Patienten (Herkunftsland)	HLA- Merkmal	Relatives Risiko
Farid et al. 1976	47 (Canada/Neufundland)	B8	3,9
Bech et al. 1977	86 (Dänemark)	B8 DR3	2,8 3,9
Balasz et al. 1978	171 (Ungarn)	A1 B8	2,29 3,69
Allannic et al. 1980	86 (Frankreich)	A1 B8 DR3	1,71 2,73 4,19
Farid et al. 1980	175 (Canada/Neufundland)	B8 DR3	3,1 5,7
Dahlberg et al. 1981	78 (Schweden)	B8 DR3	4,4 3,9
McKenna et al. 1982	86 (Irland)	B8 DR3	2,5 2,6
Allannic et al. 1983	94 (Frankreich)	A1 B8	2,39 3,4 4,21

Literatur	Anzahl der Patienten (Herkunftsland)	HLA- Merkmal	Relatives Risiko
Stenszky et al. 1985	256 (Ungarn)	B8 DR3	3,48 4,80
Kendall-Taylor et al. 1988	127 (England)	B8 DR3	2,77 2,13
Payami et al. 1989	133 (Canada/Neufundland)	A1 B8 DR3 DR5	2,63 3,94 4,75 0,23 (neg. ass.)
Semana et al. 1990	287 (Frankreich)	B8 DR3 DRB3*0101	2,37 2,34 8,0
Mangklabruks et al. 1991	65 (USA)	DR3	3,38
Roman et al. 1992	15 (familiär) (USA)	DR3	n.s.
Yanagawa et al. 1993	94 (USA)	DR3 DQA1*0501	2,46 (n.s.) 3,71
Yanagawa et al. 1994	133 (USA)	DQA1*0501	9,13 (männl.) 2,66 (weibl.)
Badenhoop et al. 1995	271 (Deutschland, Canada)	DQA1*0501 Arg52posDQA1 DQB1*0601	2,5 2,1 0,5 (neg. ass.)
Badenhoop et al. 1996	259 (Deutschland, Canada)	DQA1*0501	2,3
Cuddihy et al. 1996b	69 weiblich (Nordamerika)	DR3 DRB3*0101 DQA1*0501	7,6 1,6 (n.s.) 1,6 (n.s.)
Cuddihy und Bahn 1996c	101 (Nordamerika)	DR3 DQA1*0501	3,5 1,8 (n.s.)
Barlow et al. 1996	120 (England)	DQA1*0501	3,8
Lavard et al. 1997	90 juvenil (Dänemark)	DRB1*0301 DQA1*0501 DQB1*0201	8,0 4,6 4,6
Kahlenberg 1998	105 (Deutschland)	B8 DR3 A1 Cw7 DR4 Arg52posDQA1 DQA1*0301 DQB1*0302 DQB1*0601 Asp57negDQB1	4,3 7,8 n.s. 4,3 n.s. 6,1 2,8 6,4 5,5 4,8
Chen et al. 1999	92 (Nordamerika)	DRB1*0301	3,7

n.s. = nicht signifikant; Arg52posDQA1 = Arginin-52-positiv kodierende DQA1-Allele (DQA1*0401, *0501, *0601)

Asp57negDQB1 = Asparagin-57-negativ kodierende DQB1-Allele (DQB1*0201, *0302, *0501, *0502, *0604)

neg. ass. = negativ assoziiert

Das Risiko, an einer endokrinen Orbitopathie im Rahmen des Mb. Basedow zu erkranken, ist nach Studien für HLA-DR3 (43), HLA-B8 (95), HLA-B8 und -DR3 (97), HLA-Cw3 (71) und HLA-B8 bei gleichzeitiger Anwesenheit von HLA-DR7 (44)

erhöht. Einer HLA-DR7-Negativität wird eine protektive Funktion zugeschrieben, eine endokrine Orbitopathie zu entwickeln (44, 45). Andere Untersuchungen hingegen konnten keine Assoziation zwischen HLA und endokriner Orbitopathie finden (6, 12, 19, 59, 117, 119). Auch für das Risiko, ein prätibiales Myxödem zu entwickeln, fand sich keine HLA-Assoziation (43). Insgesamt muß festgestellt werden, daß bisher keine eindeutigen Assoziationen zwischen HLA-System und unterschiedlichem Phänotyp des Mb. Basedow gefunden werden konnten.

Daß dem HLA-System in der Pathogenese des Mb. Basedow eine Rolle zukommt, wenn auch möglicherweise keine kausale, ist nach den o.g. Studienergebnissen zu vermuten. Wie das HLA-System am Pathomechanismus beteiligt ist, ist jedoch nach wie vor unklar. In Studien wurde gezeigt, daß thyroideale Epithelzellen von Patienten mit Mb. Basedow unter Einfluß verschiedener Zytokine oder anderer Stimulantien auf ihrer Oberfläche HLA-Klasse-II-Antigene exprimieren können, die normalerweise nicht konstitutionell auf diesen Zellen exprimiert werden. Dadurch sind sie in der Lage, autologe T-Zellen zu stimulieren (8, 41, 48). Diese Beobachtung konnte bei Gesunden nicht gemacht werden (34, 48, 55). Es wurde gefolgert, daß solch eine fehlerhafte Expression der HLA-Moleküle auf thyroidalen Zellen eine Autoimmunreaktion über eine direkte Autoantigen-Präsentation der schilddrüseneigenen Antigene mit oder ohne Beteiligung von Antigen-präsentierenden Zellen (APC) auslösen könnte (48). Diese Hypothese wurde bestärkt durch die Beobachtung, daß eine HLA-II-Antigen-Präsentation auf Schilddrüsenzellen durch virale Infektionen in vitro ausgelöst werden kann (20, 80). Weiterhin wurde beobachtet, daß durch eine Immunisierung von Mäusen mit Fibroblasten, die die Fähigkeit besitzen, spontan TSH-Rezeptor und MHC-Klasse-II-Moleküle zu exprimieren, verschiedene Charakteristika des Mb. Basedow induziert werden können, wie Hyperthyreose, TSH-Rezeptor-Ak-Bildung oder Lymphozyteninfiltration des Schilddrüsengewebes (51, 102). Somit gibt es also Hinweise dafür, daß auch Fibroblasten als nicht eigentliche APC in der Lage zu sein scheinen, durch ihre spontane Expression von HLA-Klasse-II-Antigenen die für eine Auslösung eines Autoimmunprozesses erforderlichen Faktoren zu bieten. Jedoch kann diese MHC-Antigen-Präsentation auf Fibroblasten auch ein sekundäres Phänomen sein,

z.B. durch die induzierende Wirkung von Zytokinen (wie Interferon γ) (58), denn die HLA-Klasse-II-Antigen-Präsentation wurde in engem Zusammenhang mit dem Grad der Lymphozyteninfiltration in der Schilddrüse gesehen (1, 55, 92). Es konnte außerdem gezeigt werden, daß thyroideale Zellen in der Lage sind, sowohl in Anwesenheit als auch in Abwesenheit von „professionellen“ APCs (z.B. B-Lymphozyten, Makrophagen) T-Lymphozyten zu stimulieren (35, 61, 117). Die Co-Kultur von mononukleären Zellen aus dem peripheren Blut von Patienten mit Mb. Basedow mit autologen Thyreozyten induzierte sowohl eine T-Zell-Aktivierung (34) als auch eine IFN- γ -Produktion und HLA-Klasse-II-Antigen-Expression (42).

Die Ursache der IO kann bisher ebenfalls nur vermutet werden. Aufgrund von Sequenzhomologien zwischen TSH-Rezeptor und bestimmten Proteinen in den Augenmuskeln wurde angenommen, eine Ophthalmopathie werde durch TSH-R-AK hervorgerufen, die mit solchen Strukturen kreuzreagieren. Die Evidenz dafür ist aber ungenügend. Man nimmt heute an, daß die Orbitopathie durch T-Lymphozyten gegen Fibroblasten, die ein mit Schilddrüsenzellen kreuzreagierendes Antigen exprimieren, hervorgerufen wird. Diese T-Zellen und Makrophagen sezernieren Zytokine, welche ihrerseits Fibroblasten stimulieren. Dadurch werden vermehrt Glykosamine und Kollagen gebildet, was zur Ödembildung und schließlich zur Fibrose führt (13, 79, 121). Die Bedeutung einer Punktmutation der TSH-Rezeptor-Messenger-RNA in retrobulbären Fibroblasten, die bei einem Patienten mit Mb. Basedow beschrieben wurde, ist noch nicht eindeutig geklärt (13).

2 PROBLEMSTELLUNG

Mb. Basedow ist eine organspezifische Autoimmunerkrankung (OSA), in deren Pathogenese sowohl genetische, prädisponierende als auch Umweltfaktoren eine Rolle spielen. Es ist bekannt, daß die OSA Assoziationen zu bestimmten HLA-Antigenen aufweisen. Auch für den Mb. Basedow wurden HLA-Assoziationen gefunden (insbes. HLA-B8, -DR3, -DQA1*0501), wobei die Untersuchungsergebnisse teilweise sehr verschieden ausfielen. Die Rolle des HLA-Systems in der Pathogenese des Mb. Basedow wird kontrovers diskutiert. Die Untersuchung verschiedener Phänotypen des

Mb. Basedow wird kontrovers diskutiert. Die Untersuchung verschiedener Phänotypen des Mb. Basedow, z.B. Mb. Basedow mit und ohne Immunorbitopathie, hinsichtlich einer Assoziation zum HLA-System zeigte ebenfalls widersprüchliche Ergebnisse. Bisher *nicht* untersucht wurden Unterschiede zwischen Mb. Basedow allein (als solitäre organspezifische Autoimmunerkrankung, SOSA) und Mb. Basedow in Kombination mit einer oder mehreren OSA (kombinierte organspezifische Autoimmunerkrankung, KOSA).

Es ergeben sich daher folgende Fragen, die anhand der vorliegenden Untersuchungen beantwortet werden sollen:

1. Können die bereits beschriebenen Assoziationen des Mb. Basedow zu den HLA-Oberflächenantigenen am untersuchten Krankengut bestätigt werden?
2. Lassen sich andere Assoziationen, insbesondere auch zu HLA-DQA1-Allelen, nachweisen?
3. Gibt es unterschiedliche HLA-Assoziationen bei Patienten mit Mb. Basedow mit bzw. ohne autoimmune Zweiterkrankung?
4. Existieren bei Patienten mit Mb. Basedow unterschiedliche HLA-Assoziationen in Abhängigkeit von der Manifestation einer Immunorbitopathie?
5. Ergeben sich aus den Untersuchungsergebnissen deutlichere Hinweise für eine Beteiligung des HLA-Systems an der Pathogenese der Erkrankung, als es bisher beobachtet wurde?
6. Kann bestimmten HLA-Merkmalen eine Rolle in der Diagnostik des Mb. Basedow zukommen?
7. Kann ein bestimmtes HLA-Merkmal als „Risikomarker“ für das Auftreten einer autoimmunen Zweiterkrankung oder einer Immunorbitopathie dienen?

3 PATIENTEN UND METHODEN

3.1 Patientengruppe

Insgesamt wurden 116 Patienten mit Mb. Basedow untersucht. Es handelt sich um Patienten, die ambulant oder stationär zwischen 1991 und 1995 in folgenden Kliniken in Behandlung waren: Klinik und Poliklinik für Innere Medizin, Abteilung für

Endokrinologie, und Klinik für Haut- und Geschlechtskrankheiten der Klinikum Erfurt GmbH (ehemalige Medizinische Hochschule Erfurt); III. Medizinische Klinik der Klinik für Innere Medizin der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz; Abteilung für Endokrinologie der Klinik für Innere Medizin der Charité Berlin. Alle Patienten gehören der kaukasischen Rasse an. Die Patienten wurden nach Diagnose des Mb. Basedow durch die fachärztlichen Kollegen des jeweils anderen (internistischen, dermatologischen, neurologischen, ophthalmologischen) Fachgebietes auf Vorliegen einer weiteren organspezifischen oder systemischen Autoimmunerkrankung untersucht. Weder das Geschlecht noch die Schwere der Erkrankung wurden bei der Auswahl berücksichtigt. Verwandte wurden nicht mit eingeschlossen, um die Häufung eines familiären Haplotyps zu vermeiden.

Die **Diagnose des Mb. Basedow** wurde nach folgenden Kriterien gestellt:

1. Klinischer Befund. Nachweis der typischen Symptomatik (siehe 1.4).
2. Laborbefunde. Laborchemischer Nachweis einer *Hyperthyreose* (vor medikamentöser Behandlung) mittels folgender Werte:
 - TSH basal <0,1 mU/l (Normwert 0,3-4,0 mU/l),
 - Periphere Schilddrüsenhormone fT₃ (freies Trijodthyronin) und fT₄ (freies Thyroxin). Die Bestimmung dieser Werte diente im Zusammenhang mit TSH zum Nachweis einer Hyperthyreose (Normalbereiche: fT₃ 3,4-7,2 pmol/l, fT₄ 11,0-24,0 pmol/l).
 - Schilddrüsenautoantikörper. Zur Einordnung einer Hyperthyreose als Autoimmunhyperthyreose vom Typ Mb. Basedow diente die zumindest initiale Bestimmung der TSH-R-AK (Normalwert <9U/l) und der Antikörper gegen thyreoidale Peroxidase (TPO-AK, Normalwert <100 U/l).
3. Sonographischer Befund. Eine umschriebene oder diffuse Echoarmut der (meist vergrößerten) Schilddrüse galt als Hinweis für das Vorliegen einer Autoimmunthyreopathie.

Die **Diagnose einer Immunorbitopathie** wurde nach folgenden Kriterien gestellt:

1. Klinischer Befund. Nachweis der typischen Symptomatik (siehe 1.4.).

2. Objektivierung des klinischen Befundes durch Sonographie bzw. CT (und/oder MRT) der Orbita sowie durch augenärztliche Untersuchung mit Bestimmung der Hertel-Werte mittels Exophthalmometer (pathologisch: Hertel-Wert >18-20 mm oder Seitenunterschied >2 mm) (76).

Es wurden außerdem folgende Informationen erfaßt (soweit erhältlich): Alter zum Zeitpunkt der Erstdiagnose, Therapie der Erkrankung, weitere Laborwerte (Blutbild einschließlich Differentialblutbild und Retikulozyten, Elektrolyte, Vitamin B12, Glucose im Serum, weitere Hormone je nach Begleiterkrankung wie Cortisol basal, Gastrin, Geschlechtshormone, weitere Autoantikörper wie ANA, AMA, Parietalzell-, Inselzell-, Acetylcholinrezeptor-, Nebennierenrinden-Autoantikörper).

Es erfolgte die *Einteilung der Patienten in fünf Gruppen*:

1. Mb. Basedow/gesamt (**MB_{ges.}**), d.h. alle Patienten mit Mb. Basedow unabhängig davon, ob eine weitere OSA oder eine endokrine Orbitopathie vorlag oder nicht.
2. Mb. Basedow/SOSA (solitäre organspezifische Autoimmunerkrankung) (**MB/SOSA**), d.h. alle Patienten, bei denen neben dem Mb. Basedow keine weitere organspezifische Autoimmunerkrankung diagnostiziert wurde.
3. Mb. Basedow/KOSA (kombinierte organspezifische Autoimmunerkrankung) (**MB/KOSA**), d.h. alle Patienten, bei denen neben einem Mb. Basedow noch mindestens eine weitere organspezifische Autoimmunerkrankung diagnostiziert wurde.
4. Mb. Basedow/ohne endokrine Orbitopathie (**MB/-IO**), d.h. alle Patienten mit Mb. Basedow, bei denen keine endokrine Orbitopathie festgestellt werden konnte.
5. Mb. Basedow/mit endokriner Orbitopathie (**MB/+IO**), d.h. alle Patienten mit Mb. Basedow, bei denen eine endokrine Orbitopathie diagnostiziert wurde.

Die Klassifikation der PGAE in PGAE I-IV (siehe 1.3) erwies sich nicht als praktikabel, da gezielt Patienten mit Mb. Basedow betrachtet wurden. Es wurde daher o.g. Gruppierung der Patienten vorgenommen.

Nur bei sieben Patienten – sowohl mit SOSA als auch mit KOSA - lag zusätzlich eine systemische Autoimmunerkrankung vor. Aufgrund der niedrigen Anzahl der Patienten mit systemischer Autoimmunerkrankung war eine Unterteilung des Patientengutes in weitere Subgruppen nicht sinnvoll.

3.2 Kontrollgruppe

In die Kontrollgruppe wurden 72 Personen anonymisiert aufgenommen, die aus dem Institut für Blutspende und Transfusionsmedizin Erfurt rekrutiert wurden. Es handelte sich um Knochenmarkspender, deren Lymphozyten aus Resten von Lymphozytenisolationen gewonnen wurden. Die in die Kontrollgruppe aufgenommenen Personen erfüllten die an eine Kontrollgruppe zu stellenden Anforderungen:

1. Alle Personen sind Angehörige der kaukasischen Rasse. Damit wurden Unterschiede in der populationsabhängigen HLA-Genfrequenz vermieden.
2. Eine Verwandtschaft der Spender untereinander und mit den untersuchten Patienten wurde zur Vermeidung der Häufung eines familiären Haplotyps - soweit möglich – ausgeschlossen.
3. Alter und Geschlecht wurden bei der Auswahl nicht berücksichtigt. Die Auswahl der Personen erfolgte zufällig.
4. Die Knochenmarkspende setzt Gesundheit voraus, so daß es sich mit großer Wahrscheinlichkeit um gesunde Personen handelte.
5. Die Größe der Kontrollgruppe (n = 72) ist für die vorliegende Untersuchung ausreichend.

3.3 Methoden

3.3.1 HLA-Oberflächenantigen-Bestimmung

Die HLA-Typisierung erfolgte für die Personen der Kontrollgruppe routinemäßig im Rahmen ihrer Knochenmarkspende im Labor des Instituts für Blutspende und Transfusionsmedizin Erfurt. Für die Patientengruppe fand die Typisierung ebenfalls im

Rahmen der dort durchgeführten Routineuntersuchungen statt. Es wurde bei allen Untersuchungen derselbe Test unter den gleichen Untersuchungsbedingungen durchgeführt. Zur Anwendung kam der Lymphozytentoxizitätstest, der auf dem Prinzip der komplementabhängigen Zellzerstörung (CDC, complement dependent cytotoxicity) beruht (106). Es wurden verschiedene Testseren mit Allotyp-spezifischen monoklonalen Antikörpern der Firmen Biotest und Fresenius verwendet. Die Bezeichnung der HLA-Merkmale erfolgte nach der aktuellen WHO-Nomenklatur (22).

3.3.2 Bestimmung der HLA-DQ-Allele

3.3.2.1 Probengewinnung

Die Probengewinnung erfolgte bei den Personen der Kontrollgruppe im Rahmen der Routineblutentnahme für die Knochenmarkspende; aus dem Blut der Spender wurden Lymphozyten isoliert, die anonymisiert tiefgefroren aufbewahrt wurden. Bei den Patienten erfolgte die Probengewinnung (EDTA-Blut) im Rahmen der routinemäßigen Blutentnahme zur Diagnostik. Bis zur weiteren Bearbeitung wurden die Blutproben anonymisiert bei -20 °C aufbewahrt.

3.3.2.2 DNS-Isolierung

Die DNS-Isolierung erfolgte nach einem Protokoll von Miller et al. (77) aus Leukozyten. Die einzelne, zur Lagerung bei -20°C eingefrorene EDTA-Vollblutprobe (á ca. 10 ml) wurde im Inkubator aufgetaut, bis auf 37 °C erwärmt, in ein Zentrifugierröhrchen gegeben (50 ml-Volumen-Röhrchen) und mit 35 ml einer 37 °C warmen 50 mM KCl-Lösung versetzt. Nach Mischen mit Hilfe eines elektrischen Rüttlers schloß sich eine zehnminütige Inkubation im Wärmeschrank bei 37 °C an. Danach wurde die Probe bei 2000 U/min 10 Minuten lang zentrifugiert und der dadurch separierte Überstand mit Hilfe einer an eine Wasserstrahlpumpe angeschlossene Pasteurpipette abgesaugt. Das im Konus verbliebene Pellet wurde wiederum wie beschrieben mit 50 mM KCl-Lösung versetzt, gemischt, zentrifugiert und der Überstand abgesaugt. Diese Arbeitsschritte wurden so lange wiederholt (in der Regel 3 bis 4 mal), bis das Pellet im Konus eine weißliche Farbe angenommen hatte. Dieses Pellet wurde

nun mit 10 ml Puffer B und 2 mg Proteinase K versetzt. Nach Mischen der Probe wurde 1 ml 10%ige SDS-Lösung hinzupipettiert. Die achtstündige Inkubation bei 37 °C schloß sich an. Das Gemisch wurde danach mit 10 ml 5M NaCl-Lösung versetzt, auf dem Rüttler gemischt und bei 3000 U/min für 10 Minuten zentrifugiert. Der dadurch entstandene Überstand wurde in ein mit 35 ml eiskaltem Ethanol (absolut) gefülltes Zentrifugierröhrchen gegossen, in dem es dann zum Ausfällen der DNS kam. Diese wurde als fädige Struktur sichtbar, mit einem Glashäkchen vorsichtig aufgenommen und in 70%igem Alkohol „gewaschen“. Danach blieb die DNS an der Luft für ca. zwei Minuten zum Verdampfen des Alkohols auf dem Häkchen. Es folgte das Lösen der DNS in 1 ml Aqua bidest. in einem sterilen Eppendorfhütchen. Die Lagerung der DNS erfolgte im Kühlschrank bei 4 °C.

Bei den Proben der Personen aus der Kontrollgruppe handelte es sich vorwiegend um gefrorene Lymphozytenzellkonzentrate. Die Proben wurden nach dem Auftauen in 750 µl Aqua bidest. gelöst und mit 250 µl Guanidinium-Thiocyanat-(GT-)Puffer versetzt. Nach einer Inkubationszeit von 6 Stunden bei 37 °C wurde 1 ml Natriumacetat hinzugefügt. Nach erneuter Inkubation über eine Minute erfolgte das Ausfällen der DNS in 10 ml eiskaltem Ethanol absolut. Die DNS wurde wie beschrieben mit Glashäkchen aufgenommen, gewaschen und in 1 ml Aqua bidest. gelöst und aufbewahrt.

Reinheitsgrad und DNS-Gehalt der mittels beschriebener Methode isolierten DNS-Probe wurden mit Hilfe des Photometers bestimmt. Dazu wurden 10 µl jeder DNS-Probe entnommen und mit 990 µl Aqua bidest. in eine Quarzküvette gegeben. Das Photometer wurde für die Wellenlängen 260 nm sowie 280 nm geeicht, da die bei verschiedenen Wellenlängen gelegenen Absorptionsmaxima für Proteine bei 280 nm und für DNS bei 260 nm liegen. Nach jeweils 10 Messungen wurde das Photometer erneut für diese Wellenlängen geeicht. Die gemessenen Extinktionswerte wurden nach folgenden Formeln zur Berechnung des Reinheitsgrades bzw. DNS-Gehaltes verwendet:

$$\text{DNS-Gehalt (mg/ml)} = \text{Meßwert (bei 260 nm)} \times \text{Verdünnungsfaktor} \times 50 : 1000$$

$$\text{DNS-Reinheitsgrad} = \text{Meßwert (bei 260 nm)} : \text{Meßwert (bei 280 nm)}$$

Der Reinheitsgrad lag um 0,178, der DNS-Gehalt um 0,22 mg/ml.

3.3.2.3 Amplifizierung der DNS mittels PCR

Um eine ausreichende Menge DNS für die Alleltypisierung zur Verfügung zu haben, wurde die isolierte DNS mittels Polymerase-Kettenreaktion (polymerase chain reaction, PCR) amplifiziert, d.h. vervielfältigt. Für die Untersuchung der HLA-DQA1-Allele wurde zur Amplifizierung des Genabschnittes der HLA-DQA1 ein PCR Amplification and Typing Kit[®] der Firma Perkin Elmer verwendet. 50 µl PCR-Reaction-Mix und 50 µl MgCl₂ wurden mittels Pipette in ein mit der Patientenummer versehenes PCR Reaction Tube gegeben, vermischt und mit zwei Tropfen Mineralöl überschichtet. Unter diesen Ölfilm wurde die Proben-DNS in den Reaktionsansatz pipettiert - je nach DNS-Gehalt der Probe 1 bis 2 ng. Im Thermal Cycler fand anschließend die Amplifikation nach folgendem Programm statt:

Beginn		5 min	95°C
Programm (32 Zyklen)	Melt	60 s	94°C
	Anneal	30 s	60°C
	Extend	30 s	72 °C
	final step	7 min	72 °C
Ende			

Die anschließend auf Zimmertemperatur abgekühlten Proben wurden bis zur weiteren Bearbeitung im Kühlschrank bei ca. 4 °C aufbewahrt.

Das Amplifizierungsergebnis wurde mittels Agarose-Gelelektrophorese überprüft, um eventuelle Verunreinigungen der amplifizierten DNS auszuschließen. Zur Herstellung des Gels wurden 40 ml 1x TAE, 2 µl Ethidiumbromid sowie 0,4 g Agarose in ein Becherglas gegeben und erwärmt, bis die Flüssigkeit dickflüssig wurde. Nach Abkühlung auf Handwärme konnte das Gel in eine vorbereitete Form gegossen werden. Im TAE-Laufpuffer liefen 3 µl Amplifikationsprodukt (mit 3 µl Dye Mix), Positiv- und

Negativ-Kontrolle der PCR-Reaktion sowie ein zur Kontrolle dienender Längenstandard bei 80 V über ca. 30 Minuten. Mittels UV-Licht erfolgte die visuelle Kontrolle. Die Ergebnisse wurden photographisch dokumentiert.

3.3.2.4 Alleltypisierung

Die Alleltypisierung erfolgte mit Hilfe des HLA-DQA1 PCR Amplification and Typing Kits[®] der Firma Perkin Elmer. Mit diesem Kit ist die Differenzierung der DQA1-Allele *0101, *0102, *0103, *0201 (für Arginin-52-negativ kodierend) und *0301, *0401/*0501/*0601 (für Arginin-52-positiv kodierend) möglich. Eine Diskriminierung der Allele DQA1*0401, *0501 und *0601 ist jedoch mit diesem Kit nicht möglich, so daß diese drei Allele nur en bloc bestimmt werden können. Bei mit derselben Methode durchgeführten Untersuchungen wurde festgestellt, daß es sich bei den en bloc bestimmten Allelen DQA1*0401/*0501/*0601 fast ausschließlich um DQA1*0501 handelte (60, 100). Es wird daher davon ausgegangen, daß es sich bei diesen en bloc bestimmten Allelen vordergründig um HLA-DQA1*0501 handelt.

Die Alleltypisierung beruht auf dem „reverse-dot-blot“-Verfahren. Bei diesem Verfahren sind allelabhängige, sequenzspezifische Oligonukleotide (SSPO) auf einem Träger, einer „probe strip“ genannten Nylonmembran, fixiert. Das hingeebene Amplifikationsprodukt bindet sich nach dem Prinzip der komplementären Basenpaarung an für das entsprechende DQA1-Allel spezifische fixierte SSPO. Die nichtgebundene DNS wird in einem nachfolgenden Waschvorgang abgetrennt. Der so auf dem Träger entstandene Komplex aus SSPO und gebundenem Amplifikationsprodukt wird durch biotinierte Primer sichtbar gemacht. Die Herosperoxidase im Enzymkonjugat bindet an die biotinierten Primer und kann somit lokal eine Redoxreaktion mit Wasserstoffperoxid und TMB (Tetramethylbenzidin) katalysieren. Diese Reaktion wird als Farbreaktion sichtbar und somit der DQA1-Allel-SSPO-Komplex erkennbar.

Die Methode wurde folgendermaßen durchgeführt: Die amplifizierte DNS wurde bei 95°C über 10 min. im Thermal Cycler denaturiert. In die Vertiefungen des „typing

trays“ wurde jeweils ein Träger („probe strip“) gelegt und mit 3,3 ml einer Hybridisierungslösung und 27 µl Enzymkonjugat benetzt. Dazu wurden 35 µl der denaturierten DNS pipettiert. Dem schloß sich der 20minütige Hybridisierungsprozeß bei 55°C im Wärmewasserschüttelbad an. Die überschüssige Lösung wurde dann mit einer an eine Wasserstrahlpumpe angeschlossene Pasteurpipette abgesaugt. Es folgte die Reinigung der Trägermembran von den nicht gebundenen Amplifikationsprodukten in drei Schritten mit jeweils 10 ml Waschlösung und zwischenzeitlichem Absaugen: Schritt 1: Waschen bei Raumtemperatur, Dauer 1 Minute; Schritt 2: Waschen bei 55 °C im Wärmewasserbad, Dauer 12 Minuten; Schritt 3: Waschen bei Raumtemperatur auf dem Rüttler, Dauer 5 Minuten. Anschließend wurden zu jeder Trägermembran 10 ml 0,1 M Citratpuffer pipettiert und das „typing tray“ bei Raumtemperatur für fünf Minuten auf den Rüttler gestellt. Danach wurde der Citratpuffer abgesaugt und zu jeder Membran 10 ml der Färbelösung pipettiert. Nach 20minütiger Inkubation auf dem Rüttler bei Raumtemperatur hatte dann eine ausreichende Farbreaktion stattgefunden, so daß die überschüssige Lösung abgesaugt und der Träger mit Aqua bidest. gespült werden konnte. Es folgte das Ablesen und die Auswertung der Alleltypisierung.

3.4 Statistik

Ziele der statistischen Auswertung sind:

1. Prüfung, ob ein bestimmtes HLA-Merkmal bei Patienten mit Mb. Basedow signifikant häufiger auftritt als in der gesunden Kontrollgruppe;
2. Prüfung anhand der Alternativwahrscheinlichkeiten, ob zwei Merkmale voneinander abhängig sind oder nicht, d.h. ob bei Patienten mit Mb. Basedow ein Zusammenhang mit einem bestimmten HLA-Merkmal besteht oder ob die Erkrankung unabhängig von einem bestimmten HLA-Merkmal auftritt;
3. Ermittlung der Stärke einer Assoziation zwischen HLA-Merkmal und Krankheitsauslösung.

Die Auswertung bezieht sich auf die Assoziation mit einem *einzelnen* Antigen. Die mögliche Assoziation mit *HLA-Haplotypen* (z.B. A1, B8, DR3) bleibt aus folgendem Grund unberücksichtigt: Bei allein zwei Merkmalen (z.B. A1 und B8) handelt es sich

um eine Interaktion dritter Ordnung. Um eine solche Interaktion statistisch zu beweisen, ist es notwendig, eine Stichprobengröße zu erreichen ($n > 1000$), die um ein vielfaches die vorhandene überschreitet ($n = 116$). Es ist bisher nicht gelungen, eine echte Haplotyp-Assoziation (z.B. mit A1, B8, DR3) statistisch schlüssig zu belegen (2).

3.4.1 Signifikanztestung

Um die stochastische Unabhängigkeit oder Homogenität zweier Merkmale (Erkrankung Mb. Basedow/bestimmtes HLA-Merkmal) bzw. deren Beziehungsstruktur zu ermitteln, wird der Vierfelder- χ^2 -Test angewendet (122). Das Prinzip der Vierfeldertafel ist in Tabelle 5 dargestellt. Dieses Verfahren findet im Allgemeinen bei der Untersuchung einer HLA-Krankheitsassoziation Anwendung (2).

Tabelle 5. Prinzip der Vierfeldertafel

	HLA-Merkmal vorhanden	HLA-Merkmal nicht vorhanden	Summe
Patientengruppe	a	b	$n_3 (a+b)$
Kontrollgruppe	c	d	$n_4 (c+d)$
Summe	$n_1 (a+c)$	$n_2 (b+d)$	$N (a+b+c+d)$

Der Test dient somit der Überprüfung einer stochastischen Unabhängigkeit oder Homogenität zweier Merkmale (122). Bei dem Vergleich der Häufigkeit eines HLA-Allels bzw. eines HLA-Oberflächenantigens in einer unverwandten Patientenpopulation mit der Häufigkeit in einer klinisch gesunden Kontrollgruppe ist das Merkmal 1 die Zugehörigkeit zu Patienten- oder Kontrollgruppe (und somit das Vorhanden- oder Nichtvorhandensein eines Mb. Basedow), Merkmal 2 das Vorhandensein oder Nichtvorhandensein eines bestimmten HLA-Allels bzw. HLA-Oberflächenantigens. Ob diese beiden Merkmale voneinander abhängig oder unabhängig sind, wird anhand der Alternativwahrscheinlichkeiten überprüft. Dazu werden eine Nullhypothese (H_0) und eine Alternativhypothese (H_1) formuliert:

- Nullhypothese H_0 : Die beiden Merkmale sind voneinander unabhängig, d.h. die Erkrankung Mb. Basedow ist unabhängig vom HLA-Merkmal, bzw. Patienten- und

Kontrollgruppe unterscheiden sich hinsichtlich der Häufigkeit eines bestimmten HLA-Allels/-Oberflächenantigens nicht.

- Alternativhypothese H_1 : Zwischen beiden Merkmalen besteht ein signifikanter Zusammenhang.

Für jedes einzelne HLA- Allel bzw. HLA-Oberflächenantigen wurde eine solche Vierfeldertafel erstellt und die Prüfgröße χ^2 nach Formel 1 berechnet (122).

Formel 1

$$\chi^2 = \frac{(a \times d - b \times c)^2 \times N}{(a + b)(a + c)(c + d)(b + d)} = \frac{N \times (a \times d - b \times c)^2}{n_1 \times n_2 \times n_3 \times n_4}$$

Der errechnete χ^2 -Wert wurde mit den Quantilen $\chi^2_{f,p}$ verglichen (Tabelle 6). Die sich daraus ergebende Wahrscheinlichkeit p wurde wegen der multiplen Allelie des HLA-Systems und der folglich Vielzahl verschiedener Vergleiche nach Bonferroni korrigiert (Multiplikation des p-Wertes mit der Anzahl der Vergleiche) (122). Alle ermittelten p-Werte wurden daher mit der Zahl der Allele multipliziert, um rein zufallsbedingte Abweichungen auszuschließen (Formel 2).

Formel 2

$$p_{\text{kor.}} = p \times \text{Anzahl der untersuchten HLA-Merkmale}$$

Der kleinste p-Wert, d.h. die geringste Grundwahrscheinlichkeit, für den die Nullhypothese abzulehnen ist, wurde als Maß der statistischen Signifikanz angegeben. Das Signifikanzniveau ist identisch mit der Irrtumswahrscheinlichkeit α , die man bereit ist zu akzeptieren (122). Das Signifikanzniveau wurde vor Durchführung der Berechnungen festgelegt auf einen Wert, wie er bei medizinischen Testverfahren üblich ist: $\alpha \leq 0,05$. Für eine Vierfelder-Tafel gilt der Freiheitsgrad $f = 1$. War bei einer korrigierten Wahrscheinlichkeit von $p_{\text{kor.}} \geq 0,05$ die Prüfgröße χ^2 gleich oder größer als die entsprechende Quantile $\chi^2_{f,p}$ (bei $p \geq 0,05$ und $f = 1$ ergibt sich dafür 3,84, siehe Tabelle 6), wurde die Nullhypothese abgelehnt, d.h. in diesem Fall unterschieden sich Patienten- und Kontrollgruppen signifikant hinsichtlich der Häufigkeit des untersuchten Merkmals (122).

Tabelle 6. Quantile $\chi^2_{f,p}$ der χ^2 -Verteilung bei einem Freiheitsgrad $f = 1$

p	0,9	0,1	0,05	0,025	0,01	0,005	0,001
Quantile $\chi^2_{f,p}$	0,0158	2,71	3,84	5,02	6,62	7,88	10,828

3.4.2 Krankheitsassoziation

Nur bei einer statistisch gesicherten Assoziation, also einem korrigiertem p-Wert $< 0,05$, ist es sinnvoll, die Stärke der Assoziation zu bestimmen (2). Als Maß für die Stärke einer Assoziation zwischen HLA-Merkmal und Krankheit wurde das **relative Risiko (RR)** nach Formel 3 unter Verwendung der Odds Ratio errechnet, da es sich um eine retrospektive Untersuchung handelte (124).

Formel 3

$$RR = \frac{a \times d}{b \times c}$$

Ein $RR > 1$ bedeutet eine positive Assoziation, ein $RR < 1$ eine negative Assoziation (protektive Allele). Das Relative Risiko (RR) gibt also an, wieviel größer das Risiko für einen Träger eines bestimmten HLA-Merkmales ist, an einem Mb. Basedow zu erkranken, gegenüber einer Person, die dieses Merkmal nicht trägt. Der **Ätiologische Faktor (EF)** beschreibt den Anteil des entsprechenden HLA-Merkmales an der Ätiopathogenese der Erkrankung ($EF > 0$) bzw. dessen Protektivität ($EF < 0$). Der EF wurde nach der Formel 4 berechnet (122).

Formel 4

$$EF = \frac{(RR - 1)}{RR} \times \frac{a}{(a + b)}$$

Der EF liegt immer unter 1, d.h. unter 100%, da neben dem HLA-Merkmal noch weitere Risikofaktoren bei der Krankheitsentstehung eine Rolle spielen. Ein negativer EF beschreibt eine protektive Wertigkeit des entsprechenden Merkmals.

3.4.3 Validität der Ergebnisse

Das Maß der Übereinstimmung zwischen einem Test (im vorliegenden Fall ein bestimmtes untersuchtes HLA-Merkmal) und dem, was er zu messen vorgibt (d.h. die Disposition zur Ausbildung eines Mb. Basedow) entspricht der Validität (Gültigkeit). Die Validität wurde durch die Berechnung von Sensitivität, Spezifität und positiver/negativer Korrektheit ermittelt. Die **Sensitivität** der Methode beschreibt die Wahrscheinlichkeit in Prozent, daß ein an Mb. Basedow Erkrankter durch die Methode auch als krank erkannt wird. Der Test fällt positiv aus, d.h. ein bestimmtes HLA-Merkmal liegt vor. Die Sensitivität wurde nach Formel 5 berechnet (122). Die **Spezifität** der Methode beschreibt die Wahrscheinlichkeit in Prozent, daß ein Gesunder auch wirklich als gesund erkannt wird. Der Test fällt negativ aus, d.h. das bestimmte HLA-Merkmal liegt nicht vor. Die Spezifität wurde nach Formel 6 berechnet (122).

Formel 5

$$\text{Sensitivität}(\%) = \frac{n_{\text{HLA-Merkmal-positiv / MB}}}{n_{\text{HLA-Merkmal-positiv / gesamt}}} \times 100 = \frac{a}{a + c} \times 100$$

Formel 6

$$\text{Spezifität}(\%) = \frac{n_{\text{HLA-Merkmal-negativ / gesund}}}{n_{\text{HLA-Merkmal-negativ / gesamt}}} \times 100 = \frac{d}{b + d} \times 100$$

Die **positive Korrektheit** (Prädiktion des positiven Tests) bestimmt den Prozentsatz der Personen mit richtig positivem Test (an Mb. Basedow Erkrankte mit entsprechendem positivem HLA-Merkmal) an allen Personen mit positivem Test (also auch nicht an Mb. Basedow Erkrankte). Die positive Korrektheit beschreibt also die Wahrscheinlichkeit, mit der sich eine Person mit positivem Test (bestimmtes HLA-Merkmal positiv) auch wirklich als an Mb. Basedow erkrankt erweist. Die positive Korrektheit wird nach Formel 7 berechnet (122). Die **negative Korrektheit** (Prädiktion des negativen Tests) bestimmt den Prozentsatz der Personen mit richtig negativem Test (gesunde ohne entsprechendes positives HLA-Merkmal) an allen Personen mit negativem Test (also auch an Mb. Basedow Erkrankte ohne Nachweis eines entsprechenden HLA-Merkmal). Die negative Korrektheit beschreibt also die Wahrscheinlichkeit, mit der

eine Person mit negativem Test (bestimmtes HLA-Merkmal negativ) dennoch an Mb. Basedow erkrankt ist. Die negative Korrektheit wurde nach Formel 8 berechnet (122).

Formel 7

$$positiveKorrektheit(\%) = \frac{n_{HLA-Merkmal-positiv / MB}}{n_{MB-Patienten / gesamt}} \times 100 = \frac{a}{a + b} \times 100$$

Formel 8

$$negativeKorrektheit(\%) = \frac{n_{HLA-Merkmal-negativ / gesund}}{n_{Gesunde / gesamt}} \times 100 = \frac{d}{c + d} \times 100$$

4 ERGEBNISSE

4.1 Charakterisierung der Patientengruppe

Insgesamt wurden 116 Patienten mit der Diagnose Mb. Basedow untersucht. Die Geschlechterverteilung, der Anteil der Patienten mit und ohne weitere organspezifische Autoimmunerkrankung (SOSA/KOSA) sowie mit und ohne Immunorbitopathie (IO) sind in Tabelle 7 aufgeführt.

Tabelle 7. Untersuchte Patienten und deren Krankheitsspektrum

Erkrankung	n (%)	Geschlecht n (%)	
		w	m
MB _{ges.}	116 (100)	95 (82)	21 (18)
- ohne IO	50 (43)	46	4
- mit IO	66 (57)	49	17
MB/SOSA	72 (62)	57 (49)	15 (13)
- ohne IO	25 (22)	23	2
- mit IO	47 (40)	34	13
MB/KOSA	44 (38)	38 (33)	6 (5)
- ohne IO	25 (22)	23	2
- mit IO	19 (16)	15	4
MB/SAIE	7 (6)	7 (6)	0 (0)
- SOSA und SAIE	6 (5)	6	0
- KOSA und SAIE	1 (0,9)	1	0

n = Anzahl absolut; w = weiblich; m = männlich; SOSA = solitäre organspezifische Autoimmunerkrankung; ges. = gesamt; KOSA = kombinierte organspezifische Autoimmunerkrankung; IO = Immunorbitopathie; SAIE = systemische Autoimmunerkrankung; MB = Mb. Basedow

Es war nur bei 78 Patienten möglich, den Zeitpunkt der Diagnosestellung zu erfahren. Das **Alter bei Diagnosestellung** lag bei diesen Patienten bei 16 bis 70 Jahren (Median 39 Jahre), bei den weiblichen Patienten bei 16 bis 70 Jahren (Median 38), bei den männlichen Patienten bei 25 bis 62 Jahren (Median 43 Jahre). Das **Geschlecht** ist überwiegend weiblich (95 weibliche vs. 21 männliche Patienten) und entspricht einem Verhältnis weiblich : männlich = 4,5 : 1.

Insgesamt trat bei 44 Patienten (38%) die Erkrankung Mb. Basedow im Rahmen einer KOSA auf. Bei 72 Patienten (62%) war keine weitere OSA (organspezifische Autoimmunerkrankung) festzustellen. In Tabelle 8 sind die zusätzlich zum Mb. Basedow vorliegenden OSA aufgeführt. Von den insgesamt 44 Patienten mit KOSA hatten 32 Patienten eine weitere, 11 Patienten zwei weitere und ein Patient drei weitere organspezifische Autoimmunerkrankungen. Die Kombinationen der verschiedenen OSA sind Tabelle 9 zu entnehmen.

Tabelle 8. Organspezifische Autoimmunerkrankungen, die im Rahmen einer KOSA neben dem Mb. Basedow auftraten

OSA	n
Vitiligo	12
Atrophische Gastritis	12
Diabetes mellitus Typ 1	12
Morbus Addison	10
Alopezie	4
Hypogonadismus	2
Myasthenia gravis	2
Autoimmunhepatitis	1
Zöliakie	1
Morbus Werlhof	1

OSA = organspezifische Autoimmunerkrankung; n = Anzahl absolut;

Bei insgesamt 7 Patienten war neben dem Mb. Basedow eine systemische, nicht organspezifische Autoimmunerkrankung nachweisbar: systemischer Lupus erythematosus bei 4 Patienten, Rheumatoidarthritis bei 2 Patienten, Sklerodermie bei einem Patienten. Einer dieser Patienten (mit Rheumatoidarthritis) hatte eine KOSA. 50 Patienten hatten zum Zeitpunkt der Untersuchung keine endokrine Orbitopathie

(Stadium \geq II). Bei 66 Patienten (57%) wurde eine endokrine Orbitopathie diagnostiziert (Stadium \geq II).

Tabelle 9. Übersicht über die Kombinationen der OSA

Morbus Basedow in Kombination mit:	n
Vitiligo	8
Morbus Addison	7
Atrophische Gastritis	6
Diabetes mellitus Typ 1	4
Alopezie	4
Morbus Werlhof	1
Myasthenia gravis	1
Autoimmune Hepatitis	1
Diabetes mellitus Typ 1 + Vitiligo	3
Diabetes mellitus Typ 1 + atrophische Gastritis	2
Diabetes mellitus Typ 1 + Zöliakie	1
Diabetes mellitus Typ 1 + Hypogonadismus	1
Diabetes mellitus Typ 1 + Morbus Addison	1
Atrophische Gastritis + Vitiligo	1
Atrophische Gastritis + Myasthenia gravis	1
Atrophische Gastritis + Morbus Addison	1
Morbus Addison + Atrophische Gastritis + Hypogonadismus	1

n = Anzahl absolut;

4.2 HLA-Oberflächenantigene und HLA-DQA1-Allele

Die ausführliche Darstellung der Gesamtergebnisse der Patienten- und Kontrollgruppen erfolgt in den Tabellen A1-A18 im Anhang. Aufgrund des großen Umfangs dieser Tabellen erfolgt zur Wahrung der Übersichtlichkeit in diesem Abschnitt die tabellarische Darstellung nur von signifikanten Ergebnissen.

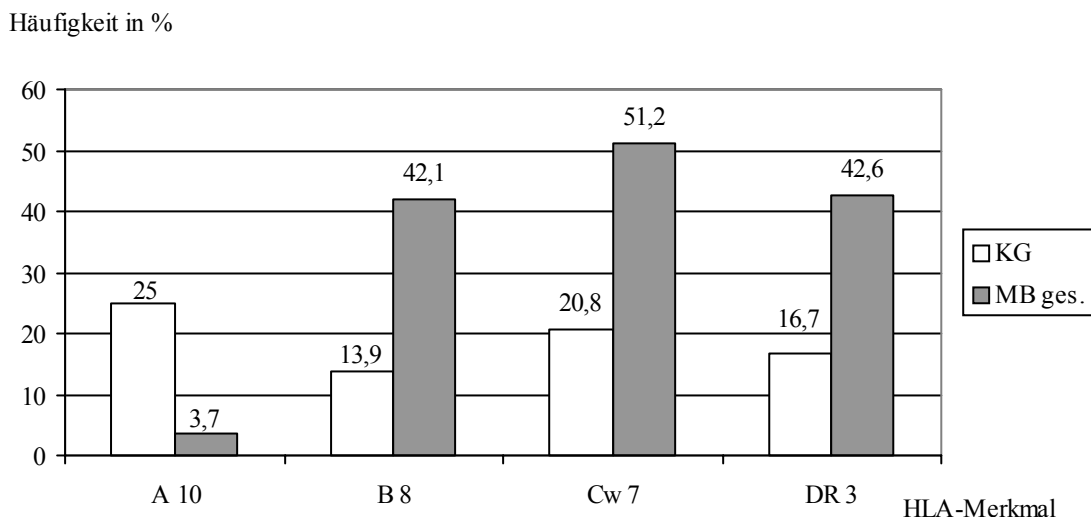
4.2.1 Ergebnisse der Untersuchung der HLA-Oberflächenantigene

Die Bestimmung der HLA-Oberflächenantigene war nicht von allen Patienten vollständig durchgeführt worden; die Komplettierung konnte im Nachhinein bei diesen nicht mehr erfolgen (DNS nicht mehr verfügbar). Daher weicht die Gesamtzahl der

einzelnen HLA-Oberflächenantigene in den Patientengruppen von der Gesamtzahl der untersuchten Patienten (n = 116) ab.

Eine Assoziation zwischen HLA-Merkmal und *Mb. Basedow* (Patientengruppe **MB_{ges.}**) ist für A10, B8, Cw7 und DR3 festzustellen (Tabelle 10, Abbildung 2). 42,1% der Patienten mit *Mb. Basedow* tragen das Merkmal HLA-B8 (vs. 13,9% in der Kontrollgruppe). Daraus ergibt sich bei einem korrigierten p-Wert von 0,038 ein relatives Risiko von 4,5. Das Merkmal DR3 ist bei Patienten mit *Mb. Basedow* ebenfalls signifikant häufiger nachzuweisen (42,6% vs. 16,7% in der Kontrollgruppe). Bei einem korrigierten p-Wert von 0,02 ergibt sich daraus ein relatives Risiko von 3,71. 51,2% der Patienten mit *Mb. Basedow* tragen das Merkmal Cw7 (vs. 20,8% in der Kontrollgruppe). Der korrigierte p-Wert beträgt 0,016, das relative Risiko 3,98. Merkmal HLA-A10 hingegen ist signifikant vermindert. 3,7% der an *Mb. Basedow* erkrankten Patienten tragen dieses Merkmal vs. 25% in der Kontrollgruppe. Bei einem korrigierten p-Wert von 0,016 beträgt das relative Risiko 0,12, der ätiologische Faktor EF ist negativ (-0,27). Die übrigen untersuchten HLA-Oberflächenantigene sind in der Patientengruppe **MB_{ges.}** nicht signifikant erhöht oder erniedrigt. Die stärkste Assoziation in dieser Patientengruppe besteht zum Merkmal B8.

Abbildung 2. Häufigkeit von HLA-Merkmalen in der Patientengruppe **MB ges.** im Vergleich mit der Kontrollgruppe (in Prozent; nur signifikante Ergebnisse dargestellt).



In der Patientengruppe *Mb. Basedow ohne weitere OSA* (**MB/SOSA**) ist eine Assoziation mit einem HLA-Merkmal allein für HLA-B8 festzustellen (Tabelle 10, Abbildung 3). 39,7% der Patienten mit *Mb. Basedow* ohne weitere organspezifische Autoimmunerkrankung sind positiv für HLA-B8 (vs. 13,9% in der Kontrollgruppe). Daraus ergibt sich bei einem korrigierten p-Wert von 0,038 ein relatives Risiko von 4,1. HLA-A10, -Cw7, -DR3 sind vor Bonferroni-Korrektur signifikant erhöht (-Cw7, -DR3) bzw. erniedrigt (A10) (Tabellen A1, A10, A13). Nach Korrektur sind diese Merkmale jedoch nicht mehr signifikant unterschiedlich im Vergleich zur Kontrollgruppe.

Abbildung 3. Häufigkeit von HLA-Merkmalen in der Patientengruppe **MB/SOSA** im Vergleich mit der Kontrollgruppe (in Prozent; nur signifikante Ergebnisse dargestellt).

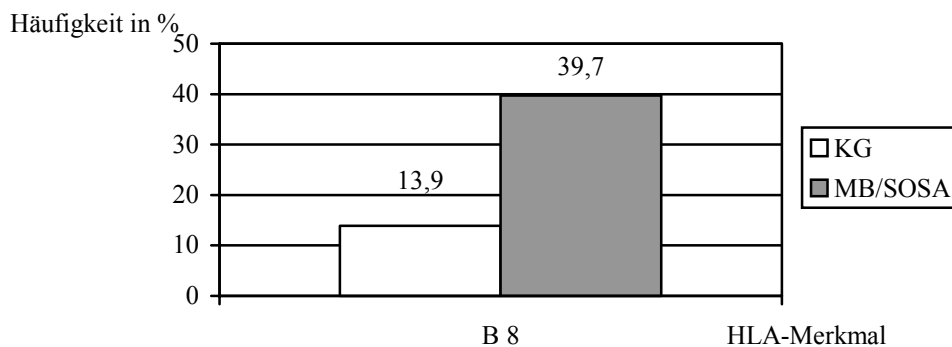
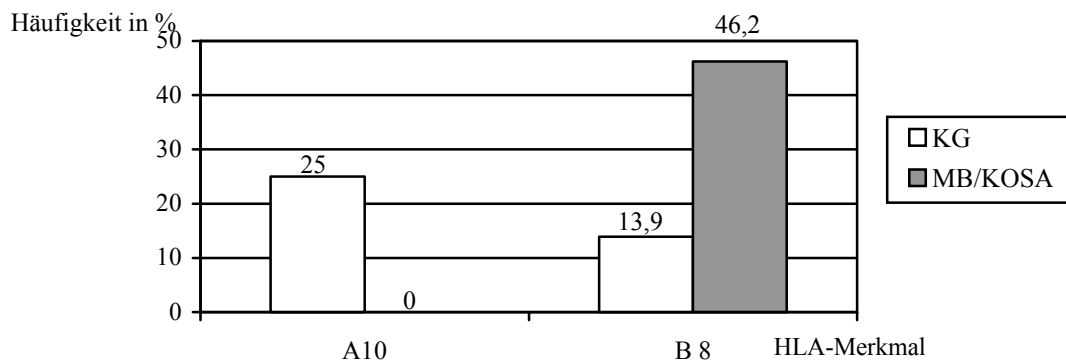


Abbildung 4. Häufigkeit von HLA-Merkmalen in der Patientengruppe **MB/KOSA** im Vergleich mit der Kontrollgruppe (in Prozent; nur signifikante Ergebnisse dargestellt).



Für die Patientengruppe *Mb. Basedow im Rahmen einer kombinierten OSA (MB/KOSA)* wurde eine Assoziation mit den HLA-Merkmalen A10 und B8 gefunden (Tabelle 10, Abbildung 4). 46,2% der Patienten in dieser Gruppe sind HLA-B8-positiv (vs. 13,9% in der Kontrollgruppe). Bei einem korrigierten p-Wert von 0,038 beträgt das relative Risiko 5,31. HLA-A10 ist signifikant erniedrigt (kein Patient vs. 25% in der Kontrollgruppe). Das relative Risiko beträgt 0, der korrigierte p-Wert 0,016. HLA-DR3 und -Cw7 sind unkorrigiert signifikant erhöht, jedoch ergibt sich nach Bonferroni-Korrektur keine signifikante Häufung dieser Merkmale in der Patientengruppe (Tabellen A10, A13).

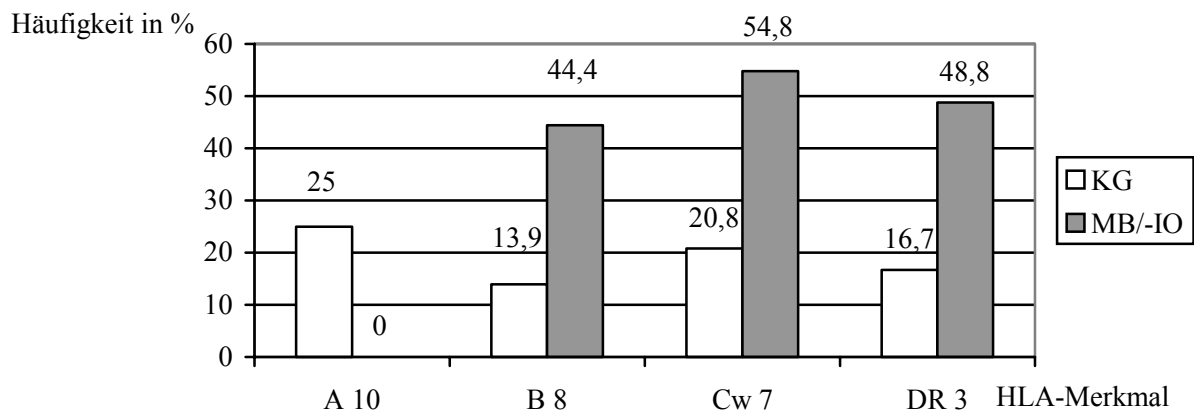
Tabelle 10. HLA-Assoziation in den Patientengruppen (signifikante Ergebnisse)

Pat.-gruppen	HLA-Merkmal	Kontrollgruppe (n= 72)		Ergebnisse der Patientengruppe									
		n (%)	hom.	n/n _{ges.} (%)	hom.	p	p _{kor.}	Sens	Spez	RR	EF	+K	-K
MB_{ges.}	A 10	18 (25,0)	-	4/107 (3,7)	-	0,001	0,016	18,2	34,4	0,12	-0,27	3,7	75,0
	B 8	10 (13,9)	-	45/107 (42,1)	-	0,001	0,038	81,8	50,0	4,5	0,33	42,0	86,1
	Cw 7	15 (20,8)	-	44/86 (51,2)	-	0,001	0,016	74,6	57,6	3,98	0,38	51,2	79,2
	DR 3	12 (16,7)	-	46/108 (42,6)	-	0,001	0,02	79,3	49,2	3,71	0,30	42,6	83,3
MB/SOSA	B 8	10 (13,9)	-	27/68 (39,7)	-	0,001	0,038	73,0	60,2	4,1	0,30	39,7	86,1
MB/KOSA	A 10	18 (25,0)	-	0/39 (0)	-	0,001	0,016	0	58,1	0	/	0	75,0
	B 8	10 (13,9)	-	18/39 (46,2)	-	0,001	0,038	64,3	74,7	5,31	0,37	46,2	86,1
MB/-IO	A 10	18 (25)	-	0/45 (0)	-	0,001	0,016	0	54,5	0	/	0	75,0
	B 8	10 (13,9)	-	20/45 (44,4)	-	0,001	0,038	66,7	71,3	4,96	0,35	44,4	86,1
	Cw 7	15 (20,8)	-	23/42 (54,8)	-	0,001	0,016	60,5	75,0	4,6	0,43	54,8	79,2
	DR 3	12 (16,7)	-	21/43 (48,8)	-	0,001	0,02	63,6	73,2	4,77	0,39	48,8	83,3
MB/+IO	B 8	10 (13,9)	-	25/62 (40,3)	-	0,001	0,038	71,4	62,6	4,2	0,3	40,3	86,1

n = Anzahl absolut; n_{ges.} = Gesamtzahl der untersuchten Patienten; hom. = homozygot; p_{kor.} = korrigierter p-Wert; Sens. = Sensitivität; Spez. = Spezifität; RR = rel. Risiko; EF = ätiologischer Faktor; +K = positive Korrektheit; -K = negative Korrektheit; MB = Mb. Basedow; -IO = ohne Immunorbitopathie; +IO = mit Immunorbitopathie; SOSA = solitäre organspezifische Autoimmunerkrankung; KOSA = kombinierte organspezifische Autoimmunerkrankung;

Für die Patientengruppe *Mb. Basedow ohne IO (MB/-IO)* besteht eine Assoziation mit den HLA-Merkmalen B8, Cw7, DR3 und A10 (Tabelle 10, Abbildung 5). Das Merkmal B8 tragen 44,4% der Patienten ohne Immunorbitopathie (vs. 13,9% der Patienten in der Kontrollgruppe). Der korrigierte p-Wert beträgt 0,038, das relative Risiko 4,96. 48,8% der Patienten in dieser Gruppe sind HLA-DR3-positiv (vs. 16,7% in der Kontrollgruppe). Daraus ergibt sich bei einem korrigierten p-Wert von 0,02 ein relatives Risiko von 4,77. HLA-Cw7 ist bei 54,8% der Patienten nachweisbar (vs. 20,8% in der Kontrollgruppe), so daß sich bei einem korrigierten p-Wert von 0,016 ein relatives Risiko von 4,6 ergibt. Keiner der Patienten in dieser Gruppe weist das HLA-Merkmal A10 auf (vs. 25% in der Kontrollgruppe). Daher beträgt das relative Risiko 0 (korrigierter p-Wert 0,016). Alle übrigen untersuchten HLA-Oberflächenantigene zeigen keine signifikante Häufung oder Verminderung in dieser Patientengruppe (Tabellen A1-A17). Die stärkste Assoziation bei Patienten ohne Immunorbitopathie besteht mit dem Merkmal B8.

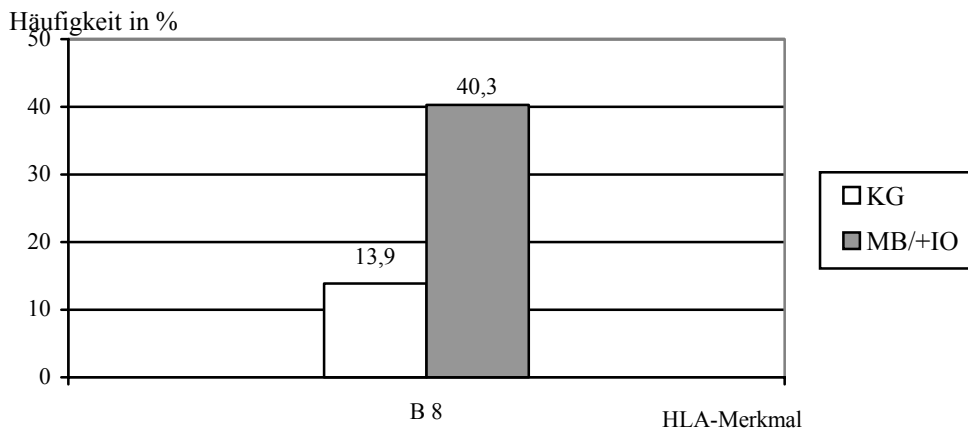
Abbildung 5. Häufigkeit von HLA-Merkmalen in der Patientengruppe **MB/-IO** im Vergleich mit der Kontrollgruppe (in Prozent; nur signifikante Ergebnisse dargestellt).



In der Patientengruppe *Mb. Basedow mit IO (MB/+IO)* ist eine Assoziation allein zu dem Merkmal HLA-B8 festzustellen (Tabelle 10, Abbildung 6). 40,3% der Patienten mit IO tragen dieses Merkmal (vs. 13,9% in der Kontrollgruppe); das relative Risiko beträgt 4,2 bei einem korrigiertem p-Wert von 0,038. Die HLA-Merkmale HLA-A10, -DR3 und -Cw7 waren unkorrigiert signifikant unterschiedlich im Vergleich zur

Kontrollgruppe, jedoch nach Bonferroni-Korrektur nicht mehr signifikant erniedrigt oder erhöht (Tabellen A3, A11 und A14).

Abbildung 6. Häufigkeit von HLA-Merkmalen in der Patientengruppe **MB/+IO** im Vergleich mit der Kontrollgruppe (in Prozent; nur signifikante Ergebnisse dargestellt).



Die stärkste Assoziation des HLA-Merkmals B8 ist in der Patientengruppe MB/KOSA festzustellen (Tabelle 11). Das HLA-Merkmal DR3 zeigte die stärkste Assoziation in der Patientengruppe MB/-IO (Tabelle 12), das HLA-Merkmal Cw7 in der Patientengruppe MB/-IO (Tabelle 13). Die signifikante Erniedrigung des Merkmals HLA-A10 war am stärksten in den Patientengruppen MB/KOSA und MB/-IO (Tabelle 14).

Tabelle 11. Assoziation von HLA-B8 in den verschiedenen Patientengruppen

Patientengruppe	n/n _{ges.} (%)	p _{kor.}	RR
MB _{ges.}	45/107 (42,1)	0,038	4,50
MB/SOSA	27/68 (39,7)	0,038	4,10
MB/KOSA	18/39 (46,2)	0,038	5,31
MB/-IO	20/45 (44,4)	0,038	4,96
MB/+IO	25/62 (40,3)	0,038	4,2
Kontrollgruppe	10/72 (13,9)		

n = Anzahl absolut; n_{ges.} = Gesamtzahl der untersuchten Patienten; p_{kor.} = korrigierter p-Wert; RR = relatives Risiko;
 MB = Mb. Basedow; -IO = ohne Immunorbitopathie; +IO = mit Immunorbitopathie;
 SOSA = solitäre organspezifische Autoimmunerkrankung; KOSA = kombinierte organspezifische Autoimmunerkrankung

Tabelle 12. Assoziation von HLA-DR3 in den verschiedenen Patientengruppen

Patientengruppe	n/n _{ges.} (%)	p	p _{korr.}	RR
MB _{ges.}	46/108 (42,6)	0,001	0,02	3,71
MB/SOSA	29/70 (41,4)	0,005	n.s.	
MB/KOSA	17/38 (44,7)	0,005	n.s.	
MB/-IO	21/43 (48,8)	0,001	0,02	4,77
MB/+IO	25/65 (38,5)	0,005	n.s.	
Kontrollgruppe	12/72 (16,7)			

n = Anzahl absolut; n_{ges.} = Gesamtzahl der untersuchten Patienten; p_{korr.} = korrigierter p-Wert; RR = relatives Risiko;
 MB = Mb. Basedow; -IO = ohne Immunorbitopathie; +IO = mit Immunorbitopathie;
 SOSA = solitäre organspezifische Autoimmunerkrankung; KOSA = kombinierte organspezifische Autoimmunerkrankung

Tabelle 13. Assoziation von HLA-Cw7 in den verschiedenen Patientengruppen

Patientengruppe	n/n _{ges.} (%)	p	p _{korr.}	RR
MB _{ges.}	44/86 (51,2)	0,001	0,016	3,98
MB/SOSA	27/62 (43,6)	0,005	n.s.	
MB/KOSA	17/38 (44,7)	0,01	n.s.	
MB/-IO	23/42 (54,8)	0,001	0,016	4,6
MB/+IO	21/58 (36,2)	n.s.		
Kontrollgruppe	15/72 (20,8)			

n = Anzahl absolut; n_{ges.} = Gesamtzahl der untersuchten Patienten; p_{korr.} = korrigierter p-Wert; RR = relatives Risiko;
 MB = Mb. Basedow; -IO = ohne Immunorbitopathie; +IO = mit Immunorbitopathie;
 SOSA = solitäre organspezifische Autoimmunerkrankung; KOSA = kombinierte organspezifische Autoimmunerkrankung

Tabelle 14. Assoziation von HLA-A10 in den verschiedenen Patientengruppen

Patientengruppe	n/n _{ges.} (%)	p	p _{korr.}	RR
MB _{ges.}	4/107 (3,7)	0,001	0,016	0,12
MB/SOSA	4/68 (5,9)	0,005	n.s.	
MB/KOSA	0/39 (0)	0,001	0,016	/
MB/-IO	0/45 (0)	0,001	0,016	/
MB/+IO	4/62 (6,4)	0,005	n.s.	
Kontrollgruppe	18/72 (25)			

n = Anzahl absolut; n_{ges.} = Gesamtzahl der untersuchten Patienten; p_{korr.} = korrigierter p-Wert; RR = relatives Risiko;
 MB = Mb. Basedow; -IO = ohne Immunorbitopathie; +IO = mit Immunorbitopathie;
 SOSA = solitäre organspezifische Autoimmunerkrankung; KOSA = kombinierte organspezifische Autoimmunerkrankung

4.2.2 Ergebnisse der Untersuchung der HLA-DQA1-Allele

Die Bestimmung der HLA-DQA1-Allele erfolgte von allen Patienten (n = 116).

Patienten mit einem *Mb. Basedow* (Patientengruppe **MB_{ges.}**) weisen signifikant häufiger die DQA1-Allele *0301, *0401-*0601 und für Arginin-52-positiv kodierende Allele (*0301-*0601) auf (Tabelle 15, Abbildung 7). Das Allel DQA1*0301 ist bei 43,1% der Patienten mit *Mb. Basedow* nachweisbar (vs. 19,4% in der Kontrollgruppe). Daraus errechnet sich ein relatives Risiko von 3,13 bei einem korrigiertem p-Wert von 0,012. Die Allele DQA1*0401-*0601 (en bloc bestimmt, siehe 3.3.2.4) sind bei 81,9% der Patienten nachzuweisen (vs. 43,1% in der Kontrollgruppe). Das relative Risiko beträgt 6,0 bei einem korrigiertem p-Wert von 0,012. 89,7% der Patienten tragen für Arginin-52-positiv kodierende Allele (vs. 58,3% der Patienten in der Kontrollgruppe). Das relative Risiko ist im Vergleich mit den beiden anderen Allelen am höchsten (RR = 6,19, korrigierter p-Wert = 0,012). Die übrigen untersuchten HLA-DQA1-Allele waren in dieser Patientengruppe nicht signifikant erhöht oder erniedrigt (Tabelle A18).

Patienten mit SOSA (Patientengruppe **MB/SOSA**) weisen signifikant häufiger die DQA1-Allele *0401-*0601 und für Arginin-52-positiv kodierende Allele (*0301-*0601) auf als Personen der Kontrollgruppe (Tabelle 15, Abbildung 7). Bei 80,6% der Patienten in dieser Gruppe sind die Allele DQA1*0401-*0601 nachweisbar (vs. 43,1% in der Kontrollgruppe). Bei einem korrigierten p-Wert von 0,012 beträgt das relative Risiko 5,48. Weniger stark ist die Assoziation zu den Arginin-52-positiv kodierenden Allelen, die in 83,3% der Patienten nachweisbar ist (vs. 58,3% in der Kontrollgruppe) und somit ein relatives Risiko von 3,57 bei einem korrigierten p-Wert von 0,012 ergibt. Die übrigen untersuchten HLA-DQA1-Allele kamen nicht signifikant häufiger oder seltener vor als in der Kontrollgruppe (Tabelle A18).

In der Gruppe der Patienten mit *KOSA* (**MB/KOSA**) sind 56,8% positiv für das Allel DQA1*0301 (vs. 19,4% in der Kontrollgruppe). Das relative Risiko beträgt 5,45 bei einem korrigierten p-Wert von 0,012. Positiv für DQA1*0401-*0601 sind 84,1% der Patienten dieser Gruppe (vs. 43,1% in der Kontrollgruppe), woraus sich ein relatives

Risiko von 6,99 ergibt (korrigierter p-Wert = 0,012). Die Arginin-52-positiv kodierenden Allele sind bei allen Patienten dieser Gruppe nachweisbar (100%, vs. 58,3% in der Kontrollgruppe). Das relative Risiko ist daher nicht zu errechnen (korrigierter p-Wert = 0,012) (Tabelle 15, Abbildung 7).

In beiden Patientengruppen, die sich zwischen *Vorliegen und Nichtvorliegen einer Immunorbitopathie (IO)* unterscheiden (MB/-IO, MB/+IO), sind sowohl die Allele DQA1*0401-*0601 als auch die für Arginin-52-positiv kodierenden Allele signifikant häufiger als in der Kontrollgruppe. Patienten ohne Immunorbitopathie (**MB/-IO**) tragen in 86,0% das Merkmal DQA1*0401-*0601 (vs. 43,1% in der Kontrollgruppe). Das relative Risiko beträgt 8,12. 92,0% der Patienten ohne IO weisen Allele auf, die für Arginin-52-positiv kodieren (vs. 58,3% in der Kontrollgruppe), woraus sich ein relatives Risiko von 8,21 ergibt. Die korrigierten p-Werte betragen in beiden Fällen 0,012. Bei Patienten mit IO (Gruppe **MB/+IO**) ist in 78,8% das Allel DQA1*0401-*0601 nachweisbar (vs. 43,1% in der Kontrollgruppe); das relative Risiko beträgt hierfür 4,91. Arginin-52-positiv kodierende Allele treten bei 87,9% der Patienten mit IO auf (vs. 58,3% in der Kontrollgruppe), woraus sich ein relatives Risiko von 5,18 ergibt. Die korrigierten p-Werte betragen in beiden Fällen 0,012 (Tabellen 15, Abbildung 7).

In jeder Patientengruppe sind die für Arginin-52-positiv kodierenden Allele (DQA1*0301-*0601) signifikant häufiger nachzuweisen als in der Kontrollgruppe (Tabelle 15). Am deutlichsten war dieser Befund in der Patientengruppe MB/KOSA nachweisbar (bei 100% der Patienten nachweisbar vs. 58,3% in der Kontrollgruppe). Insgesamt war jedoch zwischen den Patientengruppen kein signifikanter Unterschied hinsichtlich dieses Merkmals festzustellen.

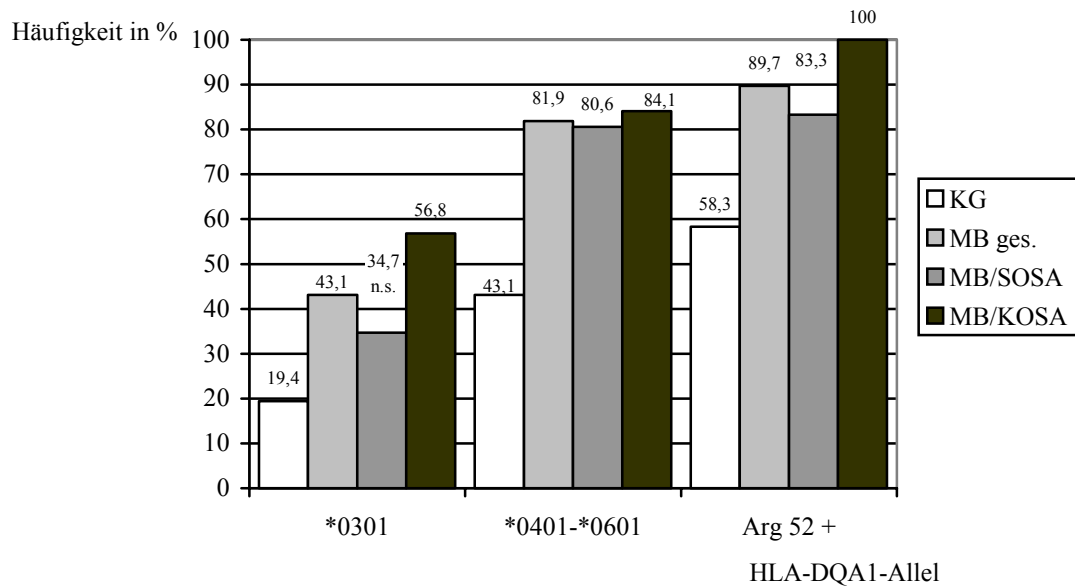
Ebenfalls in allen Patientengruppen war eine signifikante Häufung des Allels DQA1*0401-*0601 nachzuweisen (Tabelle 15). Zwischen den Patientengruppen war kein signifikanter Unterschied hinsichtlich dieses Merkmals festzustellen.

Tabelle 15. HLA-DQA1-Allele in den Patientengruppen

Pat.-gruppen	DQA1-Allel	Kontrollgruppe (n = 72)		Ergebnisse der Patientengruppe									
		n (%)	hom.	n/n _{ges.} (%)	hom.	p	p _{kor.}	Sens	Spez	RR	EF	+K	-K
MB_{ges.}	*0301	14 (19,4)	3	50/116 (43,1)	4	0,001	0,012	78,1	46,8	3,13	0,29	43,1	80,6
	*0401- *0601	31 (43,1)	1	95/116 (81,9)	13	0,001	0,012	75,4	66,1	6,00	0,68	81,9	56,9
	Arg 52 +	42 (58,3)		104/116 (89,7)		0,001	0,012	71,2	71,4	6,19	0,75	89,7	41,7
MB/SOSA	*0401- *0601	31 (43,1)	1	58/72 (80,6)	9	0,001	0,012	65,2	74,6	5,48	0,66	80,6	56,9
	Arg 52 +	42 (58,3)		60/72 (83,3)		0,001	0,012	58,8	71,4	3,57	0,60	83,3	41,7
MB/KOSA	*0301	14 (19,4)	3	25/44 (56,8)	2	0,001	0,012	64,1	75,3	5,45	0,46	56,8	80,6
	*0401- *0601	31 (43,1)	1	37/44 (84,1)	4	0,001	0,012	54,4	85,4	6,99	0,72	84,1	56,9
	Arg 52 +	42 (58,3)		44/44 (100)		0,001	0,012	51,2	100,0	/	/	100,0	41,7
MB/-IO	*0401- *0601	31 (43,1)	1	43/50 (86,0)	6	0,001	0,012	58,1	85,4	8,12	0,75	86,0	56,9
	Arg 52 +	42 (58,3)		46/50 (92,0)		0,001	0,012	52,3	88,2	8,21	0,81	92,0	41,7
MB/+IO	*0401- *0601	31 (43,1)	1	52/66 (78,8)	7	0,001	0,012	62,6	74,5	4,91	0,63	78,8	56,9
	Arg 52 +	42 (58,3)		58/66 (87,9)		0,001	0,012	58,0	78,9	5,18	0,71	87,9	41,7

n = Anzahl absolut; n_{ges.} = Gesamtzahl der untersuchten Patienten; hom. = homozygot; p_{kor.} = korrigierter p-Wert;
 Sens. = Sensitivität; Spez. = Spezifität; RR = rel. Risiko; EF = ätiologischer Faktor; +K = positive Korrektheit;
 -K = negative Korrektheit; MB = Mb. Basedow; -IO = ohne Immunorbitopathie; +IO = mit Immunorbitopathie;
 SOSA = solitäre organspezifische Autoimmunerkrankung; KOSA = kombinierte organspezifische Autoimmunerkrankung

Abbildung 7. Häufigkeit von HLA-DQA1-Allelen in den Patientengruppen MB ges., MB/SOSA und MB/KOSA im Vergleich mit der Kontrollgruppe



n.s. = nicht signifikant

5 DISKUSSION

5.1 Zu den Patientengruppen

Alle Patienten sind Angehörige der kaukasischen Rasse. Die Erfassung von Verwandten wurde ausgeschlossen, soweit dies nach anamnestischen Angaben möglich ist. Damit wurde die Häufung eines familiären Haplotyps von HLA-Merkmalen vermieden.

Die Diagnose des Mb. Basedow erfolgte nach den im Abschnitt 3.1 beschriebenen Kriterien. Die Diagnose der in die Untersuchung aufgenommenen Patienten ist nach diesen Kriterien zweifelsfrei.

Die Altersverteilung der Patienten bei Diagnosestellung des Mb. Basedow (16-70 Jahre, Median 39 Jahre) entspricht den in der Literatur angegebenen Daten zum

Manifestationsgipfel (3. bis 5. Dekade) (24, 76). Das Alter der Patienten zum Untersuchungszeitpunkt bleibt unberücksichtigt, da dies ohne Relevanz für die Untersuchungsergebnisse ist. Das Alter der Patienten zum Zeitpunkt der Krankheitsmanifestation kann nicht genau bestimmt werden, da die betrachteten Autoimmunerkrankungen z.T. schon eine unbestimmte Zeit subklinisch verlaufen können. Dem Manifestationsalter kommt das Alter bei Diagnosestellung am nächsten.

Das Geschlecht der Patienten ist überwiegend weiblich (95 weibliche vs. 21 männliche Patienten, Verhältnis weiblich : männlich = 4,5 : 1). Dieses Verhältnis deckt sich mit den Angaben in der Literatur, wo das Verhältnis weibliche Patienten zu männliche Patienten mit 4 : 1 bis 9 : 1 angegeben wird (24, 54).

Das Intervall zwischen Manifestation des Mb. Basedow und Manifestation einer weiteren organspezifischen Autoimmunerkrankung (OSA) kann nicht ausgewertet werden, da nur bei wenigen Patienten Angaben zum Zeitpunkt der Diagnose einer weiteren OSA vorlagen.

Die Einteilung der Patienten in die Gruppen MB/SOSA und MB/KOSA ist durchaus kritisch zu bewerten, da es sich um eine retrospektive Untersuchung handelt, in welcher der Langzeit- bzw. der gesamte Krankheitsverlauf der Patienten nicht berücksichtigt werden konnte. Es ist daher möglich, daß unter den Patienten in der Gruppe MB/SOSA (also allein die Patienten mit Mb. Basedow und ohne weitere OSA) auch Patienten sind, die im Verlauf eine weitere OSA entwickeln werden oder schon entwickelt haben. Die Zahl dieser möglichen Patienten läßt sich nicht abschätzen, da es dazu keine ausreichenden Daten in der Literatur gibt. Dieser Aspekt macht deutlich, warum nicht die Klassifikation der Autoimmunerkrankungen verwendet wurde, die in Abschnitt 1.3 aufgeführt worden ist (PGAE Typ I-IV); die Typen II bis IV wären unter diesem Gesichtspunkt nicht klar voneinander abgrenzbar. Es erfolgte daher die Einteilung der Patienten in die beiden Gruppen MB/SOSA und MB/KOSA; diese wurde insbesondere vor dem Hintergrund vorgenommen, daß es möglicherweise verschiedene Pathomechanismen gibt, die entweder die Neigung zur Ausbildung nur *einer* OSA, d.h.

Mb. Basedow, oder eben *mehrerer* OSA, d.h. Mb. Basedow und weitere OSA, bedingen. Die Untersuchung des HLA-Systems unter dieser Vorstellung könnte dann möglicherweise z.B. HLA-Merkmale aufdecken, die als prädiktive Marker hinsichtlich des möglichen Auftretens einer weiteren OSA zusätzlich zu einem schon vorliegenden Mb. Basedow eingesetzt werden könnten.

Ebenfalls zu diskutieren ist die Einteilung der Patienten in die Gruppen MB/-IO und MB/+IO. 57% (n = 66) der Patienten mit Mb. Basedow hatten im untersuchten Patientengut klinisch eine IO nach WHO \geq Grad II. Es ist aber beschrieben, daß in größeren Untersuchungen bei $>85\%$ der Patienten mittels sensitiver Untersuchungsmethoden (Orbita-Sonographie, Computertomographie, Kernspintomographie) eine Immunorbitopathie auch im subklinischen Stadium nachweisbar war (13). Zum anderen handelt es sich nicht um eine retrospektive Untersuchung des gesamten Krankheitsverlaufes. Zwar entspricht die Häufigkeit des Auftretens einer IO im untersuchten Patientengut mit 57% den in der Literatur beschriebenen Häufigkeiten (ca. 50%) (13). Es ist jedoch zu vermuten, daß Patienten mit Mb. Basedow in die Gruppe MB/-IO (also Mb. Basedow ohne IO) aufgenommen wurden, bei denen möglicherweise bereits subklinisch eine IO vorlag; außerdem sind in der Gruppe MB/-IO mit großer Wahrscheinlichkeit Patienten, die im weiteren Krankheitsverlauf eine IO entwickelt haben bzw. entwickeln werden. Eine nach einigen Jahren zu initiiierende Nachuntersuchung dürfte zu einer schärferen Trennung der Gruppen führen. Hintergrund dieser Einteilung ist, daß die in der Literatur beschriebenen Untersuchungen hinsichtlich einer unterschiedlichen HLA-Assoziation zwischen Patienten mit Mb. Basedow ohne IO und mit IO zu diskrepanten Ergebnissen kamen (siehe 1.4).

5.2 Zur Kontrollgruppe

Die HLA-Antigen-Frequenzen in der Kontrollgruppe zeigen im Vergleich mit den in der Literatur beschriebenen Verteilungen nach Baur et al. 1984 ähnliche Ergebnisse (18). Es kann somit angenommen werden, daß die Kontrollgruppe (n = 72) repräsentativ für die Normalpopulation im mitteldeutschen Raum ist. Sie erfüllt die Anforderungen,

die an eine Kontrollgruppe zu stellen sind (siehe 3.2) und ist für die statistische Auswertung geeignet.

Kritisch zu bewerten ist die Tatsache, daß die Personen der Kontrollgruppe hinsichtlich einer möglichen Dysfunktion der Schilddrüse bzw. Vorliegen von TSH-Rezeptor-Antikörpern (TSH-R-AK) nicht untersucht wurden; der Ausschluß einer Immunthyreopathie erfolgte nur klinisch. In jüngeren, vergleichbaren Studien (31, 32) war dies aus folgenden Gründen Voraussetzung für die Patienten in der Kontrollgruppe: 8-12% der weiblichen Bevölkerung sind subklinisch hypo- oder hyperthyreot (hyperthyreot jedoch in der großen Mehrzahl der Fälle durch eine Schilddrüsen-Autonomie und nicht durch eine Immunhyperthyreose und somit nicht relevant für die Fragestellung) (50); bei 3-4% der weiblichen Bevölkerung liegt eine undiagnostizierte autoimmune Schilddrüsenerkrankung vor (114); bei bis zu 15% der Bevölkerung sind bei normaler Schilddrüsenfunktion Schilddrüsen-Autoantikörper nachweisbar (49). Genaue Angaben hierzu liegen jedoch für den Raum Thüringen bzw. den mitteldeutschen Raum nicht vor. Es kann nicht ausgeschlossen werden, daß nicht auch eine der (klinisch gesunden, jungen) Kontrollpersonen später einen Mb. Basedow entwickelt. Allerdings erscheint dieses Problem als geringfügig.

5.3 Zur Methodik

5.3.1 Methoden

Die Bestimmung der HLA-Oberflächenantigene erfolgte im Rahmen der bei allen Blut- und Knochenmarkspendern vorgenommenen routinemäßigen Untersuchung im Institut für Blutspende und Transfusionswesen Erfurt, wo derartige Untersuchungen bereits seit Jahren durchgeführt werden. Sie sind internen und externen Qualitätskontrollen unterworfen. Somit kann von einer entsprechend hohen Sicherheit und Exaktheit der dort durchgeführten Untersuchungen und deren Ergebnisse ausgegangen werden.

Die Bestimmung der HLA-Oberflächenantigene war nicht von allen Patienten vollständig durchgeführt worden, weil primär nur Klasse-I-Antigene oder nur Klasse-II-

Antigene untersucht wurden und aufgrund zu geringer asservierter Probenmenge eine ergänzende nachträgliche Bestimmung der Antigene der anderen Klasse nicht mehr möglich war. Daher weicht die Gesamtzahl der untersuchten einzelnen HLA-Oberflächenantigene in den Patientengruppen von der Gesamtzahl der untersuchten Patienten (n = 116) ab. Insgesamt war die Bestimmung der HLA-Oberflächenantigene bei zehn Personen der Patientengruppe unvollständig (zwei männliche, acht weibliche). Zwei der weiblichen Patienten sind der Gruppe SOSA zugeordnet, die übrigen acht (zwei männliche, sechs weibliche) der Gruppe KOSA. Die Aussagekraft der Ergebnisse der einzelnen HLA-Merkmale wird aber aufgrund der insgesamt ausreichend hohen Zahl an Patienten nicht beeinträchtigt.

Bei der Alleltypisierung fand die PCR-SSO-Methode (Amplifizierung der zu untersuchenden DNA mittels polymerase chain reaction und anschließende Hybridisierung mit sequenzspezifischen Oligonukleotiden) Anwendung. Eine weitere mögliche Methode ist die zweidimensionale Gelelektrophorese und RFLP-Analyse (restriction fragment length polymorphism), mit der die Untersuchung des Polymorphismus der DQ α - und DQ β -Polypeptide und somit der DQA- und DQB-Gene möglich sind (106, 120). Ein Vergleich dieser beiden Methoden wies eine Überlegenheit der PCR-SSO-Methode gegenüber der RFLP hinsichtlich der Korrektheit der Alleltypisierung nach (70), so daß der PCR-SSO-Methode der Vorzug zu geben ist. Sie findet daher auch in vorliegender Arbeit Anwendung.

Die Typisierung der DQA1-Allele erfolgte mittels des kommerziell erhältlichen Kits der Firma Perkin Elmer[®], der bereits seit 1991 im Einsatz ist und unter anderem in der Forensik Anwendung findet (siehe Kapitel 9, Anhang, II). Die Methode der PCR wurde nach den in molekulargenetisch arbeitenden Labors geltenden Standards durchgeführt. Dazu zählt auch die Verwendung der AmpliTaq[®]-DNA-Polymerase, einer thermostabilen Polymerase, die aufgrund ihrer Hitzebeständigkeit nur einmal zu Beginn der PCR in ausreichender Menge zugesetzt werden muß im Gegensatz zu früher verwendeten thermolabilen Polymerasen, welche nach jedem Hitzedenaturierungsschritt der PCR erneut dem PCR-Ansatz zugegeben werden mußten.

Mit dem verwendeten Kit der Firma Perkin Elmer ist die Differenzierung der DQA1-Allele *0101, *0102, *0103, *0201 (für Arginin-52-negativ kodierend) und *0301, *0401/*0501/*0601 (für Arginin-52-positiv kodierend) möglich. Eine Diskriminierung der Allele DQA1*0401, *0501 und *0601 ist jedoch mit diesem Kit nicht möglich, so daß diese drei Allele nur en bloc bestimmt werden konnten. Bei mit derselben Methode durchgeführten Untersuchungen wurde festgestellt, daß es sich bei den en bloc bestimmten Allelen DQA1*0401/*0501/*0601 fast ausschließlich um DQA1*0501 handelte (60, 100). Es wird daher davon ausgegangen, daß es sich bei den en bloc bestimmten Allelen DQA1*0401/*0501/*0601 vordergründig um HLA-DQA1*0501 handelt. Die Methode erlaubt weiterhin eine Aussage über die Anzahl der Allele, die für Arginin an Position 52 der α -Kette des Heterodimers kodieren (DQA1*0301, *0401, *0501, *0601) im Gegensatz zu den Allelen DQA1*0101, *0102, *0103, *0201, welche an Position 52 Arginin nicht aufweisen (Arginin-52-negativ).

5.3.2 Statistik

Folgende Voraussetzungen sind erforderlich, um verlässliche Aussagen über Assoziationen zwischen bestimmten Erkrankungen und HLA-Merkmalen treffen zu können:

1. Patienten- und Kontrollgruppe sind derselben ethnischen Gruppe zugehörig;
2. Anzahl von Patienten und Kontrollpersonen müssen ausreichend hoch sein ($n \geq 20$);
3. Signifikanztestung erfolgt mittels χ^2 -Test und Bonferroni-Korrektur (Multiplikation von p mit der Anzahl der getesteten Allele) (2).

Diese Voraussetzungen sind in der vorliegenden Arbeit erfüllt.

Der Vierfelder- χ^2 -Test findet im allgemeinen bei der Untersuchung einer HLA-Krankheitsassoziation Anwendung (2). Eine andere Form der statistischen Berechnung geht davon aus, daß bei starker Assoziation eines oder mehrerer HLA-Merkmale die Angabe von RR bzw. OR nicht mehr ausreichend sei. Diese Methode, RPE (relative predispositional effects) genannt, beruht auf einem sequentiellen Vergleich der

Allelfrequenzen der Patientengruppe und der Kontrollgruppe, um die prädisponierenden, protektiven oder neutralen Effekte der einzelnen HLA-Merkmale in Relation zueinander zu bestimmen (86). Diese Methode findet in der vorliegenden Arbeit keine Anwendung; der Vierfelder- χ^2 -Test hat sich in der Literatur als die Methode der Wahl bei der vorliegenden Fragestellung erwiesen.

Die Auswertung bezieht sich auf die Assoziation mit einem *einzelnen* Antigen. Die mögliche Assoziation mit *HLA-Haplotypen* (z.B. A1, B8, DR3) bleibt aus folgendem Grund unberücksichtigt: Bei allein zwei Merkmalen (z.B. A1 und B8) handelt es sich um eine Interaktion dritter Ordnung. Um eine solche Interaktion statistisch zu beweisen, ist es notwendig, eine Stichprobengröße zu erreichen ($n > 1000$), die um ein vielfaches die vorhandene überschreitet ($n = 116$). Es ist bisher nicht gelungen, eine echte Haplotyp-Assoziation (z.B. mit A1, B8, DR3) statistisch schlüssig zu belegen (2).

Wegen der multiplen Allelie des HLA-Systems und der folglich Vielzahl verschiedener Vergleiche ist die Korrektur nach Bonferroni (Multiplikation des p-Wertes mit der Anzahl der Vergleiche) erforderlich (122). In der vorliegenden Arbeit findet sich zur besseren Vergleichbarkeit auch jeweils die Angabe des unkorrigierten p, da in der Literatur teilweise auch Werte für p ohne Korrektur angegeben werden. Da es nur bei einer statistisch gesicherten Assoziation, also einem korrigiertem p-Wert $< 0,05$, sinnvoll ist, die Stärke der Assoziation zu bestimmen (2), wurde bei $p \geq 0,05$ von der Berechnung von RR, EF, Sensitivität, Spezifität, positiver und negativer Korrektheit abgesehen.

5.4 HLA-Assoziation und Mb. Basedow

Grumet et al. wiesen erstmals 1974 die Assoziation eines HLA-Merkmals mit dem Auftreten eines Mb. Basedow nach (für HLA-B8, damals HL-A8 bezeichnet) (47). Dieser Untersuchung folgten zahlreiche weitere Untersuchungen, die eine mögliche Assoziation des Mb. Basedow und auch anderer Autoimmunerkrankungen mit einem HLA-Merkmal untersuchten (Tabellen 1 und 4). Die Untersuchungen hinsichtlich einer HLA-Assoziation zum Mb. Basedow zeigen teilweise unterschiedliche Ergebnisse. Sie

stimmen jedoch dahingehend überein, daß in der kaukasischen Bevölkerungsgruppe eine Assoziation mit den Merkmalen B8, DR3 und DQA1*0501 gesehen wird. Einige Arbeitsgruppen fanden eine stärkere Assoziation zum Merkmal B8 (33, 59), während andere eine stärkere Assoziation zum Merkmal DR3 nachwiesen (5, 6, 19, 43, 86, 103) bzw. keinen Unterschied in der Stärke der Assoziation zwischen HLA-B8 und –DR3 feststellten (74, 99). Nach Ansicht anderer Autoren kommt dem DQA1-Allel*0501 die stärkste Assoziation zu (11, 12, 17, 126), wohingegen in weiteren Untersuchungen keine Assoziation zum HLA-Allel DQA1*0501 gefunden wurde (31, 32, 57). In einigen weiteren Untersuchungen wurde eine – jedoch im Vergleich mit der Stärke der Assoziation zu B8 und DR3 geringere – Assoziation zum Merkmal A1 festgestellt (5, 6, 14, 19, 86). Jüngste Veröffentlichungen wiesen eine Assoziation zum Allel DRB1*0301 nach (26, 57, 67).

Die eigenen Untersuchungsergebnisse zeigen ebenfalls, daß die HLA-Merkmale B8 und DR3 mit der Erkrankung Mb. Basedow assoziiert sind. In der Patientengruppe MB_{ges.} (alle Patienten mit Mb. Basedow mit und ohne weitere OSA, mit und ohne IO) ist die Assoziation zum Merkmal HLA-B8 mit einem relativen Risiko von 4,5 ($p_{\text{korr.}}=0,038$) am stärksten. Im Vergleich dazu beträgt das relative Risiko 3,71 für HLA-DR3 ($p_{\text{korr.}} = 0,02$) (Tabelle 10).

Die Assoziation des Merkmals HLA-Cw7 zum Mb. Basedow ist im Vergleich zu DR3 jedoch stärker. Das relative Risiko beträgt 3,98 ($p_{\text{korr.}} = 0,016$). Dieses Ergebnis ist überraschend, da es in der Literatur nicht beschrieben ist.

Eine Assoziation zwischen HLA-A1 und Mb. Basedow hingegen, wie sie mehrfach nachgewiesen wurde (5, 6, 14, 19, 86), kann anhand der eigenen Untersuchungen für Patienten mit Mb. Basedow nicht bestätigt werden (Tabelle A1).

Ebenfalls unerwartet fielen die Ergebnisse für das Merkmal A10 aus. Nur 3,7% der Patienten mit Mb. Basedow tragen dieses Merkmal (vs. 25,0% in der Kontrollgruppe).

Somit war die Krankheitsassoziation für dieses Merkmal signifikant erniedrigt ($p_{\text{kor.}}=0,016$), das relative Risiko beträgt 0,12.

Assoziationen zu DQA1-Allelen wurden bisher relativ wenig untersucht (Tabelle 4). Die Stärke der Assoziation ist in den vorliegenden Ergebnissen (Tabelle 15, Tabelle A18) deutlich höher als vorbeschrieben. Außerdem ist aus den vorliegenden Ergebnissen erkennbar, daß dem Allel HLA-DQA1*0501 (en bloc als DQA1*0401-*0601 bestimmt, siehe 3.3.2.4) mit einem relativen Risiko von 6,0 eine deutlich stärkere Assoziation zukommt als den mit Mb. Basedow assoziierten HLA-Merkmalen B8, DR3 und Cw7.

Patienten mit Mb. Basedow (Patientengruppe MB_{ges.}) tragen zu 89,7% Allele, die für Arginin 52 kodieren (Allele DQA1*0301-*0601) (vs. 58,3% in der Kontrollgruppe). Es ergibt sich eine signifikante Erhöhung dieses Merkmals ($p_{\text{kor.}}=0,012$, RR 6,19), welche deutlicher ist als bisher in der Literatur beschrieben (11).

Das Allel DQA1*0301 ist bei den Patienten mit Mb. Basedow ebenfalls signifikant erhöht (RR = 3,13). Diese Beobachtung konnte in den bisher veröffentlichten Untersuchungen verschiedener Arbeitsgruppen nicht gemacht werden.

Zusammenfassend läßt sich anhand der vorliegenden Untersuchungen feststellen, daß eine positive Assoziation zwischen den HLA-Merkmalen B8, Cw7, DR3 sowie der Allele DQA1*0301, DQA1*0501 und DQA1*0301-*0601 (Arginin-52-positiv kodierende Allele) und der Erkrankung Mb. Basedow besteht. Die stärkste Assoziation weist das Merkmal ‚Arginin-52-positiv kodierendes DQA1-Allel‘ auf. Eine negative Assoziation besteht zwischen HLA-A10 und Mb. Basedow.

Das Kopplungsungleichgewicht in der HLA-Region kompliziert die Analyse von HLA-Krankheitsassoziationen. In der europäischen Bevölkerung ist z.B. der Haplotyp A1, Cw7, B8, BFs, C4AQ0, C4B1, DR3, DR52, DQ2 besonders häufig nachweisbar und wird bei einer Reihe von Erkrankungen gehäuft gefunden (2). Für diese en bloc vererbten Gene

wird der Begriff des „extended haplotype“ (erweiterter Haplotyp) verwendet. Es wurden in Familien mit Mb. Basedow HLA-Haplotyp-Untersuchungen durchgeführt (67, 99, 103), die eine stärkere Assoziation zu einer Kombination von HLA-Merkmalen des o.g. Haplotyps nachwies (B8, DR3). Haplotyp-Untersuchungen sind anhand der vorliegenden nichtfamiliären Fälle nicht möglich. Der o.g. Haplotyp könnte aber eine Erklärung dafür sein, daß eine signifikante Häufung der Merkmale Cw7, B8 und DR3 im beschriebenen Patientengut nachzuweisen ist. Die Verminderung des Merkmals A10 kann einerseits eine „relative“ Verminderung durch Häufung der anderen genannten Merkmale (Cw7, B8, DR3) sein. Andererseits muß bedacht werden, daß A10 eine Rolle in der Pathogenese des Mb. Basedow spielen könnte (s.u.).

5.5 HLA-Assoziation und Mb. Basedow als kombinierte organspezifische Autoimmunerkrankung

Es ist das Ziel, durch die Einteilung der Patienten in die Gruppen MB/SOSA und MB/KOSA mögliche Unterschiede in der HLA-Assoziation zu finden, die für die Entwicklung einer weiteren OSA prädisponieren und als diagnostische Marker eingesetzt werden könnten. Betrachtet man die Patienten, die nur an einem Mb. Basedow erkrankt sind (Patientengruppe MB/SOSA) im Vergleich mit den Patienten, die eine weitere OSA aufweisen (Patientengruppe MB/KOSA), so zeigt sich eine signifikante Häufung des Merkmals HLA-B8 in beiden Gruppen (Tabelle 10). Die Assoziation ist in der Gruppe MB/KOSA stärker (RR = 5,31) als in der Gruppe MB/SOSA (RR = 4,1), jedoch ist dieser Unterschied aufgrund der geringen Größe der Gruppe MB/KOSA (n = 39) kritisch zu bewerten.

Signifikant seltener ist in der Gruppe MB/KOSA das Merkmal A10 nachzuweisen (bei keinem Patienten vs. 25% in der Kontrollgruppe). Daß kein Patient mit KOSA dieses Merkmal trägt, könnte bedeuten, daß es sich bei der Verminderung des Merkmals nicht allein um eine „kompensatorische“ Verminderung handelt. Es ist aber anzumerken, daß die Anzahl der Patienten in der Gruppe MB/KOSA mit 39 Patienten nicht sehr groß ist. Aber auch die Patienten der Gruppe MB/SOSA weisen das Merkmal A10 seltener auf

als in der Kontrollgruppe. Unkorrigiert ist das Ergebnis hierfür signifikant, korrigiert jedoch nicht signifikant.

Patienten der Gruppe MB/KOSA haben signifikant häufiger das Allel DQA1*0301 (RR = 5,45). Im Gegensatz dazu sind Patienten der Gruppe MB/SOSA nach Bonferroni-Korrektur nicht signifikant häufiger positiv für dieses Allel (unkorrigiert aber signifikant im Vergleich mit der Kontrollgruppe). Das könnte die Vermutung nahelegen, daß das Allel DQA1*0301 für die Ausbildung einer oder mehrerer weiterer organspezifischer Autoimmunerkrankungen (KOSA) pathogenetisch von Bedeutung ist und daß dieses Merkmal als prädiktiver Marker für die Frage, ob sich eine weitere OSA entwickeln wird, eingesetzt werden könnte. Vergleicht man aber das Merkmal DQA1*0301 zwischen den beiden Gruppen MB/KOSA und MB/SOSA, so kann kein signifikanter Unterschied festgestellt werden.

Die Allele DQA1*0501 (*0401-*0601) sind in beiden Gruppen signifikant häufiger, wobei die Stärke der Assoziation in der Gruppe MB/KOSA etwas deutlicher ist (RR = 6,99 bei MB/KOSA vs. 5,48 bei MB/SOSA). Die Arginin-52-positiv kodierenden DQA1-Allele sind bei allen Patienten mit kombinierter OSA (Gruppe MB/KOSA) nachzuweisen. In der Gruppe MB/SOSA tragen auch signifikant mehr Patienten dieses Merkmal. Die Stärke der Assoziation ist zwar unterschiedlich (RR = 3,57 in der Gruppe MB/SOSA; in der Gruppe MB/KOSA RR nicht zu berechnen, da 100% Merkmalsträger). Zu berücksichtigen ist dabei aber, daß die Gruppe MB/KOSA mit 44 Patienten deutlich kleiner ist als die Gruppe MB/SOSA (n = 72).

Es kann also zusammenfassend festgestellt werden, daß zwar Unterschiede zwischen den Patientengruppen MB/SOSA und MB/KOSA hinsichtlich ihrer HLA-Assoziation bestehen. Diese sind jedoch nicht signifikant. Es läßt sich kein HLA-Merkmal darstellen, das die Patientengruppen MB/KOSA und MB/SOSA signifikant unterscheidet. Das Auftreten eines Mb. Basedow als kombinierte organspezifische Autoimmunerkrankung ist durch keines der untersuchten HLA-Merkmale gekennzeichnet.

5.6 HLA-Assoziation und Immunorbitopathie

Ziel der Unterscheidung zwischen Patienten mit und Patienten ohne Immunorbitopathie ist es, mögliche Unterschiede in der HLA-Assoziation aufzudecken und somit einen prädiktiven Marker zu erhalten, der die Neigung zur Entstehung einer IO anzeigen kann. Desweiteren könnten Hinweise für mögliche Unterschiede in der Pathogenese der IO gewonnen werden.

Die Patienten mit IO (MB/+IO) haben, ebenso wie die Patienten ohne IO (MB/-IO) signifikant häufiger das Merkmal HLA-B8 (40,3% bzw. 44,4% vs. 13,9% in der Kontrollgruppe). Im Unterschied zu den Patienten mit IO tragen die Patienten ohne IO signifikant häufiger die Merkmale Cw7 und DR3 sowie signifikant seltener das Merkmal A10 (Tabelle 10). Jedoch sind diese Merkmale unkorrigiert ebenfalls signifikant unterschiedlich im Vergleich mit der Kontrollgruppe (Tabellen 12, 13, 14). Erst nach Bonferroni-Korrektur war keine Signifikanz dieser Merkmale mehr nachweisbar, was den Unterschied zwischen den beiden Gruppen MB/-IO und MB/+IO als gering ansehen läßt.

Betrachtet man die DQA1-Allele, so sind keine Unterschiede in beiden Gruppen festzustellen. Beide weisen signifikant häufiger die Merkmale *0501 und Arginin-52-positiv kodierendes DQA1-Allel auf (Tabelle 15).

Alles in allem zeigt sich, daß die untersuchten HLA-Merkmale keinen signifikanten Unterschied zwischen Patienten mit und Patienten ohne IO aufweisen. Diese Beobachtungen decken sich mit den Ergebnissen anderer Arbeitsgruppen (Tabelle 16).

Andere Autoren hingegen beschrieben eine Assoziation zwischen HLA-Merkmal und IO (Tabelle 16). Auch bei japanischen Patienten wurde eine Assoziation zwischen HLA-Merkmal und IO ermittelt (DR14, DQ1, B35, B54 und DR4 werden als „protektiv“ hinsichtlich der Entstehung einer IO eingestuft) (84). Ein möglicher Grund für diese diskrepanten Ergebnisse könnte zum einen darin zu suchen sein, daß die hier

untersuchten Patienten mit subklinischer IO als „Patienten mit Mb. Basedow ohne IO“ gewertet wurden. Zum anderen könnte ein Grund darin liegen, daß die Patientengruppen doch nicht ausreichend groß waren. Weitere mögliche Einflüsse könnten die in 5.1 und 5.2 diskutierten Punkte haben.

Tabelle 16. HLA-Assoziation und Immunorbitopathie bei kaukasischen Patienten

Literatur	Anzahl der Patienten MB/+IO (Anzahl der Patienten MB/-IO) [Herkunftsland]	HLA-Allel	Relatives Risiko
Mayr et al. 1976	23 (31) [Österreich]	DR3	0% vs. 30,4%
Frecker et al. 1986	62 (55) [Ungarn]	B8 DR3 DR7 B8	12,4 7,7 16,7
Kendall-Taylor et al. 1988	67 (60) [England]	A-, B- und DR-Antigene	kein Unterschied
Badenhoop et al. 1993	96 (174) [Deutschland]	A-, B-, C-, DR-, DRw52/53, DQw-Antigene DQA1- und DQB1-Allele	kein Unterschied

5.7 Zur Rolle des HLA-Systems in der Pathogenese des Mb. Basedow und der Immunorbitopathie

Das HLA-System wurde auch den Mb. Basedow betreffend bereits umfangreich untersucht. Die bisherigen Ergebnisse zeigten teilweise diskrepante Ergebnisse. Einigkeit herrscht jedoch darüber, daß eine Assoziation der Allele HLA-B8, -DR3 und DQA1*0501 zu der Erkrankung besteht. Die eigenen Untersuchungsergebnisse wiesen außerdem eine negative Assoziation zum Allel HLA-A10 nach, d.h. dieses Merkmal ist bei Patienten mit Mb. Basedow signifikant erniedrigt. Die stärkste Assoziation wurde für das Merkmal Arginin-52-positiv kodierendes DQA1-Allel nachgewiesen (RR = 6,19, Tabelle 15).

Der Ätiologische Faktor (EF) beschreibt den Anteil eines Merkmals an der Pathogenese einer Erkrankung. Der EF beträgt für das Merkmal mit der stärksten Krankheitsassoziation, Arginin-52-positiv kodierendes DQA1-Allel, 0,75. Dieser Wert macht deutlich, daß weitere Faktoren an der Pathogenese beteiligt sein müssen und spricht für die bekannte Annahme eines polyätiologischen Geschehens (siehe 3.4.2). Der EF für das krankheitsassoziierte Merkmal DQA1*0501 ist niedriger (EF = 0,68)

und für die anderen krankheitsassoziierten HLA-Merkmale DQA1*0301, B8, DR3, Cw7 noch wesentlich niedriger (EF um 0,3). Die vorliegenden HLA-Krankheitsassoziationen bestätigen einerseits die Annahme, daß Gene des HLA-Systems Bestandteil des Pathomechanismus des Mb. Basedow bzw. eng mit diesen determinierenden Genen verknüpft sind. Sie unterstützen jedoch auch die Auffassung einiger Arbeitsgruppen (Tabelle 3), daß Gene außerhalb des MHC und weitere Faktoren eine zusätzliche, möglicherweise auch wesentlichere Rolle in der Ätiopathogenese spielen müssen.

Eine besondere Rolle kommt möglicherweise einem HLA-DQ-Heterodimer aus Arginin-52-positiv kodierenden Allelen und Aspartat-57-negativ kodierenden Allelen zu, da diesem Heterodimer bei der Pathogenese des Diabetes mellitus Typ 1 eine entscheidende Rolle zugeschrieben wird (60). Es soll aufgrund seiner Konformation eine Präsentation von (Auto-)Antigenen und die Initiierung immunologischer Mechanismen bedingen. Da in der vorliegenden Untersuchung die stärkste Assoziation der untersuchten HLA-Merkmale für die Arginin-52-positiv kodierenden Allele nachgewiesen wurde, könnte dieses Heterodimer auch in der Pathogenese des Mb. Basedow von Bedeutung sein.

So wie angenommen werden kann, daß bestimmte HLA-Merkmale mit der Empfänglichkeit für Erkrankungen assoziiert sind, ist es ebenfalls denkbar, daß andere HLA-Merkmale mit einem protektiven Effekt vergesellschaftet sind. Beispiel für die protektive Rolle eines HLA-Haplotyps ist beim Diabetes mellitus Typ 1 der DR2-Haplotyp (DRB1*1501, DRB5*0101, DQA1*0102, DQB1*0602). Die protektive Wirkung ist aber nicht vollständig (67). Auch beim Mb. Basedow wurden protektive HLA-Oberflächenantigene vermutet (Tabelle 4). Die Tatsache, daß kein Patient der Gruppe MB/KOSA und kein Patient der Gruppe MB/-IO das Merkmal A10 aufweist, könnte zu dem Schluß führen, daß diesem Merkmal ein protektiver Effekt zukommt bzw. daß dieses Merkmal an ein Gen mit protektiver Wirkung gekoppelt ist. Die Untersuchung größerer Patientengruppen zur Bestätigung dieser Beobachtung sollte angestrebt werden.

Den Krankheitsassoziationsstudien sind die heute ausreichend etablierten Kopplungsanalysen (Linkage-Analysen) überlegen (4). In Kopplungsanalysen wurden bei Patienten mit Mb. Basedow auch bereits die Gene des HLA-Systems untersucht. Hinweise für einen Gendefekt in den Genen des HLA-Systems konnten nicht gefunden werden (83, 93, 101). Daraus wurde die Schlußfolgerung gezogen, daß den HLA-Genen nur eine untergeordnete Rolle an der genetischen Suszeptibilität des Mb. Basedow zukommt und der verantwortliche Genort außerhalb des major histocompatibility complex (MHC) zu suchen sei (16, 46, 75). Diese Schlußfolgerung wird zum einen durch Studien am Tiermodell (H-2-Maus mit induzierter autoimmuner Thyreopathie) gestützt. Es zeigte sich, daß die Manifestation einer autoimmunen Thyreopathie wesentlich von Genen außerhalb des major histocompatibility complex (MHC) beeinflußt wird (62, 102, 125). Sie wird weiterhin durch die Beobachtung gestützt, daß HLA-identische Geschwister eines an Mb. Basedow Erkrankten nur ein Risiko von 7% haben, selbst zu erkranken (103).

Die Beteiligung eines HLA-Nachbargens wird in die Betrachtung ätiologischer Faktoren mit einbezogen. Es wäre möglich, daß nicht das HLA-Gen an sich, sondern ein in dessen Nachbarschaft gelegenes Gen an der Pathogenese beteiligt ist. Das scheinbar assoziierte HLA-Gen würde in diesem Fall wegen seines starken Kopplungsungleichgewichtes gegenüber dem eigentlichen Krankheitsgen gehäuft bei den Patienten gefunden (siehe 1.2). Dieser theoretischen Annahme wurde auch beim Mb. Basedow nachgegangen, ohne daß jedoch die Ursache der Erkrankung aufgedeckt werden konnte (Tabelle 3). Einige Autoren vermuten auch, daß die Ursache der Erkrankung ganz außerhalb des HLA-Systems zu suchen ist. Verschiedene Kandidatengene außerhalb des MHC wurden in Kopplungsanalysen untersucht, ohne daß jedoch auch hier eine Ursache des Mb. Basedow entdeckt werden konnte (Tabelle 3). Kürzlich konnten drei Genorte lokalisiert werden, für die eine Kopplung nachgewiesen wurde (Tabelle 5).

Der Genort GD-3 befindet sich auf einer ca. 6 cM großen Region zwischen den Markern D20S195 und D20S107. In dieser Region sind derzeit 17 Gene bekannt. Allein eines dieser Gene könnte für ein Protein kodieren, das in der Pathogenese des Mb. Basedow eine Rolle spielen könnte: der nukleäre Faktor IL-6 (NF-IL6). NF-IL6 ist ein Transkriptionsprotein, das im Zellkern lokalisiert ist und an ein IL-1 response-Element im IL-6-Gen sowie an regulatorische Regionen anderer entzündungsassoziiierter und Zytokin-Gene bindet. Es wird vermutet, daß NF-IL6 eine Rolle in der Regulation der Akute-Phase-Reaktionen und der Entzündung spielt (111). Eine Untersuchung von Patienten mit Mb. Basedow ohne familiäres Auftreten wurde bislang nicht veröffentlicht (bei Ref. 111 wurden Familien untersucht, in denen mehr als ein Angehöriger an Mb. Basedow erkrankt war). Es bleibt abzuwarten, ob hier ebenfalls ein Linkage-Nachweis gelingt.

Tabelle 17. Ergebnisse von Kopplungsanalysen bei Mb. Basedow (Kopplung nachgewiesen)

Literatur	Name des Genortes	Genort	Genprodukt	LOD-Score (maximal)
Tomer et al. 1997b	GD-1	14q31	unbekannt (ca. 20 cM entfernt vom TSH-Rezeptor-Gen)	2,5
Barbesino et al. 1998b	GD-2	Xq21.33	unbekannt	2,5
Tomer et al. 1998	GD-3	20q11.2	unbekannt (NF-IL6 ?)	3,5

LOD-Score = logarithm of odds; LOD-Score >3 bedeutet sehr hohe Wahrscheinlichkeit für Linkage, <2 Linkage unwahrscheinlich

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß anhand der bisherigen, in der Literatur beschriebenen, und anhand der eigenen Untersuchungen hinsichtlich einer HLA-Krankheitassoziation zum Mb. Basedow und der Immunorbitopathie die Rolle des HLA-Systems an der Ätiopathogenese evident ist. Jüngste Untersuchungen unterstützen jedoch den Verdacht, daß Gene außerhalb des HLA-Systems eine entscheidendere Rolle in der Ätiopathogenese des Mb. Basedow und der Immunorbitopathie spielen.

5.8 HLA-Merkmale als genetische Marker in der Diagnostik des Mb. Basedow und der Immunorbitopathie

Ein Test, der in der Diagnostik von Erkrankungen eingesetzt werden soll, muß eine hohe Validität aufweisen (siehe 3.4.3). In der Validität kommt das Maß der Übereinstimmung zwischen einem Test (z.B. bestimmtes HLA-Merkmal) und dem, was er zu messen vorgibt (z.B. Disposition zur Ausbildung eines Mb. Basedow) zum Ausdruck. Die Validität wird anhand der Berechnung von Sensitivität, Spezifität, positiver und negativer Korrektheit charakterisiert (siehe 3.4.3).

Die Diagnose Mb. Basedow wird vorrangig anhand klinischer Merkmale und Zusatzbefunde (Schilddrüsenultraschall, labordiagnostischer Nachweis der Hyperthyreose, Ausschluß anderer Ursachen einer Hyperthyreose) gestellt. Die Bestimmung der TSH-R-AK ist in den meisten Fällen nicht erforderlich, wird aber dennoch sehr häufig durchgeführt, um die Diagnose weiter zu sichern. In Zweifelsfällen ist die Bestimmung der TSH-R-AK jedoch zur Diagnosesicherung hilfreich. Dabei ist eine Bestimmung der TSH-Rezeptor-Antikörper im TSH-R-AK-Assay ausreichend. Bei einer Diskrepanz zwischen klinischem Bild, Funktionsparametern und Antikörpertitern kann eine Differenzierung der TSH-Rezeptor-Antikörper (TBI, TSAB, TSBAB) zu einer diagnostischen Klärung beitragen (39). Die TSH-R-AK (Methode der Bestimmung: Bioassay) weisen eine hohe Sensitivität auf, d.h. beim Mb. Basedow ist der Nachweis in >90% der Fälle möglich. Außerdem besitzen sie eine hohe Spezifität, d.h. sie sind bei gesunden Kontrollpersonen in bis zu 2%, bei funktioneller Autonomie in bis zu 5%, bei chronisch lymphozytärer Thyreoiditis in bis zu 7% nachweisbar (28, 76). Sensitivität, Spezifität, positive und negative Korrektheit betragen daher für TSH-R-AK >90% (bis 98%). Im Vergleich mit den vorliegenden Daten erreicht keines der untersuchten HLA-Merkmale bzw. HLA-Allele diese hohen Werte. Es kann daraus geschlußfolgert werden, daß die HLA-Merkmale als diagnostische Marker für die Diagnose eines Mb. Basedow (SOSA oder KOSA) bzw. einer Immunorbitopathie den TSH-R-AK unterlegen sind.

Interessant ist die Frage, ob sich HLA-Merkmale als Risikomarker eignen, d.h. ob sie hilfreich sein könnten in der Vorraussage, ob mit einer autoimmunen Zweiterkrankung zu rechnen ist oder ob mit der Ausbildung einer Immunorbitopathie gerechnet werden

muß. Betrachtet man die Unterschiede der untersuchten HLA-Merkmale zwischen den Gruppen MB/SOSA und MB/KOSA, so lassen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den HLA-Merkmalen feststellen. Es kann daher keines dieser untersuchten HLA-Merkmale als prädiktiver Marker für das mögliche Entstehen einer autoimmunen Zweiterkrankung dienen. Zwischen den Gruppen MB/-IO und MB/+IO bestanden keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der untersuchten HLA-Merkmale. Es ist daher nicht möglich, eines der untersuchten HLA-Merkmale als prädiktiven Marker einzusetzen und die mögliche Entstehung einer IO im Vorfeld zu bestimmen.

6 SCHLUBFOLGERUNGEN

Die hier untersuchten Patienten mit Mb. Basedow weisen eine positive Assoziation mit den HLA-Merkmalen B8, DR3, Cw7, DQA1*0301, DQA1*0501 und mit Arginin-52-positiv kodierenden Allelen (DQA1*0301-*0601) auf. Die in der Literatur beschriebenen Assoziationen mit den HLA-Oberflächenantigenen B8, DR3 und DQA1*0501 können somit bestätigt werden. Die Assoziation mit den Merkmalen Cw7, DQA1*0301 und mit den Arginin-52-positiv kodierenden DQA1-Allelen wurde bisher nicht beschrieben. Eine besondere Rolle kommt einem HLA-DQ-Heterodimer aus Arginin-52-positiv kodierenden Allelen und Aspartat-57-negativ kodierenden Allelen zu, da diesem Heterodimer bei der Pathogenese des Diabetes mellitus Typ 1 eine entscheidende Rolle zugeschrieben wird. Es soll aufgrund seiner Konformation eine Präsentation von (Auto-)Antigenen und die Initiierung immunologischer Mechanismen bedingen. Da in der vorliegenden Untersuchung die stärkste Assoziation der untersuchten HLA-Merkmale für die Arginin-52-positiv kodierenden Allele nachgewiesen wurde, könnte dieses Heterodimer auch in der Pathogenese des Mb. Basedow von Bedeutung sein.

Eine negative Assoziation wurde bei den Patienten mit Mb. Basedow für HLA-A10 festgestellt. Für dieses Merkmal könnte daher ein protektiver Effekt angenommen werden. Diese Beobachtung wurde in keiner der zahlreichen vergleichbaren Untersuchungen festgestellt. Es ist zu erwägen, ob es sich dabei nicht um eine

kompensatorische Erniedrigung dieses Merkmals handelt (bei Häufung anderer Merkmale). Untersuchungen an größeren Patienten- und Kontrollgruppen sind daher erforderlich.

Eine signifikante Unterscheidung hinsichtlich ihrer HLA-Assoziation zwischen Patienten mit Mb. Basedow ohne weitere OSA (SOSA) und Patienten mit Mb. Basedow im Rahmen einer kombinierten OSA (KOSA) gelang nicht. Daraus könnte zum einen die Schlußfolgerung gezogen werden, daß keine differenten pathogenetischen Mechanismen vorliegen. Zum anderen könnte aber auch die Rolle der HLA-Gene als untergeordnet betrachtet werden und Gene außerhalb des MHC als ursächlich vermutet werden.

Ein signifikanter Unterschied zwischen Patienten *mit* und Patienten *ohne* Immunorbitopathie konnte anhand der untersuchten HLA-Oberflächenantigene ebenfalls nicht festgestellt werden.

Die Werte von Sensitivität, Spezifität, positiver und negativer Korrektheit sowie die nicht signifikanten Unterschiede der HLA-Merkmale zwischen den Patientengruppen können den Einsatz der assoziierten HLA-Merkmale als diagnostische bzw. prädiktive Marker nicht rechtfertigen.

Die Ergebnisse bestätigen die Annahme, daß Gene des HLA-Systems Bestandteil des Pathomechanismus des Mb. Basedow bzw. der IO sind. Sie unterstützen jedoch auch die Auffassung einiger Arbeitsgruppen, daß Gene außerhalb des MHC eine zusätzliche oder auch möglicherweise wesentlichere Rolle in der Ätiopathogenese spielen müssen.

7 ZUSAMMENFASSUNG

Einführung: Mb. Basedow ist eine endokrine organspezifische Autoimmunerkrankung (OSA). Diese kann sich entweder solitär (SOSA) oder gemeinsam mit weiteren organspezifischen Autoimmunerkrankungen manifestieren (als polyglanduläre Autoimmunerkrankung bzw. kombinierte organspezifische Autoimmunerkrankung, KOSA). Sie ist außerdem in mindestens der Hälfte der Fälle mit einer Immunorbitopathie (IO) assoziiert. Eine genetische Prädisposition der organspezifischen Autoimmunerkrankungen wird angenommen. Einen Hinweis dafür bietet die Beobachtung, daß diese Erkrankungen mit bestimmten HLA-Oberflächenantigenen assoziiert sind. Beim Mb. Basedow und bei der IO liegen zwar zum Teil diskrepante Ergebnisse bezüglich einer HLA-Assoziation vor, Einigkeit herrscht aber darüber, daß die HLA-Merkmale B8, DR3 und DQA1*0501 mit Mb. Basedow assoziiert sind. Unterschiede in der Assoziation im Vergleich zwischen Mb. Basedow und IO sind einerseits beschrieben, andererseits widerlegt worden. Nicht untersucht wurden bisher die HLA-Assoziationen bei Patienten mit Mb. Basedow und weiterer OSA bzw. mögliche Unterschiede zwischen Patienten mit Mb. Basedow allein oder in Kombination mit weiterer OSA.

Fragestellung: Lassen sich die bisher beschriebenen HLA-Assoziationen zum Mb. Basedow bestätigen? Finden sich andere HLA-Assoziationen? Gibt es Unterschiede in der HLA-Assoziation zwischen Patienten mit Mb. Basedow allein und Mb. Basedow im Rahmen einer KOSA? Gibt es Unterschiede zwischen Patienten mit und Patienten ohne IO? Können aus den Ergebnissen neue Hinweise zur Pathogenese der Erkrankung Mb. Basedow und IO gewonnen werden? Sind HLA-Merkmale als diagnostische bzw. prädiktive Marker einsetzbar (z.B. Auftreten von weiteren Autoimmunerkrankungen, Auftreten einer IO)?

Methodik: Es wurden 116 Patienten mit Mb. Basedow untersucht. Es erfolgte die Einteilung der Patienten in folgende Gruppen: 72 Patienten mit MB/SOSA, 44 Patienten mit MB/KOSA bzw. 50 Patienten ohne IO und 66 Patienten mit IO. Die Kontrollgruppe bilden 72 gesunde Personen. Für Patienten und Kontrollpersonen erfolgte die Bestimmung der HLA-Oberflächenantigene der Klassen I und II durch das Institut für Blutspende und Transfusionswesen Erfurt mittels Lymphozytentoxizitätstest. Die Untersuchung der HLA-DQA1-Allele wurde eigens nach Isolierung und Amplifizierung der DNS mit Hilfe des HLA-DQA1 PCR Amplification and Typing Kits[®] der Firma Perkin Elmer nach dem „reverse-dot-blot“-Verfahren durchgeführt. Die Ergebnisse wurden statistisch unter Verwendung des χ^2 -Testes und Bonferroni-Korrektur ausgewertet. Errechnet wurden zur Einschätzung der Assoziationsstärke das relative

Risiko (RR), außerdem der ätiologische Faktor (EF), Sensitivität, Spezifität, positive und negative Korrektheit.

Ergebnisse: Die in der Literatur für Mb. Basedow beschriebenen Assoziationen zu den HLA-Oberflächenantigenen B8, DR3 und DQA1*0501 können anhand der vorliegenden Untersuchung bestätigt werden (B8: $p_{\text{kor.}} = 0,038$, RR = 4,5; DR3: $p_{\text{kor.}} = 0,02$, RR = 3,71; DQA1*0501: $p_{\text{kor.}} = 0,012$, RR = 6,0). Es zeigen sich außerdem Assoziationen zu den Merkmalen Cw7 ($p_{\text{kor.}} = 0,016$, RR = 3,98), DQA1*0301 ($p_{\text{kor.}} = 0,012$, RR = 3,13) und den Arginin-52-positiv kodierenden Allelen (DQA1*0301-*0601) ($p_{\text{kor.}} = 0,012$, RR = 6,19). A10 ist bei Patienten mit Mb. Basedow signifikant erniedrigt ($p_{\text{kor.}} = 0,016$, RR = 0,12, EF = -0,27). Patienten mit weiterer OSA (Gruppe MB/KOSA) unterscheiden sich von Patienten ohne weitere OSA (Gruppe MB/SOSA) in den Merkmalen A10 und DQA1*0301, die beide nur in der Gruppe MB/KOSA signifikant unterschiedlich waren im Vergleich zur Kontrollgruppe. Diese Merkmale sind jedoch in der Gruppe MB/SOSA unkorrigiert ebenfalls signifikant unterschiedlich, so daß die Unterschiede zwischen beiden Gruppen nicht signifikant sind. Patienten mit und Patienten ohne IO (Gruppen MB/+IO und MB/-IO) unterscheiden sich in ihren HLA-Merkmalen ebenfalls nicht signifikant.

Schlußfolgerung: Patienten mit Mb. Basedow weisen eine positive Assoziation zu den HLA-Merkmalen B8, DR3, Cw7, DQA1*0301, DQA1*0501 sowie den Arginin-52-positiv kodierenden Allelen (DQA1*0301-*0601) auf. Die stärkste Assoziation besteht zum Merkmal „Arginin-52-positiv kodierende Allele“ (RR = 6,19), die Bestandteil eines DQA-Heterodimers sind. Eine signifikante Unterscheidung zwischen Patienten mit SOSA und Patienten mit KOSA bzw. Patienten mit IO und ohne IO gelingt hinsichtlich ihrer HLA-Oberflächenantigene anhand der untersuchten Merkmale nicht. Eine negative Assoziation besteht zwischen Merkmal A10 und Mb. Basedow. Für dieses Merkmal könnte daher ein protektiver Effekt auf die Krankheitsentstehung angenommen werden. Untersuchungen an größeren Patienten- und Kontrollgruppen sind dazu jedoch erforderlich. Die Werte von Sensitivität, Spezifität, positiver und negativer Korrektheit können den Einsatz der assoziierten HLA-Oberflächenantigene als diagnostische bzw. prädiktive Marker nicht rechtfertigen. Die Ergebnisse bestätigen die bekannte Annahme, daß das HLA-System und insbesondere ein DQA-Heterodimer Bestandteil des Pathomechanismus des Mb. Basedow bzw. der IO sind. Sie unterstützen jedoch auch die Auffassung einiger Arbeitsgruppen, daß Gene außerhalb des MHC eine wesentlichere Rolle in der Ätiopathogenese spielen.

8 LITERATUR

- 1) Aichinger, G.; H. Fill; G. Wick: In situ immune complexes, lymphocyte subpopulations, and HLA-DR-positive epithelial cells in Hashimoto thyroiditis. *Laboratory Invest* 52:132-140 (1985)
- 2) Albert, E.: Immungenetik. In: Gemsa, D.; J.R. Kalden; K. Resch (Hrsg.): *Immunologie. Grundlagen – Klinik - Praxis*. 4. Aufl. Stuttgart, New York: Thieme, 1997, S. 87-120
- 3) Alberts, B.; D. Bray; J. Lewis; M. Raff; K. Roberts; J.D. Watson: *Molekularbiologie der Zelle*. 3. Aufl. Weinheim, New York, Basel, Cambridge, Tokyo: VCH, 1995
- 4) Allahabadia, A.: The different approaches to the genetic analysis of autoimmune thyroid disease. *J Endocrinol* 163:7-13 (1999)
- 5) Allannic, H.; R. Fauchet; Y. Lorcy; J. Heim; M. Gueguen; A.M. Le Guerrier; B. Genetet: HLA and Graves' disease: An association with HLA-DRw3. *J Clin Endocrinol Metab* 51:863-867 (1980)
- 6) Allannic, H.; R. Fauchet; Y. Lorcy; M. Gueguen; A.M. Le Guerrier; B. Genetet: A prospective study of the relationship between relapse of hyperthyroid Graves' disease after antithyroid drugs and HLA haplotype. *J Clin Endocrinol Metab* 57:719-722 (1983)
- 7) Badenhoop, K.: Immunogenic markers for autoimmune diseases of the endocrine system. *Klin Wochenschr* 68(Suppl):10-14 (1990)
- 8) Badenhoop, K.; S. Fischer; O. Frankenberger; A. Belfiore; M. Buscema: HLA class II gene expression in human thyroid cells. *Exp Clin Endocrinol* 100:17-21 (1992a)
- 9) Badenhoop, K.; G. Schwarz; H. Schleusener; A.P. Weetman; S. Recks; H. Peters; G.F. Bottazzo; K.H. Usadel: Tumor necrosis factor β gene polymorphisms in Graves' disease. *J Clin Endocrinol Metab* 74:287-291 (1992b)
- 10) Badenhoop, K.; H. Schleusener; K.H. Usadel: Immunogenetics of endocrine ophthalmopathy and Graves' disease. In: Kahaly, G. (Hrsg.): *Endocrine Ophthalmopathy. Molecular, immunological and clinical aspects*. *Dev Ophthalmol* 25:11-19 (1993)
- 11) Badenhoop, K.; P.G. Walfish; H. Rau; S. Fischer; A. Nicolay; U. Bogner; H. Schleusener; K.H. Usadel: Susceptibility and resistance alleles of human leukocyte Antigen (HLA) DQA1 and HLA DQB1 are shared in endocrine autoimmune disease. *J Clin Endocrinol Metab* 80:2112-2117 (1995)
- 12) Badenhoop, K.; H. Donner; J. Braun; T. Siegmund; H. Rau; K.H. Usadel: Genetic markers in diagnosis and prediction of relapse in Graves' disease. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 104 (Suppl 4):98-100 (1996)

- 13) Bahn, R.S.; A.E. Heufelder: Mechanisms of disease: Pathogenesis of Graves' ophthalmopathy. *N Engl J Med* 329:1468-1475 (1993)
- 14) Balazs, C.S.; V. Stenszky; L. Kozma; A. Leovey: The possible influence of HLA-A1, B8 antigens on the course of Graves' disease. *Biomed* 29:263-264 (1978)
- 15) Barbesino, G.; Y. Tomer; E.S. Concepcion; T.F. Davies; D.A. Greenberg; and the International Consortium for the Genetics of Autoimmune Thyroid Disease: Linkage analysis of candidate genes in autoimmune thyroid disease. I. Selected immunoregulatory genes. *J Clin Endocrinol Metab* 83:1580-1584 (1998a)
- 16) Barbesino, G.; Y. Tomer; E.S. Concepcion; T.F. Davies; D.A. Greenberg; and the International Consortium for the Genetics of Autoimmune Thyroid Disease: Linkage analysis of candidate genes in autoimmune thyroid disease. II. Selected gender-related genes and the X-chromosome. *J Clin Endocrinol Metab* 83:3290-3295 (1998b)
- 17) Barlow, A.B.T.; N. Wheatcroft; P. Watson; A.P. Weetman: Association of HLA-DQA1*0501 with Graves' disease in English Caucasian men and women. *Clin Endocrinol (Oxf)* 44:73-77 (1996)
- 18) Baur, M.P.; M. Neugebauer; E.D. Albert: Reference tables of three-locus haplotype frequencies and delta values in Caucasians, Orientals and Negroids. In: Albert, E.D.; M.P. Baur; W.R. Mayr (Hrsg.): *Histocompatibility Testing*. Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo: Springer, 1984, S. 756-760
- 19) Bech, K.; B. Lumholtz; J. Nerup; M. Thomsen; P. Platz; L.P. Ryder; A. Svejgaard; K. Siersbøck-Nielsen; J.M. Hansen; J.H. Larsen: HLA antigens in Graves' disease. *Acta Endocrinol (Copenh)* 86:510-516 (1977)
- 20) Belfiore, A.; T. Mauerhoff; R. Pujol Borrell: De novo HLA class II and enhanced HLA class I molecule expression in SV40 transfected human thyroid epithelial cells. *J Autoimmunity* 4:397-414 (1991)
- 21) Blakemore, A.I.; P.F. Watson; A.P. Weetman; G.W. Duff: Association of Graves' disease with an allele of the interleukin-1 receptor antagonist gene. *J Clin Endocrinol Metab* 80:111-115 (1995)
- 22) Bodmer, J.G.; S.G. Marsh; E.D. Albert; P.I. Terasaki: Nomenclature for factors of the HLA system 1994. *Tissue Antigens* 44:1-18 (1994)
- 23) Brix, T.H.; K. Christensen; N.V. Holm; B. Harvald; L. Hegedus: A population-based study of Graves' disease in Danish twins. *Clin Endocrinol (Oxf)* 48:397-400 (1998)
- 24) Brostoff, J. (Hrsg.): *Klinische Immunologie*. VCH Weinheim, Basel, Cambridge, New York, 1993.
- 25) Burek, C.L.; W.H. Hoffman; N.R. Rose: The presence of thyroid autoantibodies in children and adolescents with autoimmune thyroid disease and in their siblings and parents. *Clin Immunol Immunopathol* 25:395-404 (1982)

- 26) Chen, Q.Y.; W. Huang; J.X. She; F. Baxter; R. Volpe; N.K. Maclaren: HLA-DRB1*08, DRB1*03/DRB3*0101, and DRB3*0202 are susceptibility genes for Graves' disease in North American Caucasians, whereas DRB1*07 is protective. *J Clin Endocrinol Metab* 84:3183-3186 (1999)
- 27) Ciampolillo, A.; V. Marini; R. Mirakian; M. Buscema; T. Schulz; R. Pujol-Borrell; G.F. Bottazzo: Retrovirus-like sequences in Graves' disease: implications for human autoimmunity. *Lancet* 20:1096-1100 (1989)
- 28) Costagliola, S.; N.G. Morgenthaler; R. Hoermann; K. Badenhoop; J. Struck; D. Freitag; S. Poertl; W. Weglohner; J.M. Hollidt; B. Quadbeck; J.E. Dumont; P.M. Schumm-Draeger; A. Bergmann; K. Mann; G. Vassart; K.H. Usadel: Second generation assay for thyrotropin receptor antibodies has superior diagnostic sensitivity for Graves' disease. *J Clin Endocrinol Metab* 84:90-7 (1999)
- 29) Cuddihy, R.M.; C.M. Dutton; R.S. Bahn: A polymorphism in the extracellular domain of the thyrotropin receptor is highly associated with autoimmune thyroid disease in females. *Thyroid* 5:89-95 (1995)
- 30) Cuddihy, R.M.; R.S. Bahn: Lack of an association between alleles of interleukin-1 α and interleukin-1 receptor antagonist genes and Graves' disease in a North American Caucasian population. *J Clin Endocrinol Metab* 81:4476-4478 (1996a)
- 31) Cuddihy, R.M.; D.S. Schaid; R.S. Bahn: Multivariate analysis of HLA loci in conjunction with a thyrotropin receptor codon 52 polymorphism in conferring risk of Graves' disease. *Thyroid* 6:261-265 (1996b)
- 32) Cuddihy, R.M.; R.S. Bahn: Lack of an independent association between the human leukocyte antigen allele DQA1*0501 and Graves' disease. *J Clin Endocrinol Metab* 81:847-849 (1996c)
- 33) Dahlberg, P.A.; G. Holmlund; F.A. Karlsson; J. Säfwenberg: HLA-A, -B, -C and -DR antigens in patients with Graves' disease and their correlation with signs and clinical course. *Acta Endocrinol (Copenh)* 97:42-47 (1981)
- 34) Davies, T.F.: Cocultures of human thyroid monolayer cells and autologous T cells: impact of HLA class II antigen expression. *J Clin Endocrinol Metab* 61:418-422 (1985)
- 35) Davies, T.F.: The complex role of epithelial cell MHC class II antigen expression in autoimmune endocrine disease. *Autoimmunity* 47:87-89 (1990)
- 36) Demaine, A.G.; K.I. Welsh; B.S. Hawe; N.R. Farid: Polymorphism of the T cell receptor β -chain in Graves' disease. *J Clin Endocrinol Metab* 65:643-646 (1987)
- 37) Demaine, A.G.; S. Ratanachaiyavong; R. Pope; D. Ewins; B.A. Millward; A.M. McGregor: Thyroglobulin antibodies in Graves' disease are associated with T-cell receptor beta chain and major histocompatibility complex loci. *Clin Exper Immunol* 77:21-24 (1989)

- 38) De Roux, N.; D.C. Shields; M. Misrahi; S. Ratanachaiyavong; A.M. McGregor; E. Milgrom: Analysis of the thyrotropin receptor as a candidate gene in familial Graves' disease. *J Clin Endocrinol Metab* 81:3483-3486 (1996)
- 39) Derwahl, M.; H. Schatz; B. Bolle; A. Pohl; K. Meyer: Measurement of stimulating TSH receptor antibodies in sera of patients with Graves' disease by a recombinant TSH receptor bioassay. *Exp Clin Endocrinol* 100:75-79 (1992)
- 40) Donner, H.; H. Rau; P.G. Walfish; J. Braun; T. Siegmund; R. Finke; J. Herwig; K.H. Usadel; K. Badenhoop: CTLA4 alanine-17 confers genetic susceptibility to Graves' disease and to type 1 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 82:143-146 (1997)
- 41) Eguchi, K.; T. Otsubo; K. Kawabe: The remarkable proliferation of helper T cell subset in response to autologous thyrocytes and intrathyroidal T cells from patients with Graves' disease. *Isr J Med Sci* 70:403-410 (1987)
- 42) Farid, N.R.; J.M. Barnard; W.H. Marshall: The association of HLA with autoimmune thyroid disease in Newfoundland. The influence of HLA homozygosity in Graves' disease. *Tissue Antigens* 8:181-189 (1976)
- 43) Farid, N.R.; E. Stone; G. Johnson: Graves' disease and HLA: clinical and epidemiological associations. *Clin Endocrinol (Oxf)* 13:535-544 (1980)
- 44) Frecker, M.; V. Stenszky; C. Balazs; L. Kozma; E. Kraszits; N.R. Farid: Genetic factors in Graves' ophthalmopathy. *Clin Endocrinol (Oxf)* 25:479-485 (1986)
- 45) Frecker, M.; G. Mercer; V.M. Skanes; N.R. Farid: Major histocompatibility complex factors predisposing to and protecting against Graves' disease eye disease. *Autoimmunity* 1:307-315 (1988)
- 46) Greenberg, D.A.: Linkage analysis of „necessary“ disease loci versus „susceptibility“ loci. *Am J Hum Genet* 52:135-143 (1993)
- 47) Grumet, F.C.; R.O. Payne; J. Konishi; J.P. Kriss: HLA-antigens as markers for disease susceptibility and autoimmunity in Graves' disease. *J Clin Endocrinol Metab* 39:1115-1119 (1974)
- 48) Hanafusa, T.; R. Pujol-Borrell; L. Chiovato; R.C.G. Russell; D. Doniach; G.F. Bottazzo: Aberrant expression of HLA-DR antigen on thyrocytes in Graves' disease: relevance for autoimmunity. *Lancet* 2:1111-1115 (1983)
- 49) Hawkins, B.R.; R.L. Dawkins; H.G. Burger; I.R. Mackay; P.S. Cheah; S. Whittingham; Y. Patel; T.A. Welborn: Diagnostic significance of thyroid microsomal antibodies in randomly selected population. *Lancet* 8203:1057-1059 (1980)
- 50) Helfand, M.; L.M. Crapo: Screening for thyroid disease. *Ann Intern Med* 112:840-849 (1990)
- 51) Hirose, W.; N. Lahat; M. Platzer; S. Schmitt; T.F. Davies: Activation of MHC-restricted rat cells by cloned syngeneic thyrocytes. *J Immunol* 141:1098-1102 (1988)

- 52) Irvine, W.J.; R.S. Gray; P.J. Morris; A. Ting: Correlation of HLA and thyroid antibodies with clinical course of thyrotoxicosis treated with antithyroid drugs. *Lancet* *II*:898 (1977)
- 53) Janeway, C.A.; P. Travers: *Immunologie*. Heidelberg, Berlin, Oxford: Spektrum Akademischer Verlag, 1995
- 54) Jankovic, S.M.; V.R. Radosavljevic; J.M. Marinkovic: Risk factors for Graves' disease. *Eur J Epidemiol* *13*:19-23 (1997)
- 55) Jansson, R.; A. Karlsson; U. Forsum: Intrathyroidal HLA-DR expression and T lymphocyte phenotypes in Graves' thyrotoxicosis, Hashimoto's thyroiditis and nodular colloid goitre. *Clin Exp Immunol* *58*:264-272 (1984)
- 56) Jaspan, J.B.; K. Sullivan; R.F. Garry; M. Lopez; M. Wolfe; S. Clejan; C. Yan; S. Tenenbaum; D.M. Sander; B. Ahmed; M. Bryer-Ash: The interaction of a type A retroviral particle and class II human leukocyte antigen susceptibility genes in the pathogenesis of Graves' disease. *J Clin Endocrinol Metab* *81*:2271-2279 (1996)
- 57) Kahlenberg, D. Untersuchung von HLA-Merkmalen bei Patienten mit Mb. Basedow mit und ohne organspezifische Zweiterkrankungen unter besonderer Berücksichtigung des DQ α -/DQ β - Heterodimers. Medizinische Dissertation, Jena, 1998.
- 58) Kawakami, Y.; N. Kuzuya; T. Watanabe; Y. Uchiyama; K. Yamashita: Induction of experimental thyroiditis in mice by recombinant interferon γ administration. *Acta Endocrinol (Copenh)* *122*:41-48 (1990)
- 59) Kendall-Taylor, P.; A. Stephenson; A. Stratton; S.S. Papiha; P. Perros; D.F. Roberts: Differentiation of autoimmune ophthalmopathy from Graves' hyperthyroidism by analysis of genetic markers. *Clin Endocrinol (Oxf)* *28*:601-610 (1988)
- 60) Khalil, I.; L. d'Auriol; M. Gobet; L. Morin; V. Lepage; I. Deschamps; M.S. Park; L. Degos; F. Galibert; J. Hors: A combination of HLA-DQ β Asp57-negative and HLA-DQ α Arg52-positive confers susceptibility to insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest* *85*:1315-1319 (1990)
- 61) Kimura, H.; T.F. Davies: Thyroid-specific T cells in the normal Wistar rat. II. T cell clones interact with cloned Wistar rat thyroid cells and provide direct evidence for autoantigen presentation by thyroid epithelial cells. *Clin Immunol Immunopathol* *58*:195-206 (1991)
- 62) Kita, M.; L. Ahmad; R. Marians; P.N. Graves; T.F. Davies: Thyrotoxic death in mice with Graves' disease. 70th Annual Meeting of the ATA (1997)
- 63) Klein, J.; A. Sato: The HLA system. First of two parts. *N Engl J Med* *343*:702-9 (2000a)
- 64) Klein, J.; A. Sato: The HLA system. Second of two parts. *N Engl J Med* *343*:702-9 (2000b)

- 65) Kotsa, K.; P.F. Watson; A.P. Weetman: A CTLA-4 gene polymorphism is associated with both Graves' disease and autoimmune hypothyroidism. *Clin Endocrinol* 46:551-554 (1997)
- 66) Kraemer, M.H.; E.A. Donadi; M.A. Tambascia; L.A. Magna; L.S. Prigenzi: Relationship between HLA antigens and infectious agents in contributing towards the development of Graves' disease. *Immunol Invest* 27:17-29 (1998)
- 67) Lavard, L.; H.O. Madson; H. Perrild; B.B. Jacobsen; A. Svejgaard: HLA class II associations in juvenile Graves' disease: indication of a strong protective role of the DRB1*0701, DQA1*0201 haplotype. *Tissue Antigens* 50:639-641(1997)
- 68) Lepage, V.; L.U. Lamm; D. Charron: Molecular aspects of HLA class II and some autoimmune diseases. *Eur J Immunogen* 20:153-164 (1993)
- 69) Mack, W.P.; G.O. Stasior; H.J. Cao; O.G. Stasior; T.J. Smith: The effect of cigarette smoke constituents on the expression of HLA-DR in orbital fibroblasts derived from patients with Graves' ophthalmopathy. *Ophthalmol Plast Reconstr Surg* 15:260-271 (1999)
- 70) Mangklabruks, A.; N. Cox; L.J. DeGroot: Genetic factors in autoimmune thyroid disease analyzed by restriction fragment length polymorphisms of candidate genes. *J Clin Endocrinol Metab* 73:236-244 (1991)
- 71) Mayr, W.R.; H. Ludwig; G. Schernthaner; R. Höfer: HLA Cw3 in thyrotoxicosis patients with and without endocrine ophthalmopathy. *Tissue Antigens* 7:243-246 (1976)
- 72) McGregor, A.M.; B. Rees-Smith; R. Hall; M.N. Petersen; M. Miller; P.J. Dewar: Prediction of relapse in hyperthyroid Graves' disease. *Lancet II*:1101 (1980)
- 73) McGregor, A.M.; A.P. Weetman; S. Ratanachaiyavong; G.M. Owen; H.K. Ibbertson; R. Hall: Iodine: an influence on the development of autoimmune thyroid disease? In: Hall, R.; J. Köbberling (Hrsg.): *Thyroid disorders associated with iodine deficiency and excess*. New York: Raven Press, 1985, S. 209-216
- 74) McKenna, R.C.; M. Kearns; D. Sugrue; M.I. Drury; C.F. McCarthy: HLA and hyperthyroidism in Ireland. *Tissue Antigens* 19:97-99 (1982)
- 75) McLachlan, S.M.: The genetic basis of autoimmune thyroid disease: time to focus on chromosomal loci other than the major histocompatibility complex (HLA in man). *J Clin Endocrinol Metab* 77:605A-605C (1993)
- 76) Meng, W.: *Schilddrüsenerkrankungen*. 3. Aufl., Jena, Stuttgart: Gustav Fischer, 1992
- 77) Miller, S.A.; D.D. Dykes; H.F. Polesky: A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 16:1215 (1988)
- 78) Nakao, Y.; H. Matsumoto; T. Miyazaki; H. Nishitani; K. Takatsuki; R. Kasukawa; S. Nakayama; S. Izumi; T. Fujita; K. Tsuji: IgG heavy chain allotypes (Gm) in autoimmune disease. *Clin Exp Immunol* 42:20-26 (1980)

- 79) Natt, N.; S. Rebecca; R.S. Bahn: Cytokines in the evolution of Graves' ophthalmopathy. *Autoimmunity* 26:129-136 (1997)
- 80) Neufeld, D.S.; M. Platzer; T.F. Davies: Reovirus induction of MHC class II antigen in rat thyroid cells. *Endocrinol* 124:543-545 (1989)
- 81) Neufeld, M.; N.K. MacLaren; R.M. Blizzard: Autoimmune polyglandular syndromes. *Ped Annals* 9:154-162 (1980)
- 82) Nistico, L.; R. Buzzetti; L.E. Pritchard; B. Van der Auwera; C. Giovannini; E. Bosi; M.T. Larrad and the Belgian Diabetes Registry: The CTLA-4 gene region of chromosome 2q33 is linked to, and associated with, type 1 diabetes. *Hum Mol Genet* 5:1075-1080 (1996)
- 83) O'Connor, G.; D.S. Neufeld; D.A. Greenberg; L. Concepcion; S.H. Roman; T.F. Davies: Lack of disease associated HLA-DQ restriction fragment length polymorphisms in families with autoimmune thyroid disease. *Autoimmunity* 14:237-241 (1993)
- 84) Ohtsuka, K. und Y. Nakamura: Human leukocyte antigens associated with hyperthyroid Graves' ophthalmopathy in Japanese patients. *Am J Ophthalmol* 126:805-810 (1998)
- 85) Parham, P.; D.A. Lawlor; R.D. Salter: HLA-A,B,C: Patterns of polymorphism in peptide-binding proteins. In: Dupont, B. (Hrsg.): *Immunobiology of HLA*, vol. II. Berlin: Springer, 1989, S. 10-33
- 86) Payami, H.; S. Joe; G. Thomson: Autoimmune thyroid disease in type 1 diabetes. *Genet Epidemiol* 6:137-141 (1989)
- 87) Phillips, D.I.; L. Prentice; S.M. McLachlan; M. Upadhyaya; P.W. Lunt; B.R. Smith: Autosomal dominant inheritance of the tendency to develop thyroid autoantibodies. *Exp Clin Endocrinol* 97:170-172 (1991)
- 88) Pickerill, A.P.; P.F. Watson; N. Tandon; A.P. Weetman: T cell receptor β chain gene polymorphisms in Graves' disease. *Acta Endocrinol* 128:499-502 (1993)
- 89) Pirro, M.T.; V. de Filippis; A. di Cerbo; A. Scillitani; A. Liuzzi; V. Tassi: Thyroperoxidase microsattelite polymorphism in thyroid disease. *Thyroid* 5:461-464 (1995)
- 90) Prummel, M.F.; W.M. Wiersinga: Smoking and risk of Graves' disease. *J Am Med Assoc* 269:479-482 (1993)
- 91) Rau, H.; A. Nicolay; K.H. Usadel; R. Finke; H. Donner; P.G. Walfish; K. Badenhoop: Polymorphisms of TAP1 and TAP2 genes in Graves' disease. *Tissue Antigens* 49:16-22 (1997)
- 92) Roman, S.H.; N.K. Goldsmith; I.Z. Leiderman; T.F. Davies: Induction of microsomal antigen and comparison with histologic localization of HLA-DR in Graves' thyroid tissue. *Autoimmunity* 2:253-263 (1989)

- 93) Roman, S.H.; D.A. Greenberg; P. Rubinstein; S. Wallenstein; T.F. Davies: Genetics of autoimmune thyroid disease: lack of evidence for linkage to HLA within families. *J Clin Endocrinol Metab* 74:496-503 (1992)
- 94) Salvi, M.; Z.G. Zhang; D. Haegert: Patients with endocrine ophthalmopathy not associated with overt thyroid disease have multiple thyroid immunological abnormalities. *J Clin Endocrinol Metab* 70:89-94 (1990)
- 95) Schernthaner, G.; H. Ludwig; W.R. Mayr; R. Hofer: Genetic heterogeneity in thyrotoxicosis patients with and without endocrine ophthalmopathy. *Diab Metab* 3:189 (1977)
- 96) Schernthaner, G.; H. Schleusener; P. Kotulla; R. Finke; B. Wenzel; W.R. Mayr: Prediction of relapse or long term remission in hyperthyroid Graves' disease. *Lancet II*:373 (1981)
- 97) Schleusener, H.; G. Schernthaner; W.R. Mayr; P. Kotulla; U. Bogner; R. Finke; H. Meinhold; K. Koppenhagen; K.W. Wenzel: HLA-DR3 and HLA-DR5 associated thyrotoxicosis – two different types of toxic diffuse goiter. *J Clin Endocrinol Metab* 56:781-785 (1983)
- 98) Schleusener, H.; J. Schwander; C. Fischer; R. Holle; G. Holl; K. Badenhop; J. Hensen; R. Finke; U. Bogner; W.R. Mayr; G. Schernthaner; H. Schatz; C.R. Pickardt; P. Kotulla: Prospective multicentre study on the prediction of relapse after antithyroid drug treatment in patients with Graves' disease. *Acta Endocrinol (Copenh)* 120:689-701 (1989)
- 99) Semana, G.; H. Allanic; F. Quillivic; M.T. Vallejo; J.P. Simon; B. Genetet; R. Fauchet: Implications of the HLA-DRB3 gene in Graves' disease: Predominance of allele Dw24. *Hum Immunol* 29:143-149 (1990)
- 100) Shi, Y.; M. Zou; D. Robb; N.R. Farid: Typing for MHC class II antigens in thyroid tissue blocks. Association of Hashimoto's thyroiditis with HLA-DQA*0301 and DQB*0201 alleles. *J Clin Endocrinol Metab* 75:943-946 (1992)
- 101) Shields, D.C.; S. Ratanachaiyavong; A.M. McGregor; A. Collins; N.E. Morton: Combined segregation and linkage analysis of Graves' disease with a thyroid autoantibody diathesis. *Am J Hum Genet* 55:540-554 (1994)
- 102) Shimojo, N.; Y. Kohno; K.I. Yamaguchi; S.I. Kikuoka; A. Hoshioka; H. Niimi; A. Hirai; Y. Tamura; Y. Saito; L.D. Kohn; K. Tahara: Induction of Graves-like disease in mice by immunization with fibroblasts transfected with the thyrotropin receptor and a class II molecule. *Proc Natl Acad Sci USA* 93:11074-11079 (1996)
- 103) Stenszky, V.; L. Kozma; C. Balazs; S. Rochlitz; J.C. Bear; N.R. Farid: The genetics of Graves' disease: HLA and disease susceptibility. *J Clin Endocrinol Metab* 61:735-740 (1985)

- 104) Swain, S.L.; L.M. Bradley; M. Croft; S. Tonkonogy; G. Atkins; A.D. Weinberg; D.D. Duncan; S.M. Hedrick; R.W. Dutton; G. Huston: Helper T-cell subsets: phenotype, function and the role of lymphokines in regulating their development. *Immunol Rev* 123:115-144 (1991)
- 105) Tamai, H.; T. Sudo; A. Kimura; T. Mukuta; S. Matsubayashi; K. Kuma; S. Nagataki; T. Sasazuki: Association between the DRB1*08032 histocompatibility antigen and Methimazole-induced agranulocytosis in Japanese patiente with Graves' disease. *Ann Int Med* 124:490-494 (1996)
- 106) Thomas, L.: Labor und Diagnose. Marburg: Medizinische Verlagsgesellschaft, 4. Aufl., 1995, S. 1106-1132
- 107) Tomer, Y. und T.F. Davies: Infection, thyroid disease, and autoimmunity. *Endocr Rev* 14:107-120 (1993)
- 108) Tomer, Y.; G. Barbesino; D. Greenberg; T.F. Davies: The immunogenetics of autoimmune diabetes and autoimmune thyroid disease. *Trends Endocrinol Metab* 8:63-70 (1997a)
- 109) Tomer, Y.; G. Barbesino; M. Keddache; D.A. Greenberg; T.F. Davies. Mapping of a major susceptibility locus for Graves' disease (GD-1) to chromosome 14q31. *J Clin Endocrinol Metab* 82:1645-1648 (1997b)
- 110) Tomer, Y.; T.F. Davies. The genetic susceptibility to Graves' disease. *Baill Clin Endocrinol Metab* 11:431-450 (1997c)
- 111) Tomer, Y.; G. Barbesino; D.A. Greenberg; E. Concepcion; T.F. Davies; and the International Consortium for the Genetics of Autoimmune Thyroid Disease: A new Graves' disease-susceptibility locus maps to chromosome 20q11.2. *Am J Hum Genet* 63:1749-1756 (1998)
- 112) Vaidya, B.; H. Imrie; P. Perros; J. Dickinson; M.I. McCarthy; P. Kendall-Taylor; S.H. Pearce: Cytotoxic T lymphocyte antigen-4 (CTLA-4) gene polymorphism confers susceptibility to thyroid associated orbitopathy. *Lancet* 354:743-4 (1999)
- 113) Vanderpump, M.P.; W.M. Tunbridge; J.M. French; D. Appleton; D. Bates; F. Clark; J. Grimley Evans; D.M. Hasan; H. Rodgers; F. Tunbridge; E.T. Young: The incidence of thyroid disorders in the community: a twenty-year follow-up of the Wickham survey. *Clin Endocrinol (Oxf)* 43:55-68 (1995)
- 114) Volpe, R.: Autoimmune thyroid disease. In: Volpe, R. (Hrsg.): Autoimmunity and endocrine disease. New York: Marcel Dekker, 1985, S. 109-285
- 115) Vyse, T.J. und J.A. Todd: Genetic analysis of autoimmune disease. Review. *Cell* 85:311-318 (1996)
- 116) Watson, P.F.; A. French; A.P. Pickerill; R.S. McIntosh; A.P. Weetman: Lack of association between a polymorphism in the coding region of the thyrotropin receptor gene and Graves' disease. *J Clin Endocrinol Metab* 80:1032-1035 (1995)

- 117) Weetman, A.P.: Regulation and role of thyroid cell class II antigen expression. *Immunol Res* 5:89-96 (1986)
- 118) Weetman, A.P.; A.K. So; C. Roe; M.J. Walport; L. Foroni: T-cell receptor α chain V region polymorphism linked to primary autoimmune hypothyroidism but not Graves' disease. *Hum Immunol* 20:167-173 (1987)
- 119) Weetman, A.P.; A.K. So; C.A. Warner: Immunogenetics of Graves' ophthalmopathy. *Clin Endocrinol* 28:619-628 (1988)
- 120) Weetman, A.P.; L. Zhang; S. Webb; B. Shine: Analysis of HLA-DQB and HLA-DPB alleles in Graves' disease by oligonucleotide probing of enzymatically amplified DNA. *Clin Endocrinol* 33:65-71 (1990)
- 121) Weetman, A.P.; A.M. McGregor: Autoimmune thyroid disease: Further developments in our understanding. *Endocr Rev* 15:788-830 (1994)
- 122) Werner, J.: *Biomathematik und medizinische Statistik*. 2. Aufl.; München, Wien, Baltimore: Urban und Schwarzenberg, 1992
- 123) Winsa, B.; H.O. Adami; R. Bergström; A. Gamstedt; P.A. Dahlberg; U. Adamson; R. Jansson; A. Karlsson: Stressful life events and Graves' disease. *Lancet* 338:1475-1479 (1991)
- 124) Woolf, B.: On estimating the relation between blood group and disease. *Ann Hum Genet* 19:251-253 (1955)
- 125) Yamaguchi, K.; N. Shimojo; S. Kikuoka; A. Hoshioka; A. Hirai; K. Tahara; L.D. Kohn; Y. Kohno; H. Niimi: Genetic control of anti-thyrotropin receptor antibody generation in H-2^K mice immunized with thyrotropin receptor-transfected fibroblasts. *J Clin Endocrinol Metab* 82:4266-4269 (1997)
- 126) Yanagawa, T.; A. Manglabruks; Y.B. Chang; Y. Okamoto; M.E. Fisfalen; P.G. Curran; L.J. DeGroot: Human histocompatibility leukocyte antigen-DQA1*0501 allele associated with genetic susceptibility to Graves' disease in a Caucasian population. *J Clin Endocrinol Metab* 76:1569-1574 (1993)
- 127) Yanagawa, T.; A. Manglabruks; L.J. DeGroot: Strong association between HLA-DQA1*0501 and Graves' disease in a male Caucasian population. *J Clin Endocrinol Metab* 79:227-229 (1994)
- 128) Yanagawa, T.; Y. Hidaka; V. Guimaraes; M. Soliman; L.J. DeGroot: CTLA-4 gene polymorphism associated with Graves' disease in a Caucasian population. *J Clin Endocrinol Metab* 80:41-45 (1995)

9 ANHANG

I. Tabellarische Gesamtdarstellung der Ergebnisse

Tabelle A1. HLA-A-Haplotyp in der Patientengruppe MB_{ges.} und in der Kontrollgruppe

HLA-A	Kontrollgruppe (n = 72)		Patientengruppe MB _{ges.} (n = 107)									
	n (%)	hom.	n (%)	hom.	p	p _{korr.}	Sens.	Spez.	RR	EF	+K	-K
1	20 (27,8)	-	43 (40,2)	-	n.s.							
2	35 (48,6)	-	50 (46,7)	-	n.s.							
3	18 (25,0)	-	38 (35,5)	-	n.s.							
9	16 (22,2)	-	20 (18,7)	1	n.s.							
- n.d.	0	-	7	-								
- 23 (9)	0	-	4	-								
- 24 (9)	16 (22,2)	-	9	-								
10	18 (25)	-	4 (3,7)	-	0,001	0,016	18,2	34,4	0,12	-0,27	3,7	75,0
- n.d.	0	-	2	-								
- 25 (10)	8 (11,1)	-	2	-								
- 26 (10)	9 (12,5)	-	0	-								
- 66 (10)	1 (1,4)	-	0	-								
11	6 (8,3)	-	9 (8,4)	-	n.s.							
28	5 (6,9)	-	7 (6,5)	-	n.s.							
- n.d.	3 (4,2)	-	7	-								
- 68 (28)	1 (1,4)	-	0	-								
- 69 (28)	1 (1,4)	-	0	-								
19	14 (19,4)	1	22 (20,6)	2	n.s.							
- n.d.	0	-	3	-								
- 29 (19)	6 (8,3)	-	3	-								
- 30 (19)	2 (2,8)	-	5	-								
- 31 (19)	2 (2,8)	-	4	-								
- 32 (19)	2 (2,8)	-	6	-								
- 33 (19)	3 (4,2)	-	1	-								
X	11 (15,3)	-	20 (18,7)	-	n.s.							

n = Anzahl (absolut); hom. = homozygot; p_{korr.} = korrigierter p-Wert; Sens. = Sensitivität; Spez. = Spezifität; RR = relatives Risiko; EF = ätiologischer Faktor; +K = positive Korrektheit; -K = negative Korrektheit

Tabelle A2. HLA-A-Haplotyp in den Gruppen MB/SOSA, MB/KOSA und Kontrollgruppe

HLA-A	Kontrollgruppe (n = 72)		MB/SOSA (n = 68)									
	n (%)	hom.	n (%)	hom.	p	p _{kor}	Sens.	Spez.	RR	EF	+K	-K
1	20 (27,8)	-	30 (44,1)	-	0,025	n.s.						
2	35 (48,6)	-	31 (45,6)	-	n.s.							
3	18 (25,0)	-	27 (39,7)	-	n.s.							
9	16 (22,2)	-	10 (14,7)	-	n.s.							
- n.d.	0	-	4	-								
- 23 (9)	0	-	2	-								
- 24 (9)	16 (22,2)	-	4	-								
10	18 (25)	-	4 (5,9)	-	0,005	n.s.						
- n.d.	0	-	2	-								
- 25 (10)	8 (11,1)	-	2	-								
- 26 (10)	9 (12,5)	-	0	-								
- 66 (10)	1 (1,4)	-	0	-								
11	6 (8,3)	-	6 (8,8)	-	n.s.							
28	5 (6,9)	-	5 (7,4)	1	n.s.							
- n.d.	3 (4,2)	-	5	-								
- 68 (28)	1 (1,4)	-	0	-								
- 69 (28)	1 (1,4)	-	0	-								
19	14 (19,4)	1	10 (14,7)	-	n.s.							
- n.d.	0	-	0	-								
- 29 (19)	6 (8,3)	-	3 (4,4)	-	n.s.							
- 30 (19)	2 (2,8)	-	1 (1,5)	-	n.s.							
- 31 (19)	2 (2,8)	-	2 (2,9)	-	n.s.							
- 32 (19)	2 (2,8)	-	3 (4,4)	-	n.s.							
- 33 (19)	3 (4,2)	-	1 (1,5)	-	n.s.							
X	11 (15,3)	-	13 (19,1)	-	n.s.							
			Mb. Basedow/KOSA (n = 39)									
1	20 (27,8)	-	13 (33,3)	-	n.s.							
2	35 (48,6)	-	20 (51,3)	-	n.s.							
3	18 (25,0)	-	11 (28,2)	-	n.s.							
9	16 (22,2)	-	10 (25,6)	1	n.s.							
- n.d.	0	-	3	-								
- 23 (9)	0	-	2	-								
- 24 (9)	16 (22,2)	-	5	-								
10	18 (25)	-	0	-	0,001	0,016	0	58,1	0	/	0	75,0
- n.d.	0	-	0	-								
- 25 (10)	8 (11,1)	-	0	-	0,05	n.s.						
- 26 (10)	9 (12,5)	-	0	-	n.s.							
- 66 (10)	1 (1,4)	-	0	-	n.s.							
11	6 (8,3)	-	3 (7,7)	-	n.s.							
28	5 (6,9)	-	2 (5,1)	-	n.s.							
- n.d.	3 (4,2)	-	2	-								
- 68 (28)	1 (1,4)	-	0	-								
- 69 (28)	1 (1,4)	-	0	-								
19	14 (19,4)	1	12 (30,8)	1	n.s.							
- n.d.	0	-	3	-								
- 29 (19)	6 (8,3)	-	0	-								
- 30 (19)	2 (2,8)	-	4	-								
- 31 (19)	2 (2,8)	-	2	-								
- 32 (19)	2 (2,8)	-	3	-								
- 33 (19)	3 (4,2)	-	0	-								
X	11 (15,3)	-	7 (17,9)	-	n.s.							

n = Anzahl (absolut); hom. = homozygot; p_{kor} = korrigierter p-Wert; Sens. = Sensitivität; Spez. = Spezifität; RR = relatives Risiko; EF = ätiologischer Faktor; +K = positive Korrektheit; -K = negative Korrektheit

Tabelle A3. HLA-A-Haplotyp in den Gruppen MB/-IO und MB/+IO und der Kontrollgruppe

HLA-A	Kontrollgruppe (n = 72)		MB/-IO (n = 45)									
	n (%)	hom.	n (%)	hom.	p	p _{kor}	Sens.	Spez.	RR	EF	+K	-K
1	20 (27,8)	-	17 (37,8)	-	n.s.							
2	35 (48,6)	-	18 (40,0)	-	n.s.							
3	18 (25,0)	-	14 (31,1)	-	n.s.							
9	16 (22,2)	-	14 (31,1)	2	n.s.							
- n.d.	0	-	5	-								
- 23 (9)	0	-	3	-								
- 24 (9)	16 (22,2)	-	6	-								
10	18 (25)	-	0	-	0,001	0,016	0	54,5	0	/	/	75,0
- n.d.	0	-	0	-								
- 25 (10)	8 (11,1)	-	0	-								
- 26 (10)	9 (12,5)	-	0	-								
- 66 (10)	1 (1,4)	-	0	-								
11	6 (8,3)	-	3 (6,7)	-	n.s.							
28	5 (6,9)	-	3 (6,7)	-	n.s.							
- n.d.	3 (4,2)	-	3	-								
- 68 (28)	1 (1,4)	-	0	-								
- 69 (28)	1 (1,4)	-	0	-								
19	14 (19,4)	1	11 (24,4)	-	n.s.							
- n.d.	0	-	1	-								
- 29 (19)	6 (8,3)	-	3	-								
- 30 (19)	2 (2,8)	-	3	-								
- 31 (19)	2 (2,8)	-	1	-								
- 32 (19)	2 (2,8)	-	2	-								
- 33 (19)	3 (4,2)	-	1	-								
X	11 (15,3)	-	10 (22,2)	-	n.s.							
			MB/+IO (n = 62)									
1	20 (27,8)	-	26 (41,9)	-	n.s.							
2	35 (48,6)	-	33 (53,2)	-	n.s.							
3	18 (25,0)	-	24 (38,7)	-	n.s.							
9	16 (22,2)	-	6 (9,7)	-	n.s.							
- n.d.	0	-	2	-								
- 23 (9)	0	-	1	-								
- 24 (9)	16 (22,2)	-	3	-								
10	18 (25)	-	4 (6,4)	-	0,005	n.s.						
- n.d.	0	-	2	-								
- 25 (10)	8 (11,1)	-	2	-								
- 26 (10)	9 (12,5)	-	0	-								
- 66 (10)	1 (1,4)	-	0	-								
11	6 (8,3)	-	6 (9,7)	-	n.s.							
28	5 (6,9)	-	4 (6,4)	-	n.s.							
- n.d.	3 (4,2)	-	0	-								
- 68 (28)	1 (1,4)	-	0	-								
- 69 (28)	1 (1,4)	-	0	-								
19	14 (19,4)	1	11 (17,7)	1	n.s.							
- n.d.	0	-	2	-								
- 29 (19)	6 (8,3)	-	0	-								
- 30 (19)	2 (2,8)	-	2	-								
- 31 (19)	2 (2,8)	-	3	-								
- 32 (19)	2 (2,8)	-	4	-								
- 33 (19)	3 (4,2)	-	0	-								
X	11 (15,3)	-	10 (16,1)	-	n.s.							

Tabelle A4. HLA-B-Haplotyp in der Patientengruppe MB_{ges.} und in der Kontrollgruppe

HLA-B	Kontrollgruppe (n = 72)		Patientengruppe MB _{ges.} (n = 107)									
	n (%)	hom.	n (%)	hom.	p	p _{korr.}	Sens.	Spez.	RR	EF	+K	-K
5	6 (8,3)	-	20 (18,7)	-	n.s.							
- n.d.	0	-	8	-								
- 51 (5)	4 (5,6)	-	9	-								
- 52 (5)	2 (2,8)	-	3	-								
7	17 (23,6)	-	22 (20,6)	-	n.s.							
8	10 (13,9)	-	45 (42,1)	-	0,001	0,038	81,8	50,0	4,5	0,33	42,0	86,1
12	18 (25,0)	-	23 (21,5)	-	n.s.							
- n.d.	0	-	5	-								
- 44 (12)	18 (25,0)	-	18	-								
- 45 (12)	0	-	0	-								
13	3 (4,2)	-	6 (5,6)	-	n.s.							
14	4 (5,6)	-	3 (2,8)	-	n.s.							
- n.d.	3 (4,2)	-	3	-								
- 64 (14)	0	-	0	-								
- 65 (14)	1 (1,4)	-	0	-								
15	10 (13,9)	-	16 (14,9)	-	n.s.							
- n.d.	3 (4,2)	-	9	-								
- 62 (15)	6 (8,3)	-	7	-								
- 63 (15)	1 (1,4)	-	0	-								
16	8 (11,1)	-	11 (10,3)	-	n.s.							
- n.d.	1(1,4)	-	1	-								
- 38 (16)	4 (5,6)	-	3	-								
- 39 (16)	3 (4,2)	-	7	-								
17	8 (11,1)	-	3 (2,8)	-	0,05	n.s.						
- n.d.	0	-	1	-								
- 57 (17)	6 (8,3)	-	1	-								
- 58 (17)	2 (2,8)	-	1	-								
18	7 (9,7)	-	10 (9,3)	-	n.s.							
21	3(4,2)	-	3 (2,8)	-	n.s.							
- n.d.	0	-	1	-								
- 49 (21)	2 (2,8)	-	2	-								
- 50 (21)	1 (1,4)	-	0	-								
22	4 (5,6)	-	1 (0,9)	-	n.s.							
- n.d.	1 (1,4)	-	0	-								
- 55 (22)	2 (2,8)	-	0	-								
- 56 (22)	1 (1,4)	-	1	-	n.s.							
27	6 (8,3)	-	5 (4,7)	-	n.s.							
35	15 (20,8)	-	22 (20,6)	-	n.s.							
37	8 (11,1)	-	1 (0,9)	-	0,005	n.s.						
40	9 (12,5)	-	13 (12,2)	-	n.s.							
- n.d.	2 (2,8)	-	4	-								
- 60 (40)	4 (5,6)	-	7	-								
- 61 (40)	3 (4,2)	-	2	-								
41	2 (2,8)	-	4 (3,7)	-	n.s.							
47	0	-	0	-	n.s.							
53	2 (2,8)	-	0	-	n.s.							
X	4 (5,6)	-	6 (5,6)	-	n.s.							

n = Anzahl (absolut); hom. = homozygot; p_{korr.} = korrigierter p-Wert; Sens. = Sensitivität; Spez. = Spezifität; RR = relatives Risiko; EF = ätiologischer Faktor; +K = positive Korrektheit; -K = negative Korrektheit

Tabelle A5. HLA-B-Haplotyp in der Gruppe MB/SOSA und der Kontrollgruppe

HLA-B	Kontrollgruppe (n = 72)		Patientengruppe MB/SOSA (n = 68)									
	n (%)	hom.	n (%)	hom.	p	p _{kor}	Sens.	Spez.	RR	EF	+K	-K
5	6 (8,3)	-	15 (22,1)	-	0,025	n.s.						
- n.d.	0	-	6	-								
- 51 (5)	4 (5,6)	-	6	-								
- 52 (5)	2 (2,8)	-	3	-								
7	17 (23,6)	-	15 (22,1)	-	n.s.							
8	10 (13,9)	-	27 (39,7)	-	0,001	0,038	73,0	60,2	4,1	0,30	39,7	86,1
12	18 (25,0)	-	15 (22,1)	-	n.s.							
- n.d.	0	-	2	-								
- 44 (12)	18 (25,0)	-	13	-								
- 45 (12)	0	-	0	-								
13	3 (4,2)	-	2 (2,9)	-	n.s.							
14	4 (5,6)	-	2 (2,9)	-	n.s.							
- n.d.	3 (4,2)	-	2	-								
- 64 (14)	0	-	0	-								
- 65 (14)	1 (1,4)	-	0	-								
15	10 (13,9)	-	10 (14,7)	-	n.s.							
- n.d.	3 (4,2)	-	7	-								
- 62 (15)	6 (8,3)	-	3	-								
- 63 (15)	1 (1,4)	-	0	-								
16	8 (11,1)	-	6 (8,8)	-	n.s.							
- n.d.	1(1,4)	-	1	-								
- 38 (16)	4 (5,6)	-	3	-								
- 39 (16)	3 (4,2)	-	2	-								
17	8 (11,1)	-	3 (4,4)	-	n.s.							
- n.d.	0	-	1	-								
- 57 (17)	6 (8,3)	-	1	-								
- 58 (17)	2 (2,8)	-	1	-								
18	7 (9,7)	-	5 (4,7)	-	n.s.							
21	3(4,2)	-	3 (4,4)	-	n.s.							
- n.d.	0	-	1	-								
- 49 (21)	2 (2,8)	-	2	-								
- 50 (21)	1 (1,4)	-	0	-								
22	4 (5,6)	-	1 (1,5)	-	n.s.							
- n.d.	1 (1,4)	-	0	-								
- 55 (22)	2 (2,8)	-	0	-								
- 56 (22)	1 (1,4)	-	1 (1,5)	-								
27	6 (8,3)	-	4 (5,9)	-	n.s.							
35	15 (20,8)	-	14 (13,1)	-	n.s.							
37	8 (11,1)	-	1 (1,5)	-	0,025	n.s.						
40	9 (12,5)	-	10 (14,7)	-	n.s.							
- n.d.	2 (2,8)	-	3	-								
- 60 (40)	4 (5,6)	-	5	-								
- 61 (40)	3 (4,2)	-	2	-								
41	2 (2,8)	-	1 (1,5)	-	n.s.							
47	0	-	0	-	n.s.							
53	2 (2,8)	-	0	-	n.s.							
X	4 (5,6)	-	2 (2,9)	-	n.s.							

n = Anzahl (absolut); hom. = homozygot; p_{kor} = korrigierter p-Wert; Sens. = Sensitivität; Spez. = Spezifität; RR = relatives Risiko; EF = ätiologischer Faktor; +K = positive Korrektheit; -K = negative Korrektheit

Tabelle A6. HLA-B-Haplotyp in der Gruppe MB/KOSA und in der Kontrollgruppe

HLA-B	Kontrollgruppe (n = 72)		Patientengruppe MB/KOSA (n = 39)									
	n (%)	hom.	n (%)	hom.	p	p _{korrr}	Sens.	Spez.	RR	EF	+K	-K
5	6 (8,3)	-	5 (12,8)	-	n.s.							
- n.d.	0	-	2	-								
- 51 (5)	4 (5,6)	-	3	-								
- 52 (5)	2 (2,8)	-	0	-								
7	17 (23,6)	-	7 (17,9)	-	n.s.							
8	10 (13,9)	-	18 (46,2)	-	0,001	0,038	64,3	74,7	5,31	0,37	46,2	86,1
12	18 (25,0)	-	8 (20,5)	-	n.s.							
- n.d.	0	-	3	-								
- 44 (12)	18 (25,0)	-	5	-								
- 45 (12)	0	-	0	-								
13	3 (4,2)	-	4 (10,3)	-	n.s.							
14	4 (5,6)	-	1 (2,6)	-	n.s.							
- n.d.	3 (4,2)	-	1	-								
- 64 (14)	0	-	0	-								
- 65 (14)	1 (1,4)	-	0	-								
15	10 (13,9)	-	6 (15,4)	-	n.s.							
- n.d.	3 (4,2)	-	2	-								
- 62 (15)	6 (8,3)	-	4	-								
- 63 (15)	1 (1,4)	-	0	-								
16	8 (11,1)	-	5 (12,8)	-	n.s.							
- n.d.	1(1,4)	-	0	-								
- 38 (16)	4 (5,6)	-	0	-								
- 39 (16)	3 (4,2)	-	5	-	0,05	n.s.						
17	8 (11,1)	-	0	-	0,05	n.s.						
- n.d.	0	-	0	-								
- 57 (17)	6 (8,3)	-	0	-	n.s.							
- 58 (17)	2 (2,8)	-	0	-	n.s.							
18	7 (9,7)	-	5 (12,8)	-	n.s.							
21	3(4,2)	-	0	-	n.s.							
- n.d.	0	-	0	-								
- 49 (21)	2 (2,8)	-	0	-	n.s.							
- 50 (21)	1 (1,4)	-	0	-	n.s.							
22	4 (5,6)	-	0	-	n.s.							
- n.d.	1 (1,4)	-	0	-								
- 55 (22)	2 (2,8)	-	0	-	n.s.							
- 56 (22)	1 (1,4)	-	0	-	n.s.							
27	6 (8,3)	-	1 (2,6)	-	n.s.							
35	15 (20,8)	-	8 (20,5)	-	n.s.							
37	8 (11,1)	-	0	-	0,05	n.s.						
40	9 (12,5)	-	3 (7,7)	-	n.s.							
- n.d.	2 (2,8)	-	1	-								
- 60 (40)	4 (5,6)	-	2	-								
- 61 (40)	3 (4,2)	-	0	-								
41	2 (2,8)	-	3 (7,7)	-	n.s.							
47	0	-	0	-	n.s.							
53	2 (2,8)	-	0	-	n.s.							
X	4 (5,6)	-	4 (10,3)	-	n.s.							

n = Anzahl (absolut); hom. = homozygot; p_{korrr} = korrigierter p-Wert; Sens. = Sensitivität; Spez. = Spezifität; RR = relatives Risiko; EF = ätiologischer Faktor; +K = positive Korrektheit; -K = negative Korrektheit

Tabelle A7. HLA-B-Haplotyp in der Gruppe MB/-IO und in der Kontrollgruppe

HLA-B	Kontrollgruppe (n = 72)		MB/-IO (n = 45)									
	n (%)	hom.	n (%)	hom.	p	p _{kor}	Sens.	Spez.	RR	EF	+K	-K
5	6 (8,3)	-	8 (17,8)	-	n.s.							
- n.d.	0	-	5	-								
- 51 (5)	4 (5,6)	-	3	-								
- 52 (5)	2 (2,8)	-	0	-								
7	17 (23,6)	-	10 (22,2)	-	n.s.							
8	10 (13,9)	-	20 (44,4)	-	0,001	0,038	66,7	71,3	4,96	0,35	44,4	86,1
12	18 (25,0)	-	13 (28,9)	-	n.s.							
- n.d.	0	-	3	-								
- 44 (12)	18 (25,0)	-	10	-								
- 45 (12)	0	-	0	-								
13	3 (4,2)	-	3 (6,7)	-	n.s.							
14	4 (5,6)	-	2 (4,4)	-	n.s.							
- n.d.	3 (4,2)	-	2	-								
- 64 (14)	0	-	0	-								
- 65 (14)	1 (1,4)	-	0	-								
15	10 (13,9)	-	5 (11,1)	-	n.s.							
- n.d.	3 (4,2)	-	1	-								
- 62 (15)	6 (8,3)	-	4	-								
- 63 (15)	1 (1,4)	-	0	-								
16	8 (11,1)	-	5 (11,1)	-	n.s.							
- n.d.	1(1,4)	-	0	-								
- 38 (16)	4 (5,6)	-	2	-								
- 39 (16)	3 (4,2)	-	3	-								
17	8 (11,1)	-	1 (2,2)	-	n.s.							
- n.d.	0	-	0	-								
- 57 (17)	6 (8,3)	-	0	-								
- 58 (17)	2 (2,8)	-	1	-								
18	7 (9,7)	-	4 (8,9)	-	n.s.							
21	3(4,2)	-	1 (2,2)	-	n.s.							
- n.d.	0	-	0	-								
- 49 (21)	2 (2,8)	-	1	-								
- 50 (21)	1 (1,4)	-	0	-								
22	4 (5,6)	-	0	-	n.s.							
- n.d.	1 (1,4)	-	0	-								
- 55 (22)	2 (2,8)	-	0	-								
- 56 (22)	1 (1,4)	-	0	-								
27	6 (8,3)	-	3 (6,7)	-	n.s.							
35	15 (20,8)	-	7 (15,5)	-	n.s.							
37	8 (11,1)	-	0	-	n.s.							
40	9 (12,5)	-	5 (11,1)	-	n.s.							
- n.d.	2 (2,8)	-	3	-								
- 60 (40)	4 (5,6)	-	1	-								
- 61 (40)	3 (4,2)	-	1	-								
41	2 (2,8)	-	2 (4,4)	-	n.s.							
47	0	-	0	-	n.s.							
53	2 (2,8)	-	0	-	n.s.							
X	4 (5,6)	-	1 (2,2)	-	n.s.							

n = Anzahl (absolut); hom. = homozygot; p_{kor} = korrigierter p-Wert; Sens. = Sensitivität; Spez. = Spezifität; RR = relatives Risiko; EF = ätiologischer Faktor; +K = positive Korrektheit; -K = negative Korrektheit

Tabelle A8. HLA-B-Haplotyp in der Gruppe MB/+IO und in der Kontrollgruppe

HLA-B	Kontrollgruppe (n = 72)		MB/+IO (n = 62)									
	n (%)	hom.	n (%)	hom.	p	p _{kor}	Sens.	Spez.	RR	EF	+K	-K
5	6 (8,3)	-	12 (19,4)	-	n.s.							
- n.d.	0	-	3	-								
- 51 (5)	4 (5,6)	-	6	-								
- 52 (5)	2 (2,8)	-	3	-								
7	17 (23,6)	-	12 (19,4)	-	n.s.							
8	10 (13,9)	-	25 (40,3)	-	0,001	0,038	71,4	62,6	4,2	0,3	40,3	86,1
12	18 (25,0)	-	10 (16,1)	-	n.s.							
- n.d.	0	-	2	-								
- 44 (12)	18 (25,0)	-	8	-								
- 45 (12)	0	-	0	-								
13	3 (4,2)	-	3 (4,8)	-	n.s.							
14	4 (5,6)	-	1 (1,6)	-	n.s.							
- n.d.	3 (4,2)	-	1	-								
- 64 (14)	0	-	0	-								
- 65 (14)	1 (1,4)	-	0	-								
15	10 (13,9)	-	11 (17,7)	-	n.s.							
- n.d.	3 (4,2)	-	8	-								
- 62 (15)	6 (8,3)	-	3	-								
- 63 (15)	1 (1,4)	-	0	-								
16	8 (11,1)	-	6 (9,7)	-	n.s.							
- n.d.	1(1,4)	-	1	-								
- 38 (16)	4 (5,6)	-	1	-								
- 39 (16)	3 (4,2)	-	4	-								
17	8 (11,1)	-	2 (3,2)	-	n.s.							
- n.d.	0	-	1	-								
- 57 (17)	6 (8,3)	-	1	-								
- 58 (17)	2 (2,8)	-	0	-								
18	7 (9,7)	-	6 (9,7)	-	n.s.							
21	3(4,2)	-	2 (3,2)	-	n.s.							
- n.d.	0	-	1	-								
- 49 (21)	2 (2,8)	-	1	-								
- 50 (21)	1 (1,4)	-	0	-								
22	4 (5,6)	-	1 (1,6)	-	n.s.							
- n.d.	1 (1,4)	-	0	-								
- 55 (22)	2 (2,8)	-	0	-								
- 56 (22)	1 (1,4)	-	1	-								
27	6 (8,3)	-	2 (3,2)	-	n.s.							
35	15 (20,8)	-	15 (24,2)	-	n.s.							
37	8 (11,1)	-	1 (1,6)	-	0,05	n.s.						
40	9 (12,5)	-	8 (12,9)	-	n.s.							
- n.d.	2 (2,8)	-	1	-								
- 60 (40)	4 (5,6)	-	6	-								
- 61 (40)	3 (4,2)	-	1	-								
41	2 (2,8)	-	2 (3,2)	-	n.s.							
47	0	-	0	-	n.s.							
53	2 (2,8)	-	0	-	n.s.							
X	4 (5,6)	-	5 (8,1)	-	n.s.							

n = Anzahl (absolut); hom. = homozygot; p_{kor} = korrigierter p-Wert; Sens. = Sensitivität; Spez. = Spezifität; RR = relatives Risiko; EF = ätiologischer Faktor; +K = positive Korrektheit; -K = negative Korrektheit

Tabelle A9. HLA-Bw-Haplotyp in den Patientengruppen MB_{ges.}, MB/SOSA, MB/KOSA, MB/-IO, MB/+IO und in der Kontrollgruppe

HLA-Bw	Kontrollgruppe (n = 72)		MB/gesamt (n = 86)									
	n (%)	hom.	n (%)	hom.	p	p _{kor}	Sens.	Spez.	RR	EF	+K	-K
4	44 (61,1)	-	53 (61,6)	-	n.s.							
6	52 (72,2)	-	75 (87,2)	-	0,025	n.s.						
X	43 (59,7)	5	44 (51,2)	-	n.s.							
HLA-Bw	Kontrollgruppe (n = 72)		MB/SOSA (n = 61)									
	n (%)	hom.	n (%)	hom.	p	p _{kor}	Sens.	Spez.	RR	EF	+K	-K
4	44 (61,1)	-	40 (65,6)	-	n.s.							
6	52 (72,2)	-	54 (88,5)	-	0,025	n.s.						
X	43 (59,7)	5	28 (45,9)	-	n.s.							
HLA-Bw	Kontrollgruppe (n = 72)		MB/KOSA (n = 25)									
	n (%)	hom.	n (%)	hom.	p	p _{kor}	Sens.	Spez.	RR	EF	+K	-K
4	44 (61,1)	-	13 (52,0)	-	n.s.							
6	52 (72,2)	-	21 (84,0)	-	n.s.							
X	43 (59,7)	5	16 (64,0)	-	n.s.							
HLA-Bw	Kontrollgruppe (n = 72)		MB/-IO (n = 35)									
	n (%)	hom.	n (%)	hom.	p	p _{kor}	Sens.	Spez.	RR	EF	+K	-K
4	44 (61,1)	-	25 (71,4)	-	n.s.							
6	52 (72,2)	-	29 (82,9)	-	n.s.							
X	43 (59,7)	5	16 (45,7)	-	n.s.							
HLA-Bw	Kontrollgruppe (n = 72)		MB/+IO (n = 51)									
	n (%)	hom.	n (%)	hom.	p	p _{kor}	Sens.	Spez.	RR	EF	+K	-K
4	44 (61,1)	-	28 (54,9)	-	n.s.							
6	52 (72,2)	-	46 (90,2)	-	n.s.							
X	43 (59,7)	5	28 (54,9)	-	n.s.							

n = Anzahl (absolut); hom. = homozygot; p_{kor} = korrigierter p-Wert; Sens. = Sensitivität; Spez. = Spezifität; RR = relatives Risiko; EF = ätiologischer Faktor; +K = positive Korrektheit; -K = negative Korrektheit

Tabelle A10. HLA-Cw-Haplotyp in den drei Patientengruppen MB/gesamt, MB/SOSA, MB/KOSA und in der Kontrollgruppe

HLA-Cw	Kontrollgruppe (n = 72)		MB/gesamt (n = 100)									
	n (%)	hom.	n (%)	hom.	p	p _{kor}	Sens.	Spez.	RR	EF	+K	-K
1	4 (5,6)	-	9 (10,4)	-	n.s.							
2	7 (9,7)	-	6 (7,0)	-	n.s.							
3	17 (23,6)	-	23 (26,7)	-	n.s.							
4	15 (20,8)	-	21 (24,4)	-	n.s.							
5	9 (12,5)	-	10 (11,6)	-	n.s.							
6	15 (20,8)	-	10 (11,6)	-	n.s.							
7	15 (20,8)	-	44 (51,2)	-	0,001	0,016	74,6	57,6	3,98	0,38	51,2	79,2
8	1 (1,4)	-	0	-	n.s.							
X	50 (69,4)	11	77 (89,5)	2	0,005	n.s.						
HLA-Cw	Kontrollgruppe (n = 72)		MB/SOSA (n = 62)									
	n (%)	hom.	n (%)	hom.	p	p _{kor}	Sens.	Spez.	RR	EF	+K	-K
1	4 (5,6)	-	6 (9,7)	-	n.s.							
2	7 (9,7)	-	6 (9,7)	-	n.s.							
3	17 (23,6)	-	14 (22,6)	-	n.s.							
4	15 (20,8)	-	14 (22,6)	-	n.s.							
5	9 (12,5)	-	7 (11,3)	-	n.s.							
6	15 (20,8)	-	6 (9,7)	-	n.s.							
7	15 (20,8)	-	27 (43,6)	-	0,005	n.s.						
8	1 (1,4)	-	0	-	n.s.							
X	50 (69,4)	11	44 (71,0)	-	n.s.							
HLA-Cw	Kontrollgruppe (n = 72)		Mb. Basedow/KOSA (n = 38)									
	n (%)	hom.	n (%)	hom.	p	p _{kor}	Sens.	Spez.	RR	EF	+K	-K
1	4 (5,6)	-	3 (7,9)	-	n.s.							
2	7 (9,7)	-	0	-	n.s.							
3	17 (23,6)	-	9 (23,7)	-	n.s.							
4	15 (20,8)	-	7 (18,4)	-	n.s.							
5	9 (12,5)	-	3 (7,9)	-	n.s.							
6	15 (20,8)	-	4 (10,5)	-	n.s.							
7	15 (20,8)	-	17 (44,7)	-	0,01	n.s.						
8	1 (1,4)	-	0	-	n.s.							
X	50 (69,4)	11	33 (86,8)	2	0,05	n.s.						

n = Anzahl (absolut); hom. = homozygot; p_{kor} = korrigierter p-Wert; Sens. = Sensitivität; Spez. = Spezifität; RR = relatives Risiko; EF = ätiologischer Faktor; +K = positive Korrektheit; -K = negative Korrektheit

Tabelle A11. HLA-Cw-Haplotyp in den Gruppen MB/-IO und MB/+IO und in der Kontrollgruppe

HLA-Cw	Kontrollgruppe (n = 72)		MB/-IO (n = 42)									
	n (%)	hom.	n (%)	hom.	p	p _{kor}	Sens.	Spez.	RR	EF	+K	-K
1	4 (5,6)	-	4 (9,5)	-	n.s.							
2	7 (9,7)	-	3 (7,1)	-	n.s.							
3	17 (23,6)	-	12 (28,6)	-	n.s.							
4	15 (20,8)	-	6 (14,3)	-	n.s.							
5	9 (12,5)	-	5 (11,9)	-	n.s.							
6	15 (20,8)	-	5 (11,9)	-	n.s.							
7	15 (20,8)	-	23 (54,8)	-	0,001	0,016	60,5	75,0	4,6	0,43	54,8	79,2
8	1 (1,4)	-	0	-	n.s.							
X	50 (69,4)	11	26 (61,9)	-	n.s.							
HLA-Cw	Kontrollgruppe (n = 72)		MB/+IO (n = 58)									
	n (%)	hom.	n (%)	hom.	p	p _{kor}	Sens.	Spez.	RR	EF	+K	-K
1	4 (5,6)	-	5 (8,6)	-	n.s.							
2	7 (9,7)	-	3 (5,1)	-	n.s.							
3	17 (23,6)	-	11 (19,0)	-	n.s.							
4	15 (20,8)	-	15 (25,9)	-	n.s.							
5	9 (12,5)	-	5 (8,6)	-	n.s.							
6	15 (20,8)	-	6 (10,3)	-	n.s.							
7	15 (20,8)	-	21 (36,2)	-	n.s.							
8	1 (1,4)	-	0	-	n.s.							
X	50 (69,4)	11	50 (86,2)	2	0,025	n.s.						

Tabelle A12. HLA-DR-Haplotyp in der Gruppe MB_{ges.} und in der Kontrollgruppe

HLA-DR	Kontrollgruppe (n = 72)		MB/gesamt (n = 108)									
	n (%)	hom.	n (%)	hom.	p	p _{kor}	Sens.	Spez.	RR	EF	+K	-K
1	10 (13,9)	-	16 (14,8)	-	n.s.							
2	16 (22,2)	-	32 (29,6)	-	n.s.							
- n.d.	2	-	21	-								
- 15 (2)	14	-	10	-								
- 16 (2)	0	-	1	-								
3	12 (16,7)	-	46 (42,6)	-	0,001	0,02	79,3	49,2	3,71	0,30	42,6	83,3
- n.d.	3	-	36	-								
- 17 (3)	8	-	10	-								
- 18 (3)	1	-	0	-								
4	17 (23,6)	-	39 (36,1)	-	n.s.							
5	17 (23,6)	-	28 (25,9)	-	n.s.							
- n.d.	2	-	6	-								
- 11 (5)	12	-	21	-								
- 12 (5)	3	-	1	-								
6	24 (33,3)	-	19 (17,6)	-	0,025	n.s.						
- n.d.	12	-	8	-								
- 13 (6)	7	-	10	-								
- 14 (6)	5	-	1	-								
7	19 (26,4)	-	9 (8,3)	-	0,005	n.s.						
8	2 (2,8)	-	4 (3,7)	-	n.s.							
9	1 (1,4)	-	1 (0,9)	-	n.s.							
10	3 (4,2)	-	1 (0,9)	-	n.s.							
X	18 (25,0)	5	21 (19,4)	-	n.s.							

n = Anzahl (absolut); hom. = homozygot; p_{kor} = korrigierter p-Wert; Sens. = Sensitivität; Spez. = Spezifität; RR = relatives Risiko; EF = ätiologischer Faktor; +K = positive Korrektheit; -K = negative Korrektheit

Tabelle A13. HLA-DR-Haplotyp in den Gruppen MB/SOSA, MB/KOSA und Kontrollgruppe

DR	KG (n = 72)		MB/SOSA (n = 70)									
	n (%)	hom.	n (%)	hom.	p	p _{kor}	Sens.	Spez.	RR	EF	+K	-K
1	10 (13,9)	-	13 (18,6)	-	n.s.							
2	16 (22,2)	-	20 (28,6)	-	n.s.							
- n.d.	2	-	14	-								
- 15 (2)	14	-	6	-								
- 16 (2)	0	-	0	-								
3	12 (16,7)	-	29 (41,4)	-	0,005	n.s.						
- n.d.	3	-	20	-								
- 17 (3)	8	-	9	-								
- 18 (3)	1	-	0	-								
4	17 (23,6)	-	20 (28,6)	-	n.s.							
5	17 (23,6)	-	17 (24,3)	-	n.s.							
- n.d.	2	-	2	-								
- 11 (5)	12	-	15	-								
- 12 (5)	3	-	0	-								
6	24 (33,3)	-	16 (22,9)	-	n.s.							
- n.d.	12	-	6	-								
- 13 (6)	7	-	9	-								
- 14 (6)	5	-	1	-								
7	19 (26,4)	-	6 (8,6)	-	0,01	n.s.						
8	2 (2,8)	-	2 (2,9)	-	n.s.							
9	1 (1,4)	-	0	-	n.s.							
10	3 (4,2)	-	1 (1,4)	-	n.s.							
X	18 (25,0)	5	16 (22,9)	-	n.s.							
			MB/KOSA (n = 38)									
1	10 (13,9)	-	3 (7,9)	-	n.s.							
2	16 (22,2)	-	12 (31,6)	-	n.s.							
- n.d.	2	-	7	-								
- 15 (2)	14	-	4	-								
- 16 (2)	0	-	1	-								
3	12 (16,7)	-	17 (44,7)	-	0,005	n.s.						
- n.d.	3	-	16	-								
- 17 (3)	8	-	1	-								
- 18 (3)	1	-	0	-								
4	17 (23,6)	-	19 (50,0)	-	0,005	n.s.						
5	17 (23,6)	-	11 (28,9)	-	n.s.							
- n.d.	2	-	4	-								
- 11 (5)	12	-	6	-								
- 12 (5)	3	-	1	-								
6	24 (33,3)	-	3 (7,9)	-	0,005	n.s.						
- n.d.	12	-	2	-								
- 13 (6)	7	-	1	-								
- 14 (6)	5	-	0	-								
7	19 (26,4)	-	3 (7,9)	-	0,025	n.s.						
8	2 (2,8)	-	2 (5,3)	-	n.s.							
9	1 (1,4)	-	1 (2,6)	-	n.s.							
10	3 (4,2)	-	0	-	n.s.							
X	18 (25,0)	5	5 (13,2)	-	n.s.							

n = Anzahl (absolut); hom. = homozygot; p_{kor} = korrigierter p-Wert; Sens. = Sensitivität; Spez. = Spezifität; RR = relatives Risiko; EF = ätiologischer Faktor; +K = positive Korrektheit; -K = negative Korrektheit

Tabelle A14. HLA-DR-Haplotyp in den Gruppen MB/-IO, MB/+IO und Kontrollgruppe

HLA-DR	Kontrollgruppe (n = 72)		MB/-IO (n = 43)									
	n (%)	hom.	n (%)	hom.	p	p _{kor}	Sens.	Spez.	RR	EF	+K	-K
1	10 (13,9)	-	4 (9,3)	-	n.s.							
2	16 (22,2)	-	15 (34,9)	-	n.s.							
- n.d.	2	-	10	-								
- 15 (2)	14	-	5	-								
- 16 (2)	0	-	0	-								
3	12 (16,7)	-	21 (48,8)	-	0,001	0,02	63,6	73,2	4,77	0,39	48,8	83,3
- n.d.	3	-	17	-								
- 17 (3)	8	-	4	-								
- 18 (3)	1	-	0	-								
4	17 (23,6)	-	16 (37,2)	-	n.s.							
5	17 (23,6)	-	9 (20,9)	-	n.s.							
- n.d.	2	-	3	-								
- 11 (5)	12	-	6	-								
- 12 (5)	3	-	0	-								
6	24 (33,3)	-	7 (16,3)	-	0,05	n.s.						
- n.d.	12	-	2	-								
- 13 (6)	7	-	4	-								
- 14 (6)	5	-	1	-								
7	19 (26,4)	-	2 (4,6)	-	0,005	n.s.						
8	2 (2,8)	-	1 (2,3)	-	n.s.							
9	1 (1,4)	-	1 (2,3)	-	n.s.							
10	3 (4,2)	-	0	-	n.s.							
X	18 (25,0)	5	10 (2,3)	-	n.s.							
			MB/+IO (n = 65)									
1	10 (13,9)	-	12 (18,5)	-	n.s.							
2	16 (22,2)	-	17 (26,2)	-	n.s.							
- n.d.	2	-	11	-								
- 15 (2)	14	-	5	-								
- 16 (2)	0	-	1	-								
3	12 (16,7)	-	25 (38,5)	-	0,005	n.s.						
- n.d.	3	-	19	-								
- 17 (3)	8	-	6	-								
- 18 (3)	1	-	0	-								
4	17 (23,6)	-	23 (35,4)	-	n.s.							
5	17 (23,6)	-	19 (29,2)	-	n.s.							
- n.d.	2	-	3	-								
- 11 (5)	12	-	15	-								
- 12 (5)	3	-	1	-								
6	24 (33,3)	-	12 (18,5)	-	0,05	n.s.						
- n.d.	12	-	6	-								
- 13 (6)	7	-	6	-								
- 14 (6)	5	-	0	-								
7	19 (26,4)	-	7 (10,8)	-	0,025	n.s.						
8	2 (2,8)	-	3 (4,6)	-	n.s.							
9	1 (1,4)	-	0	-	n.s.							
10	3 (4,2)	-	1 (1,5)	-	n.s.							
X	18 (25,0)	5	11 (16,9)	-	n.s.							

n = Anzahl (absolut); hom. = homozygot; p_{kor} = korrigierter p-Wert; Sens. = Sensitivität; Spez. = Spezifität; RR = relatives Risiko; EF = ätiologischer Faktor; +K = positive Korrektheit; -K = negative Korrektheit

Tabelle A15. HLA-DRw-Haplotyp in den Gruppen MB/gesamt, MB/SOSA, MB/KOSA, MB/-IO, MB/+IO und in der Kontrollgruppe

HLA-DRw	Kontrollgruppe (n = 72)		MB/gesamt (n = 85)									
	n (%)	hom.	n (%)	hom.	p	p _{korr}	Sens.	Spez.	RR	EF	+K	-K
51	0	-	4 (4,7)	-	n.s.							
52	45 (62,5)	-	64 (75,3)	-	n.s.							
53	33 (45,8)	-	38 (44,7)	-	n.s.							
X	54 (75,0)	12	64 (75,3)	4	n.s.							
HLA-DRw	Kontrollgruppe (n = 72)		MB/SOSA (n = 60)									
	n (%)	hom.	n (%)	hom.	p	p _{korr}	Sens.	Spez.	RR	EF	+K	-K
51	0	-	2 (3,3)	-	n.s.							
52	45 (62,5)	-	46 (76,7)	-	n.s.							
53	33 (45,8)	-	23 (38,3)	-	n.s.							
X	54 (75,0)	12	49 (81,7)	4	n.s.							
HLA-DRw	Kontrollgruppe (n = 72)		MB/KOSA (n = 25)									
	n (%)	hom.	n (%)	hom.	p	p _{korr}	Sens.	Spez.	RR	EF	+K	-K
51	0	-	2 (8,0)	-	0,025	n.s.						
52	45 (62,5)	-	18 (72,0)	-	n.s.							
53	33 (45,8)	-	15 (60,0)	-	n.s.							
X	54 (75,0)	12	15 (60,0)	-	n.s.							
HLA-DRw	Kontrollgruppe (n = 72)		MB/-IO (n = 50)									
	n (%)	hom.	n (%)	hom.	p	p _{korr}	Sens.	Spez.	RR	EF	+K	-K
51	0	-	1 (2,0)	-	n.s.							
52	45 (62,5)	-	37 (74,0)	-	n.s.							
53	33 (45,8)	-	23 (46,0)	-	n.s.							
X	54 (75,0)	12	39 (78,0)	3	n.s.							
HLA-DRw	Kontrollgruppe (n = 72)		MB/+IO (n = 35)									
	n (%)	hom.	n (%)	hom.	p	p _{korr}	Sens.	Spez.	RR	EF	+K	-K
51	0	-	3 (8,6)	-	n.s.							
52	45 (62,5)	-	27 (77,1)	-	n.s.							
53	33 (45,8)	-	15 (42,9)	-	n.s.							
X	54 (75,0)	12	25 (71,4)	1	n.s.							

n = Anzahl (absolut); hom. = homozygot; p_{korr} = korrigierter p-Wert; Sens. = Sensitivität; Spez. = Spezifität; RR = relatives Risiko; EF = ätiologischer Faktor; +K = positive Korrektheit; -K = negative Korrektheit

Tabelle A16. HLA-DQ-Haplotyp in den Gruppen MB/gesamt, MB/SOSA, MB/KOSA und in der Kontrollgruppe

HLA-DQ	Kontrollgruppe (n = 72)		MB/gesamt (n = 86)									
	n (%)	hom.	n (%)	hom.	p	p _{kor}	Sens.	Spez.	RR	EF	+K	-K
1	44 (61,1)	-	52 (60,4)	-	n.s.							
- n.d.	32	-	43	-								
- 5 (1)	0	-	3	-								
- 6 (1)	12	-	6	-								
2	20 (27,8)	-	39 (45,4)	-	0,025	n.s.						
3	35 (48,6)	-	48 (55,8)	-	n.s.							
- n.d.	18	-	30	-								
- 7 (3)	17	-	17	-								
- 8 (3)	0	-	1	-								
4	1 (1,4)	-	1 (1,2)	-	n.s.							
X	34 (47,2)	10	32 (37,2)	-	n.s.							
HLA-DQ	Kontrollgruppe (n = 72)		MB/SOSA (n = 61)									
	n (%)	hom.	n (%)	hom.	p	p _{kor}	Sens.	Spez.	RR	EF	+K	-K
1	44 (61,1)	-	40 (65,6)	-	n.s.							
- n.d.	32	-	34	-								
- 5 (1)	0	-	2	-								
- 6 (1)	12	-	4	-								
2	20 (27,8)	-	27 (44,3)	-	0,05	n.s.						
3	35 (48,6)	-	32 (52,5)	-	n.s.							
- n.d.	18	-	20	-								
- 7 (3)	17	-	11	-								
- 8 (3)	0	-	1	-								
4	1 (1,4)	-	1 (1,6)	-	n.s.							
X	34 (47,2)	10	22 (36,1)	-	n.s.							
HLA-DQ	Kontrollgruppe (n = 72)		MB/KOSA (n = 25)									
	n (%)	hom.	n (%)	hom.	p	p _{kor}	Sens.	Spez.	RR	EF	+K	-K
1	44 (61,1)	-	12 (48,0)	-	n.s.							
- n.d.	32	-	9	-								
- 5 (1)	0	-	1	-								
- 6 (1)	12	-	2	-								
2	20 (27,8)	-	12 (48,0)	-	n.s.							
3	35 (48,6)	-	16 (64,0)	-	n.s.							
- n.d.	18	-	10	-								
- 7 (3)	17	-	6	-								
- 8 (3)	0	-	0	-								
4	1 (1,4)	-	0	-	n.s.							
X	34 (47,2)	10	10 (40,0)	-	n.s.							

n = Anzahl (absolut); hom. = homozygot; p_{kor}. = korrigierter p-Wert; Sens. = Sensitivität; Spez. = Spezifität; RR = relatives Risiko; EF = ätiologischer Faktor; +K = positive Korrektheit; -K = negative Korrektheit

Tabelle A17. HLA-DQ-Haplotyp in den Gruppen MB/-IO und MB/+IO und in der Kontrollgruppe

HLA-DQ	Kontrollgruppe (n = 72)		MB/-IO (n = 51)									
	n (%)	hom.	n (%)	hom.	p	p _{kor}	Sens.	Spez.	RR	EF	+K	-K
1	44 (61,1)	-	32 (62,7)	-	n.s.							
- n.d.	32	-	26	-								
- 5 (1)	0	-	3	-								
- 6 (1)	12	-	3	-								
2	20 (27,8)	-	23 (45,1)	-	0,05	n.s.						
3	35 (48,6)	-	28 (54,9)	-	n.s.							
- n.d.	18	-	16	-								
- 7 (3)	17	-	11	-								
- 8 (3)	0	-	1	-								
4	1 (1,4)	-	1 (1,9)	-	n.s.							
X	34 (47,2)	10	18 (35,3)	-	n.s.							
HLA-DQ	Kontrollgruppe (n = 72)		MB/+IO (n = 35)									
	n (%)	hom.	n (%)	hom.	p	p _{kor}	Sens.	Spez.	RR	EF	+K	-K
1	44 (61,1)	-	20 (57,1)	-	n.s.							
- n.d.	32	-	17	-								
- 5 (1)	0	-	0	-								
- 6 (1)	12	-	3	-								
2	20 (27,8)	-	16 (45,7)	-	n.s.							
3	35 (48,6)	-	20 (57,1)	-	n.s.							
- n.d.	18	-	14	-								
- 7 (3)	17	-	6	-								
- 8 (3)	0	-	0	-								
4	1 (1,4)	-	0	-	n.s.							
X	34 (47,2)	10	14 (40,0)	-	n.s.							

n = Anzahl (absolut); hom. = homozygot; p_{kor} = korrigierter p-Wert; Sens. = Sensitivität; Spez. = Spezifität; RR = relatives Risiko; EF = ätiologischer Faktor; +K = positive Korrektheit; -K = negative Korrektheit

Tabelle A18. HLA-DQA1 in den Patientengruppen MB/gesamt, MB/SOSA, MB/KOSA, MB/-IO, MB/+IO und in der Kontrollgruppe

HLA-DQA1	Kontrollgruppe (n = 72)		MB/gesamt (n = 116)									
	n (%)	hom.	n (%)	hom.	p	p _{korr}	Sens.	Spez.	RR	EF	+K	-K
*0101	23 (31,9)	2	21 (18,1)	-	0,05	n.s.						
*0102	34 (47,2)	4	45 (38,8)	1	n.s.							
*0103	12 (16,7)	0	8 (6,9)	1	0,05	n.s.						
*0201	20 (27,8)	0	13 (11,2)	-	0,005	n.s.						
*0301	14 (19,4)	3	50 (43,1)	4	0,001	0,012	78,1	46,8	3,13	0,29	43,1	80,6
*0401-0601	31 (43,1)	1	95 (81,9)	13	0,001	0,012	75,4	66,1	6,00	0,68	81,9	56,9
Arg 52 +	42 (58,3)		104(89,7)		0,001	0,012	71,2	71,4	6,19	0,75	89,7	41,7
HLA-DQA1	Kontrollgruppe (n = 72)		MB/SOSA (n = 72)									
	n (%)	hom.	n (%)	hom.	p	p _{korr}	Sens.	Spez.	RR	EF	+K	-K
*0101	23 (31,9)	2	15 (20,8)	-	n.s.							
*0102	34 (47,2)	4	29 (40,3)	1	n.s.							
*0103	12 (16,7)	0	8 (11,1)	1	n.s.							
*0201	20 (27,8)	0	9 (12,5)	-	0,025	n.s.						
*0301	14 (19,4)	3	25 (34,7)	2	0,05	n.s.						
*0401-0601	31 (43,1)	1	58 (80,6)	9	0,001	0,012	65,2	74,6	5,48	0,66	80,6	56,9
Arg 52 +	42 (58,3)		60 (83,3)		0,001	0,012	58,8	71,4	3,57	0,60	83,3	41,7
HLA-DQA1	Kontrollgruppe (n = 72)		MB/KOSA (n = 44)									
	n (%)	hom.	n (%)	hom.	p	p _{korr}	Sens.	Spez.	RR	EF	+K	-K
*0101	23 (31,9)	2	6 (13,6)	-	0,05	n.s.						
*0102	34 (47,2)	4	16 (36,4)	-	n.s.							
*0103	12 (16,7)	0	0	-	0,005	n.s.						
*0201	20 (27,8)	0	4 (9,1)	-	0,025	n.s.						
*0301	14 (19,4)	3	25 (56,8)	2	0,001	0,012	64,1	75,3	5,45	0,46	56,8	80,6
*0401-0601	31 (43,1)	1	37 (84,1)	4	0,001	0,012	54,4	85,4	6,99	0,72	84,1	56,9
Arg 52 +	42 (58,3)		44 (100)		0,001	0,012	51,2	100,0	0	/	100,0	41,7
HLA-DQA1	Kontrollgruppe (n = 72)		MB/-IO (n = 50)									
	n (%)	hom.	n (%)	hom.	p	p _{korr}	Sens.	Spez.	RR	EF	+K	-K
*0101	23 (31,9)	2	10 (20,0)	-	n.s.							
*0102	34 (47,2)	4	16 (32,0)	-	n.s.							
*0103	12 (16,7)	0	5 (10,0)	1	n.s.							
*0201	20 (27,8)	0	4 (8,0)	-	0,01	n.s.						
*0301	14 (19,4)	3	22 (44,0)	1	0,005	n.s.						
*0401-0601	31 (43,1)	1	43 (86,0)	6	0,001	0,012	58,1	85,4	8,12	0,75	86,0	56,9
Arg 52 +	42 (58,3)		46 (92,0)		0,001	0,012	52,3	88,2	8,21	0,81	92,0	41,7
HLA-DQA1	Kontrollgruppe (n = 72)		MB/+IO (n = 66)									
	n (%)	hom.	n (%)	hom.	p	p _{korr}	Sens.	Spez.	RR	EF	+K	-K
*0101	23 (31,9)	2	11 (16,7)	-	0,05	n.s.						
*0102	34 (47,2)	4	29 (43,9)	1	n.s.							
*0103	12 (16,7)	0	3 (4,5)	-	0,025	n.s.						
*0201	20 (27,8)	0	9 (13,6)	-	0,05	n.s.						
*0301	14 (19,4)	3	28 (42,4)	3	0,005	n.s.						
*0401-0601	31 (43,1)	1	52 (78,8)	7	0,001	0,012	62,6	74,5	4,91	0,63	78,8	56,9
Arg 52 +	42 (58,3)		58 (87,9)		0,001	0,012	58,0	78,9	5,18	0,71	87,9	41,7

n = Anzahl (absolut); hom. = homozygot; p_{korr} = korrigierter p-Wert; Sens. = Sensitivität; Spez. = Spezifität; RR = relatives Risiko; EF = ätiologischer Faktor; +K = positive Korrektheit; -K = negative Korrektheit

II. Verwendete Geräte und Chemikalien

A. Geräte

DNA Thermal Cycler 480 (Firma Perkin Elmer)
Photometer (zur Extinktionsbestimmung)
Orbit Shaker (Rüttelmaschine); Wärmeschrank
Electrophoresis Power Supply
UV-Transluminator; Stratalinker (UV-Crosslinker)

B. Chemikalien

• Zusammensetzung der im Labor hergestellten Lösungen

Puffer B	25 ml 0,5M EDTA (pH 8,0), 7,5 ml 5M NaCl 5 ml Tris-Puffer (pH 7,5), ad 500 ml Aqua bidest.
Citratpuffer	18,4 g $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ad 1000 ml Aqua bidest.
Dye-Mix	50% Glycerol, Molekularbiologie-Qualität 50% 1x TAE, Bromphenolblau
GT-Puffer (Guanidium-Thiocyanat-)	23,6 g 4M GT, 2,5 ml 0,5% Lauroyl-Sacrosine 1,25 ml 25mM Natriumcitrat (pH 6,5)
Hybridisierungslösung	250 ml 20x SSPE 25 ml 20% SDS (Dodecylsulfat-Natriumsalz) ad 1000 ml Aqua bidest.
20x SSPE	7,4 g $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 210 g 3,6M NaCl 27,6 g 200mM $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ad 1000 ml Aqua bidest., pH 7,4
50x TAE	242 g 2M Tris-Base (Boehringer Mannheim) 57,1 ml 1M Eisessiglösung (CH_3COOH) 100 ml 0,5M EDTA-Lösung pH 8,0 ad 1000 ml Aqua bidest. (1x TAE: 50xTAE : Aqua bidest. = 1 : 50)
TMB-Lösung (Tetramethylbenzidin-)	60 mg TMB ad 30 ml Ethanol 100%
Waschlösung	250 ml 20x SSPE, 10 ml 20% SDS ad 2000 ml Aqua bidest.

• Inhalt des HLA-DQA1 PCR Amplification and Typing Kits®

PCR Reaction Mix	3 ml	Mineralöl	5 ml
Kontroll-DNS	0,2 ml	Probe Strips	50 Stück
8 mM MgCl_2 -Lösung	1,5 ml	PCR Reaction Tubes	55 Stück
Enzyme Conjugate HRP-SA	2 ml	Chromogen TMB	60 mg

• Weitere Chemikalien

Proteinase K
Ethidiumbromid
Ethanol 70%
Agarose (Standard-Agarose, Molekularbiologie-Qualität)
DNA- MG-Marker II (Längenstandard) (Firma Boehringer Mannheim)

Danksagung

Mein herzlicher Dank gilt allen, die zur Entstehung der Arbeit beigetragen haben.

Zuerst gilt mein Dank den Herren Prof. Dr. med. U. Tuschy und Prof. Dr. med. U. Till für die freundliche Überlassung des Promotionsthemas, die allzeit sorgfältige Unterstützung bei der Überarbeitung der Arbeit sowie ihre konstruktive Kritik.

Des weiteren danke ich Frau Dr. med. A. Meyer für die Unterstützung meiner Arbeit vor allem im klinischen Bereich sowie die wertvollen Anregungen bei der Erstellung der Dissertation.

Herrn Dr. med. H. Wallaschowski danke ich für die kritische Durchsicht der Arbeit.

Dank gilt weiterhin den Mitarbeitern der Arbeitsgruppe um Prof. Dr. med. Tuschy, in deren Rahmen die Bearbeitung des Themas erfolgte, den Mitarbeitern der Abteilung Endokrinologie des Klinikums Erfurt GmbH und den Mitarbeitern des Institutes für Blutspende und Transfusionsmedizin des Klinikums Erfurt GmbH, insbesondere für die gute und unkomplizierte Zusammenarbeit.

Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben: Herr Prof. Dr. med. U. Till (Leiter des Institutes für Pathobiochemie der FSU Jena), Herr Prof. Dr. med. U. Tuschy (Leiter der Abt. für Endokrinologie, Helios Klinikum Erfurt), Frau Dr. med. A. Meyer (Abt. Endokrinologie, Helios Klinikum Erfurt), Herr Dr. med. H. Wallaschofski (Abteilung Endokrinologie der Klinik für Innere Medizin, Universität Leipzig),

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Halle, den 28.6.01

Lebenslauf

Name : Katharina Eger
geboren : 27.01.70 in Erfurt
Familienstand : verheiratet, ein Kind

Ausbildung

9/1976- 7/1986 Allgemeinbildende Polytechnische Oberschule „Georgi Dimitroff“
Bad Berka
9/1986- 7/1988 Erweiterte Oberschule „Geschwister Scholl“ Bad Berka,
1. Juli 1988 Abitur
9/1988- 8/1989 Vorpraktikum zum Studium der Medizin (Tätigkeit als pflegerische
Hilfskraft), Zentralklinik Bad Berka
9/1989- 8/1991 Studium der Medizin, Universität Leipzig,
Ärztliche Vorprüfung 8/1991
10/1991- 8/1995 Studium der Medizin, Medizinische Akademie Erfurt (später
Medizinische Hochschule)
9/1994-8/1995 Praktisches Jahr (Neurochirurgie am Hadassah Hospital der
Hebrew University Jerusalem/Israel, Innere Medizin am
Katholischen Krankenhaus St. Nepomuk in Erfurt, Neurologie an
der Zentralklinik Bad Berka sowie in der Neurologischen
Abteilung des Klinikums Erfurt GmbH)
25.8.1995 Hochschulabschluß in der Fachrichtung Medizin an der Friedrich-
Schiller-Universität Jena

Bisheriger beruflicher Werdegang

15.9.95- 14.3.97 Ärztin im Praktikum an der Klinik für Neurologie der Martin-
Luther-Universität Halle-Wittenberg (Direktor: Prof. Dr. S. Zierz)
17.3.1997 Approbation als Ärztin
seit 17.3.97 Assistenzärztin an der Klinik für Neurologie der Martin-Luther-
Universität Halle-Wittenberg

Halle, den 28.6.01

**Untersuchung von HLA-Merkmalen
bei Patienten mit Morbus Basedow
mit und ohne autoimmune organspezifische
Zweiterkrankungen
sowie mit und ohne Immunorbitopathie**

THESEN

zur

D i s s e r t a t i o n

zur Erlangung des akademischen Grades
doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt dem

Rat der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Schiller-Universität Jena

von Katharina Eger

geboren am 27.01.1970 in Erfurt

THESEN

1. Morbus Basedow ist eine endokrine, organspezifische Autoimmunerkrankung mit bevorzugter Erkrankung des weiblichen Geschlechts und Manifestationsgipfel im 3. bis 4. Lebensjahrzehnt.
2. Patienten mit Morbus Basedow erkranken in ca. der Hälfte der Fälle an mindestens einer weiteren organspezifischen Autoimmunerkrankung und/oder einer Immunorbitopathie.
3. Die Stärke der untersuchten Kontrollgruppe von 72 Personen ist repräsentativ und für die statistische Untersuchung geeignet.
4. Es besteht eine HLA-Krankheitsassoziation zu den Merkmalen B8, DR3, Cw7, A10, DQA1*0301, DQA1*0501 und zu den Arginin-52-positiv kodierenden DQA1-Allelen (DQA1*0301-*0601).
5. Die stärkste Assoziation besteht zu den Arginin-52-positiv kodierenden Allelen mit einem relativen Risiko von 6,19.
6. Die starke Assoziation mit den Arginin-52-positiv kodierenden DQA1-Allelen kann Ausdruck dafür sein, daß ein DQ-Heterodimer an der Pathogenese des Morbus Basedow beteiligt ist.
7. Es besteht eine negative Assoziation zum Merkmal A10. Dieses Merkmal könnte eine protektive Wirkung hinsichtlich der Entstehung eines Morbus Basedow besitzen bzw. Ausdruck „schützender Einflüsse“ sein.
8. Es sind keine signifikanten Unterschiede der HLA-Merkmale zwischen Patienten mit alleinigem Morbus Basedow (solitäre organspezifische Autoimmunerkrankung, SOSA) und Patienten mit Morbus Basedow im Rahmen einer kombinierten organspezifischen Autoimmunerkrankung (KOSA) festzustellen.

9. Es sind keine signifikanten Unterschiede der HLA-Merkmale zwischen Patienten mit und Patienten ohne Immunorbitopathie festzustellen.

10. Es sind keine HLA-Merkmale nachgewiesen worden, die sich als sichere prädiktive Marker eignen (Voraussage einer weiteren organspezifischen Autoimmunerkrankung oder einer Immunorbitopathie).

11. Es ist evident, daß dem HLA-System eine Rolle in der Pathogenese des Mb. Basedow und der Immunorbitopathie zukommt. Gene außerhalb des HLA-Systems spielen jedoch wahrscheinlich eine zusätzliche Rolle.