

UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF

Institut für Neuroimmunologie und Multiple Sklerose

Prof. Dr. med. Manuel Friese

Direktor des Instituts

Einfluss von Multiple Sklerose-assoziierten HLA-Klasse-II-Molekülen auf den Krankheitsverlauf

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

vorgelegt von:

Nika Heidari

aus Teheran/Iran

Hamburg 2014

**Angenommen von der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 28.09.2015**

**Veröffentlicht mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.**

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: Prof. Dr. Thomas Eiermann

Prüfungsausschuss, zweite/r Gutachter/in: Prof. Dr. Christoph Heesen

Prüfungsausschuss, dritte/r Gutachter/in: Prof. Dr. Kai Gutensohn

1	ARBEITSHYPOTHESE UND FRAGESTELLUNG.....	1
2	EINLEITUNG	2
2.1	MULTIPLE SKLEROSE.....	2
2.1.1	<i>Epidemiologie</i>	3
2.1.2	<i>Pathogenese und Risikofaktoren</i>	3
2.2	DIAGNOSTIK DER MULTIPLER SKLEROSE.....	6
2.2.1	<i>Magnetresonanztomographie (MRT)</i>	8
2.2.2	<i>Liquoruntersuchung</i>	10
2.2.3	<i>Evozierte Potenziale (EP)</i>	11
2.3	VERLAUFSFORMEN	11
2.4	SYMPTOMATIK UND PROGNOSE	12
2.5	HUMANES LEUKOZYTEN-ANTIGEN (HLA).....	13
2.5.1	<i>Nomenklatur</i>	14
2.5.2	<i>HLA und Multiple Sklerose</i>	16
3	MATERIAL UND METHODEN.....	17
3.1	DATENERHEBUNG DER KOHORTEN	17
3.2	DATENERHEBUNG HLA	19
3.2.1	<i>Nachweismethoden</i>	19
3.2.2	<i>Lymphozytotoxizitätstest (LCT)</i>	19
3.2.3	<i>Polymerasekettenreaktion (PCR)</i>	20
3.2.4	<i>Durchführung der PCR</i>	20
3.2.5	<i>PCR-Sequence-specific oligonucleotides (PCR-SSO)</i>	21
3.2.6	<i>Reverse PCR-SSO</i>	21
3.2.7	<i>PCR-sequence- specific Primer (PCR-SSP)</i>	21
3.2.8	<i>Sequence-based typing (SBT)</i>	22
3.2.9	<i>Tabelle HLA</i>	22
3.3	DURCHFÜHRUNG DER UNTERSUCHUNGEN.....	23
3.3.1	<i>MS-Patienten</i>	23
3.3.2	<i>Kontrollgruppe</i>	24
3.4	DATENANALYSE	24
3.4.1	<i>Statistische Analyse</i>	24
4	ERGEBNISSE	26
4.1	KOHORTE MS-PATIENTEN	26
4.2	VERLAUFSFORM MS-KOHORTE	26
4.3	EXPANDED DISABILITY STATUS SCALE (EDSS)- WERTE	27
4.4	PROGRESSION	28
4.5	KONTROLLKOHORTE	30
4.6	ERGEBNISSE DER HLA-AUSWERTUNG.....	30
4.6.1	<i>MS-Patienten</i>	31
4.6.2	<i>Kontrollkohorte</i>	35
4.7	HLA-HAPLOTYP DRB5*01:01~DRB1*15:01~DQA1*01:02~DQB1*06:02.....	40
4.7.1	<i>Vergleich MS-Patienten und Kontrollkohorte: DRB1*15:01</i>	40

4.7.2	<i>MS-Patienten</i>	42
4.7.3	<i>Verlaufsformen DRB1*15:01-positive Patienten</i>	46
4.7.4	<i>Progression</i>	52
4.7.5	<i>Kontrollkohorte</i>	59
5	DISKUSSION	61
6	ZUSAMMENFASSUNG	69
7	LITERATURVERZEICHNIS	71
7.1	EIGENE VERÖFFENTLICHUNGEN	78
7.2	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	79
7.3	ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....	80
7.4	TABELLENVERZEICHNIS	81
8	DANKSAGUNG	82
9	EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG	83

1 Arbeitshypothese und Fragestellung

Die Multiple Sklerose (im Folgenden als MS abgekürzt) ist eine primär entzündliche Erkrankung des zentralen Nervensystems (ZNS). Sie ist die häufigste neurologische Erkrankung im jungen Alter und gilt als am häufigsten zu einer Behinderung führenden Erkrankung junger Menschen (Milo und Kahana 2009). Die Ätiologie der MS ist noch weitestgehend unbekannt. Genetische, immunologische und Umweltfaktoren werden herangezogen, um die Komplexität und Heterogenität der Erkrankung zu erklären. (ebd.). Im Mittelpunkt dieser Arbeit steht die Erforschung des genetischen Risikos, an MS zu erkranken. Im Speziellen wird untersucht, ob und inwiefern HLA-Typen und – Konstellationen einen Einfluss auf den Verlauf und die Prognose der Erkrankung haben. Das Ziel der Arbeit ist es herauszufinden, ob der in der Literatur für Westeuropäer (Kaukasier) als größtes genetisches Risiko geltende HLA-Haplotyp

DRB5*01:01~DRB1*15:01~DQA1*01:02~DQB1*06:02 (kurz: DRB1*15:01) in der vorliegend bearbeiteten MS-Kohorte ebenfalls einen genetischen Risikofaktor darstellt. Es werden in erster Linie HLA-Klasse-II-Allele untersucht. Bei einigen Patienten (etwa 30%) werden zusätzlich HLA-Klasse-I-Allele untersucht, da wissenschaftliche Befunde vorliegen, die bestätigen, dass HLA-Klasse-I-Allele einen ebenfalls modulierenden Einfluss auf die MS haben. Hierfür werden zunächst die Häufigkeiten der HLA-Klasse-I und HLA-Klasse-II-Allele der MS-Patienten untersucht. Diese Frequenzberechnungen werden auch in der Kontrollkohorte durchgeführt. In der Kohorte der MS-Patienten werden die Frequenzen für festgelegte klinische Parameter bestimmt. Folgenden Fragen soll anhand der weiteren Berechnungen nachgegangen werden:

Wie häufig kommt DRB1*15:01 mit den in der Literatur als relevant erscheinenden HLA-Klasse-I-Allele A2, A3, B7 und B44 vor? Gibt es diesbezüglich eine Besonderheit bei den DRB1*15:01-Homozygoten? Welchen Einfluss hat DRB1*15:01 auf die Verlaufsform der MS? Verändern sich die Häufigkeiten der Verlaufsformen bei der Kombination von DRB1*15:01 mit den genannten HLA-Klasse-I-Allelen? Ergibt eine bestimmte Kombination einen milderen oder aggressiveren Verlauf?

Die Berechnungen sollen den Effekt des genannten Haplotyps bzw. der Allelkombination auf die Schwere und den Verlauf der MS in der vorliegenden Kohorte darstellen. Hierbei wird die Progression der Erkrankung eine zentrale Rolle spielen, die anhand von EDSS-Wert und MS-Dauer berechnet werden soll. Das Ziel dieser Arbeit ist es zu untersuchen,

ob die genetischen Parameter einen Einfluss auf die Progression der Erkrankung haben. Weitere Fragen, denen daher nachgegangen werden soll, sind:

Wie wirkt sich DRB1*15:01 im heterozygoten Zustand auf den Progress der Erkrankung aus? Zeigt sich ein aggressiverer Progress der Homozygoten? Wie verläuft die Erkrankung bei DRB1*15:01-positiven Patienten, die eine Allelkombination mit HLA-A2, -A3, -B7 und/oder -B44 zeigen?

Abschließend soll in der Diskussion erörtert werden, ob in der vorliegenden Kohorte eine Relevanz für das Auftreten, den Verlauf, sowie den Progress der MS im Zusammenhang mit den genannten HLA-Allelen besteht. Es soll in der Diskussion außerdem besprochen werden, ob sich ein genetisches Screening bei betroffenen Eltern(teilen) oder MS-typischen Zufallsbefunden im MRT anbietet und welche Konsequenzen dies hätte.

2 Einleitung

2.1 Multiple Sklerose

Die Multiple Sklerose ist eine Erkrankung des zentralen Nervensystems (ZNS), bei der die lokalen Ansammlungen von Lymphozyten zu einer Zerstörung und Sklerosierung der Myelinscheide und der Axone führen (Compston und Coles 2008). Bei den meisten Patienten spiegeln die Symptome eine Beteiligung des motorischen, sensorischen, visuellen und autonomen Systems wider (ebd.).

Als typische Symptome gelten spastische Paresen, Extremitäten- und Gangataxie, Sehschwäche, Missempfindungen und Blasen- und Sexualstörungen. Jedoch ist die klinische Manifestation der MS sehr vielfältig, da der beschriebene entzündliche und anschließend sklerosierende Prozess jeden Abschnitt des ZNS, meist die weiße Substanz, betreffen kann. Auch der Verlauf der MS ist variabel, so kann es zu schubförmigen neurologischen Symptomen genauso wie zum progredienten Auftreten der Symptome kommen (Lublin et al. 1996). Für die Diagnosestellung ist die Dissemination in Zeit und Raum bedeutend (Milo und Kahana 2009).

Das weibliche Geschlecht ist mehr als doppelt so häufig betroffen, wie das männliche. Des Weiteren zeigt sich ein Altersgipfel zwischen dem 20. und dem 40. Lebensjahr (Sospedra und Martin 2005). Weitere Einzelheiten zu der Erkrankung werden in den folgenden Kapiteln besprochen.

2.1.1 Epidemiologie

Weltweit leben etwa 2-2,5 Millionen an MS erkrankte Menschen (Milo und Kahana 2009). Die Prävalenz, das heißt die Zahl der in einer Bevölkerung gleichzeitigen Erkrankungsfälle, liegt zwischen 60-200/100 000 in Nordeuropa und Nordamerika und variiert zwischen 6-20/100 000 in Ländern mit geringem Erkrankungsrisiko (z.B. Japan) (Sospedra und Martin 2005).

Hein und Hopfenmüller errechneten in ihrer Studie (2000), dass in Deutschland 122.000 Menschen mit MS leben.

Allgemein unterliegt die Prävalenzrate der MS einem Nord-Süd-Gefälle unabhängig von genetischen Faktoren (Ebers 1993). Auch Kurtzke beschreibt eine geographische Verteilung der MS. Er unterscheidet, abhängig von der MS-Frequenz, drei Zonen mit hoher (mind. 30/100.000), mittlerer und niedriger (<5/100.000) Prävalenz. Zu den Regionen mit hohem MS-Risiko zählen die meisten Teile Europas, Israel, Kanada, Teile Australiens, Neuseeland und der Osten Russlands. (Kurtzke 2000).

2.1.2 Pathogenese und Risikofaktoren

Die Ätiologie der MS ist nicht vollständig geklärt und ist weiterhin Thema vieler Forschungsgruppen. Die am häufigsten gebrauchte Theorie zur Entstehung der MS beruht auf der Bildung autoaggressiver CD4+ T-Zellen, die der Deletion im Thymus während der Kontrollmechanismen neugebildeter Lymphozyten entgangen sind. Die Zellen richten sich gegen MBP (Myelin-basisches Protein) oder andere Proteine des ZNS. Eine Hypothese bezüglich der Entstehung von MS bezieht sich auf die Aktivierung primär inaktiver, unterdrückter oder sogenannter „ignorant cells“. Es wird vermutet, dass die Entstehung der autoreaktiven T-Zellen auf einem molekularen Mimikry während bakterieller oder viraler Infektionen beruht (Hohlfeld 1997). Die oben beschriebene Zerstörung der weißen Substanz des ZNS wird durch weitere Komponenten des Immunsystems vermittelt, wie Antikörper, das Komplementsystem, CD8+ T-Zellen und die Freisetzung der angeborenen Immunzellen (NK-Zellen). Störungen der Immunmodulation durch beispielsweise Th2 Zellen, regulatorische CD4+ Zellen und natürliche Killerzellen können für das Auftreten der MS in Schüben bzw. für den chronisch progredienten Verlauf der Erkrankung verantwortlich sein (Sospedra und Martin 2005).

Das pathologische Merkmal der Multiplen Sklerose ist die demyelisierte Plaque, die aus einem abgrenzbaren hypozellulären Bereich durch den Verlust von Myelin und der

Ausbildung astrozytärer Narben besteht. Die Läsionen finden sich bevorzugt am N. opticus, periventrikulär, im Hirnstamm, Kleinhirn und Rückenmark und sind häufig von mittelgroßen Gefäßen umgeben (Noseworthy et al. 2000).

Neben dem beschriebenen entzündlichen Geschehen gibt es noch den neurodegenerativen Bestandteil der Erkrankung. Während des anfänglichen schubförmigen Zeitraums der Erkrankung, scheint die entzündlich-demyelinisierende Komponente pathophysiologisch vorzuherrschen. Histopathologisch unterscheidet man vier Subtypen der Multiplen Sklerose. Bei den Subtypen I und II herrscht der Makrophagen- bzw. T-Zell-vermittelte Entmarkungshergang vor, wobei bei den Subtypen III und IV eine primäre Erkrankung der Oligodendroglialzellen vorliegt (Lassmann et al. 2001). Beim progressiven Verlauf jedoch dominiert der neurodegenerative Vorgang mit axonaler Schädigung (Brück und Stadelmann 2003).

Neben der Ätiologie sind auch die Risikofaktoren der Erkrankung weiterhin Gegenstand intensiver Forschung. Migrationsstudien haben gezeigt, dass das Risiko, an MS zu erkranken von dem Alter abhängig ist, in dem die Auswanderung stattfindet. So nehmen Personen unter ihrem 15. Lebensjahr das Risiko des zu immigrierenden Landes an, während Migranten über 15 Jahren das Risiko ihres Ursprungslandes beibehalten. Diese Ergebnisse lassen die Hypothese zu, dass Umweltfaktoren in der Kindheit einen Einfluss auf das Erkrankungsrisiko haben und, durch die Festlegung der Altersschwelle bei 15 Jahren, die persönliche Prädisposition eine Rolle fürs Erkrankungsrisiko spielt (Kurtzke 2000). Die Erkrankungswahrscheinlichkeit kann sich bei Migration aus einem Hochrisikogebiet in ein Niedrigrisikogebiet verringern (Dean 1967).

Die geographische Abhängigkeit des Auftretens der MS wird von manchen Autoren durch genetische Faktoren erklärt. Bulman und Elbers (1996) gehen davon aus, dass die geographische Aufteilung der MS durch die Verteilung der Skandinavier in den USA und Europa zu erklären sei. Weiterhin gibt es Ethnien aus den skandinavischen Ländern und Schottland, die sehr anfällig für die Erkrankung sind, wobei u.a. in Japan und China, außerdem unter Afroamerikanern und Eskimos die MS-Rate sehr niedrig ist (Milo und Kahana 2009).

Ein weiterer Hinweis auf die genetische Komponente ist das familiär gehäufte Auftreten der MS. Das Risiko zu erkranken hängt vom Grad der Verwandtschaft zur erkrankten

Person ab. So haben Verwandte ersten Grades eine höhere Wahrscheinlichkeit (3%) ebenfalls an MS zu erkranken, als Verwandte zweiten Grades (1%) (Compston und Coles 2008). Die Relevanz der genetischen Faktoren wurde außerdem durch Zwillingsstudien bestätigt. Hawkes und Macgregor fanden eine Konkordanzrate von 25-30% und einen Erblichkeitsindex von 0,25-0,76 bei eineiigen Zwillingen. Etwa 20% der MS-Patienten haben mindestens einen betroffenen Verwandten (ebd.).

Die Studien sprechen eher für eine genetische Disposition, als für ein genetisches Risiko im Sinne der Mendelschen Erbgänge. Seit etwa zwei Jahrzehnten ist bekannt, dass ein bestimmter HLA-Klasse-II-Haplotyp, nämlich DRB5*01:01~DRB1*15:01~DQA1*01:02~DQB1*06:02 bei Westeuropäern (Kaukasiern) den größten Teil des genetischen Risikos vermittelt, an MS zu erkranken (Sospedra und Martin 2005). Populationen mit einer hohen Frequenz dieses Haplotyps haben das größte Risiko, an MS zu erkranken (Noseworthy et al. 2000). Der genannte Haplotyp vermittelt sowohl bei heterozygoten, sowie bei homozygoten Trägern den größten Teil des genetischen Risikos, wobei bei homozygoten Trägern das Risiko nochmals erhöht ist. 2003 teilten Barcellos und Kollegen MS-Patienten nach ihrem EDSS nach einer bestimmten Anzahl von Jahren in „Mild MS“ und „Non-mild MS“ ein und fanden signifikant weniger homozygote Patienten für den genannten Haplotyp in der Kohorte „Mild MS“. Es wurde kein signifikanter Einfluss des genetischen Risikofaktors auf die Verlaufsform und die Erstmanifestation der MS gefunden (Barcellos et al. 2003).

Trigger der Erkrankung kann bei genetischem Risiko eine virale Infektion sein. So erhöht eine Infektion mit dem Epstein-Barr-Virus das Risiko, an MS zu erkranken (Compston und Coles 2008). Als weiterer Risikofaktor wird der Vitamin D-Mangel diskutiert. Laut Ebers (2008) wird der Zusammenhang zwischen Multivitamin-Einnahme und niedrigem MS-Risiko bei Krankenschwestern auf die Einnahme von Vitamin D zurückgeführt. Weiterhin gibt Ebers (2008) an, dass die erhöhte Prävalenz für MS bei Personen, die im Mai geboren sind, einem Mangel an Vitamin D der Mutter in den Wintermonaten geschuldet sein kann. Der genannte Haplotyp DRB5*01:01~DRB1*15:01~DQA1*01:02~DQB1*06:02, der bei Kaukasiern das größte genetische Risiko vermittelt, an MS zu erkranken, hat einen „Vitamin D Response Element (VDRE)“ in der proximalen Promoterregion des HLA-DRB1. Dieser verbindet den wichtigsten Umweltfaktor mit dem genetischen Faktor der MS (Ramagopalan et al. 2009). In der Studie von Ramagopalan et al. (2009) war das genannte VDRE bei allen Patienten mit dem genannten Haplotyp vorhanden, weiterhin war

eine Anzahl an Nukleotiden bei allen Individuen, die den genannten Haplotyp nicht hatten, ausgetauscht.

2.2 Diagnostik der Multiplen Sklerose

Grundlage für die Diagnostik der MS sind die ausführliche Anamnese, die neurologische Untersuchung und weitere diagnostische Untersuchungsmethoden, wie die Kernspintomographie von Kopf und Halswirbelsäule, Liquorpunktion und elektrophysiologische Verfahren, wie Visuell evoziertes Potenzial (VEP), Somatosensibel evoziertes Potenzial (SEP) und Motorisch evoziertes Potenzial (MEP). Hauptkriterium für die Diagnose der MS ist die Dissemination der entzündlichen Entmarkungsherde im ZNS in Raum und Zeit. Die Dissemination im Raum besagt, dass die Beschwerden an zwei unterschiedlichen Orten des ZNS auftreten müssen (z.B. Sehnerventzündung und Hirnstammsyndrom). Die Dissemination in der Zeit fordert, dass die Symptome bzw. Läsionen zu unterschiedlichen Zeitpunkten stattgefunden haben müssen.

Um die Diagnosekriterien für die MS zu vereinheitlichen, werden seit 2001 vor allem die McDonald-Kriterien genutzt (McDonald et al. 2001). Damit wurden die bis dahin gebräuchlichen Kriterien nach Schuhmacher (1965) und Poser (1983) in den Hintergrund gedrängt.

Die 1965 von Schuhmacher veröffentlichten Kriterien stützen sich vor allem auf den klinisch-neurologischen Untersuchungsbefund und fordern zwei Schübe und den Nachweis von mindestens zwei Läsionen. Poser fügte 1983 erstmals auch die paraklinischen Befunde aus Liquorpunktion und Elektrophysiologie hinzu und schränkte damit auch den Gebrauch des Begriffes „mögliche MS“ ein (Poser et al. 1983). Beiden Diagnosekriterien ist gemein, dass mindestens zwei Schübe nötig sind, um die Diagnose MS zu stellen und weiterhin, dass das MRT als diagnostisches Mittel nicht herangezogen wird.

Die Kriterien nach McDonald (2001) beruhen vor allem auf dem klinischen Untersuchungsbefund und auf dem kernspintomographischen Nachweis von Läsionen (siehe unten, Tabelle 1). Diese werden mit weiteren paraklinischen Befunden (siehe Tabelle 1) herangezogen, um die Diagnose MS zu stellen. Ein Nachweis der räumlichen und zeitlichen Dissemination war hiermit klinisch ohne einen zweiten Schub zu erbringen, was die Diagnosestellung bereits bei Vorliegen eines Schubes möglich machte (McDonald et al. 2001). 2005 gab es eine Revision der Kriterien, die auf der Grundlage der klinischen

Erfahrung die Diagnosestellung zeitiger möglich machte und vereinfachte. Im Folgenden ist eine Tabelle mit den Kriterien nach McDonald aufgeführt.

Tabelle 1: McDonald-Kriterien von 2001 (modifiziert nach McDonald et al. 2001)

Klinische Präsentation	Zusätzliche Daten, die für die Diagnose MS benötigt werden
Zwei oder mehr Schübe; objektive klinische Nachweise von Zwei oder mehr Läsionen Zwei oder mehr Schübe; objektiver klinischer Nachweis von einer Läsion	Keine (a) Dissemination im Raum, dargestellt durch MRT (b) <i>oder</i> zwei oder mehr MRT-Läsionen vereinbar mit MS und ein positiver Liquorbefund (c) <i>oder</i> ein weiterer klinischer Schub
Ein Schub ; objektive klinische Nachweise von zwei oder mehr Läsionen Ein Schub; objektiver klinischer Nachweis einer Läsion (monosymptomatische Präsentation)	Dissemination in der Zeit im MRT (b) <i>oder</i> Zweiter klinischer Schub Dissemination im Rau im MRT (b) <i>oder</i> zwei oder mehr MS-spezifische MRT-Läsionen plus positiver Liquorbefund <i>und</i> Dissemination in der Zeit im MRT <i>oder</i> Ein zweiter Schub
Schleichendes neurologisches Fortschreiten der Symptome (bei Verdacht auf MS)	Positiver Liquorbefund <i>und</i> Dissemination im Raum, dargestellt durch 1) Neun oder mehr T2-Läsionen im Gehirn <i>oder</i> 2) Zwei oder mehr Läsionen im RM <i>oder</i>

	<p>3) 4-8 craniale plus eine RM-Läsion im MRT <i>oder</i></p> <p>Abnormales VEP (e) assoziiert mit 4-8 cranialen Läsionen oder mit weniger als vier kranialen Läsionen und einer RM-Läsion im MRT <i>oder</i></p> <p>Dissemination dargestellt im MRT (d) <i>oder</i></p> <p>Kontinuierliche Krankheitsprogression über ein Jahr</p>
--	--

- a) Kein zusätzlicher Test ist mehr erforderlich. Wenn diagnostische Tests (MRT, LP) ein negatives Ergebnis erbringen, sollte eine MS-Diagnose unter Vorbehalt gestellt werden. Es muss an Differentialdiagnosen gedacht werden.
- b) Das MRT weist die räumliche Dissemination durch Erfüllen der Barkhof/Tintoré- (siehe unten) Kriterien nach.
- c) Positiver Liquorbefund durch oligoklonale Banden bzw. erhöhten IgG-Index.
- d) Das MRT weist die zeitliche Dissemination durch Erfüllen der Barkhof/Tintoré-Kriterien nach (siehe unten).
- e) Pathologisches VEP mit verzögerter Welle.

Das MRT ermöglicht als diagnostisches Mittel den Nachweis der Dissemination in Raum und Zeit. Ein Schub ist nach McDonald definiert als ein neurologisches Symptom, das mindestens 24 Stunden anhält. Weiterhin muss mindestens ein Zeitabstand von 30 Tagen zum vorherigen Schub vorliegen und er darf nicht im Rahmen einer Infektion oder durch eine Temperaturerhöhung hervorgerufen worden sein (McDonald et al. 2001).

2.2.1 Magnetresonanztomographie (MRT)

In der Diagnostik der MS kommt dem MRT eine zentrale Bedeutung zu. Die Untersuchung kann die Disseminationen in Raum und Zeit nachweisen, so zeigt sich eine räumliche Dissemination durch Herde an unterschiedlichen Orten des ZNS (zum Beispiel periventrikulär und im Rückenmark), die zeitliche Dissemination zeigt sich durch die Darstellung sowohl älterer und als auch aktiver Herde.

Das Signal des Tomographen ist u.a. abhängig vom Magnetfeld, von der T1-Relaxationszeit (wie schnell das Gewebe wieder erregt werden kann) und der T2-Relaxationszeit (Länge des Signals) (Pabst 2013). Für die MS-Diagnostik sind vor allem die Wichtungen T2 (bzw. FLAIR) und T1 von Bedeutung, letztere sowohl nativ als auch nach Kontrastmittelgabe. In den T2 gewichteten Bildern (bzw. FLAIR-Sequenzen) wird das Vorliegen von MS-verdächtigen Entzündungsherden beurteilt. Diese stellen sich hyperintens, homogen und rundlich-scharf begrenzt bis konfluierend dar. Prädilektionsstellen für die MS-Herde liegen perivaskulär in der weißen Substanz, im Nervus opticus, im Kleinhirn oder spinal (Frohman et al. 2003). Weiterhin finden sich die Herde häufig periventrikulär (z.B. im Corpus callosum) und zeigen hier eine ovoide Form mit Ausläufern, die sogenannten Dawson fingers (Fog 1965). Die Herde sind zwar typisch, aber nicht pathognomonisch für die MS, sie können auch bei anderen Erkrankungen auftreten (Nielsen et al. 2005). In den T1 gewichteten Bildern werden die Kontrastmittelanreicherungen begutachtet. Das paramagnetische Kontrastmittel Gadolinium-DTPA bildet die Krankheitsaktivität ab, indem es sich in akut-entzündlichen Herden durch krankheitsbedingte Störungen der Blut-Hirn-Schranke anreichert (Katz et al. 1993). Weiterhin können in den T1 gewichteten Bildern black holes detektiert werden, welche über einen längeren Zeitraum bestehende hypointense Areale darstellen. Black holes gelten als Indikator für bleibende Destruktion des Nervengewebes, genauer handelt es sich hierbei um axonale Schäden, deren Häufigkeit mit dem Grad der Beeinträchtigung der Patienten korreliert (Truyen et al. 1996).

Das MRT ist der sensitivste paraklinische Nachweis der MS, so zeigen 95% der Patienten mit klinisch definierter MS Veränderungen in der kernspintomographischen Bildgebung (Paty et al. 1988). Zu beachten ist aber, dass die Korrelation zwischen kernspintomographischem Befund und klinischer Beeinträchtigung nur eingeschränkt gegeben ist (Goodin 2006).

Auch für die Beurteilung via MRT gibt es gültige Diagnosekriterien, um die Bewertung der Bildgebung zu standardisieren. Die Kriterien von Fazekas et al. (1988), Paty et al. (1988) und Offenbacher et al. (1993) wurden 1997 von den heute als Goldstandard eingesetzten Kriterien nach Barkhof abgelöst. Die Gruppe um Frederik Barkhof hat 74 Patienten mit einem klinisch isolierten Syndrom (CIS) im MRT untersucht und retrospektiv diejenigen Kriterien erarbeitet, die den höchsten prädiktiven Aussagewert und

die höchste Spezifität für die Entwicklung einer klinisch sicheren MS abbilden (Barkhof et al. 1997). Als zeitliche Dissemination fordert Barkhof einen Zeitraum von mindestens drei Monaten bis zum Auftreten neuer kontrastmittelanreichernder Herde (ebd.). 2005 wurden die Diagnose- und MRT-Kriterien nochmals überarbeitet, seitdem darf die Diagnose bereits bei einem MRT-Befund nach vier Wochen gestellt werden. Die Kriterien zur Erfüllung der räumlichen Dissemination nach Barkhof sind in der folgenden Tabelle 2 aufgeführt.

Tabelle 2: MRT-Kriterien zur räumlichen Dissemination (Barkhof et al. 1997 und Tintoré et al. 2000)

Drei der folgenden vier Kriterien müssen erfüllt sein:

- Eine gadoliniumanreichernde oder > 9 T2-Hyperintensitäten
 - Eine infratentorielle Läsion
 - Eine juxtakortikale Läsion
 - Drei periventrikuläre Läsionen
- (eine spinale Läsion kann eine kortikale Läsion ersetzen)

2.2.2 Liquoruntersuchung

Im Rahmen der MS-Diagnostik werden im Liquor die Bestimmung der Zellzahl und eine qualitative und quantitative Untersuchung enthaltener Proteine durchgeführt. Es gibt keinen pathognomonischen Marker für die MS, jedoch existiert eine typische Konstellation der genannten Parameter. Des Weiteren ist die Untersuchung des Liquors von Bedeutung, um die MS von ihren Differentialdiagnosen Borreliose und Lupus erythematodes abzugrenzen (Freedman et al. 2006).

Eine leicht normale bis leicht erhöhte Zellzahl ist typisch für die MS, bei den Zellen handelt es sich größtenteils um aktivierte Lymphozyten, die eine Konzentration von 50/ μ l nicht überschreiten sollten (McDonald et al. 2001).

Bei der Bestimmung des Proteingehaltes im Liquor ist das Serum das Referenzmedium. Die Analyse im Liquor gibt Aufschluss darüber, ob Proteine wie Albumin oder die Immunglobuline A, G und M im Nervenwasser enthalten sind. Typisch für MS ist die intrathekale Synthese von IgG, welche eine Entzündungsreaktion im ZNS kennzeichnet, die zu einer Störung der Blut-Hirn-Schranke führt. Die Proteine gelangen so in den Liquor und verursachen eine Eiweißerhöhung. Der qualitative Nachweis des IgG lässt sich mittels

Gelelektrophorese des Liquors erreichen, welche, im Gegensatz zur Elektrophorese des Serums, die oligoklonalen Banden aufzeigt und somit eine intrathekale Synthese nachweist. Die Spezifität der oligoklonalen Banden liegt bei gesicherter MS bei bis zu 95% (Link und Huang 2006). Weiterhin bestimmt man im Rahmen der MS-Diagnostik die MRZ-Reaktion, eine intrathekale Synthese von Antikörpern gegen Masern-, Röteln- und Varizella-Zoster-Virus (Tumani et al. 1998).

2.2.3 Evozierte Potenziale (EP)

Bei den Evozierten Potenzialen wird die kortikale elektrische Antwort auf periphere Stimuli mittels EEG-Elektroden abgeleitet. So werden die Leitgeschwindigkeiten zwischen unterschiedlichen Strukturen des Nervensystems gemessen. Da die erzielten Potenziale sehr klein sind ($<5\mu\text{V}$), muss eine große Anzahl von Reizantworten gemittelt werden, so kann man beim Gesunden mit einer bestimmten Latenz definierte kortikale Potenziale finden (Berlit 2000). Bei der MS spielen die EPs eine Rolle beim Nachweis der räumlichen Dissemination, vor allem die Bestimmung der visuell evozierten Potenziale wird im Rahmen der Diagnostik eingesetzt (Gronseth et al. 2000). MS-Patienten zeigen auf Grund der Demyelinisierung im Gegensatz zu gesunden Probanden eine Latenzverzögerung und eine Verringerung der Amplitude (Alshuaib 2000). Weiterhin werden bei der MS-Diagnostik somatosensible evozierte Potenziale, motorisch evozierte Potenziale und akustisch evozierte Hirnstammpotenziale eingesetzt (Beer et al. 1995).

2.3 Verlaufsformen

MS wird auf internationaler Ebene in drei Verlaufsformen eingeteilt: schubförmige MS (relapsing-remitting, RRMS), primär chronisch progrediente (PPMS) und sekundär chronisch progrediente MS (SPMS) (Lublin et al. 1996).

Mit 80% die häufigste Form bei Krankheitsbeginn ist die schubförmige MS (Noseworthy et al. 2000). Sie ist durch abgrenzbare Krankheitsschübe gekennzeichnet, zwischen denen vollständige Erholung stattfindet. Es kann zwar zu Residuen kommen, zwischen den Schüben kommt es allerdings zu keiner Krankheitsprogression. Der primär chronisch progrediente Verlauf ist durch Progression der Erkrankung ab der Erstmanifestation charakterisiert und Plateauphasen sowie Phasen mit geringgradiger Verbesserung können eintreten. Lediglich 10-15% der Patienten zeigen zu Beginn einen primär chronisch progredienten Verlauf (Thompson et al. 1997). Die sekundär chronisch progrediente Form

der MS verläuft zunächst wie die RRMS in Schüben, nimmt aber dann einen chronischen Verlauf mit kontinuierlicher Verschlechterung ein. Auch hier können Plateauphasen und Phasen geringfügiger Verbesserung auftreten (Lublin et al. 1996). 30-40% der Patienten mit schubförmigem Verlaufstyp zeigen nach 10-15 Jahren einen sekundär chronisch progredienten Verlauf (Weinshenker et al. 1989), nach 20 Jahren sind es sogar 90% der Patienten (Trojano et al. 2003).

2.4 Symptomatik und Prognose

Die MS wird auch als die Krankheit der tausend Gesichter bezeichnet – kein Symptom ist pathognomonisch oder im Einzelnen typisch für die MS. Da die entzündlichen Herde im gesamten zentralen Nervensystem auftreten können, sind auch die Symptome sehr vielfältig und variabel. Es werden aber typische Erstmanifestationen beschrieben, wie Schleiersehen oder Bulbusbewegungsschmerz durch eine Sehnerventzündung, Kribbelparästhesien an Armen und Beinen durch eine Myelitis oder Doppelbilder und Schwindel bei Hirnstammsyndrom. Das Fatigue-Syndrom, das ein Ermüdungs- und Erschöpfungssyndrom darstellt, sowie Schmerzen treten meist erst im späteren Verlauf der Erkrankung auf (Richards et al. 2002).

Für den Verlauf dieser Arbeit von hoher Relevanz bzgl. der Prognose ist das Vorhandensein/die Abwesenheit bestimmter HLA-Moleküle (s.u.). In der Literatur finden sich bezüglich der MS sowohl protektive HLA-Allele als auch jene, die das Risiko, zu erkranken erhöhen. Zu den protektiven Allelen gehören die HLA-Klasse-I-Allele A2 (Fogdell-Hahn et al. 2000) und B44 (Healy et al. 2010). Der bekannteste Haplotyp als Risikofaktor für die Entwicklung einer MS ist, wie oben beschrieben, der HLA-Klasse-II-Haplotyp DRB5*01:01 DRB1*15:01 DQA1*01:02 DQB1*06:02 (Sospedra und Martin 2005). Des Weiteren stellen die HLA-Klasse-I-Allele A3 (Mc Mahon et al. 2011) und B7 (Fogdell-Hahn et al. 2000) genetische Risikofaktoren für die Erkrankung an MS dar.

Confavreux et al. (2003) identifizieren in ihrer Studie das Geschlecht, das hohe Alter bei Krankheitsbeginn, den primär chronisch progredienten Krankheitsverlauf sowie paraklinische Untersuchungsbefunde, z.B. eine hohe Läsionslast in der Kernspintomographie, als Faktoren, die den Progress der Erkrankung beeinflussen. Mastermann et al. (2000) beschreiben in ihrer Kohorte, dass MS-Patienten mit dem genannten Risiko-Haplotyp ein früheres Alter bei Erstmanifestation aufweisen als MS-Patienten, die den genannten Haplotyp nicht haben.

Ebenfalls entscheidend für den Verlauf und die Prognose der MS ist die EDSS (Expanded Disability Status Scale). Bei jeder Konsultation wird der EDSS-Wert anhand einer standardisierten neurologischen Untersuchung erfasst, hierbei kann ein Wert zwischen 0 (normaler neurologischer Untersuchungsbefund) und 10 (Tod durch MS) erreicht werden (Kurtzke 1983). Der EDSS-Wert ist ein punktueller Wert, der den zeitlichen Verlauf der Erkrankung sowie den Progress der Erkrankung nicht berücksichtigt (Hughes et al. 2012). Um den zeitlichen Verlauf der Erkrankung in die Berechnung mit einzubeziehen, muss der Progressionsindex herangezogen werden. Der Progressionsindex wird berechnet anhand des aktuellen EDSS-Wertes geteilt durch die Anzahl der Jahre nach Erkrankungsbeginn (Weinshenker et al. 1998), dem „Global MS severity score“ (Barcellos et al. 2006). Im Folgenden wird auf das Humane Leukozyten-Antigen (HLA) eingegangen, das als genetischer Risikofaktor bzw. mit protektivem genetischen Potenzial (siehe unten) hochrelevant für die vorliegende Arbeit ist.

2.5 Humanes Leukozyten-Antigen (HLA)

HLA-Moleküle dienen der Antigenpräsentation sowohl endogener als auch exogener Proteinanteile (Peptide). Man unterscheidet zwei strukturell ähnliche Klassen von HLA-Molekülen. Zu den Klasse-I-Antigenen werden HLA-A, -B und -C gezählt, die sich aus einer Kette und dem beta2-Mikroglobulin zusammensetzen. Sie binden bevorzugt Nonamere (Peptide) endogen gebildeter Proteine (Zell-Proteine, virale Proteine), welche von den CD8+-zytotoxischen T-Zellen erkannt werden. Die Klasse II-Antigene, zu denen HLA-DR, -DQ und -DP gehören, binden größere Peptide (12-15mere) und werden aus einer wenig polymorphen alpha- und einer sehr polymorphen beta-Kette gebildet. Die Peptide der Klasse-II-Moleküle stammen v.a. aus exogenen Proteinen und werden vom T-Zellrezeptor der CD4+-T-Helferzellen gebunden (Waßmuth 2005). Die Gene des HLA-Systems sind auf dem kurzen Arm des menschlichen Chromosoms 6 lokalisiert, welcher einen Genabschnitt von etwa 3500 Kilobasenpaaren umfasst (ebd.). Dieser Abschnitt wird als Haupthistokompatibilitätskomplex (MHC) bezeichnet (ebd.). Da die Gene in dieser Region nah beisammen liegen, wird keine freie Kombination der Merkmale beobachtet, sondern sie werden in der Regel gekoppelt mit dem jeweiligen mütterlichen oder väterlichen Chromosom weitergegeben. Dadurch sind bestimmte Allelkombinationen häufiger, als ihre Allelfrequenz es vermuten ließe, dies bezeichnet man als positives Kopplungsgleichgewicht. Eine starke Kopplung besteht zwischen DRB1 und DQB1; B

und C. Umgekehrt gibt es auch ein negatives Kopplungsgleichgewicht, welches beschreibt, dass bestimmte Haplotypen bisher noch nicht beobachtet wurden (ebd.). Eine schwache Kopplung besteht zwischen A und B, A und C sowie A, B, C und DRB1 bzw. DQB1.

Vor allem die Region der HLA-Klasse-II-Moleküle zeigt eine ausgeprägte Polygenie auf. Im Bereich der HLA-DR-Region sind ein nicht polymorphes alpha-Kettengen (DRA) und mehrere beta-Kettengene kodiert: DRB1-DRB9, von denen nur DRB1, DRB3, DRB4 und DRB5 exprimiert werden (die übrigen sind Pseudogene). Eine Besonderheit der DRB-Region ist, dass die Zahl der DRB-Allele auf einem Chromosom nicht konstant, sondern vom jeweiligen Haplotyp abhängig ist. Das DRB1-Gen wird immer exprimiert, jedoch sind weitere exprimierte DRB-Gene nur bei bestimmten Haplotypen zu finden (ebd.).

2.5.1 Nomenklatur

Die jeweils gültige Nomenklatur wird durch das „WHO Nomenclature Committee for factors of the HLA system“ (Marsh et al.) festgelegt. Dies betrifft die Benennung neuer Gene, Allele und ihrer Genprodukte. Offizielles Repositorium für die festgelegten HLA-Sequenzen ist die IMGT/HLA Sequence Database (ebd.). Die Benennung der HLA-Allele erfolgt wegen der unterschiedlichen Informationen der Resultate aus serologischen und molekularbiologischen Methoden (s.u.) in zwei Stufen. Der immunologisch entstandenen Nomenklatur HLA-B8 entsprechen hiernach die genetisch definierten Merkmale B*08:01 und B*08:02 (Mytilineos et al. 2006). Dabei steht B für den Genort, 08 für das Hauptmerkmal und 01 bzw. 02 für die auf der DNA-Ebene definierten Untermerkmale. Eine hochauflösende Typisierung liegt dann vor, wenn alle vier Ziffern, aus denen ein HLA-Allel besteht, berichtet werden kann (z.B. niedrige Auflösung: HLA-A*02, hohe Auflösung: HLA-A*02:01) (ebd.). Ein 3. und 4. Feld wird zur Bezeichnung von Allelen angehängt, wenn eine „stumme“ Mutation vorliegt, die nicht zu einer Veränderung der Aminosäuresequenz führt. Ein nicht exprimiertes Allel wird mit einem angehängten N gekennzeichnet (ebd.). Abhängig von der klinischen Notwendigkeit wird eine Typisierung anhand unterschiedlicher Nachweismethoden (s.u.) niedrig- oder hochauflösend durchgeführt (ebd.).

Beispiel: HLA-DRB1*15:01:01:01

Die folgende Tabelle 3 zeigt typische HLA-Klasse-II-Haplotypen bei Westeuropäern.

Typische HLA-Klasse-II-Haplotypen bei Westeuropäern (Kaukasiern)

Tabelle 3: Darstellung typischer HLA-Klasse-II-Haplotypen bei Kaukasiern

DRB3*	DRB4*	DRB5*	DRB1*	DQA1*	DQB1*
—	—	—	01:01	01:01	05:01
—	—	—	01:01	01:01	05:04
—	—	—	01:02	01:01	05:01
—	—	—	01:03	01:03	05:01
01:01	—	—	03:01	05:01	02:01
01:01	—	—	03:02	04:01	04:02
—	01:01, 01:03	—	04:01	03:01	03:01
—	01:01, 01:03	—	04:01	03:01	03:02
—	01:01, 01:03	—	04:03	03:01	03:01
—	01:01, 01:03	—	04:03	03:01	03:05
—	01:01, 01:03	—	04:05	03:03	04:02
—	01:01, 01:03	—	04:07	03:01	03:01
—	01:01, 01:03	—	04:08	03:01	03:02
—	01:01, 01:03	—	07:01	02:01	02:02
—	01:03:01:02N	—	07:01	02:01	03:03
—	—	—	08:01	04:01	04:02
—	—	—	08:02	04:01	04:02
—	—	—	08:02	05:01	04:02
—	—	—	08:03	03:03	04:02
—	—	—	08:03	06:01	03:01
—	01:03	—	09:01	03:02	03:03
—	—	—	10:01	01:05	05:01
02:02	—	—	11:01	05:05	03:01
02:02	—	—	11:02	05:05	03:01
02:02	—	—	11:03	05:05	03:01
02:02	—	—	11:04	05:05	03:01
02:02	—	—	11:04	01:02	05:02
02:02	—	—	12:01	05:05	03:01
01:01, 02:02	—	—	13:01	01:03	05:02
01:01, 02:02	—	—	13:01	01:03	06:03

03:01	—	—	13:02	01:02	06:04
03:01	—	—	13:02	01:02	06:09
02:02	—	—	14:01/14:54	01:04	05:03
02:02	—	—	14:01/14:54	01:04	05:04
02:02	—	—	14:02	05:03	03:01
02:02	—	—	14:03	05:03	03:01
—	—	01:01	15:01	01:02	05:02
—	—	01:01	15:01	01:02	06:01
—	—	01:01	15:01	01:02	06:02
—	—	01:01	15:01	01:02	06:03
—	—	01:02	15:02	01:03	06:03
—	—	02:02	16:01	01:02	05:02
—	—	02:02	16:02	05:01	03:01

2.5.2 HLA und Multiple Sklerose

Es gibt eine Reihe von Erkrankungen, bei denen ein vermehrtes Auftreten in Assoziation mit einem speziellen HLA-Typ beobachtet wird. So z.B. der Insulinabhängige Diabetes mellitus, bei dem DR3/4 vermehrt beobachtet wird (Wolf et al. 1983), die Rheumatoide Arthritis (HLA DR4) (Wordsworth et al. 1989) und HLA-B27 bei M. Bechterew (Kuipers 2000).

Wie bereits beschrieben, ist bekannt, dass bei der Multiplen Sklerose der HLA-Klasse-II-Haplotyp DRB5*01:01~DRB1*15:01~DQA1*01:02~DQB1*06:02 in Westeuropa das größte genetische Risiko vermittelt, zu erkranken. In weiteren Untersuchungen zeigte sich, dass bei Patienten mit primär chronisch progredienter MS eine Assoziation mit dem DR4-DQ8 Haplotyp besteht und weiterhin, dass bei sekundär chronisch progredienter MS vermehrt der Haplotyp DR17-DQ2 vorkommt (Olerup et al. 1989).

Masterman et al. (2000) konnten in ihrer Arbeit ein jüngeres Alter bei Erstmanifestation bei HLA- DRB1*15:01-positiven Patienten feststellen. Weiterhin zeigten sie keinen signifikanten Unterschied bei Allelträgern zwischen männlichen und weiblichen Patienten (ebd.).

Neben denjenigen Allelen, die die Wahrscheinlichkeit der MS erhöhen, sind in der Literatur auch protektive HLA-Allele beschrieben (siehe Abschnitt 2.4 Symptomatik und Prognose).

3 Material und Methoden

3.1 Datenerhebung der Kohorten

Die Datenerhebung wurde am Institut für Neuroimmunologie und klinische Multiple Sklerose-Forschung (inims) des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf durchgeführt. Das inims ist ein Teil des Zentrums für Molekulare Neurobiologie Hamburg (ZMNH) und vereint Patientenversorgung (MS-Ambulanz einschließlich der MS-Tagesklinik) und Forschung auf dem Gebiet der Neuroimmunologie, der MS und zu grundlagenwissenschaftlichen Themen.

MS-Kohorte

Aus der Datenbank der MS-Ambulanz (Multiple-Sklerose-Dokumentationssystem, kurz „MSDS“, siehe unten) wurde eine Kohorte von 824 Patienten (574 Frauen) identifiziert, die bis zum aktuellen Zeitpunkt die Ambulanz konsultiert hatten und bereit waren, sich typisieren (siehe unten) zu lassen. Das Durchschnittsalter der MS-Kohorte beträgt 42,5 Jahre. Die Patienten stammen aus dem Hamburger und Norddeutschen Raum. In der vorliegenden Arbeit wird der Begriff Patient ohne jegliche Wertigkeit für weibliche und männliche Patienten verwendet.

Die klinischen Informationen über die Patienten wurden aus der Datenbank der MS-Ambulanz (MSDS) und aus den Akten der Patienten herausgearbeitet und in einer Tabelle erfasst. Diese Bereiche betreffen:

- Geschlecht
- Alter bei Erstmanifestation
- Art der Erstmanifestation
- Verlaufsform der MS
- EDSS (Expanded disability status scale)
- Progression: EDSS in Bezug zur MS-Dauer (definiert über den Zeitpunkt der Erstmanifestation)
- Visuell evozierte Potenziale (VEP); Somatosensibel evozierte Potenziale (SEP); Motorisch evozierte Potenziale (MEP).

Für die vorliegende Arbeit relevante klinische Faktoren sind das Geschlecht, der Zeitpunkt der Erstmanifestation, die Verlaufsform der MS, der EDSS-Wert und die Progression der Erkrankung.

Die Akten der MS-Patienten werden in der Ambulanz in einem hierfür vorgesehenen Raum nach Konsultationsjahr und –monat sortiert. Innerhalb dieser Aufteilung werden die Akten nach dem Geburtsdatum geordnet. Es wurden die Akten derjenigen Patienten herausgesucht, die die Ambulanz bis zum aktuellen Zeitpunkt konsultiert hatten und bereit waren, sich typisieren zu lassen. Waren die Daten bzw. die aktuellsten Daten der Patienten zum Zeitpunkt der Datenarbeit noch nicht ins MSDS eingetragen, so wurde dies eigenhändig nachgeholt. Jeder Patient muss bei Erstkonsultation einen Aufnahmefragebogen ausfüllen. Weiterhin wird bei jeder Konsultation der Fragebogen der MS-Datenbank ausgefüllt, in dem neben den Fragen nach der Schubfrequenz, der Progression und Therapie auch die Ergebnisse des EDSS und weiterer spezifischer Tests eingetragen werden. Beim Fehlen der Daten wurden insbesondere die Fragebögen und Testergebnisse intensiv gelesen und eigenständig Informationen ins System nachgetragen. Im Klinikalltag werden die Daten sowohl in der Akte der Patienten notiert, als auch zeitnah in die Datenbank der Tagesklinik eingetragen.

Kontrollkohorte

Die Kontrollkohorte wird von n=2110 (1551 Frauen) Blutspenderinnen und Blutspendern aus dem Hamburger und Norddeutschen Raum des Universitätsklinikums Eppendorf gebildet, die bereit waren, sich typisieren zu lassen. Das Durchschnittsalter der Kontrollkohorte beträgt 48,0 Jahre.

MSDS (Multiple Sklerose-Dokumentationssystem)

Das MSDS ist die Datenbank der Ambulanz, in der alle Patienten, die jemals in der MS-Ambulanz waren, erfasst werden. Die Datenbank ist modular aufgebaut und erlaubt über sechs Hauptfenster die Eingabe bzw. Abfrage MS-relevanter Daten.

In der Datenbank werden im ersten Hauptfenster zunächst die persönlichen Daten der Patienten eingegeben (Name, Adresse, Geburtsdatum). Im zweiten Hauptfenster beschreibt man die Symptomatik der Erstmanifestation mit Datum, die evtl. bereits vorhandene Diagnose mit Datum, um im dritten Hauptfenster dann die Eingabe von Anamnese,

Untersuchungsbefund sowie weiterer klinischer Befunde (Ergebnisse aus Blutentnahme, Liquorpunktion, VEP, SEP, MEP, MRT und sonstigen Untersuchungen) zu tätigen. In diesem Fenster werden auch die MS-spezifischen Scores erfasst, die in der Ambulanz erhoben werden, eingetragen. Das vierte Hauptfenster „Zusammenfassung“ dient zur Auswahl einer Hauptdiagnose aus einer vorgegebenen Liste, welche durch den Verlaufstyp nach den Lublin/Reingold-Kriterien (Lublin et al. 1996), außerdem durch die Poser-Kriterien (Poser et al. 1983) und einer Stadieneinteilung spezifiziert wird. Über dieses Fenster lässt sich anschließend der halbautomatische Arztbriefgenerator aufrufen. Die Hauptfenster „Besonderes“ und „Datenbank“ erlauben den Abruf von Anamnese- und Untersuchungsbögen, Informations- und Aufklärungsblättern sowie Scoring-Bögen, bzw. führen zu den eingebauten Abfragefunktionen und zur Datenbankpflege.

3.2 Datenerhebung HLA

3.2.1 Nachweismethoden

Die Untersuchungen bezüglich der HLA-Klasse-I und HLA-Klasse-II-Allele der für diese Arbeit relevanten Personen fanden im HLA-Labor des Instituts für Transfusionsmedizin am Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf statt. Es liegt für die durchgeführte Datenerhebung ein Ethik-Votum des Ethik-Komitees der Hamburger Ärztekammer (Nr. 2758) vor. Im HLA-Labor werden die HLA-Klasse-I-Allele mit dem Lymphozytotoxizitätstest (LCT), reverse SSO und bei Bedarf auch mit SSP bzw. SBT bestimmt (siehe unten). Die HLA-Klasse-II-Allele werden durch reverse SSO bestimmt. Als Ergänzung, bei Typisierungsproblemen, kommen SSP und SBT hinzu. Die Nachweismethoden werden im Folgenden näher erläutert.

3.2.2 Lymphozytotoxizitätstest (LCT)

Der serologische Nachweis der HLA-Klasse-I-Allele erfolgt durch den LCT, dessen Prinzip im Folgenden beschrieben wird. Die Lymphozyten werden hierbei zunächst mit Antiseren und anschließend mit Komplement inkubiert (Mytilineos et al 2006). Die im Serum zirkulierenden Antikörper binden an entsprechende Histokompatibilitätsantigene auf der Zelloberfläche der Lymphozyten und aktivieren dadurch das Komplementsystem. Im letzten Schritt der Komplementkaskade entstehen lytische Produkte, welche die Zellmembran der Lymphozyten durchbohren. Es kommt zur Lyse der Zellen, welche durch

Zugabe eines Vitalfarbstoffs (z.B. Eosin) sichtbar gemacht wird. Der Farbstoff dringt ausschließlich in die lysierten Zellen ein, intakte Zellen nehmen ihn nicht auf. Abschließend wird mikroskopisch abgelesen, ob die Lymphozyten durch die verschiedenen Antisera lysiert wurden. Dabei wird beurteilt, wie viel Prozent der Zellen in einer Kavität lysiert bzw. intakt geblieben sind. Bei > 20% lysierten Zellen gilt die Reaktion als positiv. Abhängig vom Reaktionsmuster der Antisera, wird der HLA-Typ der Testperson festgelegt (ebd.). Man bezeichnet diese Methode als „Lymphozytotoxischen Test“ (LCT) oder als „complement-dependent-toxicity“ (CDC) (Waßmuth 2005).

3.2.3 Polymerasekettenreaktion (PCR)

Die PCR ist die Grundlage für die oben genannten und unten beschriebenen molekulargenetischen Analysen bzw. sämtlicher gängiger HLA-Genotypisierungen (Waßmuth 2005). Das Ziel der PCR ist eine enzymatische in-vitro-Amplifikation ausgewählter DNA-Abschnitte. Das Prinzip beruht auf einer zyklisch durchgeführten Strangseparation und anschließender Primeranlagerung mit nachfolgender Neusynthese des jeweils komplementären Strangs. So wird eine Vervielfältigung der gewünschten DNA-Sequenzabschnitte erreicht (ebd.).

3.2.4 Durchführung der PCR

Zunächst kommt es durch Temperaturerhöhung (94-96°C) zur Strangseparation. Durch den Einsatz von Oligonukleotiden (Primern) erfolgt die Festlegung des ausgewählten DNA-Sequenzabschnittes und durch Abkühlung auf ca. 50-60°C folgt die Anlagerung des Primers an die komplementären Basen der Matrizen-DNA (ebd.). Die anschließende Neusynthese des komplementären Strangs (bei 72°C) wird mittels thermostabiler DNA-Polymerase durchgeführt. Zur Kontrolle der PCR-Reaktion kann der gelelektrophoretische Nachweis der Amplifikate durchgeführt werden (auf 2%igem Agarosegel). Hierbei werden die DNA-Moleküle, auf Grund der negativen Ladung ihrer Phosphate, in einem elektrischen Feld aufgetrennt. Zur Kontrolle der Amplifikationsgröße wird bei der Gelelektrophorese ein sogenannter Molekulargewichtsmarker mit aufgetragen. Die DNA wird mit Ethidiumbromid im UV sichtbar gemacht (ebd.).

3.2.5 PCR-Sequence-specific oligonucleotides (PCR-SSO)

Dieses Testverfahren ist eine Methodik der Gensondenanalytik. Hierbei werden nukleinsäureabhängig Basensequenzdifferenzen zwischen Genen bzw. Allelen genutzt, um Genabschnitte zu ermitteln. Zunächst wird ein vollständiges Exon eines zu typisierenden HLA-Genorts amplifiziert (Mytilneos et al. 2006). Das PCR-Produkt wird auf ein Trägermaterial (Nylonmembran, Kunststoffplatte) übertragen und mit Allel- bzw. Allelgruppen-spezifischen Oligonukleotiden hybridisiert. Dieses Verfahren nennt man „Dot-Blot-Verfahren“ (ebd.). Die PCR-SSO-Methode erlaubt eine niedrig- bis hochauflösende Typisierung für HLA-Klasse-I- und -II-Merkmale und eignet sich besonders zur Untersuchung polymorpher Genabschnitte, wie sie v.a. bei den HLA-Klasse-II-Molekülen vorkommen (ebd.).

3.2.6 Reverse PCR-SSO

Diese Methode wurde für die Untersuchung der HLA-Daten dieser Arbeit verwendet. Bei der reversen PCR-SSO (rSSO) werden genortspezifische PCR-Amplifikate während der Amplifikationsreaktion z.B. mit Biotin markiert und die PCR-Produkte mit an einer Membran fixierten Oligonukleotiden hybridisiert (Waßmuth 2005). Positiv verlaufende Hybridisierungsreaktionen werden über eine Färbereaktion sichtbar gemacht. Weitere Begriffe für die Reverse PCR-SSO-Methode sind „immobilized-probe array“ und „reverse-line blot system“. Aufgrund der Automatisierbarkeit stellt es eine praktikable Alternative zum klassischen PCR-SSO-Verfahren (s.o.) dar (ebd.).

3.2.7 PCR-sequence- specific Primer (PCR-SSP)

Diese Methode stellt ein schnelles und spezifisches Verfahren zur HLA-Typisierung dar (Mytilneos et al. 2006). Olerup und Zetterquist publizierten 1992 die genannte Methode zur Identifizierung der DRB1-Merkmale. Es werden sequenz-spezifische Primer eingesetzt, mit denen es nur dann zu einer Amplifikation der genomischen DNA kommt, wenn Zielsequenz und Primersequenz auf beiden DNA-Strängen komplementär sind (Mytilneos et al. 2006). Das zu testende Individuum muss folglich für die Amplifikation das durch die Primersequenzen definierte HLA-Allel aufweisen. Der Nachweis der positiven bzw. ausgebliebenen Amplifikationsreaktion erfolgt durch eine Agarosegelelektrophorese und wird durch Polaroidfotografie dokumentiert. Die PCR-SSP-

Methode eignet sich zur schnellen HLA-Typisierung, innerhalb von 2-3 Stunden nach Blutentnahme liegt das Ergebnis vor. Weiterhin kann mit der Zahl der eingesetzten Primer-Kombinationen eine variable Auflösung der Typisierung erreicht werden. Ein Nachteil ist hierbei, dass viele PCR-Reaktionen gleichzeitig durchzuführen sind, um eine hohe Auflösung zu erreichen. Dies führt zu einem relativ hohen DNA-Verbrauch (Mytilineos et al. 2006).

3.2.8 Sequence-based typing (SBT)

Dieses Verfahren wurde von Pere Santamaria und Kollegen 1993 beschrieben und beruht auf einer direkten Sequenzierung für die HLA-Genotypisierung und basiert auf dem Kettenabbruchverfahren enzymatisch synthetisierter Extensionsprodukte an einer komplementären DNA-Matrize (Waßmuth 2005). Man startet zunächst mit der Amplifizierung des zu typisierenden Genoms. Der polymorphe Bereich, der für die Typisierung von Interesse ist, liegt in den Exonen, daher konzentriert man sich vor allem auf die Amplifizierung der Exone 2 und 3 für HLA-Klasse-I-Gene und des Exons 2 für HLA-Klasse-II-Gene (Mytilineos et al. 2006). Nach der PCR wird eine Sequenzierreaktion nach Sanger durchgeführt, dessen Produkt, ein weiteres Amplifikat, markiert wird. Heute werden dafür Fluoreszein-markierte ddNTP's (Didesoxynukleosidtriphosphate) eingesetzt (ebd.). Für jedes der ddNTP's wird ein anderer Farbstoff eingesetzt, sodass abschließend die Abfolge der eingebauten Nukleotide unterschieden werden kann (ebd.). Die Auswertung erfolgt mit Hilfe einer Kapillargelelektrophorese. Der Laser/Detektor des Gerätes erfasst die unterschiedlichen Farben der markierten ddNTP's und zeichnet über eine Software ein Diagramm und die entsprechende Sequenzabfolge. Die Typisierung anhand der SBT-Methode liefert die höchstmögliche Auflösung aller hier beschriebenen Nachweismethoden (ebd.).

3.2.9 Tabelle HLA

Die Daten bezüglich der HLA-Klasse-II-Allele der 824 MS-Patienten wurden in eine Tabelle eingetragen und durch Nummern pseudonymisiert. Die HLA-Klasse-I-Allele waren in einer anderen Tabelle eingetragen, so wurde, anhand der Pseudonymisierungen beider Tabellen, selbstständig eine Tabelle erstellt, die die Informationen aller HLA-Daten beinhaltet.

3.3 Durchführung der Untersuchungen

Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, die MS-Patienten hinsichtlich der Verteilung und Frequenz aller HLA-Klasse-II-Allele sowie der HLA-Klasse-I-Allele A und B zu untersuchen, sowie den kombinierten Effekt von HLA-Klasse-I- und HLA-Klasse-II-Allelen auf MS-Verlaufsform und Progression zu prüfen. Hierzu wird in einem Kollektiv von 824 MS-Patienten die Verteilung der HLA-Klasse-II-Allele ermittelt und mit der gesunden Bevölkerung (Kontrollkohorte, n=2110) verglichen. Des Weiteren werden ca. 300 der 824 MS-Patienten hinsichtlich ihrer HLA-Klasse-I-Moleküle untersucht und mit den Daten der Kontrollkohorte verglichen. Hintergrund der Berücksichtigung des HLA-Klasse-I-Typs ist der bereits bekannte Befund, dass einzelne HLA-Klasse-I-Allele, z.B. HLA-A*02:01, das von DRB1*15:01 vermittelte Risiko reduziert (Fogdell-Hahn et al. 2000), während andere Klasse-I-Allele das Risiko, MS zu entwickeln sogar weiter erhöhen.

HLA-Typisierung bedeutet anhand einer der Nachweismethoden (s. Abschnitt Datenerhebung HLA) die Kombination der – in dieser Arbeit relevanten – HLA-Klasse-I- und –II-Moleküle der zu untersuchenden Person zu bestimmen. Die Typisierung kann klinisch relevant sein für Transplantationen, Transfusionen und für die Krankheitsassoziation mit bestimmten Erkrankungen, so auch der Multiplen Sklerose (Immenschuh 2009).

3.3.1 MS-Patienten

Zunächst wurden alle MS-Patienten bezüglich der HLA-Klasse-II-Allele untersucht. Die Frequenzen wurden anhand von Säulendiagramme visualisiert. Wie bereits beschrieben, vermittelt der HLA-Haplotyp DRB5*01:01 DRB1*15:01 DQA1*01:02 DQB1*06:02 bei Kauasiern den größten Teil des genetischen Risikos, an MS zu erkranken (Sospedra und Martin 2005). Daher wurde innerhalb der für diesen Haplotyp positiven Patienten die Verteilung des MS-Verlaufstyps und die Progression untersucht und durch Säulendiagramme dargestellt. Anschließend wurden die Untersuchungen bei ca. 300 der 824 Patienten bezüglich der HLA-Klasse-I-Allele A und B durchgeführt. Weiterhin wurden in der Literatur nach riskanten und protektiven HLA-Klasse-I-Allelen recherchiert (siehe oben) und deren Einfluss in Kombination mit DRB1*15:01 auf die genannten klinischen Eigenschaften untersucht.

3.3.2 Kontrollgruppe

Die Kontrollgruppe wurde hinsichtlich der HLA-Klasse-II-Allele sowie der HLA-Klasse-I-Allele A und B untersucht und die Ergebnisse wurden anhand von Säulendiagrammen visualisiert. Abschließend wurden auch in der Kontrollkohorte die Frequenzen der DRB1*15:01-Positiven in Kombination mit den relevanten HLA-Klasse-I-Allelen berechnet und in Säulendiagrammen dargestellt.

3.4 Datenanalyse

Die HLA-Allele und die klinischen Informationen der einzelnen Patienten wurden in einer Tabelle dargestellt. Zu diesem Zweck wurden die Daten aus dem MSDS in eine Excel-Tabelle ausgelesen, um dann anhand der patientenspezifischen Nummern diesen Informationen den HLA-Allelen zuzuordnen. Bei jedem Patienten wurde die Zugehörigkeit von HLA-Allelen und Patientenummer überprüft, anschließend wurden alle Daten in SPSS und Excel dargestellt und ausgewertet.

3.4.1 Statistische Analyse

Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, herauszufinden, welche HLA-Merkmale in der vorliegenden MS-Kohorte ein Risiko für die Entstehung der Erkrankung darstellen sowie einen Einfluss auf weitere klinische Parameter haben. Hierzu wurden die HLA-Allelfrequenzen zwischen MS- und Kontrollkohorte verglichen und Abweichungen mit dem Vierfeldertest (Chi Quadrattest oder exakter Test nach Fisher) auf Signifikanz geprüft. Der Chi Quadrattest ist ein Signifikanztest mit dem sich ein berechnetes Ergebnis statistisch mit geringem Irrtumsvorbehalt vom Zufall abgrenzen lässt (Bender und Lange 2007). Ein Ergebnis des Chi Quadrattests ist der „p-Wert“ (ebd.), der die Wahrscheinlichkeit angibt, mit der die oben genannte vorausgehende Hypothese bezüglich des genetischen Risikos angenommen werden kann. In der vorliegenden Arbeit wird ein Signifikanzniveau $\alpha=0,05$ festgelegt. Ist der p-Wert kleiner als 0,05, ist das Ergebnis statistisch signifikant (ebd.). Weiterhin von hoher Wichtigkeit ist der Vorhersagewert („predictive value“) der genannten Berechnung. Dieser lässt sich als positiv prädiktiver Wert und negativ prädiktiver Wert berechnen (Glossar der evidenzbasierten Medizin 2011). Der positiv prädiktive Wert beschreibt, welcher Anteil der Personen mit einem positiven Testergebnis tatsächlich krank ist (ebd.). Der negativ prädiktive Test beschreibt,

welcher Anteil der Personen mit negativem Testergebnis tatsächlich gesund ist (ebd.).

Grundlage beider Werte ist die Sensitivität (Anzahl der Kranken, die korrekt als Kranke erfasst werden) und Spezifität (Anzahl der Gesunden, die korrekt als gesund erkannt werden) des Tests sowie die Häufigkeit der Erkrankung (ebd.). Ein weiterer wichtiger Maßstab für die Bewertung des Testergebnisses ist die sogenannte Odds-Ratio (das Chancenverhältnis). Die Odds-Ratio beschreibt das Verhältnis zwischen der Chance, dass ein Ereignis in der zu untersuchenden Gruppe vorkommt zu der Chance, dass ein Ereignis in einer Kontrollgruppe vorkommt (ebd.).

Dem Signifikanztest vorausgestellt, werden zunächst die Häufigkeitsfrequenzen aller HLA-Klasse-II- und bei ca. 300 MS-Patienten der Klasse-I-Allele A und B berechnet. Die Frequenzen werden in der Kontrollkohorte ebenfalls erhoben. Grundlage dieser Datenanalyse bildet das Hardy-Weinberg-Gleichgewicht.

Das Hardy-Weinberg-Gleichgewicht (Hardy-Weinberg equilibrium) beschreibt den Zustand einer idealen Population (Panmixie, große Population, keine Mutation, keine Selektion und keine Migration), in der die Häufigkeiten der drei Genotypen eines Genlocus mit zwei Allelen nur von deren Allelfrequenz abhängt. Unter den beschriebenen Bedingungen ändern sich die Allelfrequenzen in der Nachfolgegeneration nicht (Hardy 1908):

Hardy-Weinberg-Gleichgewicht: $p^2 + 2pq + q^2 = 1$

p: relative Häufigkeit des Auftretens des Allels A

q: relative Häufigkeit des (zu A komplementären) Allels a.

Für die HLA-Klasse-I- und HLA-Klasse-II-Allele wurden anhand der Gesetzmäßigkeit des Hardy-Weinberg-Gleichgewichtes die Allel- ($g\%$) und Phänotyp-Frequenzen $f\%$ berechnet, um anschließend Abweichungen im Vierfeldertest (Chi Quadrattest) (siehe oben) auf Signifikanz zu prüfen.

Anschließend werden die HLA-DRB1*15:01-Frequenzen mit HLA-A2, A3 bzw. -B7 dargestellt und auch hier mit der Kontrollkohorte verglichen. Die Berechnungen beinhalten DRB1*15:01 Heterozygoten- und Homozygotenfrequenzen. Hier wird mit relativen Häufigkeiten (%) gerechnet. Im dritten Abschnitt des Ergebnisteils erfolgt eine Darstellung der HLA-Klasse-II-Frequenzen in den einzelnen Gruppen der Progression (Gruppeneinteilung siehe oben). Auch hier wird mit relativen Häufigkeiten (%) gerechnet.

Zum Zeitpunkt der Datenerhebung galt die alte HLA-Nomenklatur, sodass die Rohdaten, die zur Berechnung herangezogen wurden, nach der alten Nomenklatur klassifiziert sind (siehe Tabelleninhalte im Kapitel 4).

4 Ergebnisse

4.1 Kohorte MS-Patienten

Die Kohorte der MS-Patienten umfasst 824 Personen mit 574 Frauen und 250 Männern. Das Verhältnis beträgt 2,3:1. Es findet sich somit eine Übereinstimmung mit den Daten der Literatur (s.o.).

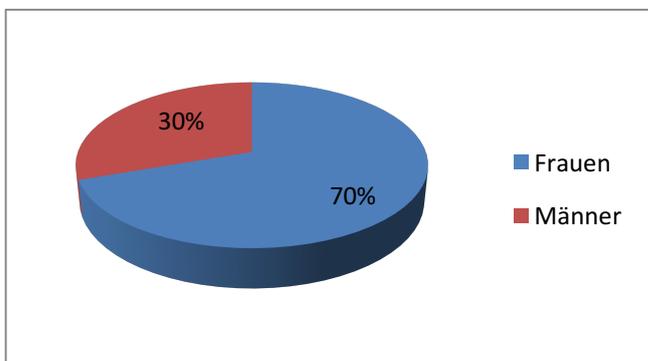


Abbildung 1: Geschlechterverteilung MS-Kohorte (%)

Das Durchschnittsalter der Männer zu Untersuchungsbeginn beträgt 43 Jahre, das der Frauen 42 Jahre. Beide Geschlechter weisen ein Durchschnittsalter von 42,5 Jahren auf. Alle Patienten wurden hinsichtlich ihrer HLA-Klasse-II-Allele untersucht, ca. 300 der Patienten wurden zusätzlich bezüglich ihrer HLA-Klasse-I-Allele A und B untersucht.

4.2 Verlaufsform MS-Kohorte

Von den 824 Patienten war zum Zeitpunkt der Datenerhebung bei 59 Personen keine Diagnose gestellt bzw. die Diagnose MS nicht bestätigt werden, daher wird bei der Berechnung der Verlaufsform von n=765 Patienten ausgegangen.

Von den 765 Patienten zeigten 13 Patienten die Erstmanifestation einer MS (1,6%) 92 Patienten wiesen eine schubförmige MS mit inkompletten (11,2%) und 353 Patienten eine schubförmige MS mit kompletten Remissionen (42,8%) auf, die zusammen 54% ausmachen. Verglichen mit Werten aus der Literatur (s.o.) ist dies ein geringer Anteil. 141

Patienten zeigen einen sekundär chronisch progredienten Verlauf (17,1%) und bei 102 Patienten verläuft die Erkrankung primär chronisch progredient, was einem Anteil von 12,4 % entspricht. Dies spiegelt sich auch in Daten der Literatur wider (s.o., Thompson et al. 1997). Bei 123 Patienten ist die Verlaufskategorie nicht sicher bestimmbar (15%); s. Abbildung 2.

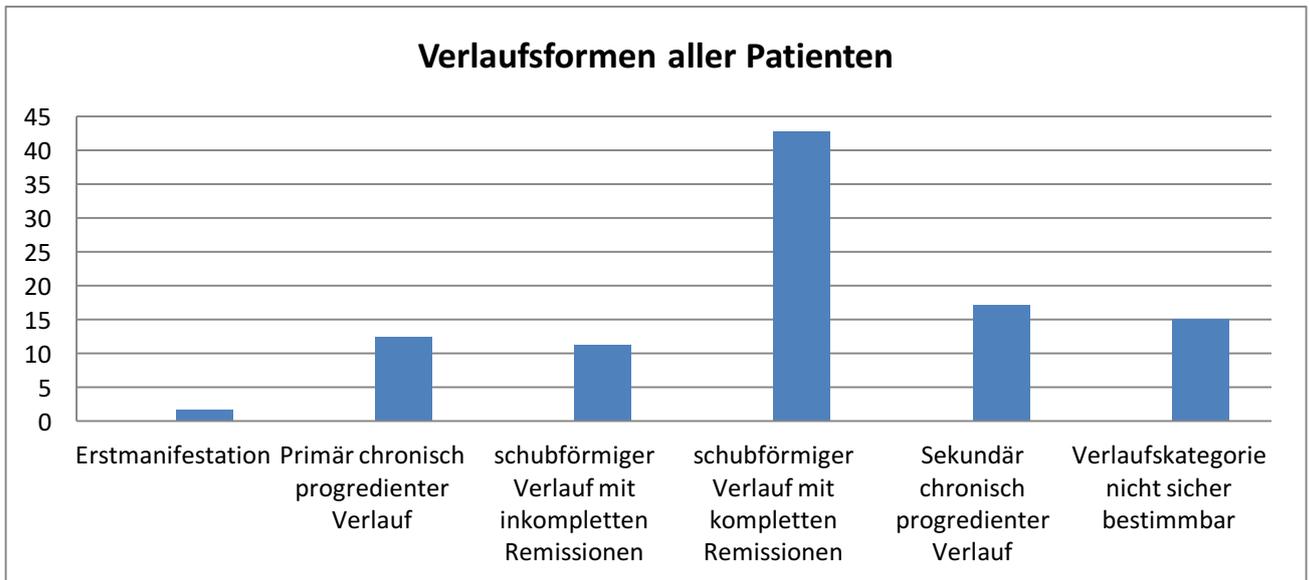


Abbildung 2: MS-Verlaufsformen (%)

Die Abbildung 2 stellt die relativen Häufigkeiten der MS-Verlaufsformen in der vorliegenden Patientengruppe graphisch dar. Bei 15% der Patienten war die MS-Verlaufsform zum Zeitpunkt der Datenerhebung nicht sicher bestimmbar. Am häufigsten zeigt sich der schubförmige Verlauf mit kompletten Remissionen. Die weiteren Häufigkeiten sind oben im Text beschrieben.

Für die Beurteilung der MS sind weitere Parameter von Bedeutung (s. Abschnitte 2.2, 2.3 und 2.4). Im Folgenden werden weitere Parameter für die Berechnung der Ergebnisse dieser Arbeit beschrieben.

4.3 Expanded Disability Status Scale (EDSS)- Werte

Der Expanded Disability Status Scale (EDSS) -Wert wird bei jeder Konsultation der Patienten in der MS-Ambulanz erhoben. Bei der hier vorliegenden Berechnung wurde der aktuellste EDSS-Wert zum Zeitpunkt der Datenerhebung berücksichtigt.

Bei 77 Patienten lag bei Datenaufnahme kein EDSS-Wert vor, es gab hier große Überschneidungen mit den Patienten, bei denen keine eindeutige Verlaufsform bestimmt werden konnte. Daher wurde auch bei dieser Berechnung von einer kleineren Kohorte (n=747) ausgegangen.

Der Durchschnitt des EDSS-Wertes liegt bei 3,0.

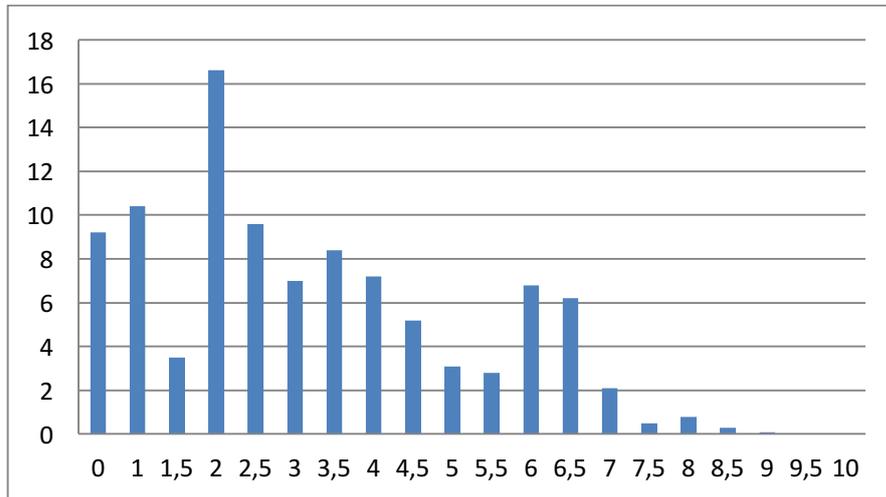


Abbildung 3: EDSS-Werte (%)

In dieser Abbildung wird die Häufigkeit der EDSS-Werte von 0-10 (%) gezeigt. Mit knapp über 16% zeigt sich der EDSS-Wert von 2 am häufigsten. Die Werte 0,1 und 2,5 und 3,5 zeigen sich mit 8% bis 10% etwa in der gleichen Häufigkeit. Die EDSS-Werte 9,5 und 10 kommen in unserer Kohorte gar nicht vor. Ein EDSS-Wert von 10 bedeutet Tod durch MS. Der EDSS-Wert zeigt eine Momentaufnahme und somit einen punktuellen Wert des Grades der aktuellen Behinderung auf. In der vorliegenden Arbeit wurde dieser zur Berechnung der Progression genutzt.

4.4 Progression

Um den Verlauf und somit das mögliche Fortschreiten der MS-Erkrankung darzustellen und eine Erweiterung des nur punktuell erfassbaren EDSS-Wertes zu erlangen, wird in dieser Arbeit die Progression berechnet und verwendet. Wichtig ist hierbei die Differenzierung von MS-Dauer und Diagnosedauer. Die MS-Dauer beschreibt den Zeitraum vom Auftreten des ersten MS-Symptoms bis zum aktuellen Zeitpunkt der Datenerhebung. Die Diagnosedauer beschreibt den Zeitraum zwischen dem Zeitpunkt der Diagnosestellung und dem Zeitpunkt der Datenerhebung. Die Progression wird in der

vorliegenden Kohorte in Bezug auf die MS-Dauer berechnet. Diese bezeichnet den Quotienten des zum Zeitpunkt aktuellen EDSS und der Anzahl der Jahre nach MS-Beginn. Um die Daten übersichtlich zu gestalten, wurden Gruppen gebildet und mit Codes versehen. So entspricht zum Beispiel eine Progression von 0,08-0,19 dem Code 2, die Progression von 0,2-0,27 entspricht dem Code 3 etc. Die folgende Tabelle 4 zeigt die Zusammenfassung der Gruppen, die Abbildung 31 verdeutlicht die Verteilung der Progressionscodes aller Patienten. Der durchschnittliche Progressionscode in der vorliegenden MS-Kohorte beträgt 3,85.

Im weiteren Verlauf wird innerhalb der DRB1*15:01-positiven MS-Kohorte und in der Kombination mit den protektiven und risikoreichen HLA-Klasse-I-Allelen die Verteilung der Progressionscodes untersucht. Es wird hiermit der Frage nachgegangen, ob Patienten mit einem speziellen Haplotyp bzw. einer bestimmten Allelkombination in der hier bearbeiteten MS-Kohorte einen schnelleren bzw. langsameren Progress zeigen.

Tabelle 4: Übersicht der Progressionscodes in Bezug auf MS-Dauer und EDSS-Wert aller MS-Patienten

Progressionscode (MS-Dauer)	Progression
1	0
2	0,08-0,19
3	0,2-0,27
4	0,33-0,5
5	0,58-0,83
6	0,9-1,20
7	1,25-1,5
8	1,63-2
9	2,5-3,5
10	4

11	6
----	---

Die abgebildete Tabelle 4 zeigt die Progressionscodes 1-11 mit der zugehörigen berechneten Progression (s.o.).

4.5 Kontrollkohorte

Die Kontrollkohorte besteht aus 2110 Blutspenderinnen und Blutspendern des UKE aus Hamburg und dem Umland und wird von 1551 Frauen und 559 Männern gebildet, was mit einem Verhältnis von 2,8:1 in etwa dem Geschlechterverhältnis der MS-Kohorte (2,3:1) entspricht.

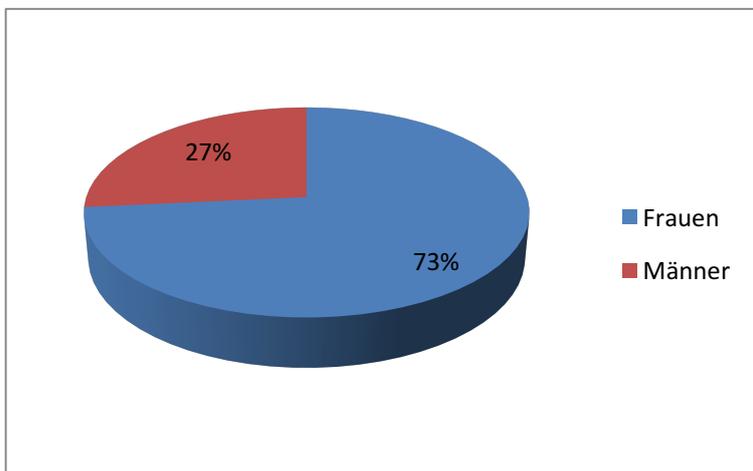


Abbildung 4: Geschlechterverteilung Kontrollkohorte (%)

Das Durchschnittsalter zum Untersuchungszeitpunkt beträgt bei den Frauen 44 und bei den Männern 52 Jahre. Zusammen weisen beide Geschlechter ein Durchschnittsalter von 48 Jahren auf. Die Kontrollkohorte ist somit durchschnittlich knapp sechs Jahre älter, als die Patientengruppe. Alle Personen wurden hinsichtlich ihrer HLA-Klasse-II-Allele untersucht und zusätzlich bezüglich ihrer HLA-Klasse-I-Allele A und B untersucht.

4.6 Ergebnisse der HLA-Auswertung

Im Folgenden wird zunächst die Verteilung der HLA-Klasse-II- und HLA-Klasse-I –Allele in der MS- und Kontrollkohorte dargestellt. Einige HLA-Allele werden hierbei zusammengefasst (z.B. 01:XX). Allele, die in der Literaturrecherche und auch in den

eigenen Berechnungen relevant erscheinen, werden einzeln berechnet.

4.6.1 MS-Patienten

4.6.1.1 HLA-Klasse-II

Im folgenden Abschnitt werden die Häufigkeiten der einzelnen HLA-Klasse II-Allele mit f (%) in der MS-Kohorte anhand von Säulendiagrammen aufgezeigt. Hierbei wird zunächst auf DRB1 eingegangen, anschließend zeigen sich die Daten für DRB3, 4 und 5, DQA1 und DQB1.

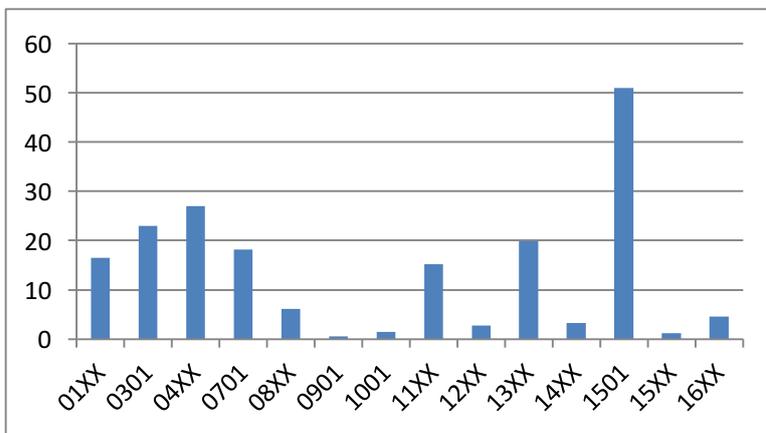


Abbildung 5: DRB1 MS-Patienten f (%)

Die Abbildung 5 zeigt den prozentualen f (%) Anteil der DRB1-Allele in der Gruppe der MS-Patienten. 51,9% der MS-Patienten sind positiv für DRB1*15:01. Wie oben beschrieben, vermittelt dieser das größte genetische Risiko in Westeuropa, an MS zu erkranken. Weiterhin ist etwa jeweils $\frac{1}{4}$ der MS-Patienten positiv für DRB1* 03:01 (23,0%) und DRB1*04:XX (27,0%).

Einen sehr niedrigen Anteil zeigt DRB1*09:01 mit 0,6%. Letzteres ist typisch für Kaukasier.

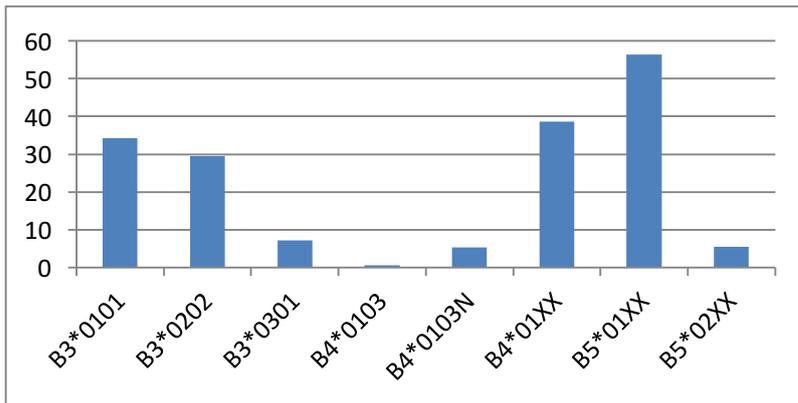


Abbildung 6: other DR (DRB3, 4 und 5)-Verteilung MS-Patienten f (%)

Die Abbildung 6 zeigt die Häufigkeiten der Allele von DRB3, 4 und -5 in der Gruppe der MS-Patienten in f (%). 56,4 % der MS-Patienten sind positiv für DRB5*01:XX. Etwa 1/3 sind jeweils positiv für DRB3*01:01 (34,2%), DRB3*02:02 (29,5%) und DRB4*01:XX (38,7%). Einen sehr niedrigen Anteil zeigt DRB4*01:03 mit 0,6%.

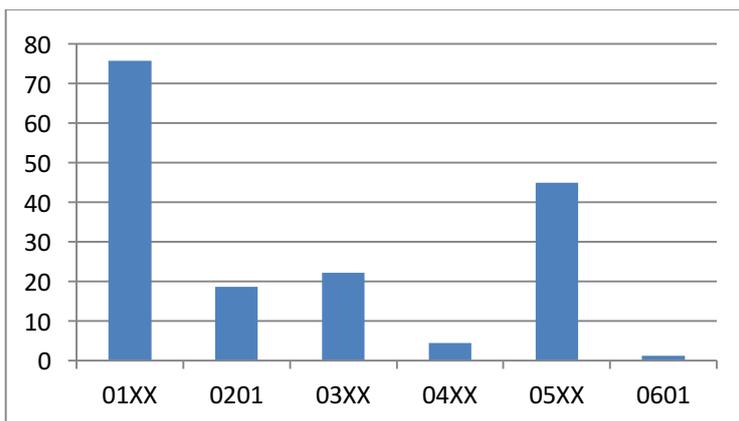


Abbildung 7: DQA1-Verteilung MS-Patienten f(%)

In der Abbildung 7 wird die Häufigkeit f (%) der DQA1-Allele dargestellt.

75,8% der MS-Patienten sind positiv für DQA1* 01:XX. Weiterhin hohe Frequenzen zeigen DQA1* 0201 (18,7%), DQA1* 03:XX (22,2%) und DQA1* 05:XX (45%). DQA1* 06:01 zeigt mit 1,2% den niedrigsten Anteil.

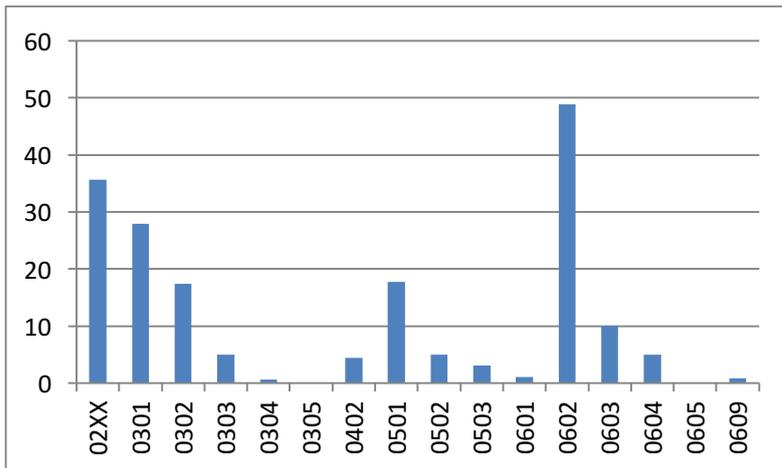


Abbildung 8: DQB1-Verteilung MS-Patienten f(%)

Die Häufigkeit f (%) der DQB1-Allele wird in Abbildung 8 veranschaulicht. 48,9% der MS-Patienten sind positiv für DQB1* 06:02. Den zweithöchsten Anteil zeigt DQB1* 03:XX mit 36,0%. Den niedrigsten Wert zeigt DQB1* 04:02 mit 4,5%.

Anzumerken ist, dass die Verteilung der Allele sich aus den einzelnen Haplotypen (siehe Tabelle 3) ergibt. Der für Westeuropäer (Kaukasier) typische HLA-Klasse-II-Haplotyp ist: DRB5*01:01~DRB1*15:01~DQA1*01:02~DQB1*06:02.

4.6.1.2 HLA-Klasse-I

Im Folgenden werden die Häufigkeiten f (%) der HLA-Klasse-I-Allele A und B in der MS-Kohorte anhand von Säulendiagrammen veranschaulicht. Hierbei wird erst auf die HLA-Klasse-A-Allele eingegangen, anschließend werden die HLA-Klasse-B-Allele dargestellt. In der Literatur wird, wie oben beschrieben, einzelnen HLA-A und -B Allelen ein genetischer Faktor zugerechnet, der sowohl protektiv, als auch als Risikofaktor für die MS gilt.

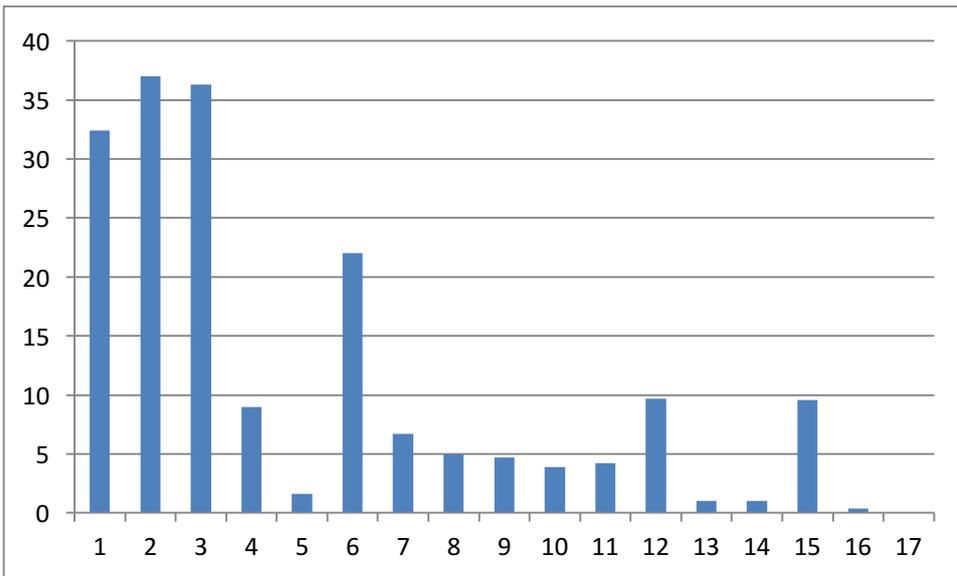


Abbildung 9: HLA-A-Verteilung MS-Patienten f(%)

Die Abbildung 9 zeigt die Verteilung f (%) der HLA-A-Allele in der Gruppe der MS-Patienten. Mit 37% haben die meisten MS-Patienten das HLA-Allel A2, dieses ist laut Literatur ein protektiver genetischer Faktor (Fogdell-Hahn et al. 2000). A2 ist dicht gefolgt von A3 mit 36,3%, welches einen genetischen Risikofaktor für die MS darstellt (s. Kapitel 2.4 Symptomatik und Prognose). HLA-A1 zeigt sich mit 32,4 % am dritthäufigsten. A24 zeigt sich bei knapp 22% der MS-Patienten.

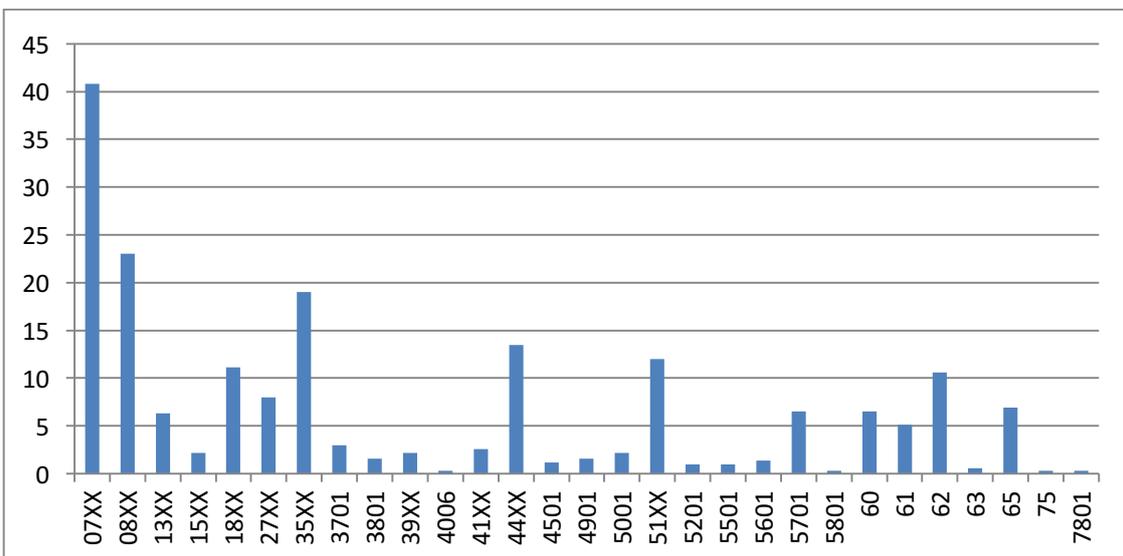


Abbildung 10: HLA-B-Verteilung MS-Patienten f(%)

Diese Abbildung zeigt die Häufigkeit f (%) der HLA-B-Allele in der MS-Kohorte. Den höchsten Anteil zeigt in der HLA-B-Verteilung 07:XX mit 40,2%. B7 stellt laut

Literatur einen genetischen Risikofaktor für die Entstehung der MS dar (z.B. Fogdell-Hahn et al. 2000)

Am zweithäufigsten zeigt sich 08:XX mit 23,0%, dicht gefolgt von 35:XX mit 19,0%. HLA-B44:XX zeigte sich bei knapp 13% der MS-Patienten.

4.6.2 Kontrollkohorte

4.6.2.1 HLA-Klasse-II

Im folgenden Abschnitt werden die Häufigkeiten der einzelnen HLA-Klasse-II-Allele mit f (%) in der Kontrollkohorte anhand von Säulendiagrammen aufgezeigt. Hierbei wird zunächst auf DRB1 eingegangen, anschließend werden die Daten für DRB3, 4 und 5, DQA1 und DQB1 aufgezeigt.

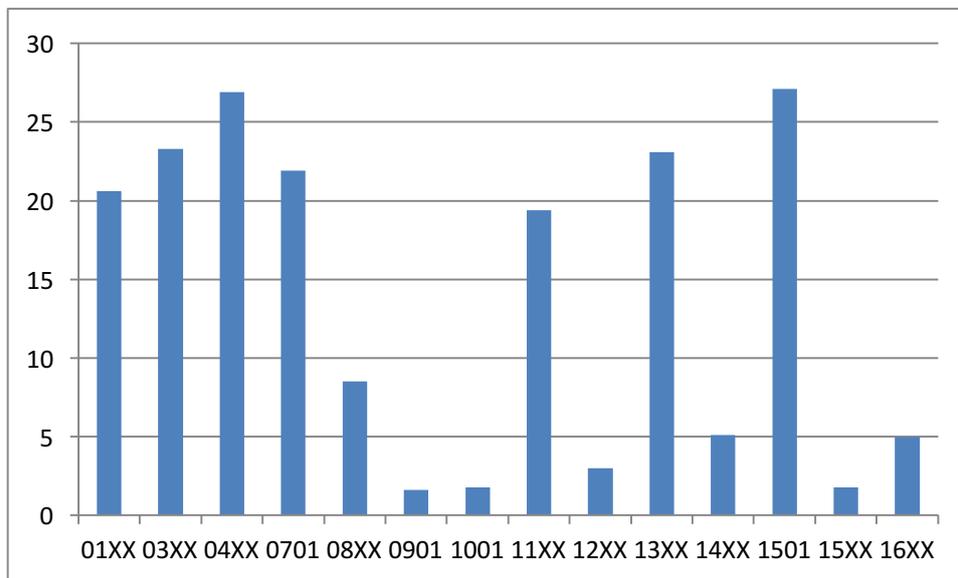


Abbildung 11: DRB1-Verteilung Kontrollkohorte f(%)

Die Abbildung 11 zeigt die Häufigkeiten f(%) von DRB1 in der Kontrollkohorte. 26,8% der gesunden Kontrollkohorte sind positiv für DRB1*15:01. Fast den gleichen Anteil zeigt DRB1* 04:XX mit f=26,9%. Knapp $\frac{1}{4}$ der Kontrollkohorte sind positiv für DRB1*01:XX, DRB1*03:XX, DRB1*07:01, DRB1*11:XX und/oder DRB1*13:XX.

Im Vergleich zu den MS-Patienten (51,9%) sind nur die Hälfte der Kontrollpersonen (26,8%) positiv für DRB1*15:01.

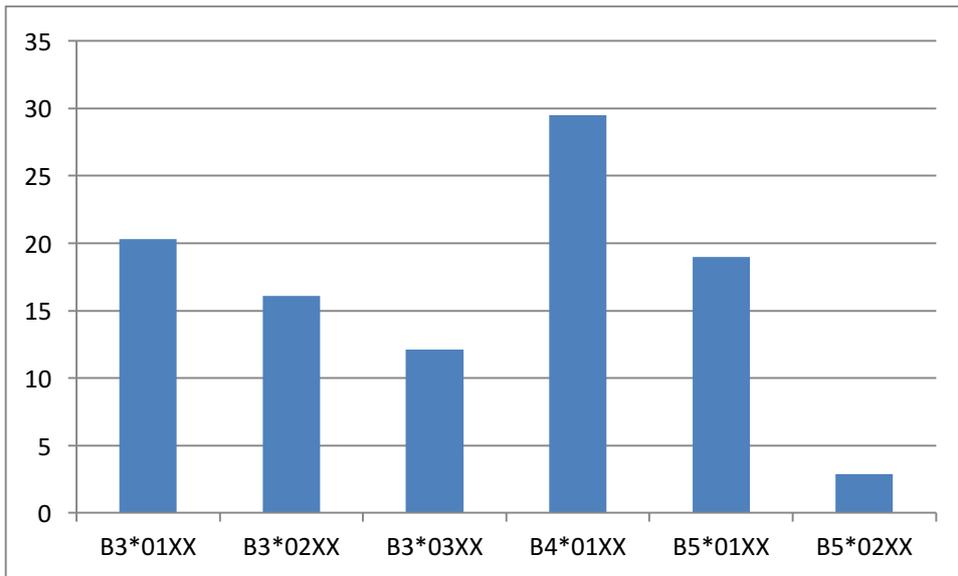


Abbildung 12: other DR (DRB3,4 und 5)- Verteilung Kontrollkohorte f(%)

Das abgebildete Säulendiagramm (Abbildung 12) veranschaulicht f(%) für DRB3, 4 und 5. 29,5% der Gesunden ist positiv für DRB4*01:XX, bei den MS-Patienten sind 38,7% positiv für dieses Allel. Etwa gleich häufig kommen DRB3*01:XX (20,3%) und DRB5*01:XX (19%) vor. Letzteres zeigt sich bei den MS-Patienten bei 56,4%.

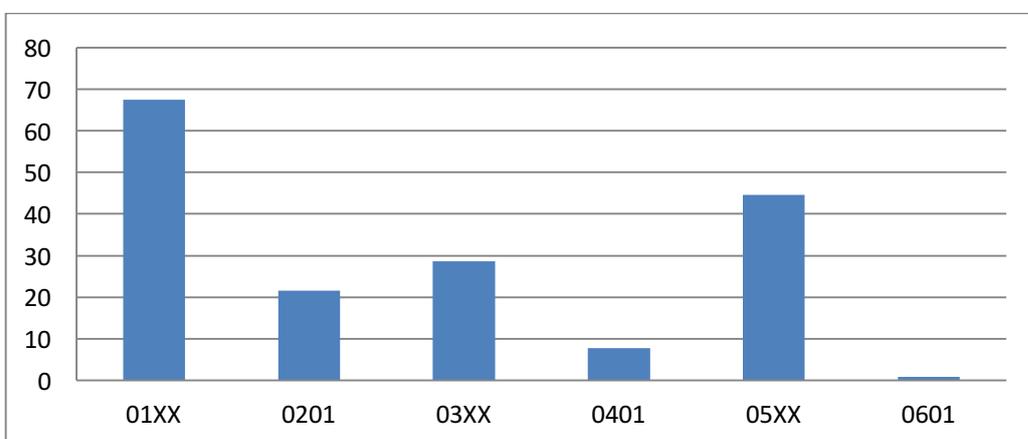


Abbildung 13: DQA1-Verteilung Kontrollkohorte f(%)

Abbildung 13 stellt die Häufigkeiten f(%) von DQA1 in der Kontrollkohorte dar. Mit 67,5% den höchsten Anteil zeigt hier – wie bei der MS-Kohorte - DQA1*01:XX. Weiterhin hohe Frequenzen zeigen DQA1* 02:01 (21,5%), DQA1* 03:XX (28,6%) und DQA1* 05:XX (44,6%).

DQA1* 06:01 zeigt mit 0,8% den niedrigsten Anteil.

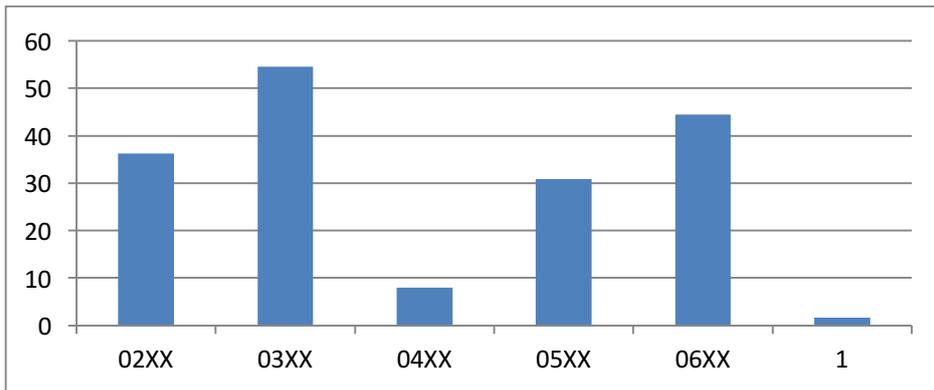


Abbildung 14: DQB1-Verteilung Kontrollkohorte f(%)

Das Säulendiagramm der Abbildung 14 verbildlicht die Häufigkeiten $f(\%)$ der DQB1-Allele in der Kontrollkohorte. Mit 54,6% zeigt DQB1*03:XX den höchsten Anteil. Am zweithäufigsten zeigt sich DQB1*06:XX mit 44,5%.

Den niedrigsten Anteil mit 1,6% zeigt DQB1*1.

Anzumerken ist, dass sich die Verteilung der Allele aus den einzelnen Haplotypen (s. Tabelle 3) ergibt.

4.6.2.2 HLA-Klasse I

Abschließend werden im Folgenden die Häufigkeiten $f(\%)$ der HLA-Klasse-I-Allele A und B in der Kontrollkohorte anhand von Säulendiagrammen dargestellt. Hierbei wird erst auf die HLA-Klasse-A-Allele eingegangen, anschließend zeigen sich die HLA-Klasse-B-Allele.

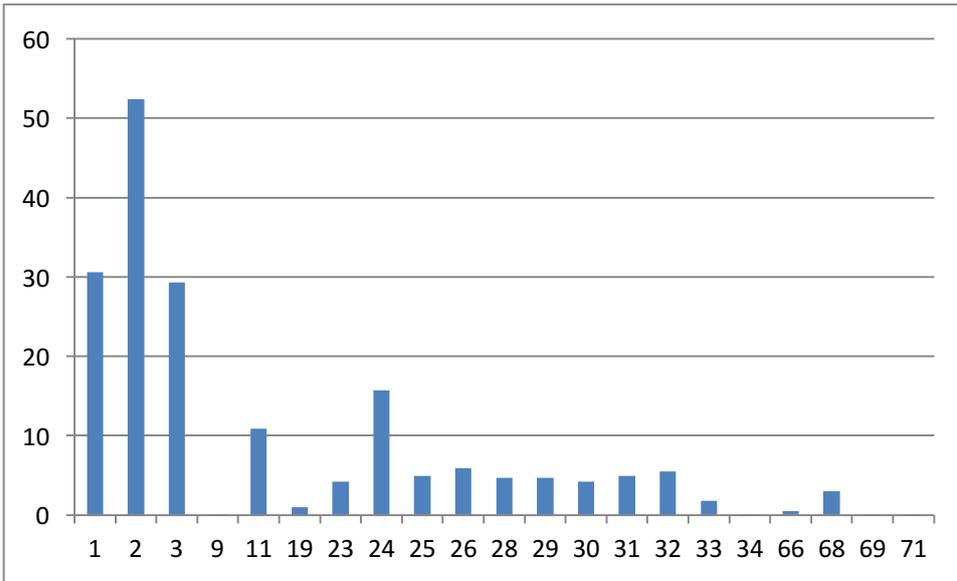


Abbildung 15: HLA-A-Verteilung Kontrollkohorte f(%)

Die Abbildung 15 veranschaulicht f (%) der HLA-A-Allele in der Kontrollkohorte. Am häufigsten zeigt sich A2 mit 52,4% in der Kontrollkohorte. Diesem Allel wird ein protektives genetisches Potenzial zugeschrieben (Fogdell-Hahn et al. 2000). HLA-A2 zeigte sich auch am häufigsten in der MS-Kohorte, jedoch nur bei 37%. Am zweithäufigsten zeigt sich in der Kontrollkohorte A1 mit 30,6%, gefolgt von A3 mit 29,3%. Letzteres ist ein genetischer Risikofaktor für die Entstehung der MS und zeigte sich in der MS-Kohorte häufiger (36,3%). A24 kommt bei 15,7% der Gesunden vor.

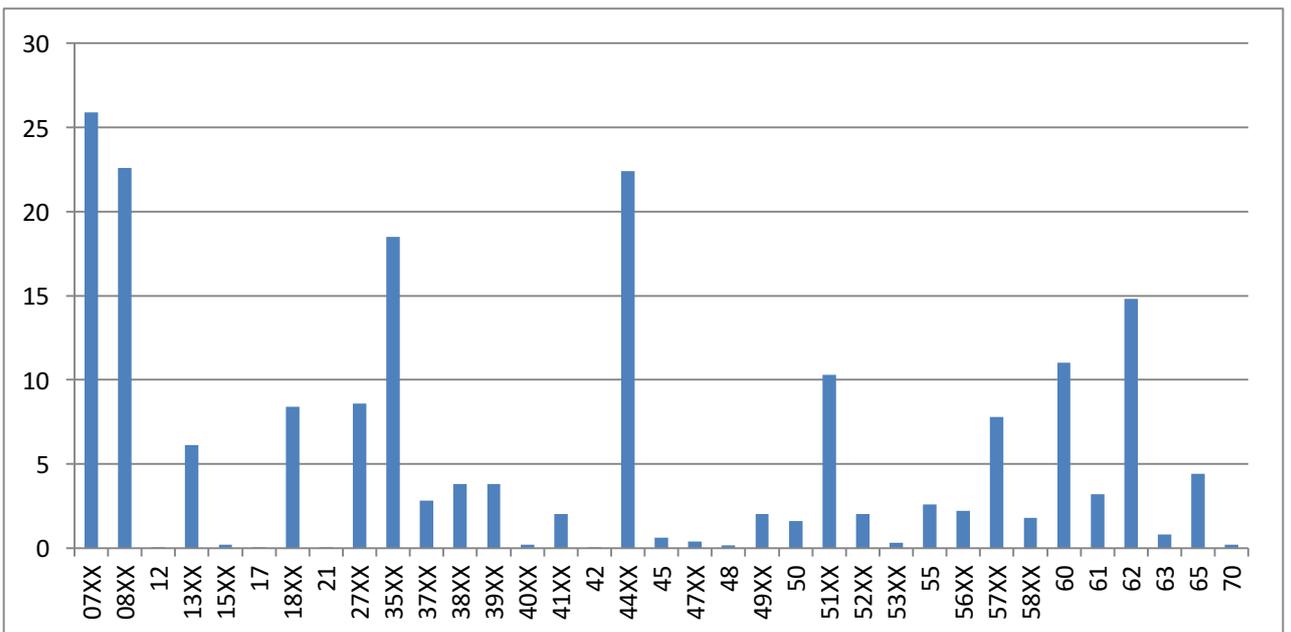


Abbildung 16: HLA-B-Verteilung Kontrollkohorte f(%)

Das letzte Säulendiagramm in der Abbildung 16 veranschaulicht die Häufigkeiten f(%) der HLA-B-Allele. 07XX (25,9%), 08XX (22,6%) und 44XX (22,4%) kommen in der Kontrollkohorte am häufigsten vor. Dem Allel B7 wird ein genetisches Risiko zugeschrieben, an MS zu erkranken (z.B. Fogdell-Hahn et al. 2000). In der MS-Kohorte kommt B7 bei 40,2% vor, in der Kontrollkohorte zeigt sich HLA-B7 bei etwa 26%. HLA-B44 wird ein protektiver Effekt zugesagt, dieses zeigt sich bei knapp 22% der Gesunden, aber nur bei knapp 13% der MS-Patienten. 35XX zeigt sich bei 18,5% der gesunden Probanden und bei 19,0% der MS-Patienten.

4.7 HLA-Haplotyp

DRB5*01:01~DRB1*15:01~DQA1*01:02~DQB1*06:02

Der Haplotyp DRB5*01:01~DRB1*15:01~DQA1*01:02~DQB1*06:02 vermittelt das größte genetische Risiko bei Westeuropäern (Kauasiern), an MS zu erkranken (Sospedra und Martin 2005).

In den Kohorten für die vorliegende Arbeit sind f=51,9% der MS-Patienten und f=26,8% der Kontrollkohorte positiv für DRB1*15:01. Dieses kommt in 99% der Fälle als der oben genannte Haplotyp vor (Fogdell-Hahn et al. 2000).

Das folgende Kapitel beinhaltet Berechnungen der Patienten und Gesunden, die positiv für DRB5*01:01~DRB1*15:01~DQA1*01:02~DQB1*06:02 sind. Zunächst wird in der Gruppe der für den Haplotyp positiven MS-Patienten untersucht, wieviel % Allelträger für die relevanten Allele HLA-A2, -A3, -B7 und -B44 sind. Anschließend wird die relative Häufigkeit der Kombination der HLA-Klasse-I-Allele mit dem genannten Haplotyp berechnet. Hier wird sowohl berechnet, wieviel % der Patienten im Allgemeinen positiv für eines der genannten Allele sind, als auch, wieviel % der Patienten ausschließlich positiv für eines der genannten Allele sind (Beispiel: DRB1*15:01 nur A2). Hierfür wird die DRB1*15:01 – Kohorte heterozygot und homozygot einzeln untersucht. Anschließend werden die Frequenzen in Bezug auf die einzelnen MS-Verlaufsformen sowie die Progression im Bezug zur MS-Dauer aufgezeigt. Abschließend werden die Frequenzen des Haplotyps in Kombination mit den HLA-Klasse-I-Allelen A2, A3 und B7 in der Kontrollkohorte berechnet und abgebildet.

Es ist anzumerken, dass 168 der DRB1*15:01-positiven MS-Patienten auch für HLA-Klasse-I typisiert sind und 18 der DRB1*15:01-homozygoten MS-Patienten auch für HLA-Klasse-I typisiert sind.

4.7.1 Vergleich MS-Patienten und Kontrollkohorte: DRB1*15:01

In der MS-Kohorte sind 428 Patienten positiv für DRB1*15:01. 57 der 428 Patienten sind homozygot für DRB1*15:01, hiermit ergibt sich die folgende Übersicht.

In der vorliegenden MS-Kohorte finden sich:

57 (AA) DRB1*15:01-homozygote MS-Patienten

371 (AB) DRB1*15:01- heterozygote MS-Patienten und damit
485 (2AA+AB) DRB1*15:01 Allele.

In der Kontrollkohorte sind 565 Personen positiv für DRB1*15:01. 51 der 565 Personen sind homozygot für DRB1*15:01, hiermit ergibt sich die folgende Übersicht.

In der vorliegenden Kontrollkohorte finden sich:

51 (AA) DRB1*15:01-homozygote Gesunde
514 (AB) DRB1*15:01- heterozygote Gesunde und damit
616 (2AA+AB) DRB1*15:01 Alle.

Die Ergebnisse von DRB1*15:01 wurden zwischen MS- (n=428) und Kontrollkohorte (n=565) verglichen und anhand des Chi Quadrattests (siehe Kapitel 3.4.2 statistische Analyse) verglichen.

Hierbei ergab sich ein p-Wert $< 0,0001$ und damit eine deutliche statistische Signifikanz, mit der die grundlegende Frage der vorliegenden Arbeit nach dem genetischen Risikopotenzial von DRB5*01:01~DRB1*15:01~DQA1*01:02~DQB1*~06:02 (kurz: DRB1*15:01) in der vorliegenden MS-Kohorte im Vergleich zur Kontrollkohorte bestätigt wird.

Die Odds Ratio zeigt mit 2,96 das Chancenverhältnis an, mit dem der genannte Haplotyp in der MS-Kohorte vorkommt zu der Chance, dass der genannte Haplotyp in der Kontrollgruppe vorkommt. In der vorliegenden Arbeit besagt die Odds Ratio von 2,96, dass die Wahrscheinlichkeit, an MS zu erkranken bei Personen mit DRB1*15:01 um etwa das Dreifache erhöht ist zu den Personen, die DRB1*15:01-negativ sind.

Der negativ prädiktive Wert beträgt 79,6% und der positiv prädiktive Wert beträgt 43,1%. Das heißt ein fehlender Nachweis von HLA-DRB1*15:01 bei Kaukasiern schließt in 4/5 Fällen die Erkrankung von MS korrekt aus, in 1/5 Fällen wird die Erkrankung fälschlicher Weise ausgeschlossen.

Des Weiteren wurden anhand der oben abgebildeten Übersicht nach dem Hardy-Weinberg-Gleichgewicht die Frequenzen der Allele $g(\%)$ und Phänotypen $f(\%)$ berechnet (siehe oben, Kapitel 4.6.1 und 4.6.2). Hierbei ergab sich für DRB1*15:01 in der MS-Kohorte $f=51,9\%$ und in der Kontrollkohorte $f=26,8\%$. Während für die Kontrollkohorte sich ein Hardy-Weinberg Gleichgewicht für alle untersuchten HLA-Merkmale fand, wichen in der MS-Patientengruppe DRB1*03:01 und DRB1*15:01 signifikant ab. Bei DRB1*03:01

fanden sich mehr homozygote, bei DRB1*15:01 weniger homozygote Merkmalsträger als aufgrund der Allelfrequenzen erwartet wurden.

4.7.2 MS-Patienten

In den zunächst folgenden Berechnungen und Abbildungen wurde unter allen DRB1*15:01-positiven Patienten untersucht, wie viele anteilig positiv sind für die HLA-Klasse-I-Allele A2, B44 (beide laut Literatur protektiv), A3 und B7 (beide laut Literatur Risikofaktoren). Dies wurde sowohl für die DRB1*15:01-Heterozygoten und – Homozygoten untersucht.

Hierbei zeigen die Abbildungen 17 und 18 zunächst in %, wie viele Patienten für die genannten Allele positiv sind, ein einzelner Patient kann alle Allele aufweisen und auch in allen drei Balken vorkommen.

In den danach folgenden Abbildungen 19 und 21 wird dargestellt, wie viel % der Patienten ausschließlich positiv für ein Allel sind. Die Abbildungen 20 und 22 zeigen, wie viel % der Patienten die Allelkombinationen (s. Abbildungsbeschriftung) aufzeigen.

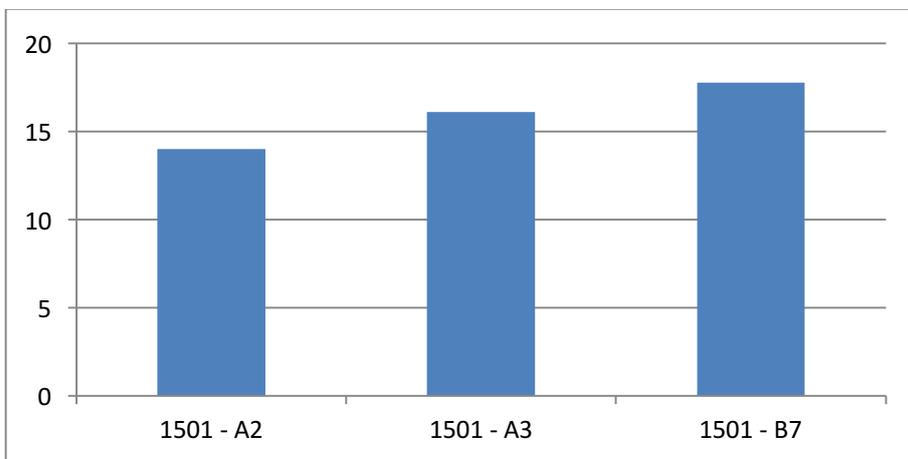


Abbildung 17: DRB1*15:01-Heterozygoten mit HLA-A2, A3, B7 (%)

Abbildung 17 zeigt in %, wie viele der DRB1*15:01-positiven MS-Patienten Allelträger für HLA-A2, -A3 und -B7 sind. Den höchsten Anteil mit 17,8% zeigt HLA-B7, den niedrigsten Anteil zeigt das protektive Allel HLA-A2 mit 14,0%. HLA-A3 zeigt sich bei 16% der DRB1*15:01-positiven Patienten. Hier nicht dargestellt ist die Kombination mit HLA-B44, dies kommt bei 8,9% der DRB1*15:01-positiven Patienten.

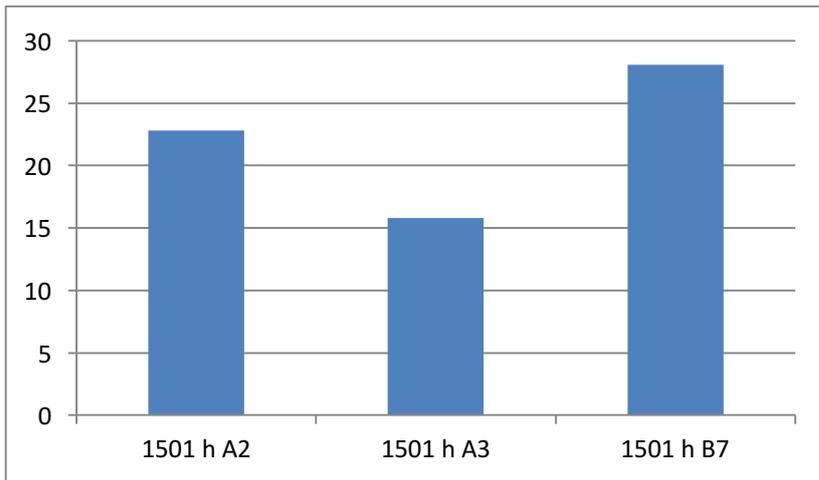


Abbildung 18: DRB1*15:01-Homozygote MS-Patienten mit HLA-A2, A3, B7 (%)

Für das Säulendiagramm der Abbildung 18 bilden die DRB1*15:01-Homozygoten mit n=57 die Grundlage. In der Kohorte der MS-Patienten sind 11,8% homozygot für das genannte Allel, in der Kontrollkohorte 9,0%.

66,7% der DRB1*15:01-homozygoten MS-Patienten tragen das HLA-Klasse-I-Allel HLA-A2, -A3 und/oder -B7. Den höchsten Anteil mit 28,1% zeigt hierbei HLA-B7, welches laut Literatur einen schnelleren Progress der MS hervorruft. Entgegen der DRB1*15:01-Heterozygoten zeigt HLA-A2 mit 22,8% nicht den niedrigsten Anteil auf. Die Kombination mit B44 (hier nicht abgebildet) kommt bei knapp 7% der DRB1*15:01-positiven Patienten vor.

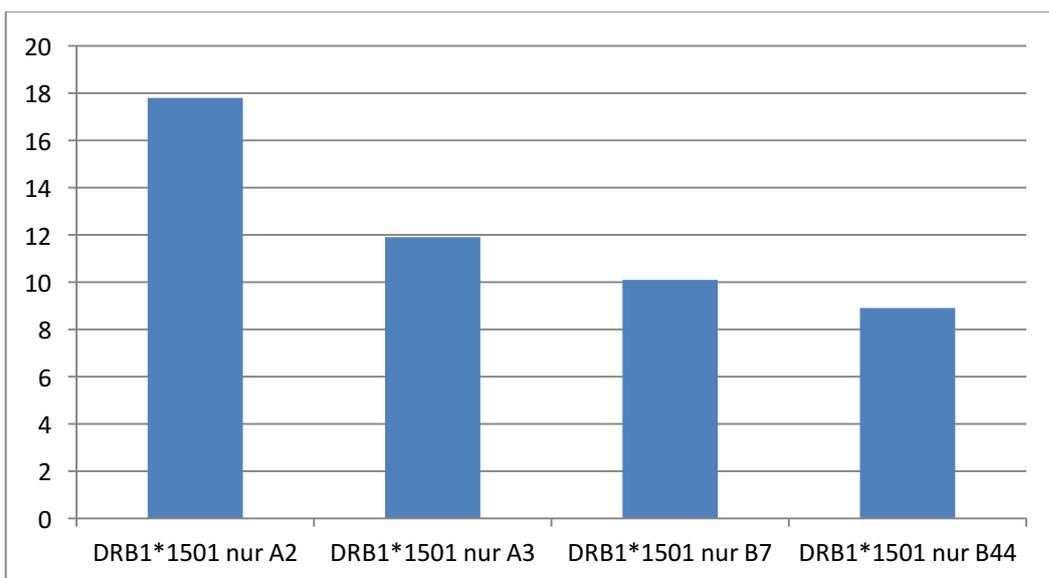


Abbildung 19: DRB1*15:01-positive MS-Patienten mit jeweils ausschließlich dem HLA-Klasse-I-Allel A2, A3, B7 oder B44 (%)

Die Abbildung 19 zeigt, welcher prozentuale Anteil der DRB1*15:01-positiven Patienten ausschließlich für die HLA-Allele A2, A3, B7 oder B44 positiv sind. Den höchsten Anteil mit 17,9% zeigt das HLA-Klasse-I-Allel A2, es wird gefolgt von HLA-A3 (11,9%), HLA-B7 (10,1%) und HLA-B44 (8,9%).

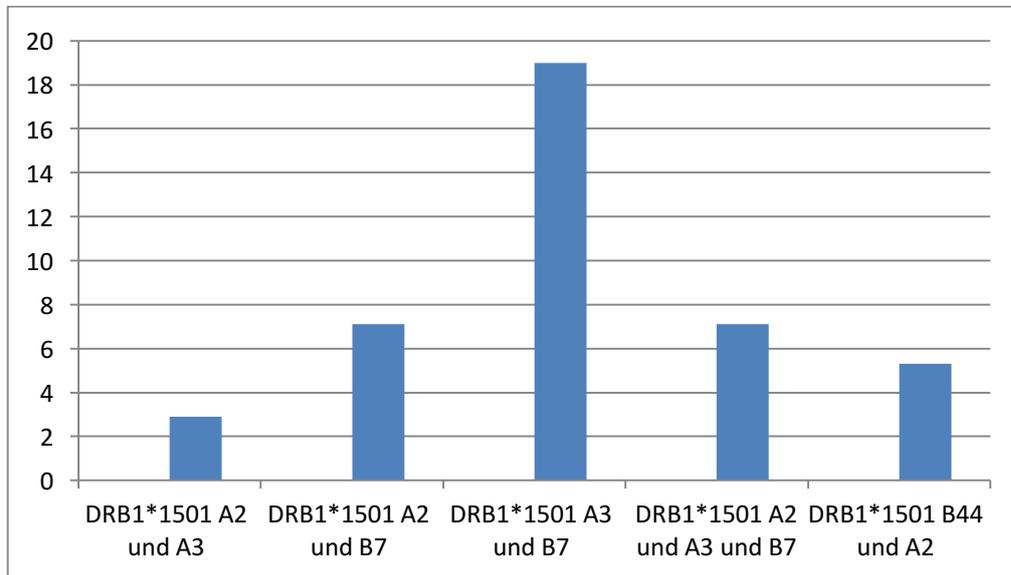


Abbildung 20: DRB1*15:01-positive MS-Patienten mit den abgebildeten Allelkombinationen (%)

Das Säulendiagramm in der Abbildung 20 zeigt die jeweils beschriftete Allelkombination bei den DRB1*15:01 – positiven MS-Patienten. Den deutlich höchsten Anteil zeigt die Kombination der HLA-Klasse-I-Allele A3 und B7 mit 19%. Die Kombination A2 und B7 bzw. die Dreierkombination aus A2, A3 und B7 zeigen mit 7,1% den gleichen Anteil. B44 und A2 kommen gemeinsam bei 5,3% der DRB1*15:01-positiven Patienten vor, A2 und A3 gemeinsam nur bei 2,9%. Die weiteren Kombinationen mit dem HLA-Klasse-I-Allel B44 kommen in dieser Kohorte nicht vor.

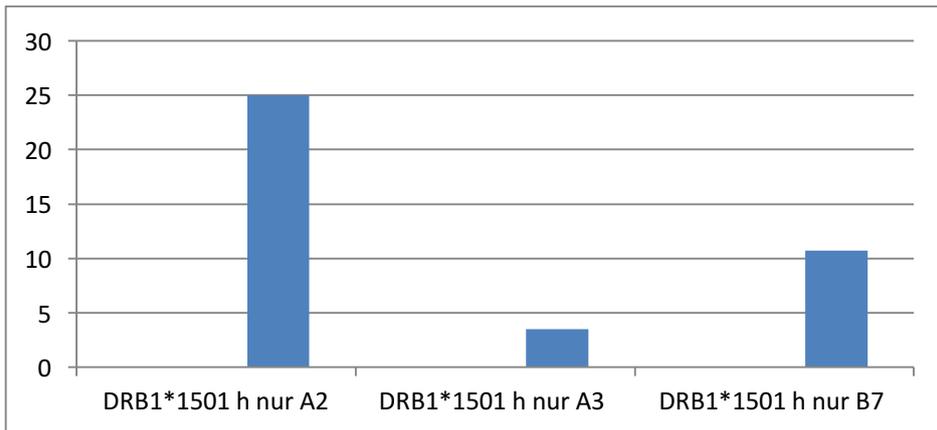


Abbildung 21: DRB1*15:01-Homozygote MS-Patienten mit jeweils ausschließlich dem HLA-Klasse-I-Allel A2, A3 oder B7 (%)

Die Abbildung 21 veranschaulicht in der Gruppe der DRB1*15:01-homozygoten MS-Patienten, welcher Anteil in Prozent ausschließlich positiv für A2, A3 oder B7 sind. Den höchsten Anteil mit 25% zeigt hier die Kombination mit A2, in deutlichem Abstand folgen B7 (10,7%) und A3 (3,5%). Die Kombination mit nur B44 ist hier nicht dargestellt und zeigt sich bei 7% der Patienten.

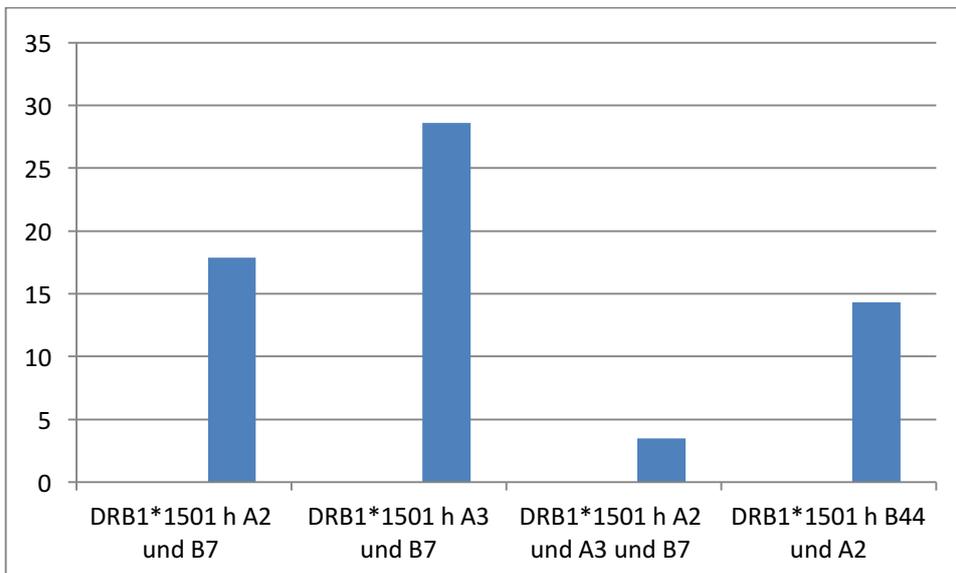


Abbildung 22: DRB1*15:01-Homozygote MS-Patienten mit den abgebildeten Allelkombinationen (%)

Die Abbildung 22 zeigt Ergebnisse für die DRB1*15:01-Homozygoten. Hier wird die jeweilig beschriftete Kombination der HLA-Klasse-I-Allele abgebildet. Am häufigsten bei den DRB1*15:01-homozygoten MS-Patienten ist die Kombination mit den HLA-Klasse-I-

Allelen A3 und B7 (28,6%). A2 und B7 kommen bei 17,9%, B44 und A2 bei 14,3% der Kohorte vor. Weitere Kombinationen mit dem HLA-Klasse-I-Allel B44 kommen nicht vor

4.7.3 Verlaufsformen DRB1*15:01-positive Patienten

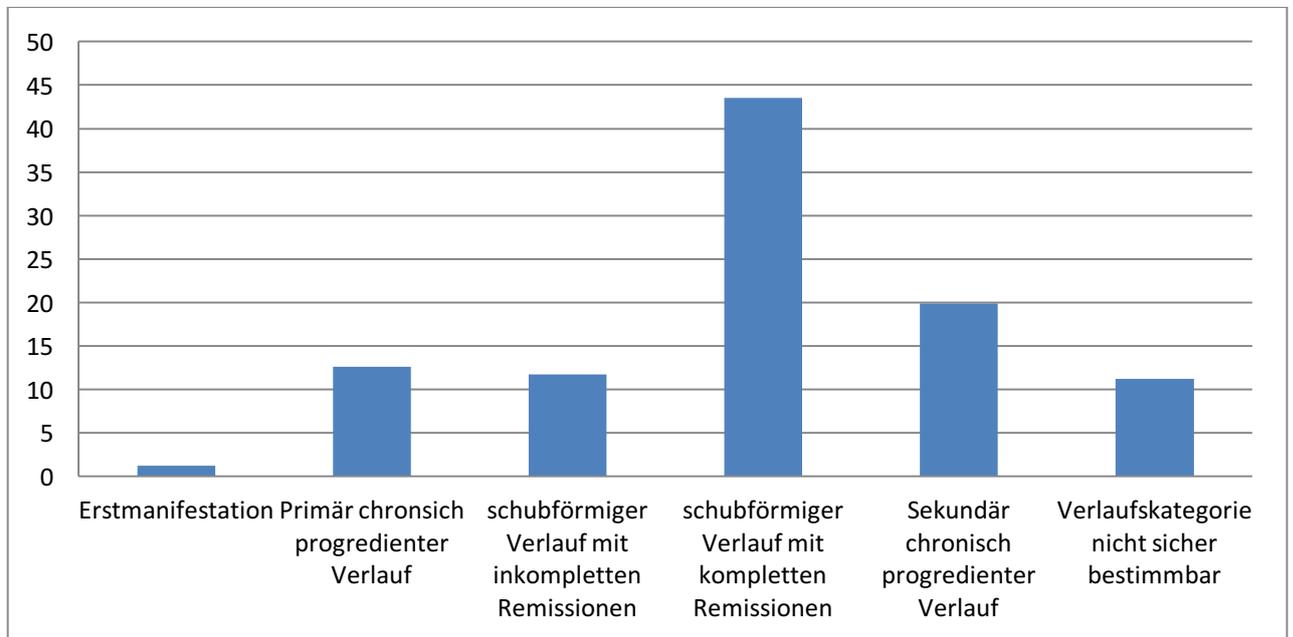


Abbildung 23: MS-Verlaufsform aller DRB1*15:01-positiven Patienten (%)

In der Abbildung 23 wird die Verlaufsform der DRB1*15:01-positiven Patienten dargestellt. Die meisten DRB1*15:01-positiven Patienten (etwa 43%) zeigen einen schubförmigen Verlauf mit kompletten Remissionen. Mit knapp 20% kommt der sekundär chronisch progrediente Verlauf am zweithäufigsten vor, gefolgt vom primär chronisch progredientem Verlauf (12,6%) und schubförmigem Verlauf mit inkompletten Remissionen (11,7%). Bei 1,2% der Patienten liegt zum Zeitpunkt der Datenerhebung eine Erstmanifestation vor. Diese Daten entsprechen weitestgehend denen der Verlaufsformen aller MS-Patienten (s.o., Abbildung 5). Dies lässt vermuten, dass der risikoreiche Haplotyp keinen Einfluss auf die Verlaufsform der Erkrankung hat. Bei 11,2% ist die Verlaufsform nicht sicher bestimmbar.

Im Folgenden wird die Häufigkeit der Verlaufsform in mehreren Gruppen der DRB1*15:01-positiven MS-Patienten untersucht. Zunächst wird diese in der Kombination mit ausschließlich einem der genannten HLA-Klasse-I-Allele A2, A3, B7 oder B44 untersucht. Anschließend wird das Vorkommen der Verlaufsformen bei den DRB1*15:01-

positiven Patienten mit einer Allelkombination (z.B. A2 und A3) untersucht. Das dann folgende Kapitel beschäftigt sich mit der Progression.

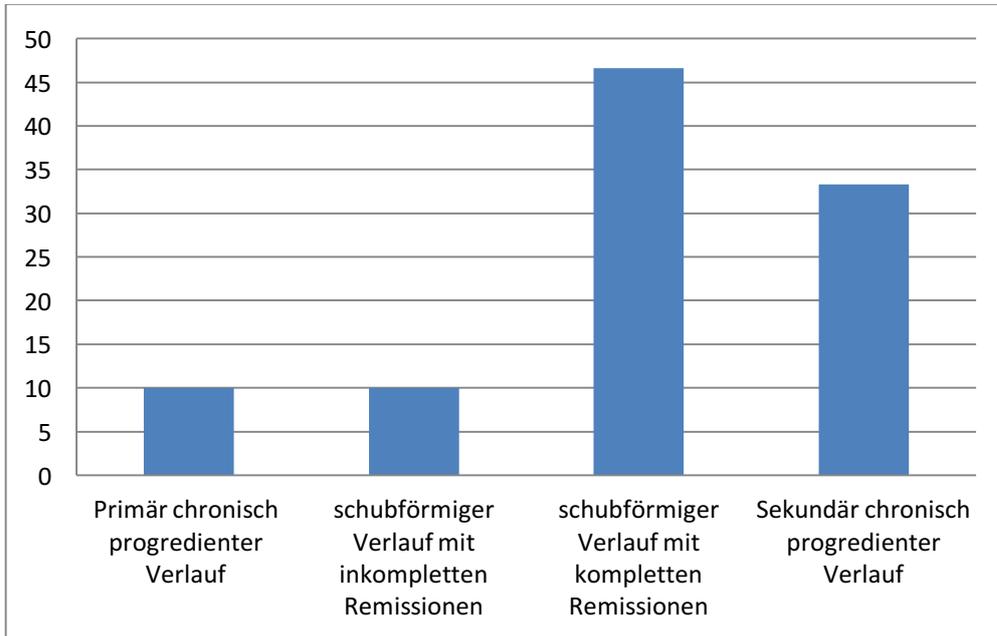


Abbildung 24: MS-Verlaufsform aller DRB1*15:01 nur A2- positiven Patienten (%)

Die Abbildung 24 veranschaulicht die Verteilung der Verlaufsform in der Gruppe der DRB1*15:01-positiven Patienten, die von den o.g. relevanten HLA-Klasse-I-Allelen ausschließlich positiv für HLA-A2 sind. Knapp 47% der DRB1*15:01 nur A2-positiven Patienten zeigen einen schubförmigen Verlauf mit vollständigen Remissionen. Nur 10% haben einen schubförmigen Verlauf mit unvollständigen Remissionen, den gleichen Anteil zeigt der primär chronisch progrediente Verlauf auf. Bei 33% der Patienten dieser Kohorte verläuft die MS sekundär chronisch progredient, im Vergleich zeigten in der Gesamt-MS-Kohorte nur knapp 17% diese Verlaufsform, in der DRB1*15:01-positiven Gruppe waren es etwa 20%. Diese könnte darauf hinweisen, dass die Kombination von DRB1*15:01 mit ausschließlich A2 in der vorliegenden Kohorte zu einem schnelleren Progress der MS und einem früheren Übergang in den sekundär chronisch progredienten Verlauf führen könnte. Dies wäre entgegen der Literaturmeinung, die in HLA-A2 ein protektives HLA-Klasse-I-Allel beschreibt.

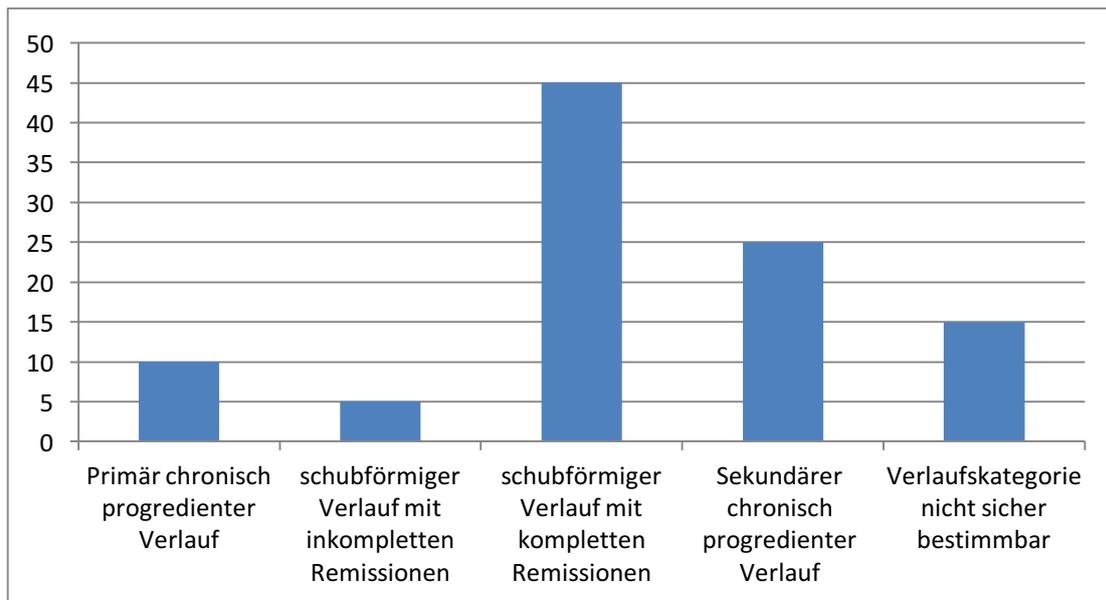


Abbildung 25: MS-Verlaufsform aller DRB1*15:01 nur A3- positiven Patienten (%)

Das Säulendiagramm der Abbildung 25 verbildlicht die Verlaufsformen der DRB1*15:01-positiven Patienten in der Kombination mit HLA-A3. Auch in dieser Kohorte ist der schubförmige Verlauf mit kompletten Remissionen am häufigsten (45%). Ebenfalls den gleichen Anteil wie bei der vorherigen Gruppe von 10% zeigt der primär chronisch progrediente Verlauf. Bei 25% der Patienten liegt ein sekundär chronisch progredienter Verlauf vor, somit sind 5% der Patienten seltener betroffen als in der oben beschriebenen Gruppe mit der Kombination mit dem HLA-A2.

Mit nur 5% zeigt der schubförmige Verlauf mit inkompletten Remissionen den geringsten Anteil. In der weiteren Kohorte war der Verlauf bei Datenerhebung noch nicht sicher bestimmbar.

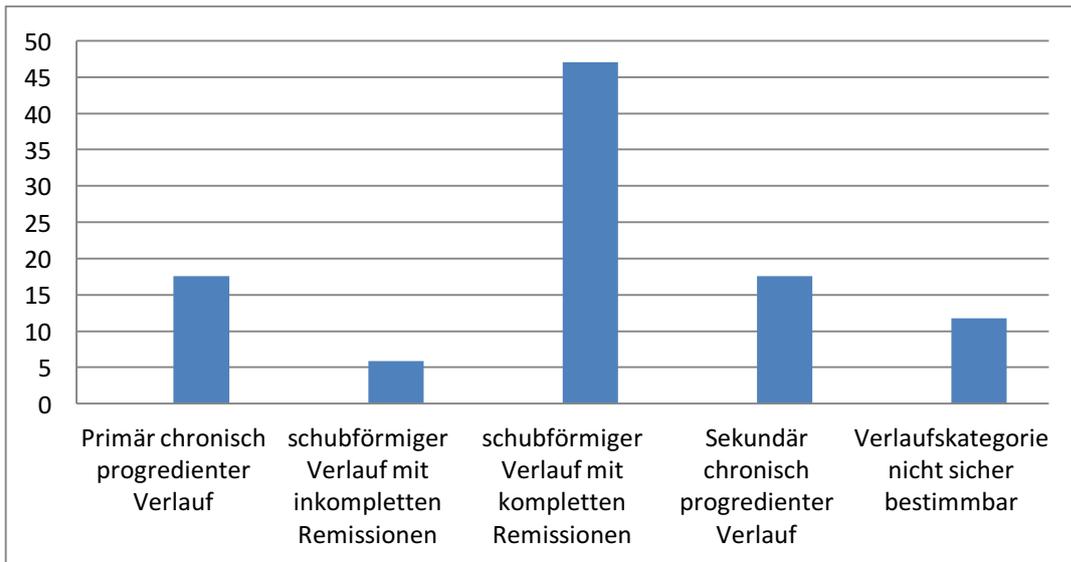


Abbildung 26: MS-Verlaufsform aller DRB1*15:01 nur B7- positiven Patienten (%)

In der vorliegenden Abbildung wird die Verlaufsform bei den DRB1*15:01-positiven Patienten in der Kombination mit HLA-B7 dargestellt. In dieser kleinen Kohorte zeigen 47,1% einen schubförmigen Verlauf mit vollständigen Remissionen. Gefolgt vom sekundär chronisch progredientem Verlauf (17,6%) und schubförmigem Verlauf mit unvollständigen Remissionen (5,9%). Der Anteil der Patienten mit primär chronisch progredientem Verlauf ist mit 17,6% hoch. In den oben beschriebenen Gruppen lag der Anteil bei 10-12%. Dies könnte für einen aggressiveren Verlauf der MS bei der vorliegenden Allelkombination sprechen, laut Literatur ist HLA-B7 ein Risikofaktor. Bei den restlichen 11,8% war die Verlaufskategorie zum Zeitpunkt der Datenerhebung nicht sicher bestimmbar.

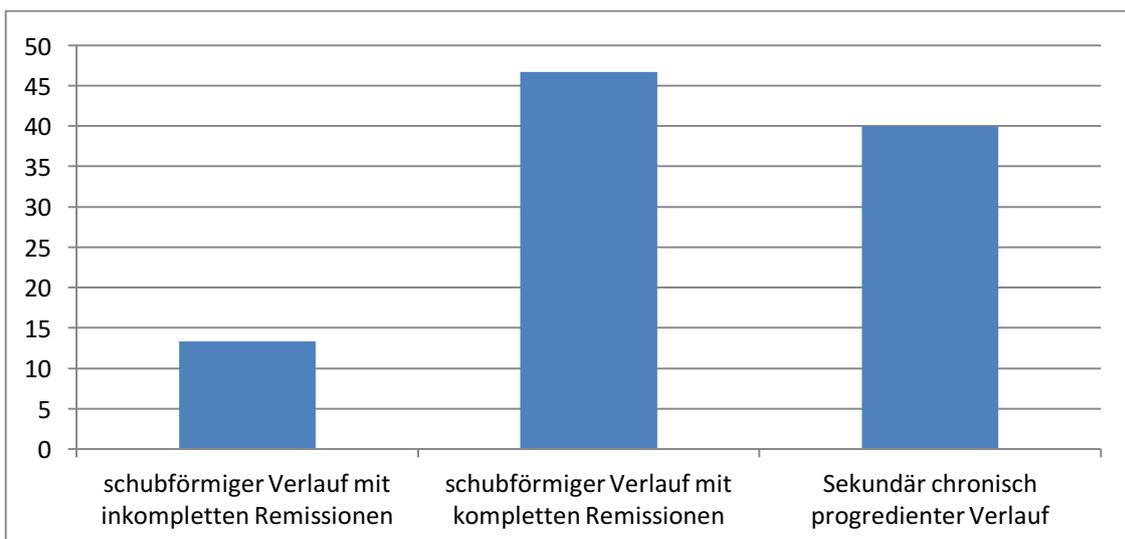


Abbildung 27: MS-Verlaufsform aller DRB1*15:01 nur B44- positive Patienten (%)

In Abbildung 27 zeigt sich die Verteilung der Verlaufsformen in der Gruppe der DRB1*15:01-positiven Patienten in der Kombination mit ausschließlich B44. Ausschließlich 15 Patienten der DRB1*15:01-positiven MS-Kohorte zeigen eine Kombinationen nur mit B44 auf. Auch in dieser Kohorte zeigt der schubförmige Verlauf mit kompletten Remissionen mit etwa 47% den höchsten Anteil auf. Gefolgt vom sekundär chronisch progredienten Verlauf (40%) und dem schubförmigen Verlauf mit unkompletten Remissionen (13,3%). Der primär chronisch progrediente Verlauf kommt bei den DRB1*15:01 nur B44- positiven Patienten nicht vor. Dies könnte für einen milderen Verlauf der MS stehen, In der Literatur wird HLA-B44 ein protektives genetisches Potenzial zugeschrieben (Healy et al. 2010).

Im Folgenden werden nun die Verlaufsformen innerhalb der DRB1*15:01-positiven Patienten mit bestimmten HLA-Klasse-I-Allelkombinationen (siehe Bildunterschriften) berechnet und dargestellt.

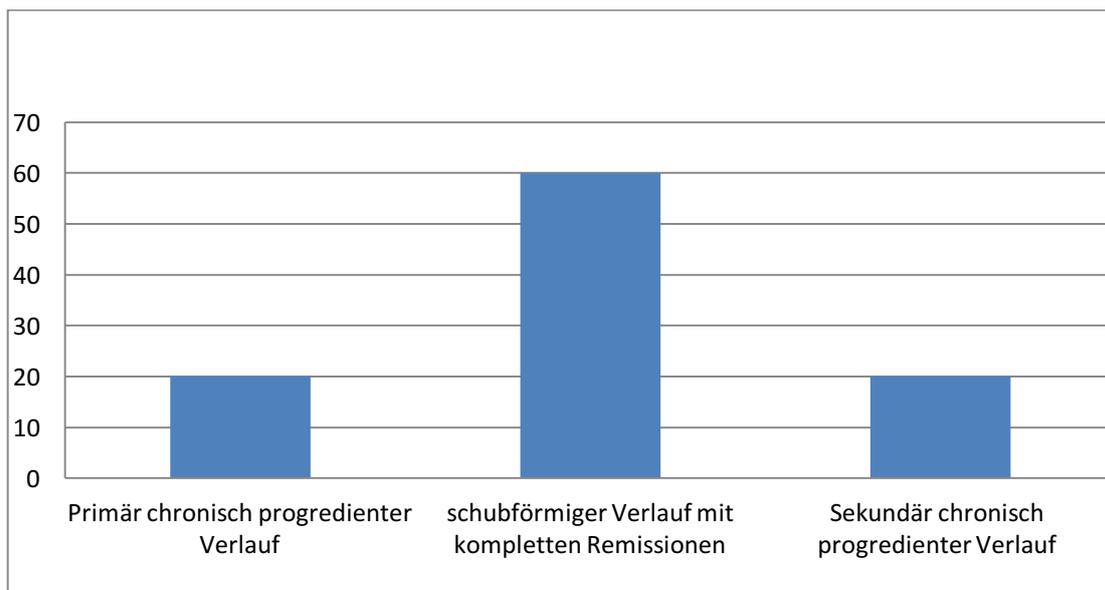


Abbildung 28: MS-Verlaufsform aller DRB1*15:01 A2 und A3-positiven Patienten (%)

Abbildung 28 verdeutlicht die Verlaufsformen derjenigen DRB1*15:01-positiven Patienten, die eine HLA-Klasse-I-Allelkombination von A2 und A3 vorweisen. Nur fünf der DRB1*15:01-positiven Patienten zeigen die Kombination aus A2 und A3. 60% zeigen einen schubförmigen Verlauf mit kompletten Remissionen, jeweils 20% die anderen gezeigten Verläufe. Verglichen mit den oben beschriebenen Abbildungen, ist der sekundär chronisch progrediente Verlauf hier von Bedeutung – in der Kohorte der DRB1*15:01-positiven Patienten, die ausschließlich für A2 positiv sind, liegt der Anteil mit knapp 33%

sehr hoch, bei denjenigen, die ausschließlich für A3 positiv sind, zeigen 25% einen sekundär chronisch progredienten Verlauf. Der schubförmige Verlauf mit inkompletten Remissionen kommt in dieser Kohorte nicht vor.

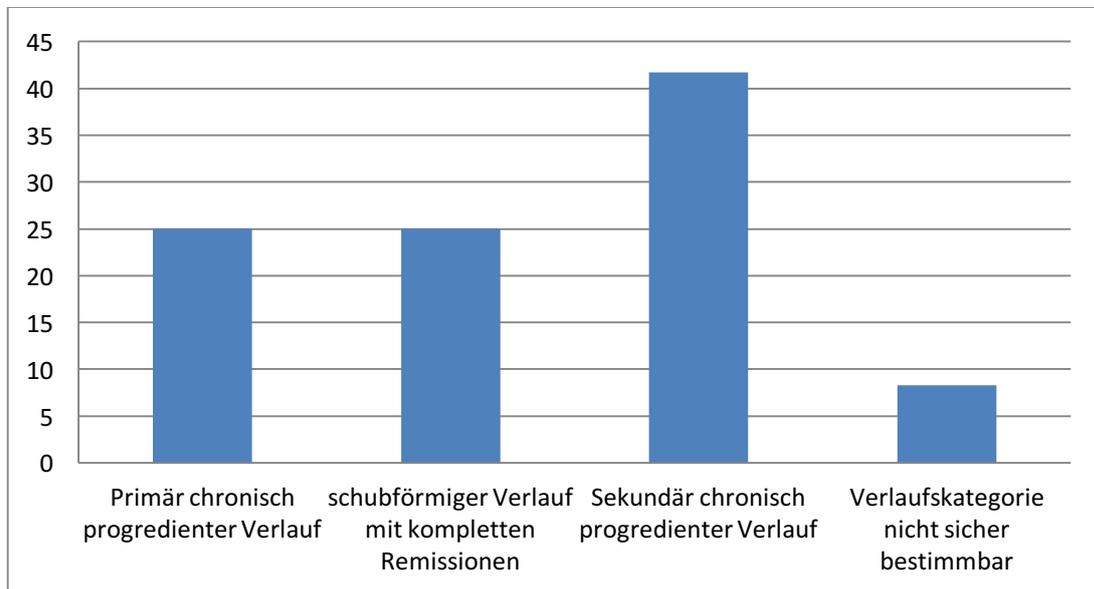


Abbildung 29: MS-Verlaufsform aller DRB1*15:01 A2 und B7-positiven Patienten (%)

Das vorliegende Säulendiagramm veranschaulicht die Häufigkeiten der Verlaufsformen (%) bei DRB1*15:01-positiven Patienten, die die Kombination mit den HLA-Klasse-I-Allelen A2 und B7 vorweisen. Diese Kombination zeigen 13 der DRB1*15:01-positiven Patienten. In dieser Gruppe ist die häufigste Form der MS mit knapp 42% der sekundär chronisch progrediente Verlauf. Nur 20% aller DRB1*15:01-positiven Patienten zeigen den genannten Verlauf. Dies könnte für eine aggressiveren Krankheitsverlauf und eine schnellere Progression bei Patienten mit der genannten Allelkombination in der hier bearbeiteten MS-Kohorte sprechen. Jeweils 25% zeigen einen primär chronisch progredienten Verlauf und einen schubförmigen Verlauf mit kompletten Remissionen. Der schubförmige Verlauf mit inkompletten Remissionen kommt in dieser Gruppe nicht vor. Bei 8,3% ist die Verlaufskategorie nicht sicher bestimmbar.

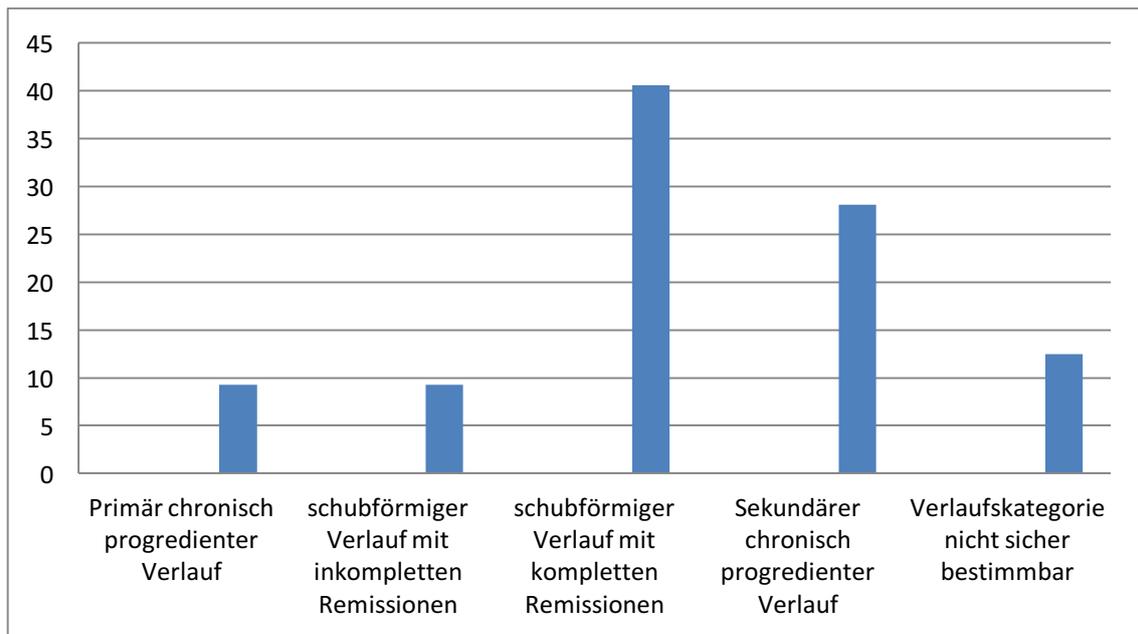


Abbildung 30: MS-Verlauf aller DRB1*15:01 A3 und B7-positiven Patienten (%)

Mit 32 Patienten zeigt die Kombination von A3 und B7 den höchsten Anteil der genannten Kombinationen der DRB1*15:01-positiven Patienten auf. Knapp 41% zeigen einen schubförmigen Verlauf mit kompletten Remissionen. 28,1% der Patienten zeigen einen sekundär chronisch progredienten Verlauf. Gefolgt vom primär chronisch progredienten Verlauf und dem schubförmigen Verlauf mit inkompletten Remissionen (je 9,3%). Bei den restlichen 12,5% ist die Verlaufskategorie nicht sicher bestimmbar.

4.7.4 Progression

Im folgenden Kapitel wird – wie oben beschrieben – die Progression anhand der MS-Dauer und dem EDSS-Wert berechnet und anschließend anhand von Säulendiagrammen verbildlicht. Hierbei wird zunächst auf alle Patienten eingegangen und dann die Verteilung der Progression der DRB1*15:01-positiven Patienten dargestellt. Anschließend wird die Kombination mit den HLA-Klasse-I-Allelen A2, A3, B7 und B44 eingegangen.

Abschließend werden die Berechnungen für die DRB1*15:01-homozygoten Patienten durchgeführt und dargestellt.

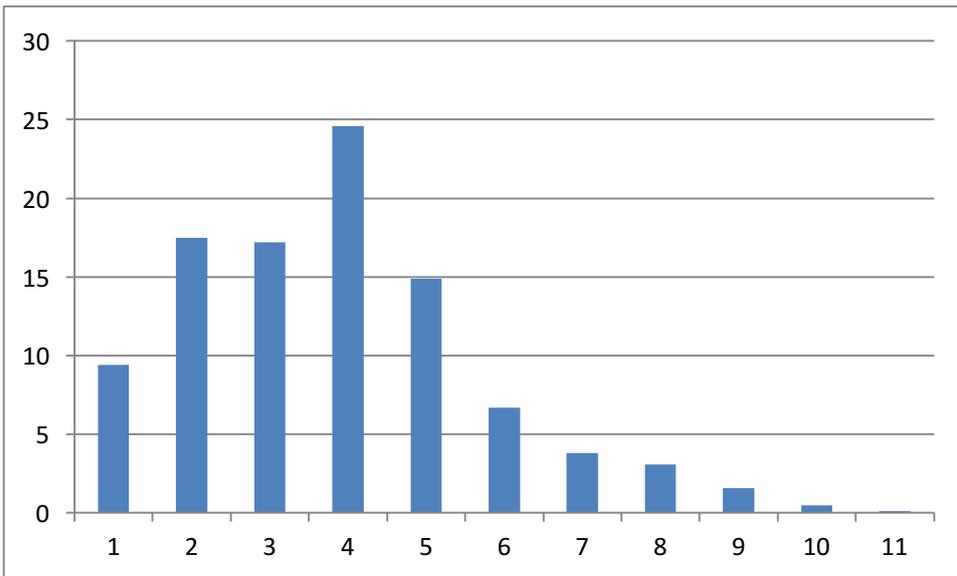


Abbildung 31: Progressionscodes aller Patienten (%)

Die Abbildung 31 zeigt die Verteilung der Progressionscodes aller Patienten. Am häufigsten ist die Progression von 4 mit knapp 25%. Gefolgt von den Codes 2 und 3 (je knapp 18%). Code 7 und 8 zeigen sich bei etwa 3%. Eine hohe Progression mit dem Code 11 kommt einmal in der gesamten MS-Kohorte vor.

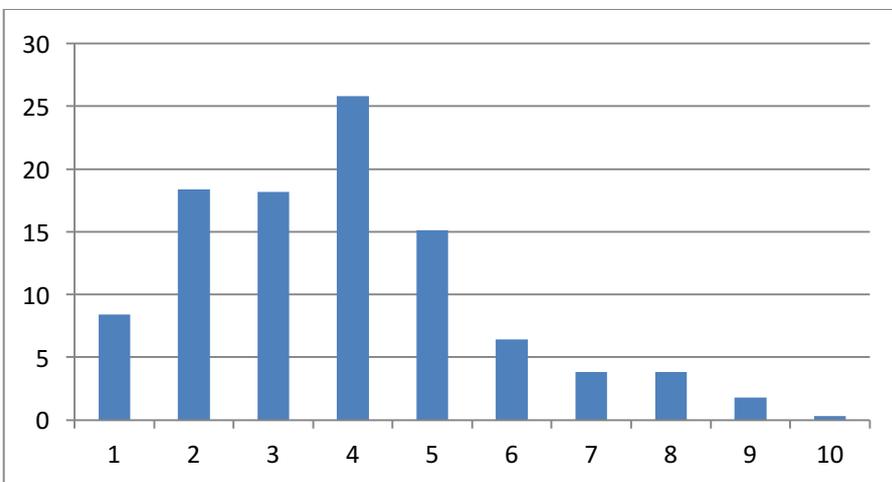


Abbildung 32: Progressionscodes aller DRB1*15:01-positiven Patienten (%)

Die Abbildung 32 zeigt die Verteilung der Progressionscodes aller DRB1*15:01-positiven Patienten. Am häufigsten ist die Progression der Gruppe 4 mit 25,8%. Gleich häufig zeigen sich die Codes 2 und 3. Knapp 2% haben eine Progression vom Code 9 und nur 0,3% zeigen den Code 10. Der Code 11 zeigt sich nicht. Weitere Unterschiede zur gesamten MS-

Kohorte sind nicht darzustellen. Dies lässt vermuten, dass DRB1*15:01 isoliert keinen Einfluss auf den Progress der Erkrankung hat.

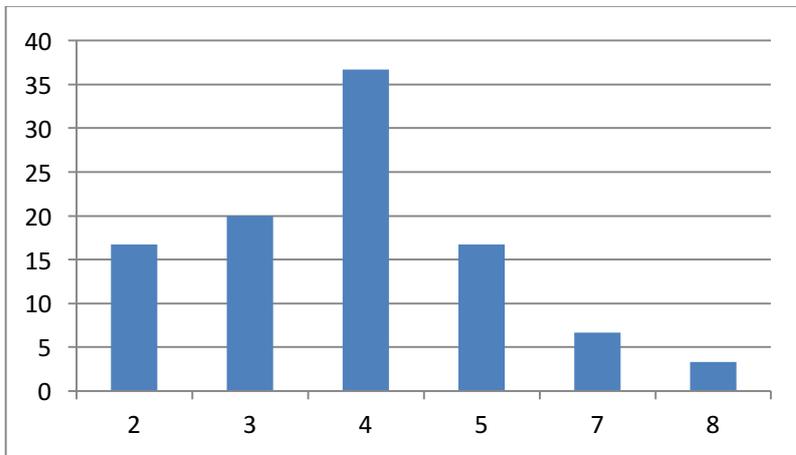


Abbildung 33: Progressionscodes aller DRB1*15:01 nur A2-positiven MS (%)

Das Säulendiagramm der Abbildung 33 veranschaulicht die Progressionscodes der DRB1*15:01-positiven Patienten, die ausschließlich noch für A2 positiv sind.

36,7% der DRB1*15:01 nur A2-positiven MS-Patienten zeigen den Progressionscode 4, haben also eine mittlere Progression. Der Verlauf der Progression mit den Ziffern 2,3 und 5 zeigen sich zwischen 16 und 20%. Einen aggressiven Verlauf mit dem Code 8 zeigen 3,3%.

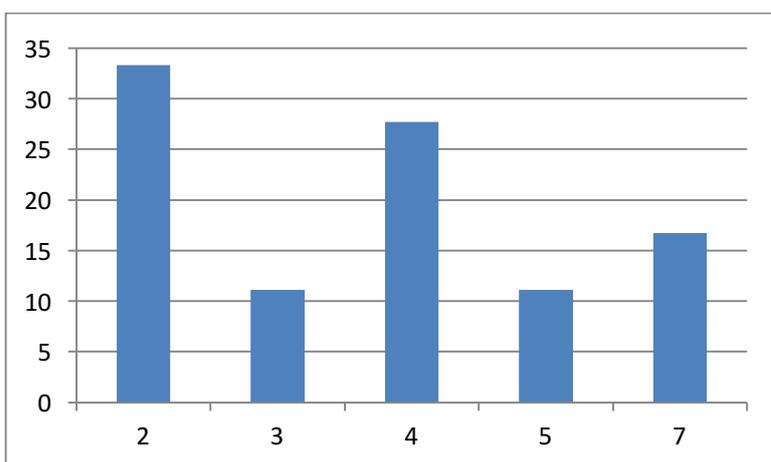


Abbildung 34: Progressionscodes aller DRB1*15:01 nur A3-positiven MS (%)

Die Abbildung 34 zeigt die Progression aller DRB1*15:01-positiven Patienten, die ausschließlich positiv für A3 sind. In dieser Kohorte zeigen mit 33,3% die meisten Patienten einen Code von 2, gefolgt vom Code 4 mit 27,7%: Der Anteil der Patienten mit

dem Code 7 ist mit knapp 17% recht hoch, in der A2-positiven Kohorte (s. oben), zeigen diesen Code nur knapp 7%. Dies bestätigt Studienbefunde, die besagen, dass HLA-A2 einen protektiven Einfluss auf die Entstehung der MS hat und HLA-A3 als genetischer Risikofaktor fungiert.

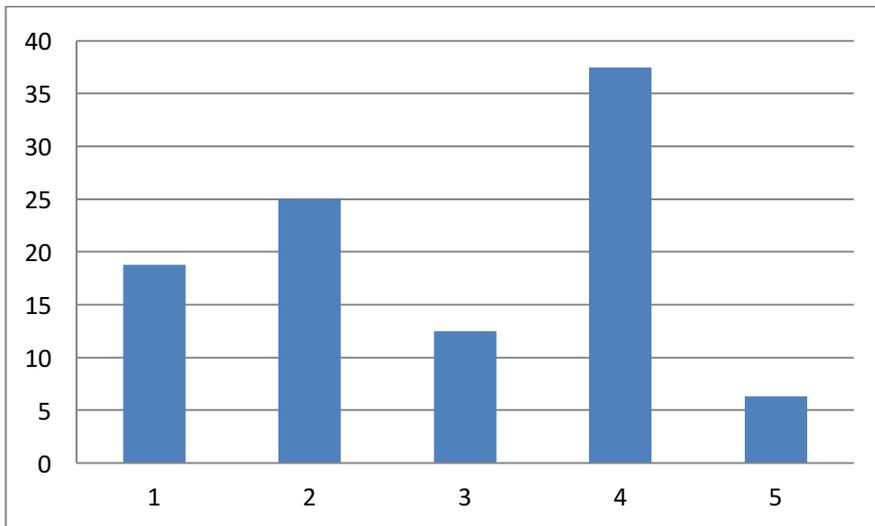


Abbildung 35: Progressionscodes aller DRB1*15:01 nur B7-positiven MS (%)

Die Abbildung 35 stellt die Progression der DRB1*15:01-positiven Patienten dar, die ausschließlich die Kombination mit HLA-B7 zeigen. Drei der 16 Patienten zeigen den Code 1, das entspricht 18,8%. Mit 37,5% zeigen die meisten Patienten einen Code von 4 und somit eine mittlere Progression. Ein höherer Progressionsindex und somit ein aggressiverer Verlauf kommt in dieser Kohorte nicht vor. In der Literatur wird HLA-B7 ein genetisches Risikopotenzial für die Entstehung der MS zugeschrieben. Anhand der hier vorliegenden Daten kann jedoch in der vorliegenden MS-Kohorte kein Risiko für den Progress der Erkrankung erkannt werden.

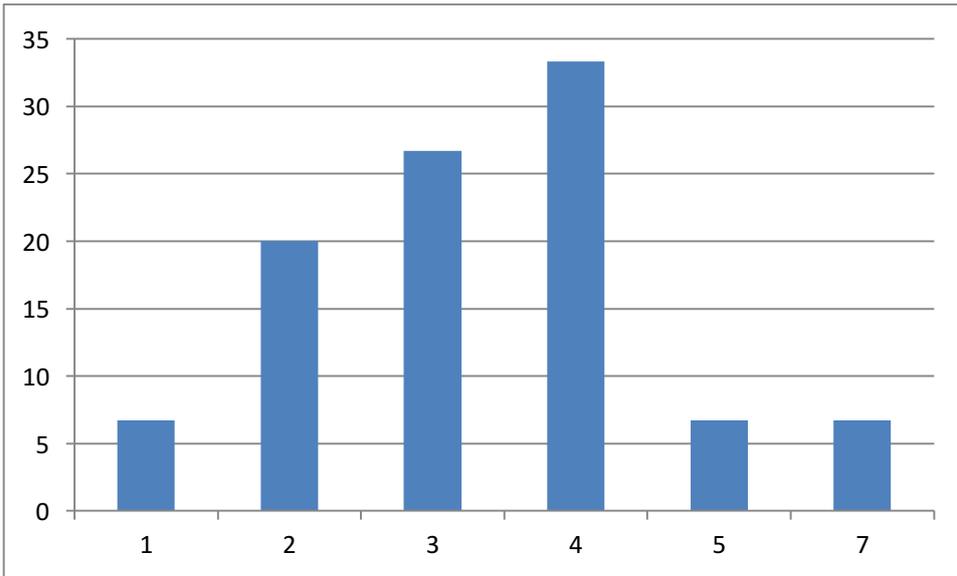


Abbildung 36: Progressionscodes aller DRB1*15:01 nur B44-positiven Patienten (%)

Die Abbildung 36 zeigt die Progression der DRB1*15:01-positiven Patienten, die die Kombination mit nur B44 zeigen. Mit knapp über 30% zeigt sich in dieser Gruppe der Progressionscode von 4 am häufigsten, gefolgt von 3 mit 26,7%. Der Code von 2 zeigt sich bei 20% der Patienten; 1, 5 und 7 bei jeweils einer Person, entspricht 6,7%.

Im Folgenden werden die Daten für die DRB1*15:01-Homozygoten dargestellt.

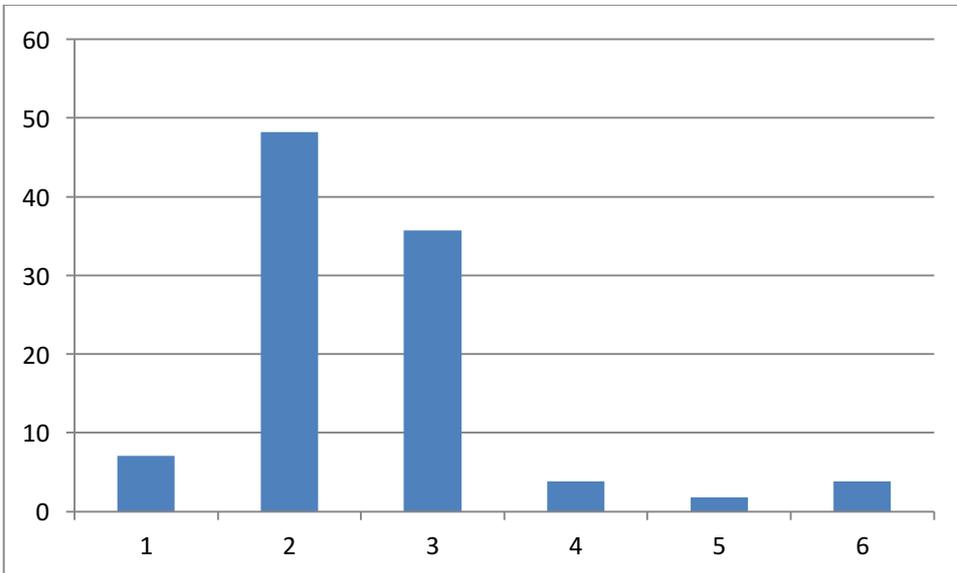


Abbildung 37: Progressionscodes aller DRB1*15:01-Homozygoten (%)

Die Abbildung 37 zeigt die Verteilung der Progressionscodes aller DRB1*15:01-positiven MS-Patienten. Es findet sich mit 48,2% am häufigsten der Code 2, gefolgt vom Code 3 mit 35,7%. Einen Code von 4 und 6 zeigen jeweils etwa 4% der Patienten. Es zeigt sich hier eine mildere Progression, als bei den DRB1*15:01-Heterozygoten.

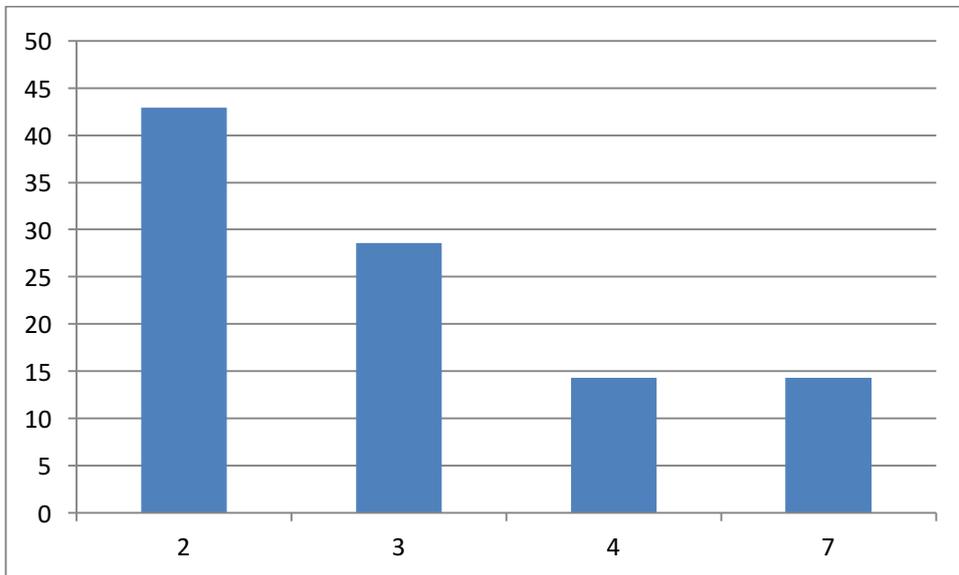


Abbildung 38: Progressionscodes aller DRB1*15:01-Homozygoten mit A2 (%)

Die Abbildung 38 veranschaulicht die Verteilung der Progressionscodes derjenigen DRB1*15:01-Homozygoten, die nur positiv für HLA-A2 sind. 42,9% zeigen hier einen Code von 2, 28,6% zeigen einen Code von 3. Die Codes 4 und 7 zeigen sich jeweils bei nur einer Person.

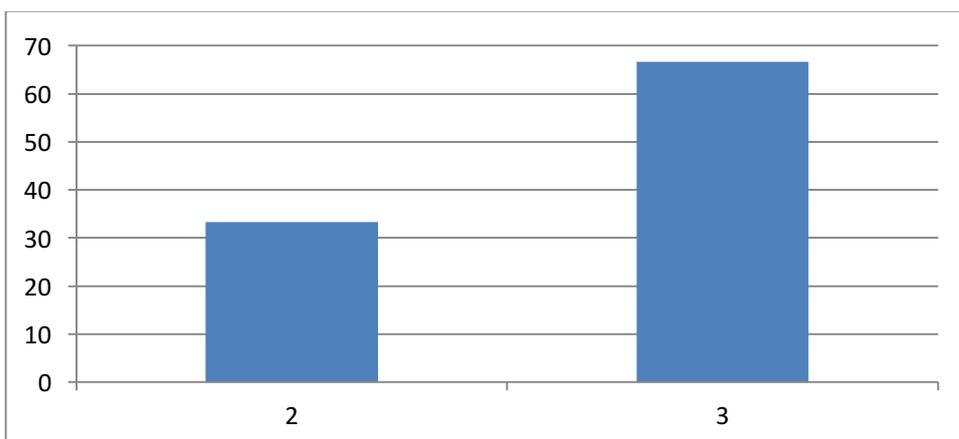


Abbildung 39: Progressionscodes aller DRB1*15:01-Homozygoten mit A3 (%)

Die Abbildung 39 bildet die Verteilung der Progressionscodes aller DRB1*15:01-Homozygoten in der Kombination mit HLA-A3 ab. Bei n=9 zeigen hier mit 66,6% 2/3 der Patienten einen Code von 3, 1/3 zeigen einen Code von 2. Andere Progressionen kommen in dieser Kohorte nicht vor.

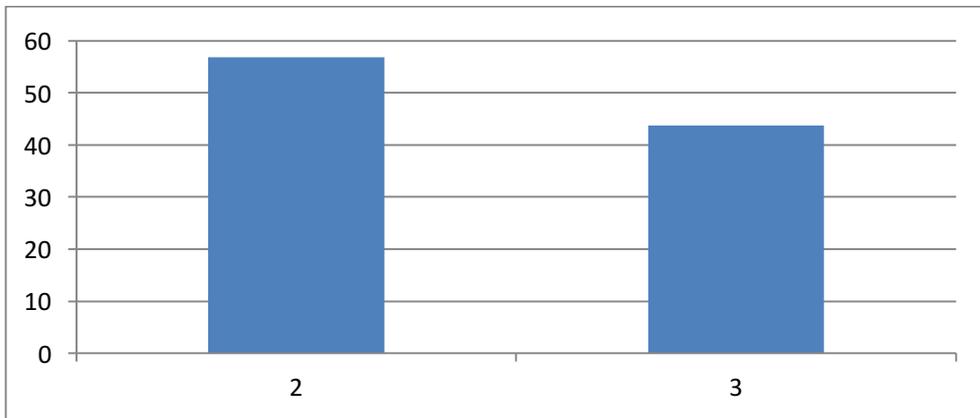


Abbildung 40: Progressionscodes aller DRB1*15:01-Homozygoten mit B7 (%)

Das Säulendiagramm der Abbildung 40 stellt die Progression der DRB1*15:01-Homozygoten, die die Kombination mit HLA-B7 aufweisen dar. Interessanterweise zeigt sich hier bei n=16 eine recht ausgeglichene Aufteilung, wobei der Code 2 (56,9%) häufiger vorkommt als der Code 3 (43,7%). Die anderen Codes kommen auch hier nicht vor.

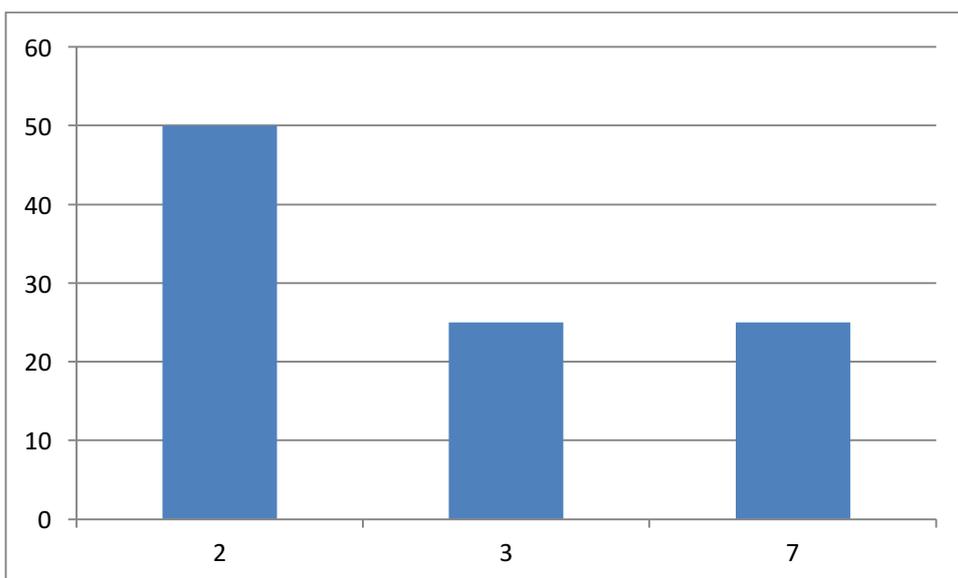


Abbildung 41: Progression aller DRB1*15:01-Homozygoten mit B44 (%)

Das Säulendiagramm der Abbildung 41 zeigt die Verteilung der Progressionscodes der DRB1*15:01-homozygoten Patienten in der Kombination mit B44. Die Hälfte der n=7 Patienten zeigt den Code von 2, 3 und 7 kommen mit jeweils 25% gleich häufig vor.

4.7.5 Kontrollkohorte

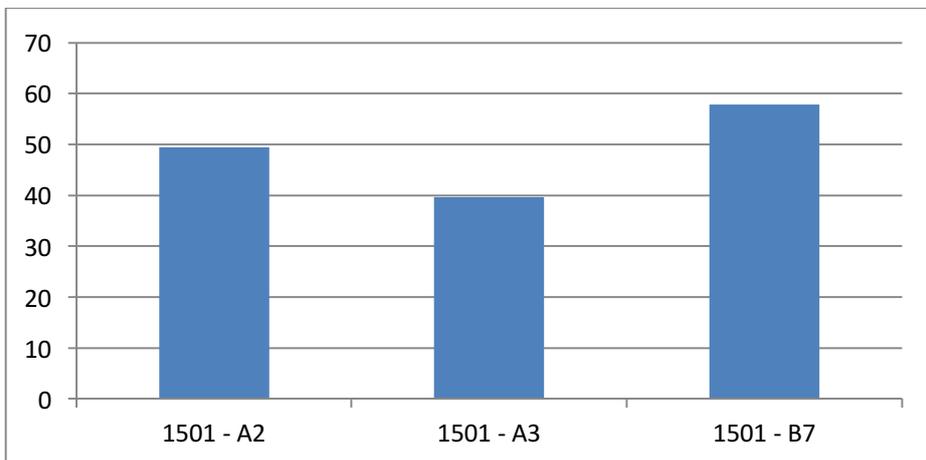


Abbildung 42: DRB1*15:01-Heterozygoten (n=428) mit HLA-A2, A3, B7 (%)

Die Abbildung 42 zeigt die Häufigkeit der DRB1*15:01-Heterozygoten mit jeweils den abgebildeten Kombinationen mit HLA-A2, -A3 und -B7.

Den höchsten Anteil mit 57,9% zeigt die Kombination mit dem HLA-Klasse-I-Allel B7, die Kombination mit A2 kommt bei 49,4% der DRB1*15:01-positiven Kontrollpersonen vor. Den niedrigsten Anteil zeigt das HLA-A3 mit 39,6%. Die Kombination mit HLA-B44 ist hier nicht abgebildet. 18,4% der Kontrollpersonen zeigen die Kombination mit dem genannten Allel.

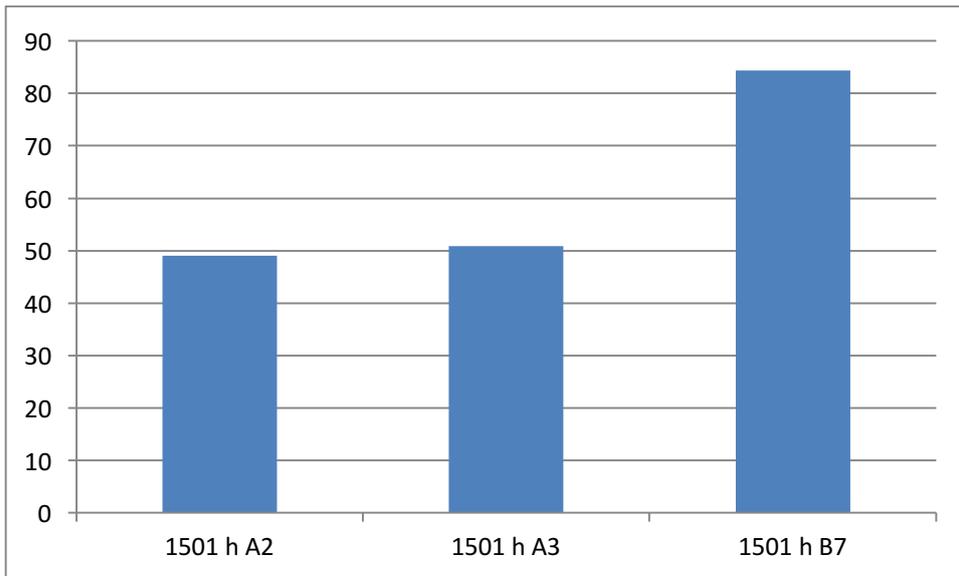


Abbildung 43: DRB1*15:01-Homozygoten mit HLA-A2, A3, B7 (%)

Auch bei den DRB1*15:01-Homozygoten zeigt die Kombination mit dem HLA-Klasse-I-Allel B7 mit 84,3% den höchsten Anteil, gefolgt von HLA- A3 (50,9%) und HLA-A2 (49,1%). Die Kombination mit HLA-B44 ist nicht abgebildet und zeigt sich bei 5,8% der Homozygoten (s. Abbildung 43).

5 Diskussion

Das Humane Leukozyten Antigen wird bei mehreren Erkrankungen in unterschiedlichen Fächern der Medizin als genetisches Risikoprofil in der Literatur diskutiert. So gibt es Daten für das gehäufte Vorkommen für DR8 bei Juveniler Rheumatoider Arthritis (Smerdel et al. 2002), DR3 bei Zöliakie (Lie et al. 1999) und dem für die vorliegende Arbeit relevanten HLA-Haplotyp DRB5*01:01~DRB1*15:01~

DQA1*01:02~DQB1*~06:02 bei der Multiplen Sklerose (Sospedra und Martin 2005).

So werden in der Literatur unterschiedliche modulierende Einflüsse des genannten Haplotyps auf die Erkrankung beschrieben.

Masterman und Kollegen (2000) untersuchten in ihrer MS-Kohorte ebenfalls den Effekt von DR15 auf die Erkrankung. Auch sie fanden in der MS-Kohorte im Vergleich zu einer gesunden Kontrollkohorte deutlich häufiger DR15. Weiterhin zeigen sie, dass DR1, DR4, DR12, DR13, DR14 und DR9 signifikant seltener in der MS-Kohorte, als in der gesunden Kontrollkohorte vorkommen. Sie konnten keinen Effekt von DR15 auf den Verlauf oder die Prognose der MS nachweisen. Barcellos et al. (2003) hingegen finden in ihrer Kohorte einen deutlichen Einfluss auf den Progress der MS derjenigen Patienten, die den genannten HLA-Haplotyp tragen. Der Progress wird hier punktuell anhand das EDSS-Wert nach 10 bzw. 15 Jahren Erkrankung bestimmt und die Patienten entsprechend in Gruppen „Milde MS“ und „Schwere MS“ eingeteilt. Homozygote haben in der Kohorte im Vergleich zu den Heterozygoten einen schnelleren Progress, es zeigt sich jedoch kein Einfluss des Haplotyps auf die Verlaufsform.

2006 führten Barcellos et al. weitere Untersuchungen durch und nutzten hierbei als Grundlage zum Progress der MS den „Global MS severity score (MSSS)“. Hierbei stellten sie zum einen fest, dass der MSSS im Durchschnitt bei den männlichen Patienten höher war, als bei den weiblichen. Zum anderen beschreiben sie, dass es keinen signifikanten Unterschied gibt zwischen DRB1*15:01 und DRB1*X bezüglich der Progression und des MSSS.

Mit der Bedeutung für die Prognose der MS beschäftigten sich auch Söderström et al. (1998). Sie untersuchten hierfür Patienten, bei denen der Verdacht auf MS bestand und stellten hierbei fest, dass der bekannt assoziierte Haplotyp bei MS-Patienten, bei denen das Vorliegen einer MS bestätigt wurde, deutlich häufiger vorkam (57%), als bei Patienten, die nach einem Verdacht die Diagnosekriterien der MS nicht erfüllten (36,4%).

Für die Bestimmung des Progress der MS können der EDSS-Wert und die Verlaufsform der Krankheit herangezogen werden. Einzeln sind beide Werte jedoch eher eine Momentaufnahme, die man mit einem vorherig bestimmten Wert bzw. der vorherig gestellten Diagnose vergleichen kann, es ergibt sich jedoch keine Aussage über den Progress der letzten Krankheitsjahre. Um diese Aussage treffen zu können, wird der Progressionsindex berechnet. Die Forschungsgruppe von Weinshenker und Kollegen (1998) berechnete diesen Index als Quotient aus EDSS und Dauer der Erkrankung. Ein ähnlicher Index wurde auch für die Berechnung der Progression der vorliegenden Arbeit verwendet – jedoch wurde in Bezug auf die Krankheitsdauer im Detail darauf geachtet, dass die Dauer vom ersten Symptom der MS zum aktuellen Zeitpunkt der EDSS-Bewertung verwendet wurde. In ihrer Kohorte fanden Weinshenker et al. ebenfalls eine Assoziation von DR15 in ihrer MS-Kohorte. DR15-Homozygote kamen im Gegensatz zur Kontrollkohorte nicht gehäuft vor. Kein Haplotype war in ihrer Untersuchung mit einer bestimmten MS-Verlaufsform assoziiert und DR15 zeigt keinen Einfluss auf die Progression der Erkrankung.

In den dargestellten Zusammenfassungen der Befundlage zeigen sich eindeutige Ergebnisse bezüglich der Häufigkeit vom riskanten HLA-Haplotype DRB5*01:01~DRB1*15:01~DQA1*01:02~DQB1*~06:02 (bei Kaukasiern), jedoch unterschiedliche Aussagen bezüglich der Modulation des Krankheitsbildes und Krankheitsverlaufes.

In den für die vorliegende Arbeit durchgeführten Ergebnissen zeigt sich eine deutliche Krankheitsassoziation des oben genannten riskanten HLA-Haplotype mit der MS. 428 von 824 MS-Patienten und nur 565 von 2110 Kontrollpersonen sind positiv für DRB1*15:01. Probanden mit HLA-DRB1*15:01 haben ein 3-fach höheres MS-Risiko (Odds Ratio von 2,96; $p < 0,0001$) mit einem negativ prädiktivem Wert von 79,6% und einem positiv prädiktivem Wert von 43,1%. Damit bestätigt sich die Annahme, dass DRB1*15:01 in den vorliegenden Kohorten als genetischer Risikofaktor die Wahrscheinlichkeit erhöht, an MS zu erkranken. In einer aktuellen Studie aus 2011 (Sawcer et al.) wurden „genome-wide association studies“ (GWAS) durchgeführt, in der 9772 MS-Patienten aus dem gesamten europäischen Raum mit einer Kontrollgruppe (n=17376) verglichen wurden. Auch in dieser sehr großen Kohorte wurden für den riskanten HLA-Klasse-II-Haplotype eindeutige Ergebnisse und – unter allen HLA-Klasse-II-Allelen – die stärkste Assoziation mit der MS

nachgewiesen (ebd.). In dieser Metanalyse wurde, wie in der vorliegenden Arbeit, eine mittlere Odds Ratio von 3 berichtet (ebd.). Weiterhin konnte keine Assoziation zwischen HLA-Haplotyp und MS-Verlaufsform, dem Schweregrad der Erkrankung und dem Geschlecht der MS-Patienten gezeigt werden (ebd.).

Weiterhin wurden anhand des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts spannende Ergebnisse erzielt. Zunächst wurden die Allelfrequenzen für DRB1*15:01 berechnet. Hierbei zeigten die MS-Patienten $f=51,9\%$ und die Kontrollkohorte $f=26,8\%$. In der Gruppe der MS-Patienten war das DRB1*15:01 im Gegensatz zur Kontrollkohorte nicht im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht. Ursache ist, dass es weniger DRB1*15:01-Homozygote gab, als erwartet. Daraus folgt, dass es auch keinen Gen-Dosiseffekt für DRB1*15:01 bei MS geben kann. Man kann auf Grund dieser Daten sogar annehmen, dass Homozygotie für DRB1*15:01 protektiv zu sein scheint.

Bezüglich der DRB1*15:01-Homozygoten bestätigen sich die Ergebnisse von Weinshenker und Kollegen. Hier zeigt sich kein deutlicher Unterschied. 11,8% der MS-Kohorte ist DRB1*15:01-Homozygot und 9% der Gesunden ist homozygot für das genannte Allel.

Die MS-Verlaufsform zeigt in der Gesamt-MS-Kohorte eine in der Literatur als typisch beschriebene Verteilung (siehe oben). Bei Betrachtung der MS-Verlaufsform in der MS-Kohorte, die DRB1*15:01-positiv ist, lässt sich keine Änderung der Verteilung der Verlaufsform abbilden und lässt damit vermuten, dass der Haplotyp alleine in der vorliegenden Kohorte keinen Einfluss auf die Verlaufsform der Erkrankung hat. Es konnte in der vorliegenden Kohorte bei den DRB1*15:01-positiven Patienten kein aggressiverer Verlauf am Parameter Verlaufsform der MS festgemacht werden. Dies bestätigt die Annahmen von Weinshenker et al. (1998) und Barcellos et al. (2006). Auf die Ergebnisse in Allelkombination mit den HLA-Klasse-I-Allelen wird im Verlauf dieses Kapitels noch eingegangen.

Die Progression wurde in Anlehnung an den Progressionsindex von Weinshenker et al. (siehe oben) berechnet. Hierdurch ergab sich nicht nur ein punktueller Wert durch den EDSS-Wert oder die momentane MS-Verlaufsform, sondern es zeigt sich der zeitliche Verlauf mit dem EDSS-Wert. Der Effekt von DRB1*15:01 auf die Progression der Erkrankung ist in der Literatur widersprüchlich beschrieben. Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass DRB1*15:01 isoliert in der vorliegenden MS-Kohorte keinen Einfluss auf die

Progression der Erkrankung hat. Die Verteilung der berechneten Progressionscodes (siehe oben) zeigen, dass die Gesamt-MS-Kohorte sowie die DRB1*15:01-positiven Patienten eine sehr ähnliche Verteilung der Codes zeigen. Innerhalb der DRB1*15:01-Homozygoten können auf Grund der vorliegenden Berechnungen die Ergebnisse von Barcellos et al. (2003) nicht bestätigt werden. Die Verteilung der Progressionscodes zeigt hier eher einen milderen Verlauf der MS, es kommen ausschließlich die Codes 1-6 vor und es zeigt sich eine deutliche Häufigkeit bei den Codes 2 und 3. Dies spricht gegen einen schnelleren Progress der MS bei DRB1*15:01-homozygoten Patienten in der vorliegenden Kohorte. Auf die Ergebnisse in Allelkombination mit HLA-Klasse-I-Allelen für die DRB1*15:01-heterozygoten und -homozygoten Patienten wird im Verlauf dieses Kapitels noch eingegangen.

Nicht nur der oben genannte HLA-Klasse-II-Haplotyp wird in der Literatur als genetischer Faktor für die Erkrankung an Multipler Sklerose angegeben, auch HLA-Klasse-I-Allele wurden in der Vergangenheit in der Literatur als genetisches Risiko und auch als protektive Allele beschrieben und diskutiert.

Bei den HLA-Klasse-A-Allelen sind dies HLA-A2 und HLA-A3.

HLA-A2 wird in der Literatur als protektiver Faktor der MS beschrieben (z.B. Fogdell-Hahn et al. 2000), der seine Wirkung unabhängig von DRB1*15:01 entfaltet. Jedoch hat sich auch gezeigt, dass HLA-A2 bei DRB1*15:01-positiven Personen das Risiko senkt, an MS zu erkranken (ebd.). Link et al. (2012) untersuchten ebenfalls den Effekt von HLA-Klasse-I und -II-Allelen auf die MS und beschreiben, dass HLA-A2 den stärksten Effekt aller HLA-Klasse-I-Allele vermittelt. Auch Healy et al. (2010) sehen in ihrer Kohorte einen protektiven Effekt durch HLA-A2, beschreiben aber, dass HLA-A2 keinen Einfluss auf das „Outcome“ der Erkrankung hat.

HLA-A3 ist nach wissenschaftlichen Erkenntnissen ein genetischer Risikofaktor der Multiplen Sklerose (z.B. McMahon et al. 2011), die Gruppe beschreibt sogar eine Verdoppelung des Krankheitsrisikos (ebd.). Fogdell-Hahn et al. (2000) sehen in ihrer Studie ebenfalls eine klare Assoziation zwischen MS-Krankheit und HLA-A3, sie beschreiben den Effekt unabhängig von DRB1*15:01.

Studien vom Harbo et al. (2004) zeigen in norwegischen Familien ebenfalls eine Risikozunahme für die Erkrankung an MS durch HLA-A3. Diese stellten fest, dass Personen, die negativ für DRB1*15:01 und HLA-A3 sind, einen protektiven Effekt durch

ihre Allelkombination haben und diejenigen, die positiv für beide Allele waren, ihr Risiko, an MS zu erkranken, erhöhten.

Diverse Studien haben gezeigt, dass innerhalb der HLA-Klasse-B-Allelen HLA-B7 und HLA-B44 eine wichtige Rolle spielen.

HLA-B7 wurde als genetischer Risikofaktor für die Entwicklung der MS identifiziert (z.B. Fogdell-Hahn et al. 2000). Diese beschreiben den riskanten Effekt von HLA-B7 als zweitrangig zu DRB1*15:01 (ebd.).

HLA-B44 wird als protektiver genetischer Faktor beschrieben (Healy et al. 2010). Die Forschungsgruppe aus Boston fand in ihrer Kohorte einen klaren protektiven Effekt von HLA-B44 durch ein größeres Hirnvolumen und weniger T2-Läsionen im MRT. Keinen Effekt zeigte HLA-B44 bei ihnen auf den Progress der Erkrankung anhand des „Multiple Sclerosis Severity Score“. HLA-B44 wird in der Arbeit von Link et al. (2012) ebenfalls als wichtiger protektiver Faktor beschrieben.

In den hier vorliegenden Berechnungen wurde das zusätzliche Risiko bzw. eine mögliche Protektion der beschriebenen Allele HLA-A2, -A3, -B7 und -B44 im Zusammenhang mit DRB1*15:01 ermittelt.

Hierbei wurde auf die Häufigkeiten im DRB1*15:01-heterozygoten und -homozygoten Zustand eingegangen und die Verteilung der MS-Verlaufsform sowie der Progressionscodes (siehe oben) berechnet. Bei der allgemeinen Häufigkeit der Allelkombination wurde zunächst berechnet, wie die Verteilung der genannten Allele allgemein in der DRB1*15:01-positiven MS-Kohorte ist und anschließend wurde berechnet, wie häufig die Kombination mit ausschließlich einem der Allele ist. Anschließend wurden weitere Allelkombinationen von DRB1*15:01 mit den HLA-Klasse-I-Allelen berechnet.

Hierbei zeigte sich zunächst, dass in der DRB1*15:01-positiven MS-Kohorte am häufigsten die Kombination mit dem protektiven HLA-A2 vorkommt (17,9%). Bei der Allelkombination zeigt sich am häufigsten DRB1*15:01 mit HLA-A3 und HLA-B7 (beide Risikofaktoren, siehe oben). Diese Tendenz zeigt sich auch in der DRB1*15:01-homozygoten MS-Gruppe. Dies bedeutet, dass in der vorliegenden MS-Kohorte bezüglich der Verteilung der oben genannten HLA-Klasse-I-Allele keine Unterschiede in der DRB1*15:01-heterozygoten und DRB1*15:01-homozygoten Gruppe gefunden wurde.

Bezüglich der Verlaufsform wurde bereits festgestellt, dass DRB1*15:01 keinen Einfluss

auf die Verlaufsform der MS in der vorliegenden Kohorte hat. Die meisten Studien zu diesem Thema erzielten das Ergebnis, dass DRB1*15:01 bei MS-Patienten mit RRMS und PPMS in etwa der gleichen Frequenz vorkommt, also keinen wesentlichen Effekt auf den Verlauf der Erkrankung hat (Greer 2014). Interessante Ergebnisse liefert die Verteilung der MS-Verlaufsform in der DRB1*15:01-positiven Gruppe in der Kombination mit HLA-A2. Hier findet sich eine Häufigkeit von 33% beim sekundär chronisch progredienten Verlauf, im Vergleich zeigten unter allen DRB1*15:01-positiven Patienten nur 20% den genannten Verlauf. Dies könnte darauf hinweisen, dass HLA-A2 gemeinsam mit DRB1*15:01 in der vorliegenden MS-Kohorte zu einem schnelleren Progress führt und widerspricht damit bisherigen Befunden, dass HLA-A2 ein protektives Allel ist. Ebenfalls spannende Ergebnisse lieferte die Ansicht der MS-Verlaufsform in der DRB1*15:01-positiven Gruppe mit HLA-B7. Hier zeigten rund 18% der Patienten einen primär chronisch progredienten Verlauf (im Vergleich zeigten diesen nur 12,6% aller DRB1*15:01-positiven Patienten). Dies ist im Einklang mit der Annahme, dass HLA-B7 ein genetischer Risikofaktor ist (z.B. Fogdell-Hahn et al. 2000). In der hier vorliegenden Kohorte ist daher anzunehmen, dass die Kombination von DRB1*15:01 und HLA-B7 zu einer aggressiveren Erkrankung zu führen scheint. In der DRB1*15:01-positiven Gruppe, die für HLA-B44 positiv ist, zeigte sich der primär chronisch progrediente Verlauf gar nicht, welches den protektiven Effekt in der vorliegenden Gruppe bestätigt.

Die Kombination der HLA-Klasse-I-Allele A2 und B7 mit DRB1*15:01 führt in der hier bearbeiteten Kohorte zu einem schnelleren Progress der MS – zumindest wie er an der MS-Verlaufsform abgelesen werden kann, hier zeigen 42% den sekundär chronisch progredienten Verlauf. Dieser Anteil war in der nur HLA-A2 positiven Gruppe ebenfalls schon sehr hoch (siehe oben) und kann durch das riskante Profil von HLA-B7 bestärkt werden.

Diese zu anderen Studienbefunden divergenten Ergebnisse ließen spannende Details und Aussagen bei der Berechnung der Progression in der MS-Kohorte in Bezug auf die genannten Allele und Allelkombinationen vermuten. Hierbei ließ sich zunächst kein Einfluss von DRB1*15:01 auf die berechneten Progressionscodes herleiten. Bei der Kombination mit den HLA-Klasse-I-Allelen zeigte sich, dass der Progressionscode von 7 in der Gruppe der HLA-A3-positiven DRB1*15:01-positiven MS-Patienten (17%), welches einen schnelleren Progress und somit einen Risikofaktor durch HLA-A3 vermuten lässt. Die Gruppe, die für HLA-B7 positiv war, zeigte jedoch einen geringen Progress und

kein genetisches Risikopotenzial von HLA-B7 auf die Progression der Erkrankung in der vorliegenden Kohorte.

In den Berechnungen der DRB1*15:01-Homozygoten konnten keine Ergebnisse erzielt werden, die das genetische Potenzial der genannten Allele bestätigen können.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, zu untersuchen, ob in der bearbeiteten Multiple Sklerose-Kohorte aus dem norddeutschen Raum die in der Literatur beschriebenen HLA-Allele einen modulierenden Einfluss auf den Verlauf und/oder Progression der Erkrankung haben.

Die Berechnungen liefern diesbezüglich keine eindeutigen Ergebnisse und lassen keine eindeutige Bestätigung der Literaturaussagen zu – im Gegenteil. Es ist anzunehmen, dass HLA-A2 in der vorliegenden MS-Kohorte eher für einen aggressiveren Verlauf steht, als einen protektiven Effekt zu haben. Bezüglich des HLA-Haplotyps DRB5*01:01~DRB1*15:01~DQA1*01:02~DQB1*~06:02 lässt sich bestätigen, dass dieser in der MS-Kohorte deutlich häufiger vorkommt, als in der gesunden Kontrollkohorte.

Isoliert hat der Haplotyp jedoch weder Einfluss auf die Verlaufsform noch auf die Progression in Form des oben berechneten Progressionsindex.

Es muss diskutiert werden, ob ein HLA-Screening von Personen, die ein betroffenes Eltern- oder Geschwisterteil haben, wissenschaftlich begründet und somit sinnvoll ist. Ebenso muss besprochen werden, ob bei Personen, bei denen als Zufallsbefund MS-typische Herde im MRT gefunden werden oder aus anderen Gründen ein Verdacht auf MS besteht, ein HLA-Screening eine klinische und therapeutische Konsequenz hätte. Hierfür wäre es interessant, die vorliegende Studie erneut, jedoch andersherum durchzuführen. Es müsste eine große Kohorte Westeuropäer zunächst typisiert und anschließend über einen jahrelangen Verlauf beobachtet und in regelmäßigen Abständen befragt werden, um hier einen eventuellen positiv prädiktiven Wert für DRB1*15:01 ermitteln zu können. Anhand der hier durchgeführten Berechnungen wird vorgeschlagen, dass ein Screening nicht sinnvoll ist, da der genannte Haplotyp in der Kontrollkohorte auch bei $f=26,8\%$ vorkommt – dies ist zwar deutlich seltener, als in der MS-Kohorte, jedoch auch nicht so gering, dass die Wahrscheinlichkeit der MS hierdurch abschließend eingeschätzt werden kann.

Weiterhin muss diskutiert werden, ob eine genetische Einteilung der MS helfen kann, die Erkrankung besser zu verstehen. In der Literatur wird vor allem den oben beschriebenen

fünf Allelen ein bestimmtes Risikoprofil für die Erkrankung an MS zugeschrieben. Die Studien lieferten jedoch keine eindeutigen Ergebnisse, inwiefern sich die Allele modulierend auf die MS auswirken, jedoch wird eindeutig von protektivem und riskantem genetischen Potenzial gesprochen. Um eine Aussage über die genetische Einteilung mit den genannten Allelen treffen zu können, müssen die hier durchgeführten Untersuchungen bezüglich der Allelkombinationen (hier zeigt sich in der DRB1*15:01-positiven Kohorte zum Beispiel am häufigsten die Kombination mit A2 und in der Dreierkombination mit A3 und B7) in einer deutlich größeren Kohorte durchgeführt werden. Anhand der dann vorliegenden Daten könnte dann versucht werden, eine genetische Einteilung der MS nicht anhand der Schübe, sondern anhand der HLA-Kombination zu erstellen. Voraussetzung für eine genetische Einteilung und vor allem für eine therapeutische Konsequenz wäre jedoch zunächst eine eindeutige Tendenz eines Parameters wie Progression anhand des Index bzw. anhand des MSSS.

6 Zusammenfassung

Das Ziel dieser Arbeit ist es, herauszufinden, ob der HLA-Haplotyp DRB5*01:01~DRB1*15:01~DQA1*01:02~DQB1*06:02, der in der Literatur bei Westeuropäern als größter genetischer Risikofaktor an der MS zu erkranken angegeben wird, einen Einfluss auf bestimmte Parameter der MS-Erkrankung der hier bearbeiteten MS-Kohorte aus Hamburg und dem norddeutschen Umland hat. Für diese Arbeit weitere relevante Parameter sind die Kombination des oben genannten Haplotyps mit den HLA-Klasse-I-Allelen A2, A3, B7 und B44, die in der Literatur als protektive bzw. riskante HLA-Allele für die MS beschrieben werden (z.B. Fogdell-Hahn et al. 2000). Weiterhin eine zentrale Bedeutung kommt der MS-Verlaufsform sowie der Progression der Erkrankung zu. Die Parameter wurden für Allelkombinationen der relevanten Allele sowie im DRB1*15:01- heterozygoten und – homozygoten Zustand berechnet. Der Vergleich der Häufigkeiten von DRB1*15:01 in der MS-Kohorte im Vergleich zur Kontrollkohorte war statistisch signifikant verschieden ($p < 0,0001$) mit einer Odds Ratio von 2,96 und einem negativ prädiktivem Wert von 79,6%. Bei Betrachtung der Frequenzen in Anlehnung an das Hardy-Weinberg-Gleichgewicht (siehe oben) wurde festgestellt, dass $f = 51,9\%$ der MS-Patienten sowie $f = 26,8\%$ der Gesunden positiv für den oben genannten Haplotypen waren. Innerhalb der MS-Kohorte zeigte sich, dass DRB1*15:01 nicht im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht ist.

Bei der Analyse der relevanten HLA-Klasse-I-Allele (MS/HD) zeigte sich HLA-A2 mit 37%/52,4%, HLA-A3 mit 37%/29,3%, HLA-B7 mit 40%/25,6% und HLA-B44 mit 13%/22%. Der protektive bzw. risikoreiche Effekt auf die oben beschriebenen klinischen Parameter der hier bearbeiteten MS-Kohorte wurde im Zusammenhang mit dem genetischem Risiko von DRB5*01:01~DRB1*15:01~DQA1*01:02~DQB1*06:02 alleine sowie in Kombination mit den HLA-Klasse-I-Allelen untersucht. Die Kombination von DRB1*15:01 mit dem protektiven HLA-A2 (z.B. Fogdell-Hahn et al. 2000) zeigt bei Betrachtung der MS-Verlaufsform einen hohen Anteil (33%) von Patienten mit sekundär chronisch progredienter MS und bei Betrachtung der Progression einen im Vergleich hohen Anteil vom Progressionscode 8 (3,3%, siehe oben). Dies liefert zu anderen Studienbefunden divergente Ergebnisse und lässt vermuten, dass die genannte Kombination in der vorliegenden Kohorte zu einem schnelleren Progress der Erkrankung führt. Die Kombination von DRB1*15:01 mit dem riskanten HLA-B7 (z.B. Fogdell-Hahn et al. 2000) zeigt bei 18% der Patienten einen hohen Anteil beim primär chronisch

progredientem Verlauf, bei Betrachtung der Progressionscodes jedoch kann kein genetisches Risiko in der vorliegenden MS-Kohorte festgestellt werden.

Es bleibt zu diskutieren, ob ein genetisches Screening bei Verdacht auf MS eine diagnostische und vor allem therapeutische Konsequenz hätte und ob eine deutliche Zunahme der Kohortengröße eine eindeutige Zuordnung von Allelen und Risikoprofil zulassen würde.

7 Literaturverzeichnis

- Allen M, Sandberg-Wollheim M, Sjörgen K, Erlich HA, Petterson U, Gyllensten U. Association of susceptibility to multiple sclerosis in Sweden with HLA class II DRB1 and DQB1 alleles. *Human Immunology*. 1994; **39**:41-48.
- Alshuaib, WB. Progression of visual evoked potential abnormalities in multiple sclerosis and optic neuritis. *Electromyogr Clin Neurophysiol*. 2000 Jun; **40**(4):243-52.
- Barcellos LF, Oksenberg JR, Begovich AB, Martin ER, Schimdt S, Vittinghoff E, Goodin DS, Pelletier D, Loncoln RR, Bucher P, Swerdlin A, Pericak-Vance MA, Haines JL, Hauser SL. HLA-DR2 Dose Effect on Susceptibility to Multiple Sclerosis and Influence on Disease Course. *The American Journal of Human Genetics*. 2003; **72**(3):710-716.
- Barcellos LF, Sawcer S, Ramsay PP, Baranzini SE, Thomson G, Briggs F, Cree BCA, Begovich AB, Villoslada P, Montalban X, Uccelli A, Savettieri G, Lincoln RR, DeLoa C, Haines JL, Pericak-Vance MA, Compston A, Hauser SL, Oksenberg JR. Heterogeneity at the HLA-DRB1 locus and risk for multiple sclerosis. *Human Molecular Genetics*. 2006; **15**(18):2813-24.
- Barkhof F, Filippi M, Miller DH, Scheltens P, Campi A, Polman C, Comi G, Adèr HJ, Losseff N, Valk J. Comparison of MRI criteria at first presentation to predict conversion to clinically definite multiple sclerosis. *Brain*. 1997; **120**(Pt 11):2059-69.
- Beer S, Rosler KM, Hess CW. Diagnostic value of paraclinical tests in multiple sclerosis: relative sensitivities and specificities for reclassification according to the Poser committee criteria. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1995; **59**:152-159.
- Bender R, Lange S. Was ist der p-Wert? *Deutsche medizinische Wochenschrift*. 2007; **132**:15-16.
- Berlit P. Basiswissen Neurologie. 4. Aufl., Springer Verlag, Berlin. 2000.
- Brück W, Stadelmann C. Inflammation and degeneration in multiple sclerosis. *Neurol Sci*. 2003; **24**(5):265-7.
- Compston A, Coles A. Multiple sclerosis. *The Lancet*. 2008;**372**:1502-17.
- Confavreux C, Vukusic S, Adeleine P. Early clinical predictors and progression of irreversible disability in multiple sclerosis: an amnesic process. *Brain*. 2003; **126**(Pt 4):770-82
- Dean, G. Annual incidence, prevalence, and mortality of multiple sclerosis in white South-African-born and in white immigrants to South Africa. *British Medical Journal*. 1967; **2**(5554):724-730.
- Deutsches Netzwerk Evidenzbasierte Medizin e.V. Glossar der evidenzbasierten Medizin. 2011. [Online im Internet]URL: <http://www.ebm-netzwerk.de/was-ist-ebm/grundbegriffe/glossar> [Stand: 27.12.2014, 18:20].

Ebers GC, Sadovnick AD. The geographic distribution of multiple sclerosis: a review. *Neuroepidemiology*. 1993; **12**(1):1-5.

Ebers GC, Kukay K, Bulman DE, Sadovnick AD, Rice G, Anderson C, Armstrong H, Cousin K, Bell RB, Hader W, Paty DW, Hashimoto S, Oger J, Duquette P, Warren S, Gray T, O'Connor P, Nath A, Auty A, Metz L, Francis G, Paulseth JE, Murray TJ, Pryse-Phillips W, Nelson R, Freedman M, Brunet D, Bouchard JP, Hinds D, Risch N. A full genome search in multiple sclerosis. *Nat. Genet*. 1996; **13**(4):472-6.

Ebers G. Environmental factors and multiple sclerosis. *Lancet*. 2008; **7**(3):268-77.

Fazekas F, Offenbacher H, Fuschs S et al. Criteria for an increased specificity of MRI interpretation in elderly subjects with suspected multiple sclerosis. *Neurology*. 1988; **38**:1822-1825.

Fog T. The topography of plaques in multiple sclerosis: with special reference to cerebral plaques. *Acta Neurol Scand* .1965; **14**(115):157-9.

Fogdell-Hahn A, Ligers A, Gronning M, Hillert J, Olerup O. Multiple sclerosis: a modifying influence of HLA class I genes in an HLA class II associated autoimmune disease. *Tissue Antigens*. 2000; **55**(2):140-148.

Freedman MS, Thompson EJ, Deisenhammer F, Giovannoni G, Grimsley, G. Keir G. Öhman S, Racke MK, Sharief M, Sindic CJM, Sellebjerg F, Tourtellotte WW. Recommended Standard of Cerebrospinal Fluid Analysis in the diagnosis of Multiple Sclerosis. *Arch Neurol*.2005; **62**:865-870.

Frohman EM, Goodin DS, Calabresi PA, Corboy JR, Coyle PK, Fillippi M, Frank JA, Galetta SL, Grossmann RI, Hawker K, Kachuck NJ, Levin MS, Phillips JT, Racke MK, Rivera VM, Stuart WH. The utility of MRI in suspected MS: report of the Therapeutics and Technology Assessment Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology*. 2003; **61**(5):602-611.

Goodin DS. Magnetic resonance imaging as a surrogate outcome measure of disability in multiple sclerosis: have we been overly harsh in our assessment? *Ann Neurol*. 2006; **59**(4):597-605.

Greer JM. The role of HLA in MS susceptibility and phenotype. *Curr Top Behav Neurosci*. 2014.

Gronseth GS, Ashman EJ. Practice parameter: the usefulness of evoked potentials in identifying clinically silent lesions in patients with suspected multiple sclerosis (an evidence-based review): Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology*. 2000; **54**(9):1720-5.

Harbo H, Lie B, Sawcer S, Celius E, Dai KZ, Oturai A, Hillert J, Lorentzen A, Laaksonen M, Myhr K, Ryder L, Fredrikson S, Nyland H, Sorensen P, Sandberg-Wollheim M, Andersen O, Svejgaard A, Edland A, Mellgren S, Compston A, Vartdal F, Spurkland A.

- Genes in the HLA I region may contribute to the HLA class II-associated genetic susceptibility to multiple sclerosis. *Tissue Antigens*. 2004; **63**:237-247.
- Hardy GH. Mendelian proportions in a mixed population. *Science*. 1908; **28**:49–50.
- Hawkes CH, Macgregor AJ. Twin studies and the heritability of MS: a conclusion. *Mult Scler*. 2009;**15**:661–7.
- Healy B, Liguori M, Tran D, Chitnis T, Glanz B, Wolfish C, Gauthier S, Buckle G, Houtchens M, Stazzone L, Khoury S, Hartzmann R, Fernandez-Vina M, Hafler DA, Weiner HI, Guttman CRG, De Jager PI. HLA B*44 Positive effects in MS susceptibility and MRI outcome measures. *Neurology*. 2010; **75**:634-640.
- Hohlfeld R. Biotechnological agents for the immunotherapy of multiple sclerosis. Principles, problems and perspectives. *Brain*. 1997; **120**(Pt 5):865-916.
- Hein T, Hopfenmüller W. Hochrechnung der Zahl der an Multiple Sklerose erkrankten Patienten in Deutschland. *Nervenarzt*.2000; **71**:288-294.
- Hughes S, Spelman T, Trojano M, Lugaresi A, Izquierdo G, Grand'maison F, Duquette P, Girard M, Grammond P, Oreja-Guevara C, Hupperts R, Boz C, Bergamaschi R, Giuliani G, Rio ME, Lechner-Scott J, van Pesch V, Iuliano G, Fiol M, Verheul F, Barnett M, Slee M, Herbert J, Kister I, Vella N, Moore F, Petkovska-Boskova T, Shaygannejad V, Jokubaitis V, McDonnell G, Hawkins S, Kee F, Gray O, Butzkueven H. The Kurtzke EDSS rank stability increases 4 years after the onset of multiple sclerosis: results from the MSBase Registry. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2012; **83**(3):305-10.
- Immenschuh S. Grundlagen der Immungenetik. Institut für Transfusionsmedizin der Medizinischen Hochschule Hannover. 2009.
[Online im Internet] URL:
http://www.google.de/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=0CCMQFjAA&url=http%3A%2F%2Fwww.mh-hannover.de%2Ffileadmin%2Finstitute%2Ftransfusionsmedizin%2Fdownloads%2FVorlesung_Immenschuh_Immungenetik_0209.pdf&ei=bvKeVPK1CMHzPOqugJAB&usg=AFQjCNHe4dkvK_KvWdG0c0mGvBuWLJSejw&sig2=SktQr1b3hWUg53QXEN5qDw&bvm=bv.82001339,d.ZWU [Stand: 27.12.2014, 19:00].
- Katz D, Taubenberger JK, Cannella B et al. Correlation between magnetic resonance imaging findings and lesion development in chronic, active multiple sclerosis. *Ann Neurol*. 1993; **34**:661-9
- Kuipers JG. Role of HLA-B27 in Bechterew disease. *Z Orthop Ihre Grenzgeb*. 2000; **138**(6):Oa14-7.
- Kurtzke JF. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology*. 1983; **33**(11):1444-52.

- Kurtzke JF. Epidemiologic evidence for multiple sclerosis as infection. *Clin Microbiol Rev.* 1993; **6**:382-427.
- Kurtzke JF. Multiple sclerosis in time and space--geographic clues to cause. *J Neurovirol.* 2000; **6**(2):134-40.
- Lassmann H, Brück W, Lucchinetti C. Heterogeneity of multiple sclerosis pathogenesis: implications for diagnosis and therapy. *Trends Mol Med.* 2001; **7**(3):115-21.
- Lie BA, Sollid LM, Ascher H, Ek J, Akselen HE, Ronningsen KS. A gene telomeric of the HLA class I region is involved in predisposition to both type 1 diabetes and coeliac disease. *Tissue antigens.* 1999; **54**:162-8.
- Link H, Huang YM. Oligoclonal bands in multiple sclerosis cerebrospinal fluid: an update on methodology and clinical usefulness. *J Neuroimmunol.* 2006; **180**(1-2):17-28.
- Link J, Kockum I, Lorentzen A, Lie B, Celius E, Westerlind H, Schaffer M, Alfredsson L, Olsson T, Bryndal B, Harbo H, Hillert J (2012), Importance of Human Leukocyte Antigen (HLA) Class I and II Alleles on the Risk of Multiple Sclerosis. *Plos one.* 2012; **7**(5):e36779.
- Lublin FD, Reingold SC. Defining the clinical course of multiple sclerosis: results of an international survey. National Multiple Sclerosis Society (USA) Advisory Committee on Clinical Trials of New Agents in Multiple Sclerosis. *Neurology.* 1996; **46**(4):907-11.
- Marsh SGE, Albert ED, Bodmer WF, Dupont B, Erlich HA, Fernández-Vina M, Geraghty DE, Holdsworth R, Hurley CK, Lee KW, Mach B, Mayr WR, Maiers M, Müller CR, Parham P, Petersdorf EW, Sasazuki T, Strominger JL, Svejgaard A, Terasaki PI, Tiercy JM, Trowsdale J. The WHO Nomenclature Committee for Factors of the HLA System. [Online in Internet.] URL: <http://hla.alleles.org/nomenclature/index.html> [Stand: 27.12.2014, 19:05].
- Mastermann T, Ligers A, Olsson T, Andersson M, Olerup O, Hillert J. HLA-Dr15 is associated with lower age at onset in Multiple Sclerosis. *Annals of Neurology.* 2000; **48**:211-219.
- McDonald WI, Compston A, Edan G, Goodkin D, Hartung HP, Lublin FD, McFarland HF, Paty DW, Polman CH, Reingold SC, Sandberg-Wollheim M, Sibley W, Thompson A, van den Noort S, Weinshenker BY, Wolinsky JS. Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. *Ann Neurol.* 2001; **50**(1):121-7.
- McMahon R, Friis L, Siebold C, Friese M, Fugger L, Jones Y. Structure of HLA-A*0301 in complex with a peptide of proteolipid protein insights into the role of HLA-A alleles in susceptibility to multiple sclerosis. *Acta Cryst.* 2011; **67**(5):447-454.
- Milo R, Kahana E. Multiple sclerosis: Geoepidemiology, genetics and the environment. *Autoimmun Rev.* 2009; **9**(5):A387-94.

- Mytilineos J, Seidl C, Holzberger G, Nguyen XD, Wernet D. Aktueller Stand der Transplantationsimmunologischen Diagnostik. *Hämotherapie*. 2006; **8**:4-16.
- Nielsen JM, Korteweg T, Barkhof F, Uidtehaag BMG, Polman CH. Overdiagnosis of Multiple Sclerosis an Magnetic Resonance Imaging Criteria. *Ann Neurol*; 2005; **58**:781-783.
- Noseworthy JH, Lucchinetti C, Rodriguez M, Weinshenker BG. Multiple sclerosis. *N Engl J Med*. 2000; **343**(13):938-952.
- Offenbacher H, Fazekas F, Schmidt R, Freidl W, Flooh E, Payer F, Lechner H. Assessment of MRI criteria for a diagnosis of MS. *Neurology*.1993; **43**(5):905-9.
- Olerup O, Hillert J, Fredrikson S, Olsson T, Kam-Hansen S, Möller E, Carlsson B, Wallin J. Primarily chronic progressive and relapsing/remitting multiple sclerosis: two immunogenetically distinct disease entities. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1989; **86**(18):7113-7.
- Olerup O, Zetterquist H. HLA-DR typing by PCR amplification with sequence-specific primers (PCR-SSP) in 2 hours: An alternative to serological DR typing in clinical practice including donor-recipient matching in cadaveric transplantation. *Tissue Antigens*. 1992; **29**(5): 225-235.
- Pabst C. Grundlagen der Magnetresonanz-Tomographie. Universitätsklinikum Giessen und Marburg. 2013. [Online im Internet] URL: http://www.google.de/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=0CCMQFjAA&url=http%3A%2F%2Fwww.ukgm.de%2Fugm_2%2Fdeu%2Fumr_rdi%2Fteaser%2FGrundlagen_der_Magnetresonanztomographie_MRT_2013.pdf&ei=yPOeVNqvEoLyPLiugOAG&usq=AFQjCNGdmBUyUNtsS1zpzTOdxWX0m6KLZA&sig2=G097nhL52-sTWUcq3TDung&bvm=bv.82001339,d.ZWU [Stand: 27.12.2014, 19:00].
- Paty DW, Oger JJ, Kastrukoff LF, Hashimoto SA, Hooge JP, Eisen AA, Eisen KA, Purves SJ, Low MD, Brandeys V, et al. MRI in the diagnosis of MS: a prospective study with comparison of clinical evaluation, evoked potentials, oligoclonal banding and CT. *Neurology*. 1988; **38**(2):180-5.
- Poser CM, Brinar VV. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: an historical review. *Clin Neurol Neurosurg*. 2001; **106**(3):147-158.
- Poser CM, Paty DW, Scheinberg L, McDonald WI, Davis FA, Ebers GC, Johnson KP, Sibley WA, Silberberg DH, Tourtellotte WW. New diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines for research protocols. *Ann Neurol*. 1983; **13**(3):227-31.
- Ramagopalan S, Maugeri N, Handunnetthi L, Lincoln M, Orton SM, Dyment D, DeLuca G, Herrera B, Chao M, Sadovnick A, Ebers G, Knights J. Expression of the Multiple Sclerosis-Associated MHC Class II Allele HLA-DRB1*1501 is regulated by Vitamin D. *Plos Genetics*. 2009; **5**(2):e10000369.
- Richards RG, Sampson FC, Beard SM, Tappenden P. A review of the natural history and epidemiology of multiple sclerosis: implications for resource allocation and health economic models. *Health Technol Assess*.2002; **6**(10):1-73.

Roisin S, Laurent C, Nonhoff C, Deplano A, Hallin M, Byl B, Struelens MJ, Denis O. Positive predictive value of the Xpert MRSA assay diagnostic for universal patient screening at hospital admission: influence of the local ecology. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2012; **31**(5):873-80.

Santamaria P, Lindstrom AL, Boyce-Jacino MT, Myster SH, Barbosa JJ, Faras AJ, Rich SS. HLA class I sequence-based typing. *Hum Immunol*. 1993; **37**:(39-50).

Sawcer S, Hellenthal G, Pirinen M, Spencer CCA, Patsopoulos NA, Moutsianas L, Dilthey A, Su Z, Freeman C, Hunt SE, Edkins S, Gray E, Booth DR, Potter SC, Goris A, Band G, Oturai AB, Strange A, Saarela J, Bellenguez C, Fontaine B, Gillman M, Hemmer B, Gwilliam R, Zipp F, Jayakumar A, Martin R et al. (International Multiple Sclerosis Genetics Consortium; Wellcome Trust Case Control Consortium 2). Genetic risk and primary role for cell-mediated immune mechanism in multiple sclerosis. *Nature*. 2011; **476**(7359):214-9.

Schumacher GA, Beebe G, Kibler RF, Kurland LT, Kurtzke JF, McDowell F, Nagler B, Sibley WA, Tourtellotte WW, Willmon TL. Problems of experimental trials of therapy in Multiple Sclerosis: Report by the panel of the evaluation of experimental trials of therapy in Multiple Sclerosis. *Annals NY Acad Sci*. 1965; **122**:552-558.

Smerdel A, Lie BA, Ploski R, Koeleman BP, Forre O, Thorsby E. A gene in the telomeric HLA complex distinct from HLA-A is involved in predisposition to juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum*. 2002; **46**:1614-9.

Sospedra M, Martin R. Immunology of multiple sclerosis. *Annu Rev Immunol*. 2005; **23**:683-747.

Söderström M, Ya-Ping J, Hillert J, Link H. Optic neuritis: prognosis for multiple sclerosis from MRI, CSF, and HLA findings. *Neurology*. 1998; **50**(3):708-14.

Thompson AJ, Polman CH, Miller DH, McDonald WI, Brochet B, Filippi M, Montalban X, De Sá J. Primary progressive multiple sclerosis. *Brain*. 1997; **120**(Pt 6):1085-96.

Trojano M, Paolicelli D, Bellacosa A, Cataldo S. The transition from relapsing-remitting MS to irreversible disability: clinical evaluation. *Neurol Sci*. 2003; **24**(5):268-70.

Truyen L, van Waesberghe JHTM, van Walderveen MAA, van Oosten BW, Polman CH, Hommes OR, Ader HJA, Barkhof F. Accumulation of hypointense lesions ("black holes") on T1 spin-echo MRI correlates with disease progression in multiple sclerosis. *Neurology*. 1996; **47**(6):1469-76.

Tumani H, Tourtellotte WW, Peter JB, Felgenhauer K. Acute optic neuritis: combined immunological markers and magnetic resonance imaging predict subsequent development of multiple sclerosis. The Optic Neuritis Study Group. *J Neurol Sci*. 1998; **155**(1):44-9.

Waßmuth R. Einführung in das HLA-System. 2 Aufl. Landsberg, Lech. ecomed Medizin. 2005.

Weinshenker BG, Bass B, Rice GP, Noseworthy J, Carriere W, Baskerville J, Ebers GC. The natural history of multiple sclerosis: a geographically based study. I. Clinical course and disability. *Brain*. 1989; **112**(Pt 1):133-46.

Weinshenker BG, Santrach P, Bissonet AS, McDonnel SK, Schaid D, Moore SB, Rodriguez M. Major histocompatibility complex class II alleles and the course and outcome of MS. *Neurology*. 1998; **51**:742-747.

Wolf E, Spencer KM, Cudworth AG. The genetic susceptibility to type 1 (Insuline-dependant) diabetes: analysis of the HLA-DR association. *Diabetologia*. 1983; **24**: 224-230.

Wordsworth BP, Lanchbury JS, Sakkas LI, Welsh KI, Panayi GS, Bell JI. HLA-DR4 subtype frequencies in rheumatoid arthritis indicate that DRB1 is the major susceptibility locus within the HLA class II region. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1989; **86**(24):10049-53.

7.1 Eigene Veröffentlichungen

Binder TMC, Schubert C, Mohme M, Aly L, Heidari N, Kelsch R, Eiermann TH, Martin R
Is there a direct functional relationship between the HLA-DRB1*15:01 promoter VDRE
region, vitamin D level and multiple sclerosis?

32nd Blankenese Conference, May 19-23, 2012: Neurodegeneration: From Multiple
Sclerosis to Alzheimer's Disease, Hamburg-Blankenese, Deutschland, Poster #8.

Stürner KH, Lentfer I, Schön G, Stellmann P, Heidari N, Fehse B, Heese C, Eiermann TH,
Martin R, Binder TMC

HLA DR15 is not associated with clinical disease course, progression or treatment with
first- and second line therapies in multiple sclerosis.

In Vorbereitung für: Multiple Sclerosis 2015.

7.2 Abkürzungsverzeichnis

HLA	Humanes Leukozyten-Antigen
MEP	Motorisch evoziertes Potenzial
MS	Multiple Sklerose
n	Anzahl
PPMS	Primär chronisch progrediente Multiple Sklerose
RRMS	Relapsing remitting Multiple Sclerosis (engl.)/ Schubförmige MS
SEP	Somatosensibel evoziertes Potenzial
SPMS	Sekundär chronisch progrediente Multiple Sklerose
VEP	Visuell evoziertes Potenzial
ZNS	Zentrales Nervensystem

7.3 Abbildungsverzeichnis

ABBILDUNG 1: GESCHLECHTERVERTEILUNG MS-KOHORTE (%).....	26
ABBILDUNG 2: MS-VERLAUFSFORMEN (%).....	27
ABBILDUNG 3: EDSS-WERTE (%).....	28
ABBILDUNG 4: GESCHLECHTERVERTEILUNG KONTROLLKOHORTE (%).....	30
ABBILDUNG 5: DRB1 MS-PATIENTEN F (%).....	31
ABBILDUNG 6: OTHER DR (DRB3, 4 UND 5)-VERTEILUNG MS-PATIENTEN F (%).....	32
ABBILDUNG 7: DQA1-VERTEILUNG MS-PATIENTEN F(%).....	32
ABBILDUNG 8: DQB1-VERTEILUNG MS-PATIENTEN F(%).....	33
ABBILDUNG 9: HLA-A-VERTEILUNG MS-PATIENTEN F(%).....	34
ABBILDUNG 10: HLA-B-VERTEILUNG MS-PATIENTEN F(%).....	34
ABBILDUNG 11: DRB1-VERTEILUNG KONTROLLKOHORTE F(%).....	35
ABBILDUNG 12: OTHER DR (DRB3,4 UND 5)- VERTEILUNG KONTROLLKOHORTE F(%).....	36
ABBILDUNG 13: DQA1-VERTEILUNG KONTROLLKOHORTE F(%).....	36
ABBILDUNG 14: DQB1-VERTEILUNG KONTROLLKOHORTE F(%).....	37
ABBILDUNG 15: HLA-A-VERTEILUNG KONTROLLKOHORTE F(%).....	38
ABBILDUNG 16: HLA-B-VERTEILUNG KONTROLLKOHORTE F(%).....	39
ABBILDUNG 17: DRB1*15:01-HETEROZYGOTEN MIT HLA-A2, A3, B7 (%).....	42
ABBILDUNG 18: DRB1*15:01-HOMOZYGOTE MS-PATIENTEN MIT HLA-A2, A3, B7 (%).....	43
ABBILDUNG 19: DRB1*15:01-POSITIVE MS-PATIENTEN MIT JEWEILS AUSSCHLIEßLICH DEM HLA-KLASSE-I- ALLEL A2, A3, B7 ODER B44 (%).....	43
ABBILDUNG 20: DRB1*15:01-POSITIVE MS-PATIENTEN MIT DEN ABGEBILDETEN ALLELKOMBINATIONEN (%).....	44
ABBILDUNG 21: DRB1*15:01-HOMOZYGOTE MS-PATIENTEN MIT JEWEILS AUSSCHLIEßLICH DEM HLA- KLASSE-I-ALLEL A2, A3 ODER B7 (%).....	45
ABBILDUNG 22: DRB1*15:01-HOMOZYGOTE MS-PATIENTEN MIT DEN ABGEBILDETEN ALLELKOMBINATIONEN (%).....	45
ABBILDUNG 23: MS-VERLAUFSFORM ALLER DRB1*15:01-POSITIVEN PATIENTEN (%).....	46
ABBILDUNG 24: MS-VERLAUFSFORM ALLER DRB1*15:01 NUR A2- POSITIVEN PATIENTEN (%).....	47
ABBILDUNG 25: MS-VERLAUFSFORM ALLER DRB1*15:01 NUR A3- POSITIVEN PATIENTEN (%).....	48
ABBILDUNG 26: MS-VERLAUFSFORM ALLER DRB1*15:01 NUR B7- POSITIVEN PATIENTEN (%).....	49
ABBILDUNG 27: MS-VERLAUFSFORM ALLER DRB1*15:01 NUR B44- POSITIVE PATIENTEN (%).....	49
ABBILDUNG 28: MS-VERLAUFSFORM ALLER DRB1*15:01 A2 UND A3-POSITIVEN PATIENTEN (%).....	50
ABBILDUNG 29: MS-VERLAUFSFORM ALLER DRB1*15:01 A2 UND B7-POSITIVEN PATIENTEN (%).....	51
ABBILDUNG 30: MS-VERLAUF ALLER DRB1*15:01 A3 UND B7-POSITIVEN PATIENTEN (%).....	52
ABBILDUNG 31: PROGRESSIONSCODES ALLER PATIENTEN (%).....	53
ABBILDUNG 32: PROGRESSIONSCODES ALLER DRB1*15:01-POSITIVEN PATIENTEN (%).....	53
ABBILDUNG 33: PROGRESSIONSCODES ALLER DRB1*15:01 NUR A2-POSITIVEN MS (%).....	54
ABBILDUNG 34: PROGRESSIONSCODES ALLER DRB1*15:01 NUR A3-POSITIVEN MS (%).....	54
ABBILDUNG 35: PROGRESSIONSCODES ALLER DRB1*15:01 NUR B7-POSITIVEN MS (%).....	55
ABBILDUNG 36: PROGRESSIONSCODES ALLER DRB1*15:01 NUR B44-POSITIVEN PATIENTEN (%).....	56
ABBILDUNG 37: PROGRESSIONSCODES ALLER DRB1*15:01-HOMOZYGOTEN (%).....	56
ABBILDUNG 38: PROGRESSIONSCODES ALLER DRB1*15:01-HOMOZYGOTEN MIT A2 (%).....	57
ABBILDUNG 39: PROGRESSIONSCODES ALLER DRB1*15:01-HOMOZYGOTEN MIT A3 (%).....	57
ABBILDUNG 40: PROGRESSIONSCODES ALLER DRB1*15:01-HOMOZYGOTEN MIT B7 (%).....	58
ABBILDUNG 41: PROGRESSION ALLER DRB1*15:01-HOMOZYGOTEN MIT B44 (%).....	58
ABBILDUNG 42: DRB1*15:01-HETEROZYGOTEN (N=428) MIT HLA-A2, A3, B7 (%).....	59
ABBILDUNG 43: DRB1*15:01-HOMOZYGOTEN MIT HLA-A2, A3, B7 (%).....	60

7.4 Tabellenverzeichnis

TABELLE 1: McDONALD-KRITERIEN VON 2001 (MODIFIZIERT NACH McDONALD ET AL. 2001)	7
TABELLE 2: MRT-KRITERIEN ZUR RÄUMLICHEN DISSEMINATION (BARKHOF ET AL. 1997 UND TINTORÉ ET AL. 2000)	10
TABELLE 3: DARSTELLUNG TYPISCHER HLA-KLASSE-II-HAPLOTYPEN BEI KAUKASIERN	15
TABELLE 4: ÜBERSICHT DER PROGRESSIONSCODES IN BEZUG AUF MS-DAUER UND EDSS-WERT ALLER MS-PATIENTEN.....	29

8 Danksagung

Ich danke Prof. Dr. Roland Martin für die Bereitstellung des spannenden Themas, die Zusammenarbeit sowie die Möglichkeit des Einblicks in unterschiedliche Forschungsthemen.

Vielen Dank an Prof. Dr. Christoph Heesen und die Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter des Instituts für Neuroimmunologie und klinische Multiple Sklerose Forschung, die stets sehr freundlich waren und mir bei der Datenrecherche beratend zur Seite standen.

Prof. Dr. Thomas Eiermann danke ich sehr für seinen spontan Einsatz, eine hervorragende Zusammenarbeit und seine Zuversicht, Aufmerksamkeit und gute Erreichbarkeit.

Dr. med. Thomas Binder danke ich für seinen unglaublich unermüdlichen Einsatz und vor allem dafür, dass er so gut erreichbar und für meine Fragen stets ansprechbar war.

Ich danke meinen Eltern und meiner Schwester für ihre liebevolle Unterstützung und ihre Geduld in jeder Lebenslage.

Ich danke Anika für viel Motivation und dafür, dass sie stets ein offenes Ohr für mich hatte.

Ich widme meine Arbeit dir, Thore. Danke, dass du mit Geduld und so viel Durchhaltevermögen an meiner Seite stehst.

9 Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Ich erkläre mich einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

Unterschrift: 