

Aus dem Institut für Medizinische Immunologie der Medizinischen Fakultät der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg (Direktor: Prof. Dr. med. habil. J. Langner), Interdisziplinäres HLA- Labor (Leiter: Dr. rer. nat. H.K.G. Machulla)



**Untersuchung der HLA-Merkmale A, B, Cw, DR und DQ bei einer Gruppe
deutscher Patienten mit Erwachsenenparodontitis**

Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Zahnmedizin (Dr. med. dent.)

vorgelegt
der Medizinischen Fakultät
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von Dipl.- Stomatologe Andreas Gautsch
geboren am 29.05. 1957 in Lauchhammer

Gutachter:

1. Prof. Dr. Langner (Halle/Saale)
2. Prof. Dr. Schaller (Halle/Saale)
3. Prof. Dr. Hoffmann (Dresden)

Verteidigung am: 28.05. 2002

urn:nbn:de:gbv:3-000003469

[<http://nbn-resolving.de/urn/resolver.pl?urn=nbn%3Ade%3Agbv%3A3-000003469>]

Widmung

Diese Dissertationsschrift widme ich meinem geliebten 12-jährigen Sohn Michael, der während ihrer Erarbeitung zu wenig Zeit mit seinem Papa verbringen konnte und meiner verehrten Lehrerin MR Dr. Ingelore Mieler, die mit ihrer kompromisslosen Hingabe zum zahnärztlichen Beruf und zur wissenschaftlichen Lehre in der Parodontologie den Grundstock für meine erfolgreiche parodontologische und zahnärztliche Tätigkeit herausbildete. Gewidmet sei die Arbeit ebenso meinem ältesten Freund, ohne dessen moralische Hilfe ich in einer für mich sehr schweren Zeit diese nicht hätte beenden können. Die Liebe zu meinem Sohn und die freundschaftliche Verpflichtung gegenüber der Lehrerin und dem langjährigen Freund gaben mir letztlich die Kraft für die Beendigung der vorliegenden wissenschaftlichen Arbeit.

Bremen, den 26.08. 2001

Referat und bibliographische Beschreibung

Erstmals sollte eine parodontologisch genau definierte Gruppe von deutschen Patienten mit Erwachsenenparodontitis (AP) (N= 102) auf ihre HLA-Merkmale A, B, Cw, DR und DQ nicht nur mit serologischen (MLCT), sondern auch molekularbiologischen (PCR-SSP) Methoden untersucht und mit einer Gruppe von 102 klinisch parodontitisfreien („resistenten“) Probanden verglichen werden. Parallel dazu wurde eine Parodontitisgesamtgruppe aus 50 Patienten mit einer rapid progressiven Parodontitis (RPP) und 102 Patienten mit Erwachsenenparodontitis gebildet und mit den parodontitisfreien Probanden verglichen. Zusätzlich wurden 157 Gelegenheitsblutspender zur Repräsentation der HLA-Normalverteilung innerhalb der Population typisiert. Zur Kontrastierung wurde ferner eine Gruppe aus parodontitisfreien Probanden älter als 70 Jahre gebildet (N= 29) und mit den AP-Patienten verglichen.

Nach statistischer Korrektur der Ergebnisse (Yates, Fisher) zeigen AP-Patienten signifikant positive Assoziationen zu HLA-A*11, -A*29, -A*33, -B*14 (B 64/65) und -Cw*08 sowie eine signifikant negative Assoziation zu HLA-A*03. Dabei scheinen an der positiven Assoziation zu HLA-A*11 Frauen mit AP einen signifikant größeren Anteil als Männer zu haben, während für die anderen auffälligen HLA-Merkmale keine Gender-Effekte festgestellt werden konnten. In der Gesamtgruppe der Parodontitispatienten (RPP+AP) finden sich in gleicher Weise die signifikant positiven Assoziationen zu HLA-A*11, -A*29, -B*14 (B 64/65) und -Cw*08 wieder, während die negative Assoziation zu HLA-A*31 bzw. HLA-A*(30/31) nur in dieser Gruppe signifikant, bei den AP-Patienten aber ebenfalls auffällig ist. Weiterhin tritt bei den „Resistenten“ eine signifikant erhöhte Homozygotiefrequenz von HLA-DRB1*04 auf. Eine Assoziation zu bestimmten rechnerisch ermittelten Haplotypen wurde für einige der gefundenen Frequenzabweichungen der HLA-Merkmale nachgewiesen. Diese Ergebnisse zeigen unter anderem, dass die mit HLA-B*14 (B 64/65) gekoppelten Haplotypen mehr mit Suszeptibilität, die mit HLA-A*03-gekoppelten Mehrfachkombinationen jedoch mit Resistenz gegenüber einer AP assoziiert scheinen. Auffällig ist die ungewöhnliche Kopplung des ancestralen Haplotypes (HLA-Cw*08 : B*14) mit dem Klasse II-Merkmal HLA-DRB1*04 bei den AP-Patienten.

Im Ergebnis dieser Arbeit ist zu vermuten, dass auf die Entstehung der Erwachsenenparodontitis bestimmte einzelne HLA-Merkmale ebenso wie deren Kombinationen einen Einfluss haben und diese für eine genetische Disposition der AP von Bedeutung zu sein scheinen. Eine detaillierte Kenntnis der pathogenetischen Mechanismen solcher HLA-Assoziationen steht bisher noch aus, jedoch könnten Kreuzreaktionen zwischen HLA-Antigenen und Mikroorganismen (molekulare Mimikry), eine HLA-abhängige Immunantwort auf bakterielle Antigene oder Effekte durch postulierte Immunantwortgene eine Erklärung für die gefundenen Frequenzunterschiede sein.

Einer klinischen Nutzung dieser Daten sollten allerdings noch weitergehende standardisierte Studien vorausgehen.

Gautsch, Andreas: Untersuchung der HLA-Merkmale A, B, Cw, DR und DQ bei einer Gruppe deutscher Patienten mit Erwachsenenparodontitis.

Halle, Univ., Med. Fak., Diss., 99 Seiten, 2001

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	1
1.1. Das gesunde Parodont	1
1.2. Pathologie der parodontalen Erkrankungen	2
1.2.1. Klassifikation der parodontalen Erkrankungen	2
1.2.2. Zur Ätiopathogenese entzündlicher Parodontalerkrankungen	3
1.2.3. Die Erwachsenenparodontitis als häufigste Form chronischer Parodontitiden	7
1.2.4. Das klinische Erscheinungsbild der Erwachsenenparodontitis	9
1.3. Der Haupthistokompatibilitätskomplex des Menschen	10
1.3.1. Die Struktur und der Polymorphismus des HLA-Komplexes	11
1.3.2. Die Nomenklatur des HLA-Systems	13
1.3.3. Die Molekülstruktur und biologische Funktion der HLA-Klasse I- und II- Merkmale	14
1.4. HLA und Krankheitsassoziation	16
1.4.1. Parodontitis und HLA-Assoziation	16
2. Problemstellung und Ziel der Arbeit	19
3. Material, Methoden und Probandenauswahl	19
3.1. Patienten und Kontrollgruppen	19
3.2. Serologische Untersuchung der HLA-Antigene	21
3.2.1. Methodik der Typisierung der HLA-Antigene	21
3.2.2. Isolierung der Lymphozyten aus peripherem Blut	21
3.2.3. Typisierung der HLA-Klasse I-Merkmale	22
3.3. Molekularbiologische Untersuchung der HLA-Antigene	25
3.3.1. Prinzip der Molekularbiologischen HLA-Typisierung	25
3.3.2. Die DNA-Isolierung	26
3.3.3. PCR-Amplifikation mit sequenzspezifischen Primern (PCR-SSP)	27
3.3.4. Nachweis der Amplifikate mittels Gelelektrophorese	28
3.3.5. Differenzierungsgrad der HLA-Typisierung	30
3.4. Statistische Methoden	30
4. Ergebnisse	32
4.1. Patienten und Kontrollgruppen	32
4.2. Verteilung der HLA-Merkmale unter Patienten mit AP und parodontitisfreien Probanden („Resistenz“gruppe)	35
4.2.1. Verteilung der HLA-Klasse I-Merkmale	36
4.2.2. Verteilung der HLA-Klasse II-Merkmale	41
4.2.3. Verteilung der HLA-Merkmale unter Berücksichtigung des Geschlechts	44
4.2.4. Zusammenfassung der Verteilung der HLA-Merkmale	50
4.3. Homozygotien	51
4.4. Kombinationen der HLA-Merkmale („Haplotypen“)	54

5.	Diskussion	59
6.	Zusammenfassung	70
7.	Literaturverzeichnis	75
8.	Anlagen	92
9.	Thesen	97

Abkürzungsverzeichnis

A.a.	Actinobacillus actinomycetemcomitans
AP	Erwachsenenparodontitis (adult periodontitis)
API	approximaler Plaqueindex
B.f.	Bacteroides forsythus
BISp	Blutspender
CPITN	Community Periodontal Index of Treatment Needs
DNA	Desoxyrionukleinsäure
dNTP	Desoxynukleotidtriphosphat
EOP	frühbeginnende Parodontitis (early-onset periodontitis)
F.n.	Fusobacterium nucleatum
GJP	generalisierte juvenile Parodontitis (generalized juvenile periodontitis)
HLA	humanes Leukozytenantigen (human leukocyte antigene)
HSP	Hitzeschockprotein
Ig	Immunglobulin
IgAD	IgA- deficiency (IgA- Mangel)
IL	Interleukin
JP	juvenile Parodontitis
kD	Kilodalton
LJP	lokalisierte juvenile Parodontitis
m	männlich
MHC	Haupthistokompatibilitätskomplex (major histocompatibility complex)
MLCT	Mikrolymphozytotoxizitätstest (microdroplet lymphocytotoxicity test)
NaCl	Natriumchlorid
n.s.	nicht signifikant
NV	Normalverteilung
NV-m	Normalverteilung männlich
NV-w	Normalverteilung weiblich
PBL	periphere Blutlymphozyten
PBS	Phosphat Buffered Saline
PCR	Polymerasekettenreaktion (polymerase chain reaction)
PCR-SSP	Polymerasekettenreaktion mit sequenzspezifischen Primern (sequence specific primer)
p_{Bonf}	korrigierter Signifikanzwert nach Bonferoni
p_c	korrigierter Signifikanzwert
Pf	Phänotypfrequenz
P_F	korrigierter Signifikanzwert nach Fisher
P.g.	Porphyromonas gingivalis

P.i.	Prevotella intermedia
PP	präpubertäre Parodontitis
p_Y	korrigierter Signifikanzwert nach Yates
RA	Rheumatoid- Arthritis
RCLB	red cell lysis buffer
Res	“Resistente” (parodontitisfreie Untersuchungsgruppe)
RFLP	Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus(restriction fragment length polymorphism)
RPP	rapid progressive Parodontitis (rapidly progressive periodontitis)
SBI	Sulkusblutungsindex
TNF	Tumornekrosefaktor

1. Einleitung

1.1. Das gesunde Parodont

Um die Pathogenese parodontaler Erkrankungen verstehen und eine klinische Differenzierung zwischen physiologischer Varianz und pathologischer Veränderung treffen zu können, sind genaue Vorstellungen zur Anatomie, Morphologie und Histologie des gesunden Parodonts notwendig. Hinreichend zum Verständnis der dargelegten Untersuchungen und Ergebnisse, soll an dieser Stelle auf die klinisch relevanten Parameter des Parodontiums eingegangen werden. Die Gingiva, das Desmodont, der alveoläre Knochen und das Zement sind die hauptsächlichsten Bestandteile des Parodonts. Diese Strukturen bilden das sogenannte Attachment des Zahnes, dessen wichtigste biologische Funktionen in einer Sicherung des dentogingivalen Verschlusses gegenüber mechanischen und bakteriellen Noxen, der immunologischen Abwehr sowie der Befestigung der Zähne im Kieferknochen bestehen. Morphologisch und funktionell lässt sich das Parodont in ein extraalveoläres (Gingiva und extraalveoläres Zement) sowie in ein intraalveoläres Parodont (intraalveoläres Wurzelzement, Desmodont und Alveolenkortikalis) unterteilen (111). Die Gingiva, als wichtigstes Bestandteil des extraalveolären Parodonts, sichert über ein besonderes System der epithelialen Verbindung mit der Zahnoberfläche (epitheliales Attachment) den dentogingivalen Verschluss der intraalveolären Strukturen sowie über die humorale, zelluläre und zellvermittelte Immunreaktion den Schutz vor mikrobiellen, enzymatischen und zytotoxischen Noxen. Das orale Gingivaepithel geht am marginalen Rand in eine kleine Rille, den gingivalen Sulkus über, der histologisch vom unverhornten Sulkusepithel begrenzt wird. Dieser hat klinisch eine variable Tiefe von 0 bis maximal 0,5 mm (206). Dem Sulkusepithel schließt sich nach apikal das zweischichtige Saumepithel an, welches sich durch Hemidesmosomen an eine auf der Zahn- und Wurzeloberfläche gebildete Basallamina anheftet und somit die eigentliche Epithelhaftung an der Zahnhartsubstanz (epitheliales Attachment) vermittelt (111).

Der klinische Sulkus, ein durch vorsichtige Sondierung entstehender, artifiziell erzeugter Spalt zwischen Zahnoberfläche und Gingiva, ist eine für den Kliniker relevante, metrische Größe und wird beim parodontal Gesunden mit einer durchschnittlichen Tiefe von 1 bis maximal 2 Millimetern angegeben (8).

Elastizität und struktureller Zusammenhalt der Gingiva werden vor allem durch das gingivale Bindegewebe vermittelt, das zu etwa 60% aus geordneten und in Gruppen zusammengefassten Kollagenfasern besteht und zusammen mit der extrazellulären Matrix eine faserige Manschette um den Zahn bildet. Morphologisch ist die gesunde Gingiva durch

eine gleichmäßig arkadenförmige Kontur, eine stumpfe bis mattglänzende Textur, eine blassrosa bzw. rosarote Farbe und das sog. Stippeling gekennzeichnet.

Das Desmodont ist eine im Wurzelzement und im Alveolarknochen ansetzende faserige Befestigung des Zahnes (bindegewebiges Attachment), dessen Hauptbestandteile Kollagenfasern sind. Diese sind, entsprechend ihrer Ausrichtung in Gruppen entlang des Parodontalspalt angeordnet. Das Zement ist ein unvascularisiertes und nicht innerviertes mineralisches Gewebe, das in seinem Aufbau dem Knochen ähnelt. Es dient zur Verankerung der desmodontalen Fasern und bedeckt die gesamte Wurzeloberfläche des Zahnes. Es ist mit dem darunterliegenden Dentin fest verbunden. Der Alveolarknochen umfasst die Zahnwurzel zirkulär bis etwa 1-2 mm unterhalb der Schmelz-Zement-Grenze. Zur Begrenzung des Desmodontalraumes besteht innerhalb des Alveolenfortsatzes eine dünne Knochenverdickung aus lamellärem Knochen, in den die desmodontalen Fasern inserieren (111).

Das gesunde Parodont ist zusammenfassend durch folgende klinische Kriterien charakterisiert:

- blassrosa Farbe der Gingiva mit mattglänzender Textur und einer Tüpfelung der Oberfläche (sogenanntes „Stippeling“)
- leicht arkadenartiger Verlauf der marginalen Gingiva in Höhe der Schmelz-Zement-Grenze, wobei die Interdentalräume vollständig von den Papillen ausgefüllt sind
- Sulkustiefe etwa 0,4 bis 0,6 mm,
- beim vorsichtigen Sondieren des Sulkus (Sondierungstiefen < 2,5 mm) treten keine Blutungen auf
- der marginale Rand der knöchernen Alveole folgt röntgenologisch dem Verlauf der Gingiva ca. 1-2 mm unterhalb der Schmelz-Zement-Grenze

1.2. Pathologie der parodontalen Erkrankungen

1.2.1. Klassifikation der parodontalen Erkrankungen

Es existieren unterschiedliche Modelle und Nomenklaturen zur Klassifikation der Erkrankungen des Zahnhalteapparates. Eine von der Deutschen Gesellschaft für Parodontologie vorgeschlagene Nomenklatur der marginalen Parodontopathien (57) sieht in Anlehnung an den Klassifikationsvorschlag von Page und Schroeder (167) folgende Einteilung vor (111):

I. Entzündliche Formen

I.1. Gingivitis

- I.1.1. Akute Gingivitis
- I.1.2. Akute nekrotisierende ulzerierende Gingivitis
- I.2.3. Chronische Gingivitis
- I.2.4. Hormonell modulierte Gingivitis
- I.2.5. Desquamative Gingivitis
- I.2.6. Sonderformen

I.2. Marginale Parodontitis

- I.2.1. Früh beginnende Parodontitis
 - I.2.1.1. Präpubertäre Parodontitis
 - I.2.1.2. Juvenile Parodontitis
 - I.2.1.3. Rapide progressive Parodontitis
- I.2.2. Erwachsenen- Parodontitis
- I.2.3. Parodontitis im Zusammenhang mit systemischen Erkrankungen
- I.2.4. Akute nekrotisierende ulzerierende Parodontitis
- I.2.5. Refraktäre Parodontitis

II. Hyperplastische Formen

III. Traumatogene Formen

IV. Involutive Formen

Entzündliche parodontale Erkrankungen, deren Manifestation im Kindes-, Jugend- und frühen Erwachsenenalter eintritt, haben sich in der jüngeren Literatur mittlerweile unter dem Terminus „early-onset periodontitis“ (EOP) etabliert. Hierzu werden sowohl die präpubertäre (PP), die lokalisierte juvenile (LJP) als auch die rapid progressive Parodontitis (RPP) gezählt.

Ebenso häufig wird als Synonym für die Erwachsenenparodontitis der angloamerikanische Begriff „Adult Periodontitis“ (AP) benutzt.

1.2.2. Zur Ätiopathogenese entzündlicher Parodontalerkrankungen

Drei Elemente (Trias nach Weski) bestimmen im wesentlichen die Ätiologie gingivaler und parodontaler Erkrankungen: lokale mikrobiologische, funktionelle und endogene Faktoren (111). Unbestritten ist heute die zentrale Rolle der mikrobiell besiedelten, supra- und

subgingivalen Plaque für die entzündlichen Vorgänge im parodontalen Gewebe (107,217, 239), wobei funktionelle Störungen im Kausystem und Allgemeinerkrankungen als Modifikatoren für die Antwortreaktion des parodontalen Gewebes den Verlauf der Erkrankung beeinflussen können (191). Nachfolgend werden die mikrobiell bedingten Reaktionen des marginalen Parodonts in einem Überblick erläutert.

Entwicklung der bakteriellen Zahnplaque

Die primäre paropathogene Rolle der bakteriellen Plaque ist heute unbestritten. Sie wurde von Loe et al. durch den Nachweis des direkten Zusammenhanges zwischen der Ansammlung mikrobieller Plaque und der Entzündung der marginalen Gingiva begründet (128) und in der Folgezeit in Form unterschiedlicher Plaquehypothesen (s.u.) weiterentwickelt.

Denaturierte Speichelmuzine (Glykoproteine) bilden die Matrix für die Entstehung eines sogenannten Schmelzoberhäutchens (acquired pellicle), das innerhalb von einigen Stunden bis zwei Tagen vorwiegend mit grampositiven Kokken (hauptsächlich Streptokokken) besiedelt wird (217). Aus den nutritiven Zuckerverbindungen (maßgeblich Saccharose) synthetisieren diese fakultativen Anaerobier klebrige Polysaccharide, v.a. Glukane (109), welche die Basis für die Akkumulation von gramnegativen Kokken (v.a. Neisserien, Veionellen), grampositiven (v.a. Aktinomyzeten) und gramnegativen (z.B. *Bacteroides melaninogenicum*) Stäbchen sowie Filamenten und fusiformen Bakterien bilden. Die Besiedlung mit vereinzelt Spirochäten (*Treponema*, *Borellia*) erfolgt vorwiegend in der letzten Phase der Plaqueentstehung. Bereits nach 7 Tagen manifestiert sich die ausgereifte paropathogene Plaque supragingival als weicher, verfilzter, zäher, gelblich-grauer bakterieller Zahnbelag (191). Mit der durch das Wachstum fortschreitenden subgingivalen Ausdehnung der Plaque verschiebt sich das Keimspektrum immer mehr zugunsten der gramnegativen Bakterien.

Supra- und subgingival erscheint die bakterielle Plaque sowohl in nicht mineralisierter Form (weiche Plaque) als auch in mineralisierter Form (Zahnstein). Symptomatisch für die entzündliche Destruktion des Zahnhalteapparates (Parodontitis) und ein wichtiger pathogener Faktor für die Progression der Erkrankung ist der subgingivale Zahnstein, das Konkrement (111). Die subgingivale Plaque besteht aus einem fest an der Wurzeloberfläche haftenden und vornehmlich mit grampositiven Bakterien durchsetzten Anteil (attached plaque), auf dem sich wiederum eine locker schwimmende, nicht adhärente, vorwiegend mit gramnegativen Bakterien angereicherte Schicht (swimming plaque) befindet (126). Im gesunden Parodont ist das Verhältnis von unbeweglichen zu beweglichen Bakterien etwa 49-50:1, im entzündlich veränderten Parodont 1:1-3 (92). Dabei nimmt der Anteil nicht adhärenter Plaque mit zunehmender Tiefe der parodontalen Tasche zu. Die Mehrzahl der darin enthaltenen gramnegativen Bakterien wird für die Progression der paropathogenen Prozesse verantwortlich gemacht (167). Neben der Qualität der Ernährung und Mundhygiene des

Patienten bestimmen individuelle pathophysiologische Bedingungen, wie z.B. Menge und Zusammensetzung des Speichels, ebenso wie natürliche und zunehmend auch artifizielle Retentionsfaktoren (Variationen in der Zahnmorphologie, Stellungsanomalien, kariöse Läsionen sowie ungünstige konservierende, prothetische oder kieferorthopädische Restaurationen) die Quantität und Qualität der bakteriellen Plaquebesiedlung der Zähne und der Gingiva.

Plaquehypothesen und Infektionsmodus

Bis zur Entdeckung der parodontalen Markerkeime betrachtete man die entzündlichen Parodontalerkrankungen lange als unspezifische Infektionskrankheiten, wobei für die Pathogenität der bakteriellen Plaque primär deren Quantität (unspezifische Plaquehypothese) verantwortlich gemacht wurde (151, 238). Mit der zunehmenden Erkenntnis, dass sich die Zusammensetzung der mikrobiellen Plaque bei verschiedenen Formen parodontaler Erkrankungen qualitativ unterscheidet, gewann die spezifische Plaquehypothese an Bedeutung. Besonders die Untersuchungen von Slots (211,212,213) erbrachten den Nachweis, dass sich die qualitative Zusammensetzung der Bakterienflora wie auch das quantitative Verhältnis der Bakterienspezies zueinander je nach Schweregrad der parodontalen Entzündung verändert und nur bestimmte virulente Keime eine Parodontitis verursachen können (210).

Heute vermutet man, dass sich unter dem Einfluß spezifischer exogener oder endogener Verhältnisse die in der Plaque bereits vorhandenen, stark pathogenen Keime verstärkt entfalten und somit andere Bakterien, sogenannte Parodontstabilisatoren verdrängen können, wodurch letztlich eine spezifische Infektion nur vorgetäuscht wird (92). Es ist mittlerweile bekannt, dass fakultativ pathogene Keime in der kommensalen Mundflora in zahlenmäßig geringer Menge stets präsent sind, was unter der Prämisse eines ausgewogenen Gleichgewichts zwischen der Pathogenität der Mikroorganismen und der Abwehrlage des Wirtes jedoch zu keiner Schädigung des Parodonts führt (29). Dysharmonien innerhalb eben dieses Gleichgewichtes durch prädisponierende Faktoren oder eine Veränderung der Resistenzlage des Wirtes können jedoch zu einer selektiven Vermehrung dieser paropathogenen Keime und damit zu einer opportunistischen Infektion führen (192). Weiterhin wird vermutet, dass das Fehlen bestimmter „stabilisierender“ Bakterien in der Plaque eine der möglichen Ursachen der parodontalen Zerstörung darstellt, da sich in dieser ökologischen Nische die pathogenen Keime leichter etablieren können (92).

Aufgrund all dieser Vermutungen betrachtet man gegenwärtig die entzündlichen Parodontopathien eher als eine opportunistische Infektionen, deren Voraussetzung, neben dem Vorkommen pathogener Keime, ein für deren Vermehrung günstiges Milieu ist (114).

Pathogene Mechanismen

Die phlogogene, wie auch enzymatische (Kollagenase u.a.) und zytotoxische (organische Säuren, Ammoniak, Endotoxine) Abwehr des Wirtes sind die entscheidenden Mechanismen, die im Endeffekt zu einer parodontalen Destruktion führen können (167, 191, 212). Es sind spezifische und unspezifische immunologische Prozesse, die durch die antigenen Eigenschaften der aus der Plaque stammenden Mikroorganismen und deren Stoffwechselprodukte ausgelöst werden. Die in das gingivale Bindegewebe eingedrungenen Antigene werden von Makrophagen phagozytiert, wo sie in kurze Antigenpeptide zerlegt (prozessiert) und so den T-Lymphozyten präsentiert werden, wobei sie gleichzeitig B-Lymphozyten zur polyklonalen Proliferation und damit zur Differenzierung zu Plasmazellen anregen, welche dann die unspezifischen Antikörper bilden. Aus dem Serum stammende Immunglobuline (v.a. IgG) akkumulieren im gingivalen Bindegewebe und gelangen, zusammen mit lokal in der Gingiva gebildeten Antikörpern (sIgA), mit der Sulkusflüssigkeit in die Mundhöhle. Es entstehen Antigen-Antikörper-Komplexe, die den klassischen Weg der Komplementkaskade aktivieren, wobei der im Rahmen der Komplementaktivierung entstehende Faktor C3b und die während der humoralen Immunantwort gebildeten Antikörper als wichtige Opsonine fungieren. Chemotaktisch angelockte polymorphkernige Neutrozyten (PMNs) phagozytieren daraufhin die Pathogene, wobei sie lysosomale Enzyme in das umliegende Gewebe abgeben, die eine fortschreitende Entzündung, Gewebsdestruktion und zunehmenden Knochenabbau zur Folge haben (9, 165).

Die Proliferation der T-Lymphozyten wird durch die Antigenpräsentation der dafür spezialisierten Zellen (v.a. mononukleäre Phagozyten) wie auch durch die Proliferation der polyklonalen B-Lymphozyten ausgelöst. Als Regulatoren für die weitere B- und T-Lymphozytenproliferation dienen die von den T-Lymphozyten sezernierten Cytokine. Diese Cytokine wirken chemotaktisch, wobei sie z.B. einerseits durch die Produktion von Interferon γ eine Virusvermehrung verhindern, aber andererseits auch zu einer gesteigerten Entzündung, fortschreitenden Gewebedestruktion und Knochenresorption führen können (165). So wirken z. B. IL-1, $\text{TNF}\alpha$ und IL-6 osteoklastisch, wobei IL-1, IL-8 und TNF außerdem noch die Diapedese der PMNs erhöhen, während $\text{IFN}\gamma$, $\text{TNF}\beta$ und IL-RA (IL-1-Rezeptor-Antagonist) den Knochenabbau hemmen (79). Das im Rahmen des Arachidonsäuremetabolismus, einem weiteren phlogogenen Mechanismus, gebildete Prostaglandin des Typs PGE₂ hat neben anderen Arachidonsäurederivaten durch seine vasodilatierende und die Gefäßpermeabilität steigernde, sowie den Knochenabbau fördernde Wirkung eine entscheidende Bedeutung beim parodontalen Gewebeerfall (197).

Histopathologische Veränderungen

Die parodontale Entzündung verläuft histologisch in 4 Stadien (166). 2 bis 4 Tage nach der Plaqueakkumulation entsteht die initiale Läsion. Nach einer akut entzündlichen Reaktion des Venenplexus unterhalb des Saumepithels (70) bildet sich eine ödematöse Veränderung in der Nachbarschaft der Gefäße, in deren Folge eine gesteigerte Flüssigkeitsexsudation entsteht und die Migration neutrophiler Granulozyten in das Bindegewebe und den gingivalen Sulkus erfolgt (115). Die Enzyme (v.a. Kollagenasen) der infiltrierenden PMNs führen dann zu einem beginnenden Verlust von perivaskulärem Kollagen.

Nach etwa 1 Woche entwickelt sich die frühe Läsion. Dabei kommt es im Gebiet der akuten Entzündung zum Auftreten von Lymphozyten, zu vermehrter Infiltration von PMNs und weiterem Kollagenverlust. Fibroblasten zeigen pathologische Veränderungen und es kommt lokalisiert zu Zapfenbildungen des Taschenepithels.

Wenige Wochen später entsteht die etablierte Läsion, die durch eine Dominanz von Plasmazellen gekennzeichnet ist (166). Das Saumepithel proliferiert nach apikal und lateral und wandelt sich in ein Taschenepithel um, das von Lymphozyten, Plasmazellen und PMNs infiltriert wird. Vereinzelt findet man zytotoxische T-Lymphozyten (254). Dieses Stadium entspricht dem klinischen Bild einer chronischen Gingivitis und ist immer noch durch eine permanente Entfernung der Plaque reversibel.

Die fortgeschrittene parodontale Läsion weist weitverbreitete Anzeichen entzündlicher bzw. immunpathologischer Vorgänge auf. Sie greift auf das Desmodont über und führt dabei zu intraalveolärem Knochen- und Kollagenverlust, wobei es gleichzeitig zur Fibrose der peripheren Gingiva kommt (191). Im entzündlichen Infiltrat treten vermehrt Plasmazellen, Lymphozyten und Makrophagen auf. Typisch ist der phasenhafte Wechsel von langanhaltender Stagnation und akuter Exazerbation, wobei ein vermehrtes Auftreten von PMNs die aktiven Phasen kennzeichnet (91). Mit dem weiteren Vordringen der Mikroorganismen nach apikal ist die pathologisch vertiefte Tasche entstanden (153). Dieses Stadium entspricht klinisch dem Bild der Parodontitis. Der Übergang von einer etablierten in eine fortgeschrittene Läsion wird wahrscheinlich durch akut entzündliche Prozesse als Folge einer qualitativen Änderung der Zusammensetzung der mikrobiellen Plaque oder einer temporären Beeinträchtigung der lokalen Abwehrmechanismen ausgelöst (9, 203).

1.2.3. Die Erwachsenenparodontitis als häufigste Form chronischer Parodontitiden

Bereits frühzeitig wurde das volkswirtschaftlich relevante Problem der Verbreitung der Parodontitis und deren Folgen erkannt (249). Dabei wurde konstatiert, dass parodontale Erkrankungen zu den am weitesten verbreiteten Erkrankungsformen der heutigen Zeit zu zählen sind. So sind nach dem 35. Lebensjahr Erkrankungen des Parodonts für mehr als 60%

der durchgeführten Extraktionen verantwortlich (98,177), wobei die Parodontitis nicht nur ein Problem der hochentwickelten westlichen Industrienationen, sondern eine weltweit verbreitete Erkrankung darstellt (6,75, 77,127,175,176).

Eine Anzahl epidemiologischer Studien belegt die Korrelation zwischen dem Alter und dem parodontalen Erkrankungsgrad (s. Abb. 1) für unterschiedliche Untersuchungsgruppen (6,73,74,77,93,116,117,127,138,145,146,175,188). Epidemiologische Studien in Deutschland, unter anderem die Erhebungen an Marburger Zahnmedizinstudenten (74) und in Hessen (73), an Rekruten der Altersgruppe 18 –30 (93,116), die Untersuchungen durch Lange (117) sowie Micheelis und Bauch (145,146), belegen neben internationalen Studien (77,175,176) eine hohe Parodontitisrate bereits in der Altersgruppe ab dem 20. sowie eine über 70%-ige Prävalenz der therapiebedürftigen Parodontitis (CPITN- Score 3 + 4) in der Altersgruppe ab dem 35. Lebensjahr (73,74,93,116,117,138,145,146).

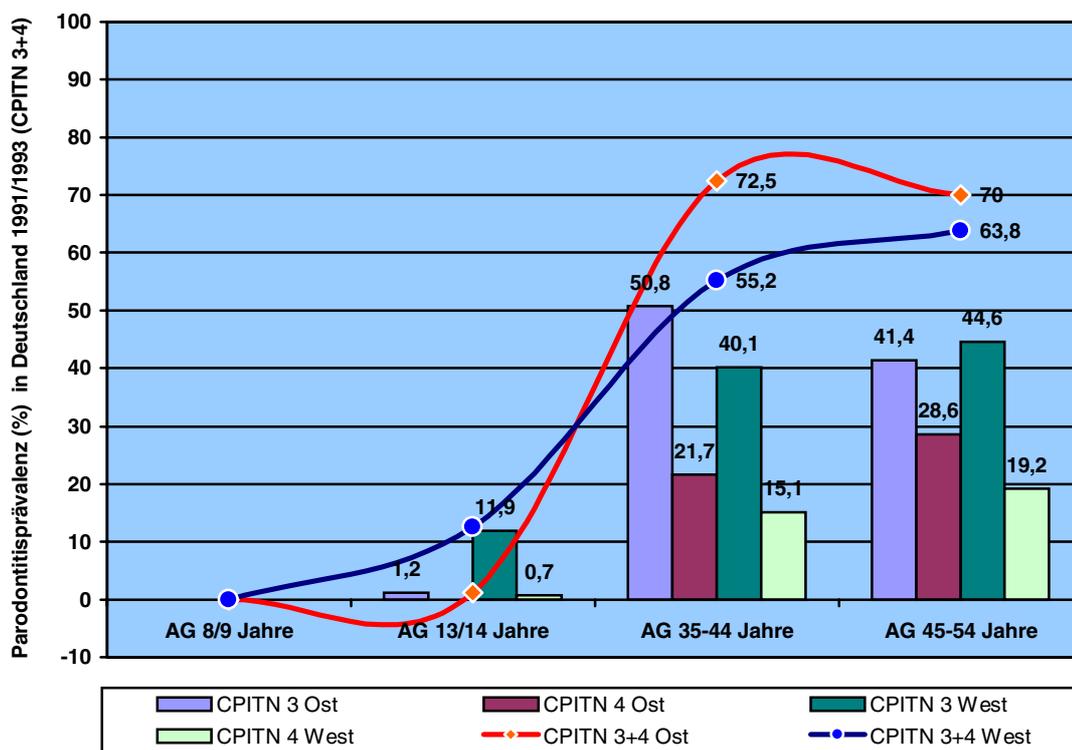


Abb. 1: Prävalenz der Parodontitis in Deutschland (1991,1993)– Maximalwert des CPITN 3 und 4 in % der untersuchten Personen pro Altersgruppe - Datenauswahl nach Micheelis/Bauch (145,146)

1.2.4. Das klinische Erscheinungsbild der Erwachsenenparodontitis

Die Erwachsenenparodontitis, für den Kliniker vielleicht prägnanter durch den Begriff der chronischen plaqueassoziierten Parodontitis charakterisiert, unterscheidet sich differentialdiagnostisch vom gesunden Parodontium, von den Gingivitisformen, Altersinvolutionen und parodontalen Atrophien durch den entzündlichen Attachmentverlust. Während die Gingivitis das epitheliale Attachment nicht zerstört und aus diesem Grunde eine reversible, ausschließlich den supraalveolären Teil des Parodontiums erfassende Entzündung darstellt, sind für die Parodontitiden die mit einem röntgenologisch nachweislichen Verlust des alveolären Attachements (horizontaler und /oder vertikaler Abbau des alveolären Knochens unter Einbeziehung der Approximalräume) einhergehende Zerstörung des parodontalen Ligaments und eine damit verbundene, durch Sondierung metrisch erfassbare Ausbreitung des epithelialen Attachements (Saumepithel) nach apikal charakteristisch. Für die differentialdiagnostische Unterscheidung von parodontitisfreien und an Parodontitis erkrankten Individuen und Populationen sind demnach die folgenden klinischen Kriterien von Bedeutung:

1. eine durch Sondierung metrische Erfassung des Attachmentverlustes, wobei für die Parodontitis ein entzündlicher Attachmentverlust über 3 mm (gemessen von der Schmelz- Zementgrenze), unter Einbeziehung der Approximalräume, charakteristisch ist
2. das Vorliegen von parodontalen Taschen
3. der röntgenologisch verifizierbare Verlust an alveolärem Stützgewebe (horizontaler oder vertikaler Abbau des Alveolarknochens), der hierbei das wichtigste klinische Merkmal für die Diagnose Parodontitis darstellt und somit differentialdiagnostisch entscheidend ist

Die Erwachsenenparodontitis (AP) ist die in der erwachsenen Bevölkerung am weitesten verbreitete Parodontitisform (175,176,249). Sie beginnt meist zwischen dem 30. und 40. Lebensjahr und ist im Unterschied zu den akuten oder aggressiven Parodontitiden durch einen sehr langsamen und phasenhaften Verlauf des Attachmentverlustes charakterisiert, der nur einzelne oder auch alle Parodontien erfasst (218). Es besteht kein Missverhältnis zwischen Plaquemenge und Attachmentverlust, wie das für die meisten aggressiven Parodontitisformen (EOP,LJP,RPP) charakteristisch ist. In der Plaque finden sich vorwiegend grampositive Kokken und Stäbchen, in aktiven Phasen jedoch bis zu zwei Drittel gramnegative Anaerobier. Dabei ist der durch Longitudinalstudien verifizierte, zeitlich und örtlich intermittierende Verlauf des entzündlichen Attachmentverlustes für die AP charakteristisch (42,127,218), wobei kurze Perioden akuten Attachmentverlustes mit langen Perioden der parodontalen Stabilität wechseln (asynchroner multipler Ausbruch). Das aus diesen Erkenntnissen resultierende Modell des ortsspezifischen und zeitlich asynchronen Verlaufs der parodontalen Zerstörung hatte für die Entwicklung der modernen Therapiestrategien für die Erwachsenenparodontitis eine entscheidende klinische Relevanz.

Die Erwachsenenparodontitis zeigt interindividuelle Unterschiede in ihrer klinischen Ausprägung, die durch eine offensichtlich individuelle Anfälligkeit des Individuums (Noxentoleranz) für eine destruktive Parodontalerkrankung bestimmt wird (169).

Unter Beachtung quantifizierbarer Faktoren, wie die Einstufung der Mundhygiene, lassen Studien aus verschiedenen Ländern den Schluss zu, dass ungefähr 80 % der Bevölkerung eine Anfälligkeit für eine langsam voranschreitende Erwachsenenparodontitis (AP), ca. 10 % ein hohes Risiko für destruktive Formen der Parodontitis (EOP,LJP,RPP) haben und ebenso ca. 10% der Bevölkerung, trotz Vorliegen einer chronischen Gingivitis, relativ resistent gegenüber der Entstehung einer Parodontitis erscheinen (127,169). Trotz dieser möglicherweise sehr vereinfachten Kategorisierung findet sich in der Literatur weitestgehende Übereinstimmung über die Existenz einer Gruppe mit geringem Risiko, die ungefähr 10% der Gesamtbevölkerung ausmacht (127,169). Gründe für die beobachteten Unterschiede in der Erkrankungsanfälligkeit lassen sich möglicherweise durch individuelle Schwankungen im Destruktions-Protektions-Gleichgewicht erklären (169,218).

Es ist bekannt, dass z. B. in der Ätiopathogenese der juvenilen (LJP) wie auch der rasch fortschreitenden Parodontitis (EOP,RPP) offenbar Störungen in der Immunabwehr (z.B. verringertes Phagozytosevermögen der lokalen und/oder peripheren Leukozyten) eine Rolle spielen (101,158,164). Weiterhin verstärkt sich die Vermutung, dass die entzündlichen Parodontalerkrankungen bzw. deren Ursachen unter einer genetischen Kontrolle stehen. Dabei gewann in den letzten Jahren die Bewertung des HLA-Systems zunehmend an Bedeutung. Unbestreitbar ist, dass HLA-Merkmale mit bestimmten Krankheiten assoziiert sind (90,119,223,224,248), wobei das HLA-System ein flexibles Schutzsystem gegenüber Pathogenen zu bilden scheint, indem aus einer Anzahl von frei kombinierbaren Grundelementen (173) die antigene Individualität aller Organismen verschiedener Populationen abgesichert wird.

1.3. Der Haupthistokompatibilitätskomplex des Menschen

Der Haupthistokompatibilitätskomplex MHC (engl.: major histocompatibility complex) wurde erstmalig bei Mäusen durch Gorer (82) und Snell (214) im Rahmen experimenteller Untersuchungen zur Gewebstransplantation beschrieben. Die darauf aufbauenden Untersuchungen von Dausset (52,53), Van Rood et al. (240) sowie Payne und Rolfs (170) zur Charakterisierung des MHC beim Menschen bildeten dann das Fundament für die weitere Erforschung des Aufbaus und der Funktion des HLA-Systems, dem Haupthistokompatibilitätskomplex des Menschen (engl.: human leukocyte antigens). Die Immunantwort eines Individuums wird wesentlich durch die von MHC-Molekülen vermittelte Unterscheidung zwischen „körperfremd“ und „körpereigen“ beeinflusst. MHC- Moleküle sind an

der Prägung des Immunsystems im Thymus (120) ebenso beteiligt, wie an der Auseinandersetzung mit Proteinantigenen fremder und körpereigener Struktur (137). HLA-Merkmale wirken dabei aufgrund ihrer allelabhängigen assoziativen Fähigkeit (186) als Selektoren von individuums- bzw. HLA-spezifischen Determinanten (95) und bilden durch die Vorselektion und Präsentation der Antigenpeptide für die T-Zell-Rezeptoren (38,80) faktisch ein entscheidendes Restriktionselement für die spezifische Antigenerkennung (258).

Die zentrale Rolle der HLA-Merkmale als Immunantwortgene wird dadurch bestimmt, dass die Immunantwort nur durch ein Zusammenspiel der antigenerkennenden T-Zell-Rezeptoren (TCR) und der HLA-Antigene zustande kommt (189).

Seit 1967 werden alle bislang gefundenen Gene und Allele des HLA-Komplexes durch ein Nomenklaturkomitee einheitlich definiert (Tabelle3) .

1.3.1. Die Struktur und der Polymorphismus des HLA-Komplexes

Die HLA-Moleküle stellen an der Zelloberfläche exprimierte heterodimere Glykoproteine dar, die durch eng gekoppelte Gene auf dem kurzen Arm des Chromosom 6 kodiert werden. Der HLA-Komplex erstreckt sich hier über ungefähr 4×10^6 Basenpaare und enthält mindestens 50 Gene. Der menschliche MHC-Komplex ist polygen, da mehrere Klasse I- und Klasse II-Gene existieren, die Proteine mit unterschiedlichen Peptidbindungsspezifitäten codieren, gleichzeitig ist er extrem polymorph, da es für jeden Locus multiple Allele gibt. Ihrer Struktur und Funktion entsprechend werden Klasse I- und Klasse II-Gene unterschieden, die die „klassischen“ HLA-Klasse I- (α -Ketten) und HLA-Klasse II-Moleküle (α - und β -Ketten) exprimieren, während den Klasse III-Merkmalen eine Gruppe von Genen zugeordnet werden, die sich funktionell und strukturell von den Klasse I- und II-Merkmalen unterscheiden und nicht für Transplantationsantigene kodieren.

In der Nähe des Zentromers befinden sich die HLA-Klasse II-Gene, die in mehrere Subregionen untergliedert sind. In Richtung des Telomers befinden sich neben den Pseudogenen HLA-DPA2 und -DPB2 die polymorphen Gene HLA-DPB1 und HLADPA1, die für die β - und α -Ketten des HLA-DP-Merkmales kodieren. Es schließen sich diesen telomerwärts die Gene der HLA-DM-Moleküle, die für ein Heterodimer aus einer α - bzw. β -Kette kodieren sowie die Gene der TAP- Proteine und LMP- Produkte (large multifunctional protease) an. Dieses sind Genprodukte, die u.a. eine wichtige Rolle in der Antigenprozessierung spielen, wie die für zwei Untereinheiten des Proteasomkomplexes kodierenden Gene LMP2 und LMP7 sowie TAP1 und TAP2. Die Genprodukte von TAP1 und TAP2 ermöglichen den Transport degradiertes Antigenpeptide aus dem Zytosol in das endoplasmatische Retikulum (37).

Innerhalb der Klasse II-Region befinden sich zwei weitere Genorte mit bislang noch unbekannter Funktion, HLA-DOB kodiert für ein β -Kettengen, während HLA-DAN eine α -Kette

exprimiert. Neben den Pseudogenen HLA-DQB2, -DQB3 und -DQA2 befinden sich dann in einem etwas größerem Abstand telomerwärts die polymorphen Gene des HLA-DQ-Lokus, der zwei α -Kettengene (DQA1, DQA2) und drei β -Kettengene (DQB1, DQB2, DQB3) enthält. Dabei sind DQA1 und DQB1 polymorph, während DQA2, DQB2 und DQB3 Pseudogene sind. Der sich anschließende Bereich der DR-Gene ist durch seine äußerst komplexe Struktur charakterisiert. Er enthält ein nichtpolymorphes, stets vorhandenes α -Kettengen (DRA) und mehrere β -Kettengene (DRB), wobei nur DRB1, 3, 4 und 5 exprimiert werden. DRB2, 6, 7, 8 und 9 sind Pseudogene. Das polymorphe DRB1-Gen ist immer vorhanden und kodiert für die β -Kette der HLA-Merkmale DR1 bis -DR18. Grundsätzlich liegt ein DRA-Allel kombiniert mit einem DRB1-Allel vor, während in Abhängigkeit von der Spezifität des HLA-DRB1-Gens auf einem Chromosom sich nur jeweils eines der Gene HLA-DRB3, -DRB4 oder -DRB5 befindet. Im Gegensatz zu DRB1 sind bei Kaukasoiden die polymorphen Gene DRB3, 4 und 5 immer dann nicht vorhanden, wenn deren DRB1-Gen für die HLA-Merkmale -DR1, -DR8 oder -DR10 kodiert. Dieses Phänomen bezeichneten wir in dieser Studie als DRBblank*. Das HLA-DRB3-Gen kodiert für die β -Kette des Merkmals HLA-DR52, das in kaukasoiden Populationen dann vorkommt, wenn das HLA-DRB1-Gen des gleichen Chromosoms für das Merkmal HLA-DR4, -DR7 oder -DR9 kodiert. Entsprechend enthält das HLA-DRB4-Gen das β -Kettengen von DR53, das in kaukasoiden Populationen im Haplotyp (als Haplotyp bezeichnet man eine Vererbungseinheit, die „en bloc“ vererbte Allele engbenachbarter Gene trägt [22]) gekoppelt mit den HLA-Merkmalen -DR3, -DR5 und -DR6 auftritt, während das HLA-DRB5-Gen, in haplotypischer Kopplung mit dem HLA-Merkmal DR2 auftretend, für die β -Kette des Merkmals HLA-DR51 kodiert.

Weiter in Richtung Telomer, zwischen den Klasse I- und den zentromerwärts gelegenen Klasse II-Genen gelegen, folgt ein Abschnitt, der, obwohl seine Gene nicht für Transplantationsantigene kodieren, als HLA-Klasse III-Region bezeichnet wird. Sie kodieren u.a. die Komplementfaktoren C2, C4a, C4B und Bf sowie die Tumornekrosefaktoren TNF α und TNF β , das Hitzeschockprotein HSP 70 und die Steroid-21-Hydroxylase (137,246). Am Ende des Telomers befindet sich der Klasse I-Gen-Lokus, dessen Gene HLA-A, -B, und -Cw für die schweren α -Ketten des HLA-Klasse I-Moleküls kodieren, sowie die Gene HLA-E, -F und -G, die ähnliche funktionell aktive Moleküle exprimieren, während HLA-H und -J Pseudogene darstellen (23, 246).

Der HLA-Komplex ist durch Genloci mit stark auffälliger Multiallelie (Polymorphismus) charakterisiert, wodurch eine hohe Varianz bestimmter Aminosäuresequenzen in den HLA-Paratopen determiniert wird (216, 246). Dabei bezieht sich der Polymorphismus hauptsächlich auf die durch das Allel geprägte Bindungsstelle für zu präsentierende antigene Peptide, während andere Regionen relativ konstant aufgebaut sind. Die alleldeterminierte Variabilität

des Paratopes, durch die die allelspezifischen Differenzen der DNA-Sequenz widergespiegelt werden, ist nötig zur Bindung und Präsentation verschiedener antigener Peptide (promiskuitive Selektivität). Die HLA-Gene eines jeweiligen Chromosoms werden „en bloc“, d.h. zusammen als Haplotyp an die Nachkommen vererbt, was z.B. zur Paternitätsbestimmung verwendet wird.

Auftretende Abweichungen von der in einer gegebenen Population statistisch zu erwartenden Häufigkeit solcher Haplotypen werden bei gleicher Crossing-over-Wahrscheinlichkeit Kopplungsungleichgewicht genannt. Als Mechanismen, die diesem Phänomen ursächlich zugrunde liegen, werden sogenannte „Gründerhaplotypen“ angeführt, die durch Rekombination im Verlaufe der Evolution noch nicht ausreichend verändert worden sind. Weiterhin erscheint ein Selektionsvorteil bzw. -nachteil für Individuen mit bestimmten günstigen bzw. ungünstigen Allelkombinationen logisch (24,25).

1.3.2. Die Nomenklatur des HLA-Systems

Eine praktische Bedeutung für die Bestimmung von HLA-Merkmalen haben serologische und heute vorrangig molekularbiologische Methoden. Mit der Einführung der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) können ursprünglich serologisch oder zellulär definierte HLA-Merkmale differenzierter bestimmt und bisher unbekannte Merkmale beschrieben werden. Die jeweils gültige Nomenklatur von bislang bekannten und neuen Genen, Allelen und Spezifitäten des HLA-Systems wird durch das WHO-Nomenklaturkomitee festgelegt (23). Das menschliche MHC wird in die Abschnitte der Klasse I-, Klasse III- und Klasse II-Gene unterteilt. Da einige Spezifitäten gemeinsame Epitope haben, aber auch durch allelspezifische Epitope charakterisiert werden können, die auf anderen Allelen nicht nachweisbar und durch Antikörper nicht weiter differenzierbar sind, werden serologisch definierte Merkmale in Hauptspezifitäten und Feinspezifitäten oder Splits unterteilt. Die Nomenklatur der molekularbiologisch definierten HLA-Gene und ihrer Allele setzt sich am Beispiel eines Klasse II-Merkmales aus dem Buchstaben des serologischen Isotypes (z.B. HLA-DQ), dem Buchstaben A oder B für die Gene der α - oder β -Ketten (z.B. HLA-DQB), weiterhin einer Ziffer (z.B. HLA-DQB1), wenn mehrere Gene für das jeweilige Protein kodieren und einer vier- oder fünfstelligen Ziffer des spezifischen Allels zusammen, wobei die ersten zwei Ziffern denen der serologischen Spezifität entsprechen (z.B. HLA-BQB1*05031) .

83 HLA-A-Allele, 186 HLA-B-Allele und 42 HLA-Cw-Allele bilden derzeit die Summe der durch molekulargenetische Methoden definierten Klasse I- Merkmale. Diesen entsprechen serologisch 28 HLA-A-, 61 HLA-B- und 10 HLA-Cw-Antigene (23).

Den Klasse II-Merkmalen werden molekulargenetisch 2 HLA-DRA- und 184 HLA-DRB1-Allele, 11 zu HLA-DR52 gehörende HLA-DRB3-Allele, 9 zu HLA-DR53 gehörende HLA-DRB4-

Allele und 12 zu HLA- HLA-DR51 gehörende DRB5-Allele zugeordnet, wobei man aufgrund ihres spezifischen Kopplungsverhaltens HLA-DR51, -DR52 und -DR53 als supertypische Antigene bezeichnet (23, 246). Zu den Klasse II-Merkmalen gehören weiterhin 18 HLA-DQA1-Allele, 31 HLA-DQB1- sowie 10 HLA-DPA1- und 77 HLA-DPB1-Allele. Diesen molekulargenetisch differenzierten Klasse II- Merkmalen entsprechen serologisch 21 HLA-DR Antigene, 9 HLA-DQ- und 6 HLA-DPw-Merkmale.

1.3.3. Die Molekülstruktur und biologische Funktion der HLA Klasse I- und II- Merkmale

Die Genprodukte der Klasse I- und Klasse II-Gene sind bezüglich ihres dreidimensionalen Aufbaus und ihrer Funktion eng verwandte, an der Zelloberfläche fixierte Glykoproteine. Durch Röntgenstrukturanalyse wurde der unterschiedliche Aufbau ihrer funktionellen Untereinheiten bestimmt. Das HLA-Klasse I- Molekül ist ein Heterodimer aus einer schweren polymorphen α -Kette (MG: 43kDa), die mit dem nichtpolymorphen β_2 -Mikroglobulin (MW: 12kD), einem auf Chromosom 15 kodierten Polypeptid, nichtkovalent assoziiert ist, wobei nur die Klasse I- α -Kette die Membran durchdringt. Das Molekül besitzt 4 Domänen, wobei drei Domänen von der durch Disulfidbrücken stabilisierten α -Kette (α_1 , α_2 , α_3) und die vierte durch das β_2 -Mikroglobulin gebildet werden. Kristallographische Untersuchungen zeigten, dass die α_3 – Domäne und das β_2 -Mikroglobulin eine gefaltete Struktur besitzen, die auch in ihrer Aminosäuresequenz denen der konstanten Immunglobulin-Domänen ähnelt (22). Die α_1 - und α_2 -Domänen falten sich dagegen zu einer Struktur zusammen, die aus zwei, auf einem Faltblatt von acht β - Strängen gelegenen , segmentierten α -Helices besteht und so einen langen Spalt, die eigentliche peptidbindende Stelle bilden, an der lineare antigene Peptidfragmente mit einer Länge von ca. 9 bis 10 Aminosäuren gebunden werden können (36). Die Voraussetzung für die Expression an der Zelloberfläche ist dann die Bindung des β_2 -Mikroglobulins an die α_3 -Domäne zusammen mit der Bindung des zu präsentierenden Antigenpeptids (246).

Die Klasse II-Moleküle bilden einen nichtkovalenten Komplex zweier etwa gleich schwerer Polypeptidketten, jede jeweils aus zwei α -Ketten (MW: 33kDa) oder β -Ketten (MW: 29kDa) bestehend, die beide die Zellmembran durchdringen. Der wesentliche Unterschied zur Struktur der Klasse I-Moleküle besteht darin, dass die beiden spaltbildenden α_1 - und β_1 -Domänen nicht durch eine kovalente Bindung verknüpft und dadurch der peptidbindende Spalt, aufgrund der Unterschiede in der Struktur der α -Helices, bei den Klasse II- Molekülen an beiden Seiten offen ist, wodurch die Bindung längerer Antigenpeptide (16 bis 20 Aminosäuren) möglich wird (195). Die Primärstruktur der extrazellulären Domanen wird durch eine hohe Polymorphie charakterisiert, die sich hauptsächlich auf ganz bestimmte Regionen des

peptidbindenden Spalts der HLA-Moleküle konzentriert. So unterscheiden sich z. B. die serologisch eng verwandten Mermale HLA-A2 und –A28 in 10 Aminosäuresequenzen.

Aus der ubiquitären Gewebsverteilung der HLA-Antigene läßt sich deren Funktion als Marker für die immunologische Definition von „selbst“ oder „nicht selbst“ herleiten. Diese Selbstdefinition ist deshalb so wichtig, da vom Immunsystem nur dann etwas als fremd erkannt werden kann, wenn zuvor festgelegt ist, was körpereigen ist (102). Die Erkennung fremder Antigene durch antigenspezifische T-Lymphozyten basiert auf einem trimolekularen Komplex aus dem antigenen Peptidfragment, dem HLA-Molekül und dem T-Zellrezeptor selbst, wobei die proteolytisch aufbereiteten Antigene nur dann erkannt werden können, wenn sie, an das HLA-Molekül gebunden, von diesem an der Zelloberfläche dem T-Zellrezeptor präsentiert wird (Prinzip der HLA-Restriktion). Dem starken selektiven Druck solcher Pathogene, die ihre Strukturgene so mutieren können, dass sie der Präsentation durch ein HLA-Molekül entgehen und dadurch vom Immunsystem unentdeckt im Wirt überleben können, wirken zwei dem HLA-System immanente Mechanismen entgegen, einerseits die Polygenie des HLA-Systems, die durch die unterschiedlichen HLA-Klasse I- und II-Gene jeweils für eine Vielfalt der verschiedenen Peptidbindungsspezifitäten kodieren, andererseits durch die extrem ausgeprägte Polymorphie, die für jeden Locus multiple Allele bereithält.

HLA-Klasse I-Moleküle der antigenpräsentierenden Zelle (APC) präsentieren den CD8⁺T-Lymphozyten (zytotoxisch bzw. suppressorisch) die aus dem Abbau (processing) intrazellulärer Proteine (z.B. aus viralen Produkten) stammenden antigenen Peptidfragmente (80). Die zytosolischen Proteine werden durch einen großen intrazellulären Proteasekomplex, dem Proteosom (codiert durch LMP2, LMP7) enzymatisch abgebaut und die Peptidfragmente dann vom TAP-Transporter (codiert durch TAP1, TAP2) in die „Zisternen“ des endothelialen Retikulums transportiert. Sie werden hier an die Klasse I-Moleküle gebunden (149) Letztere werden als Transplantationsantigen auf den kernhaltigen Zellen und Thrombozyten in unterschiedlicher Quantität ausgeprägt, die durch unterschiedliche Stimuli, Zelltyp und zelluläre Differenzierungsgrade beeinflusst werden kann. Neuronale Zellen des Gehirns und Trophoblastzellen der Plazenta nehmen dabei eine Sonderstellung ein (246).

HLA-Klasse II-Moleküle präsentieren antigene Peptidfragmente von externen Proteinen, die in intrazelluläre Vesikel eingeschlossen werden und nach Ansäuerung der Vesikel durch die Proteasen prozessiert und dann den CD4⁺T-Helfer- bzw. Inducer-Lymphozyten präsentiert werden (80,120).

Die HLA-Klasse II-Antigene treten in erster Linie auf den antigenpräsentierenden Zellen auf, d.h. auf solchen Zellen, die direkt in die Immunreaktion als APC eingebunden sind (z.B. B-Lymphozyten, aktivierte T-Lymphozyten, Gewebshistiozyten, dendritische Zellen und verschiedene Makrophagen). Oft treten HLA-Klasse II-Antigene nur nach speziellen Stimuli (z.B. IFN γ) auf (246).

1.4. HLA und Krankheitsassoziation

Neben dem System der klassischen Blutgruppen als stärkste immunologische Transplantationsbarriere hat das HLA-System vor allem in der Transfusionsmedizin, bei Knochenmark- und Nierentransplantationen sowie bei der Klärung von Paternitätsfragen enorm an Bedeutung gewonnen (241). Die Korrelation bestimmter HLA-Merkmale mit verschiedenen autoimmunen Krankheiten rückt das HLA-System immer mehr in das Zentrum des medizinisch-wissenschaftlichen Interesses (233). HLA-Assoziationen bzw. Kopplungen sind heute bei über 40 Erkrankungen (z.B. Narkolepsie, insulinpflichtiger Diabetes mellitus, chron. Polyarthritis, Zöliakie, u.a.) bekannt (90,223,248). Die Assoziation zwischen HLA-B*27 und Morbus Bechterew (Ankylosierende Spondylitis) hat hierfür bereits modellhaften Charakter (30).

Die Erklärungen für eine Beteiligung der verschiedenen HLA-Moleküle an der Genese autoimmuner Krankheiten basieren auf verschiedenen Hypothesen. So könnten von Sasazuki et al. (115) beschriebene sogenannte Suszeptibilitätsgene möglicherweise direkt oder auch indirekt über die Kopplung an HLA-Gene für die Assoziation mit der Erkrankung verantwortlich sein (224). Ebenso wird eine sog. Epitopgemeinschaft zwischen dem HLA-Molekül und einem Fremdartigen diskutiert, die im Ergebnis zu einer epitopspezifischen Kreuzreaktion (molekulares Mimikry) und zur Beeinträchtigung der Unterscheidung „fremd“ und „eigen“ führen soll (69,215), die Folge wäre eine Kreuztoleranz oder Autoimmunität. Andererseits vermutet man als Ursache eine unterschiedliche Affinität der Bindung und Präsentation von Antigenen bei assoziierten und nichtassoziierten Allelen (Immunmodulation) oder, als immunologische Reaktion auf spezifische Antigene, eine vermehrte Bildung von T-Suppressorzellen (Immunsuppression). Ebenfalls zieht man eine im Rahmen der Maturation der Thymuszellen durch HLA-abhängige Deletion verursachte Lücke (klonale Deletion) im Repertoire der Spezifitäten antigenerkennender T-Lymphozytenrezeptoren gegen bestimmte Pathogene als mögliche Ursache in Betracht (246). Einer weiteren Hypothese zufolge könnten HLA-Moleküle auch als Rezeptoren für Viren oder Medikamente wirken (233).

1.4.1. Parodontitis und HLA-Assoziation

Zunehmend wurde der menschliche MHC Gegenstand von Studien, die eine Korrelation zwischen mehr oder weniger gehäuft vorkommenden HLA-Merkmalen und dem Auftreten von parodontalen Erkrankungen untersuchen. Bereits 1975 wurde durch Kaslick und Terasaki eine mögliche Assoziation von aggressiven Formen entzündlicher parodontaler Erkrankungen und bestimmten HLA-Merkmalen erwähnt (103,229). Die Uneinheitlichkeit der Ergebnisse der darauffolgenden Untersuchungen zu dieser Thematik beruhen zumeist auf der Anwendung unterschiedlicher Untersuchungsmethoden, auf Populations- oder Rassenunterschieden, einer

für die statistische Auswertung zahlenmäßig zu geringen und in der parodontalen Diagnose inhomogen zusammengesetzten Patientengruppe sowie in der Verwendung von Vergleichsgruppen, die im Hinblick auf die parodontale Diagnose bisher völlig undifferenziert waren. Außerdem überwiegt die Zahl der Untersuchungen an Patienten mit aggressiven Parodontitisformen deutlich denen an Patienten mit einer Erwachsenenparodontitis. So wurden bisher bei Kaukasoiden von Balandin-Textier et al. (14) für HLA-A9, von Marggraf et al. (134) für die Merkmale HLA-A*23/24 (HLA-A9) und HLA-B*35, von Alley et al. (4) für HLA-DRB1*04 und von Alley et al. (4) sowie Bonfill et al. (64) für den Haplotyp HLA-DRB1*04-DRB4*(DR53)-DQ3 positive Assoziationen zur Erwachsenen-parodontitis angegeben, während in den Untersuchungen von Terasaki et al. (229) und Kaslick et al. (104) HLA-A*02 durch eine signifikant verringerte Frequenz auffällig wurde. Reinholdt et al. (190) fand dagegen keine Assoziationen zur Erwachsenenparodontitis.

Für kaukasoide Patienten mit der Diagnose einer aggressiven Parodontitisform existiert eine wesentlich größere Zahl von Untersuchungen, deren Ergebnisse aber ebenso unterschiedlich sind.

Für kaukasoide Patienten mit einer rapid progressiven Parodontitis (RPP) geben Klouda et al. (112) für die Merkmale HLA-A9 und -A24, Katz et al. (105) für HLA-DR4, Amer et al. für HLA-A9, Firatli et al. für HLA-A9 und HLA-DR4 und erstmalig auf der Basis der PCR- Technik, Bonfill et al. (26) für die Allele von HLA-DRB1*04 eine positive Assoziation an, während Amer et al. (5) für die Merkmale HLA-A10 und Firatli et al. (72) für HLA-A1 und -A2 eine signifikant verringerte Häufigkeit fanden.

Bei kaukasoiden Patienten mit juveniler Parodontitis (JP) fanden Reinholdt et al. (190) für die Merkmale HLA-A9, -A28 (A*68/69), -B15, Cogan et al. (45) für HLA-A*33 und HLA-DR2 und Firatli et al. (72) für HLA-A*24 und HLA-DR4 positive Assoziationen, wohingegen Terasaki et al. (229) und Kaslick et al. (103) für HLA-A2 sowie Firatli et al. für HLA-A2 und -A1 negative Assoziationen zur juvenilen Parodontitis angeben. Cullinan et al. (50) sowie Saxen und Koskimies (199) konnten jedoch keine Assoziationen zur juvenilen Parodontitis finden.

Die molekulargenetischen Untersuchungen von Shapira et al. (207), Takashiba et al. (225,226), Moses et al. (152) und Ohyjama et al. (160) zur HLA-Assoziation der „Early-Onset Periodontitis“ (EOP) beziehen sich ausschließlich auf nichtkaukasoide Patientengruppen. Sie sind der Vollständigkeit halber in der Übersicht (Tabelle 3) aufgelistet, sollen aber durch die thematische Konzentration auf kaukasoide Patientenpopulationen nur am Rande erwähnt bleiben.

Tab. 1: Darstellung der Ergebnisse bisheriger Studien zur Assoziation von HLA-Antigenen bei verschiedenen Formen von Parodontitis. Die Pfeile verdeutlichen, ob ein Merkmal häufiger (↑) oder seltener (↓) gefunden wurde (Tab. aus Diss. Stein [221]).

Autoren	Jahr	Population	Diagnose / (n)	Assoziierte HLA-Merkmale
<i>Terasaki et al.</i>	1975	Kaukasier (USA)	JP (19) AP (28)	A2 (↓) A2 (↓)
<i>Reinholdt et al.</i>	1977	Kaukasier (Dänemark)	JP (39) AP (29)	A9 (↑), A28 (↑), B15 (↑) Keine Assoziation
<i>Kaslick et al.</i>	1980	Kaukasier (USA)	JP (33) AP (41)	A2 (↓) A2 (↓)
<i>Cullinan et al.</i>	1980	Kaukasier (England) Negroide (Indien)	JP (12) JP (18)	Keine Assoziation B35 (↑)
<i>Marggraf et al.</i>	1983	Kaukasier (Deutschland)	Profunde Parodontitis (50)	A9 (↑), A23 (↑), A24 (↑), B35 (↑), Cw4 (↑)
<i>Goteiner, Goldman</i>	1984	Kaukasier + Negroide (England)	AP (25)	B5 (↓), A28 (↓)
<i>Saxen, Koskimies</i>	1984	Kaukasier (Finnland)	JP (19)	Keine Assoziation
<i>Cogen et al.</i>	1986	Kaukasier (USA)	JP (13)	DR2 (↑), A33 (↑)
<i>Klouda et al.</i>	1986	Kaukasier (England)	RPP (44)	A9 (↑), A24 (↑)
<i>Katz et al.</i>	1987	Juden (Israeli)	RPP (10)	DR4 (↑)
<i>Amer et al.</i>	1988	Kaukasier (England)	RPP (49)	A9 (↑), A10 (↓)
<i>Alley et al.</i>	1993	Kaukasier (USA)	AP (30)	DR4 (↑)
<i>Shapira et al.</i>	1994	Juden (Non- Ashkenazi, Afrika)	LJP (11) SGP (15)	A9 (↑), B15 (↑) A9 (↑), B15 (↑)
<i>Takashiba et al.</i>	1994	Japaner	EOP + AP (70)	Keine Assoziation
<i>Moses et al.</i>	1994	Negroide (Afro-Kariben)	JP (38)	A1 (↑), B22 (↑), DR7 (↑), A68 (↓), B5 (↓), DR2 (↓)
<i>Firatli et al.</i>	1996	Türken	JP (30) RPP (30)	A24 (↑), DR4 (↑), A1 (↓), A2 (↓) A9 (↑), DR4 (↑), A1 (↓), A2 (↓)
<i>Ohyama et al.</i>	1996	Japaner	EOP (24)	DRB1*1401,*1501, DQB1*0503,*0602 (↑) DRB1*0405,*0401 (↓)
<i>Dyer et al.</i>	1997	Kaukasier (USA)	AP (60)	DR4 (↑), DR53 (↑), DQ3 (↑)
<i>Bonfil et al.</i>	1999	Gemischt (Frankreich)	RPP (12)	DRB1*0401,*0404,*0405,*0408 (↑)

2. Problemstellung und Ziel der Arbeit

Für eine Korrelation bestimmter HLA-Merkmale mit parodontalen Erkrankungen sprechen die Ergebnisse verschiedener Studien, die untereinander jedoch aufgrund methodologischer und ethnographischer Unterschiede oder durch Verwendung von parodontologisch mehr oder weniger undifferenzierten Vergleichsgruppen nur bedingt vergleichbar sind und demzufolge keine konsistenten Ergebnisse lieferten. Bisher existieren nur zwei Untersuchungen deutscher Patienten kaukasischer Rasse. Die erste Untersuchung dieser Art in Deutschland wurde noch vor der standardisierten Anwendung moderner DNA-Technik an einer Berliner Gruppe mit profunder Parodontitis durchgeführt (134), während die zweite Untersuchung an 30 RPP-Patienten im Rahmen der Arbeitsgruppe „Orale Immunologie“ des hiesigen Institutes der vorliegenden Arbeit methodisch gleicht (221). Des weiteren existieren Untersuchungen zur Assoziation zwischen HLA und Parodontitis vorwiegend an Patienten mit rasch fortschreitenden Parodontitisformen aus Grossbritannien (5,112), Frankreich (26), Israel (105), der Türkei (72) und aus Japan (160,207,225,226). In den meisten dieser Arbeiten wurden die HLA-Merkmale serologisch bestimmt, nur in einigen wenigen wurden molekulargenetische Techniken eingesetzt (26,160). Das Ziel dieser Arbeit bestand deshalb darin, eine vermutete Assoziation von HLA-Merkmalen und Erwachsenenparodontitis nachzuweisen und zu bestätigen, wobei durch den Einsatz molekulargenetischer Methoden die Resultate der serologischen Untersuchung mittels Antikörpersets gesichert, aber auch verfeinert und erweitert werden. Dazu wurde bei einer Gruppe deutscher Patienten mit Erwachsenenparodontitis die Verteilung der HLA-Merkmale untersucht. Als Vergleichsgruppe dienten Patienten, die gezielt daraufhin ausgewählt wurden, dass trotz einer chronisch schlechter Mundhygiene keine klinischen Zeichen einer marginalen Parodontitis festgestellt werden konnten (sog. Resistenzgruppe). Zur Kontrolle wurde weiterhin eine Gruppe HLA-typisierter, nicht im Rahmen dieser Studie zahnärztlich untersuchter Blutspender herangezogen. Unter Verwendung der Typisierungsdaten von Patienten mit einer RPP (188,221) soll zusätzlich eine aus den Patienten mit einer Erwachsenenparodontitis und RPP-Patienten bestehende Gesamtgruppe hinsichtlich ihrer HLA-Merkmale der Resistenzgruppe gegenübergestellt werden. Ein HLA-abhängiges Risiko für die Entstehung (prädisponierendes Merkmal) oder die Verhinderung (Resistenzmerkmal) einer Erwachsenenparodontitis soll dann durch den Vergleich der Gruppen gefunden und diskutiert werden.

3. Material, Methoden und Probandenauswahl

3.1. Patienten und Kontrollgruppen

Patienten zweier niedergelassener Zahnärzte (Zahnarztpraxen Gautsch in Bremen und Wilcken in Burg auf Fehmarn), die zum Stichtag 01.01. 1998 bereits 38 Jahre und älter waren,

wurden auf das Vorliegen einer Parodontitis selektiert. Dabei kamen die Patienten zur Auswahl, die sich in einer der beiden Zahnarztpraxen einer systematischen Parodontaltherapie unterzogen hatten, mindestens 10 eigene Zähne aufweisen konnten und für die ein Parodontalstatus nach vorgeschriebenem Formblatt (Anamnese und klinischer Befund) erstellt wurde. Diese Parodontalstatus wurden nach den Kriterien Taschentiefe von mindestens 4mm an wenigstens 5 Zähnen (Sondierungstiefe, gemessen mit der WHO-Sonde vom Marginalsaum bis zum Taschenfundus an 6 Meßpunkten je Zahn) und geringer Progression der Parodontitis (rezidivärmer, chronischer Verlauf) sortiert, wobei die dazu vorliegenden Röntgenbilder (in der Regel OPG- Aufnahmen) einen horizontalen und /oder vertikalen Knochenabbau an den betreffenden Zähnen nachweisen mussten. Die nach diesen Kriterien selektierten Patienten wurden angeschrieben (s. Anlage) und erhielten nach Aufklärung und Einverständniserklärung einen Termin zur Entnahme von venösem Blut, das dann auf ihre HLA-Merkmale untersucht wurde.

Als parodontitisfreie Vergleichsgruppe wurden Patienten aus den Zahnarztpraxen Gautsch in Bremen und Wilcken in Burg auf Fehmarn herangezogen, die ebenso zum Stichtag bereits 38 Jahre und älter waren, mindestens 10 eigene Zähne aufweisen konnten und sich wie die AP-Patienten zu einer Blutentnahme zwecks HLA-Typisierung bereit erklärten. Diese Probanden wurden mit Hilfe eines Statistikmoduls (Diagnose: Gingivitis) aus dem gesamten Patientengut der beiden Praxen (N=6800) herausgefiltert, angeschrieben (s. Anlage) und nach Einverständniserklärung zu einer Screeninguntersuchung einbestellt. Im Rahmen dieser Untersuchung wurden eine Anamnese zum Ausschluss HLA-assoziiertes Allgemeinerkrankungen, 6 Sondierungsmessungen mit WHO-Sonde an allen Zähnen sowie zwei Mundhygieneindizes (API und SBI) erhoben. Gezielt ausgewählt wurden 102 Patienten mit einer unzureichenden Mundhygiene (API > 30%, SBI > 10%), einem durch vorliegende Röntgenbilder verifizierten, fehlenden horizontalen und/oder vertikalen Knochenabbau und einer Sondierungstiefe von weniger als 2,5 mm. Zugelassen wurden Patienten ohne approximalen Attachmentverlust mit vestibulären oder oralen Rezessionen (Referenzpunkt: Schmelz-Zementgrenze) von maximal 4mm aufgrund traumatischer (Putztrauma) oder altersinvolutiver Einflüsse (Abb. 4) .

Der Plaquebefall und der Entzündungsgrad wurden mit dem modifizierten approximalen Plaqueindex nach Lange (API) und dem modifizierten Sulkusblutungsindex nach Lange et al. (SBI) ermittelt. Zur Erhebung des API wurde die Plaque mit einem Plaquerevelator angefärbt und danach innerhalb der Approximalräume des I. und III. Quadranten von oral sowie des II. und IV. Quadranten von vestibulär bewertet, ob an der untersuchten Stelle Plaque vorlag oder nicht. Die Ergebnisse wurden jeweils in Prozent pro Patient angegeben (Anzahl positiver Messpunkte / Anzahl vorgenommener Messungen x 100). Der SBI wurde in der selben Systematik erfasst, wobei durch schonendes Ausstreichen des sulcus gingivae im I. und III.

Quadranten von oral sowie im II. und IV. Quadranten von vestibulär das Auftreten einer Blutung nach ca. 30 Sekunden beurteilt und die positiven Resultate in Prozent pro Patient angegeben (Summe der positiven Blutungspunkte/Anzahl vorgenommener Messungen x 100) wurden.

Von den Untersuchung blieben prinzipiell Probanden mit Allgemeinerkrankungen ausgeschlossen, deren Assoziation mit HLA bekannt ist. Sowohl alle typisierten Patienten als auch die typisierten Resistenz- bzw. Kontrollprobanden stammten aus Deutschland und gehörten der kaukasischen Rasse an.

3.2. Serologische Untersuchung der HLA-Klasse I-Antigene

3.2.1. Methodik der Typisierung der HLA-Antigene

Die Bestimmung der HLA-Merkmale wurde innerhalb der Arbeitsgruppe Dr. Machulla „Orale Immunologie“ nach identischen methodischen Prinzipien und standardisierten Abläufen durchgeführt. Deshalb weicht die hierzu vorgelegte Beschreibung der Methodik und Materialien sprachlich und inhaltlich nur unwesentlich von der anderer Mitglieder der Arbeitsgruppe ab (221).

Lymphozyten sind aufgrund der hohen HLA-Antigendichte auf ihrer Zelloberfläche und ihrer unkomplizierten Gewinnung aus dem peripheren Blut die geeignetsten Zellen zur serologischen und mikrobiologischen Bestimmung der HLA-Merkmale. Die Isolierung der mononukleären Zellen des Blutes (mehr als 95% Lymphozyten) erfolgt durch Dichtezentrifugation. Diese werden entweder direkt zur serologischen Bestimmung der Klasse I-Merkmale, oder zur Bestimmung der Klasse II-Merkmale erst nach einer weiteren Separation der B- Lymphozyten dem Mikrolymphozytotoxizitätstestes (MLCT) nach Terasaki und McClelland (228) zugeführt, da die Klasse II-Merkmale sich auf B-Lymphozyten und Monozyten, nicht aber auf den ruhenden T-Lymphozyten des peripheren Blutes befinden. Der MLCT ist standardisiert nach dem National Institute of Health (NIH, Bethesda). Mit diesem Test werden 23 HLA-A-, 51 HLA-B-, 8 HLA-Cw-, 21 HLA-DR- und 9 HLA-DQ-Merkmale durch Antikörper verschiedener HLA-Spezifität bestimmt.

3.2.2. Isolierung der Lymphozyten aus peripherem Blut

Jedem Patienten wurden mit Monovetten (Fa. Saarestedt, 9 NC/10 ml) 20 ml Venenblut entnommen und dabei gleichzeitig mit Natriumzitrat versetzt. Die Lymphozyten wurden durch Dichtegradientenzentrifugation nach dem Prinzip von Böyum (29) präpariert. Hierfür wurden 3 Teile Blut mit 7 Teilen isotonischer Pufferlösung (PBS, Fa. bica, Frankfurt/O.) verdünnt und im

Verhältnis 1 zu 1 auf 4 ml einer Gradientenflüssigkeit (Lymphoprep, Dichte = 1,076g/cm³, pH = 7,4; Fa. bica, Frankfurt/O.) überschichtet und anschließend 20 Minuten bei 3200 U/min [ohne Bremse] (Rotana-Zentrifuge AP, Typ 4302, Fa. Hettich, Tuttlingen) zentrifugiert. Aufgrund ihrer hohen Dichte sedimentieren Erythrozyten auf dem Boden der Röhrchen, während die Granulozyten unterschiedlich tief in die Gradientenflüssigkeit eindringen. Die peripheren Blutlymphozyten (PBL) befinden sich nach der Zentrifugation als trübe Schicht in der Zwischenphase zwischen dem Überstand und der Gradientenflüssigkeit und werden mit einer Pasteurpipette abgesaugt. Diese wurden nach Überführung in ein weiteres Röhrchen und Auffüllen mit 10 ml PBS nochmals bei 900 U/min für 10 Minuten zentrifugiert („Waschen“), die im Überstand verbliebenen Thrombozyten dekantiert und das Zellpellet in ca. 100 µl PBS resuspendiert. 1 µl der Zellsuspension wurde dann in eine leere Kavität der Mikrotestkammer getropft und nach Zusatz von 2 µl Ethidiumbromid / Acridinorange - Färbelösung (s. Anlage) und 2 µl Hämopath (s.u.) sowie 3-minütiger Inkubation bei Raumtemperatur unter dem invertierten Fluoreszenzmikroskop auf Vitalität und Zellzahl überprüft. Bei einer Vitalität von mindestens 90% wurden anschließend die Zellen auf ca. 2000 Zellen/µl eingestellt (Schätzen der Zellzahl) und damit für die Typisierung der HLA-Klasse I-Merkmale vorbereitet. Für die HLA-Klasse II-Typisierung wurde eine weitere spezielle Zellseparation für B-Lymphozyten angeschlossen.

3.2.3. Typisierung der HLA-Klasse I-Merkmale

Prinzip des Mikrolymphozytotoxizitätstestes

Vitale Lymphozytensuspensionen werden mit Testseren (selektiven zytotoxischen Antikörpern) und Komplement versetzt. Durch Komplementaktivierung bei der Bildung eines Antikörper-Antigen-Komplexes an der Zelloberfläche wird die Zellmembran perforiert und dadurch die Zelle lysiert (zytotoxische Reaktion). Der anschließend zugegebene Farbstoff dringt in die zerstörte Zelle ein und färbt die DNA (positive Reaktion). Tragen die Lymphozyten das HLA-Merkmal nicht, gegen das der spezifische Antikörper gerichtet ist, findet keine Antikörper-Antigen-Reaktion statt, so dass der Farbstoff nicht in die Zelle eindringen kann (negative Reaktion) (228).

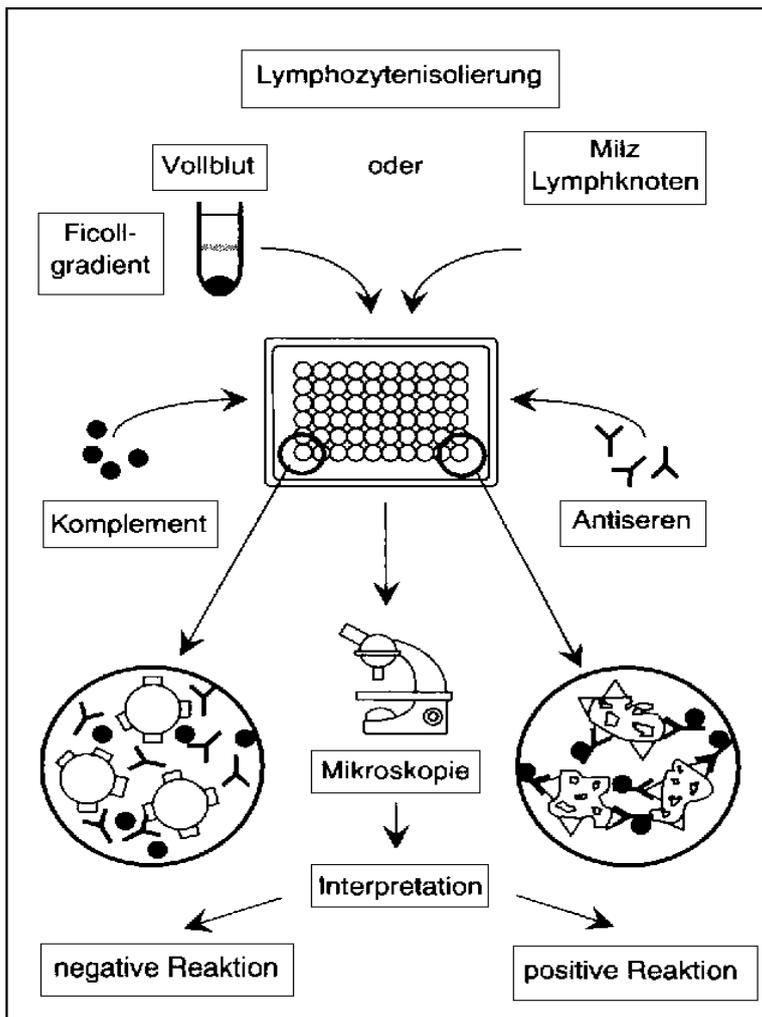


Abb. 2: Prinzip des Mikro-Lymphozyto-Toxizitäts-Test (246)

Testdurchführung der HLA-Klasse I-(ABC)- Typisierung

Die Typisierung der Klasse I-Merkmale wurde mit Typisierungskammern nach Terasaki und McClelland durchgeführt. Diese sind pro Kavität mit 1 µl des Testserums beschickt, die zum Schutz vor Verdunstung mit jeweils 5 µl Paraffinöl überschichtet, tiefgefroren gelagert (Lagerungstemperatur: -20°C) und erst unmittelbar vor dem Testbeginn aufgetaut wurden. . Verwendet wurden kommerzielle Typisierungssets der Firmen Biotest (Italia-ABC 144, Biotest AG, Dreieich), BAG (BAG-ABC 144, BAG, Lich) und One Lambda (BmT-C, One Lambda, Krefeld). Diese Testkammern enthielten ein Set von 142 standardisierten HLA-Klasse I-Antiseren. Jede Anti-HLA-Spezifität war durch mindestens zwei Antiseren vertreten. Zur

Positivkontrolle wurde ein multispezifisches Antilymphozytenserum, zur Negativkontrolle ein nichtzytotoxisches AB-Serum verwendet.

Mit einem Dispenser (PB 600 Dispenser, Fa. Hamilton, Bonaduz AG, Schweiz) wurden jeweils 1 μl der nach 3.2.2 vorbereiteten Lymphozytensuspension in jede Kavität einer Kammer übertragen, die dann 30 Minuten bei Raumtemperatur (23 °C) inkubiert wurde (Inkubator WTC Binder, Tuttlingen). Im Anschluss an die Inkubation wurde mit einem Mehrfachdispenser (Terasaki Dispenser, Fa. Hamilton) pro Kavität 5 μl Kaninchenkomplement (Bestandteil des Typisierungskits) zugesetzt und die Kammer weitere 60 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Danach erfolgte die Färbung der Testkammern durch Zusatz von jeweils 2 μl Ethidiumbromid / Acridinorange-Lösung in PSB (s. Anlage) pro Kavität mit dem Mehrfachdispenser (201). Zur Kontrastierung des Hintergrundes wurden noch jeweils 2 μl Hämoglobin (Hämopath, Pharma Dessau) zugegeben. Der „Letalfarbstoff“ Ethidiumbromid diffundiert in die lysierten Zellen und färbt die DNA. Nach Bestrahlung mit UV-Licht photoemittiert das an die DNA gekoppelte Ethidiumbromid rotes Licht, so dass die lysierten Zellen im invertierten Fluoreszenzmikroskop rot erscheinen. Der „Vitalfarbstoff“ Acridinorange wird nur von vitalen Zellen aufgenommen (Pinozytose) und intrazellulär angereichert. Unter UV-Bestrahlung photoemittiert dieser Farbstoff grünes Licht, so dass lebende Zellen im invertierten Fluoreszenzmikroskop grün erscheinen.

Bewertung der Reaktion

Aus dem Verhältnis der lysierten Zellen (positive Reaktion) zu den vitalen Zellen (negative Reaktion) ermittelt man die Reaktionsstärke für jede Kavität und ordnet sie verschiedenen Reaktionsstufen (Score-Werte in Tabelle 2) zu. Die Auswertung der einzelnen Reaktionen erfolgte am invertierten Fluoreszenzmikroskop (CK2, Fa. Olympus, Hamburg; Okular CWHK 10x/18L, Objektiv A 10 PL [10x], Betrachtung unter Auflicht mit Fluoreszenzanregung bei $\lambda=509$ nm unter Benutzung eines entsprechenden Anregungs-, Sperr- und Wärmefiltersystems).

Tab. 2: Bewertung der Reaktionsstufen im MLCT (Tab. aus Diss. Stein [221])

% Anteil lysierter Lymphozyten	Score (Reaktionsstärken)	Bedeutung der Reaktion
0 bis 10	1	negativ
11 bis 30	2	fraglich negativ
31 bis 40	4	fraglich positiv
41 bis 80	6	positiv
81 bis 100	8	stark positiv
nicht ablesbar	0	

Das positive Kontrollserum enthält 100% lysierter Lymphozyten (16) und diente zum Vergleich der Testergebnisse, entspricht also), während das negative Kontrollserum den „background“ an defekten Zellen (0-10%) darstellt.

Alle Testergebnisse wurden auf vorgefertigten Worksheets (s. Anlage) protokolliert und ausgewertet. Ein HLA-Merkmal galt dann als nachgewiesen, wenn bei gleichzeitig positiver Reaktion des für das betreffende HLA-Merkmal verwendeten zweiten Antiserums alle anderen ausgeschlossen werden konnten (negative Reaktion).

3.3. Molekularbiologische Untersuchung der HLA-Antigene

3.3.1. Prinzip der molekularbiologischen HLA-Typisierung

Die Bestimmung der HLA-Merkmale wurde innerhalb der Arbeitsgruppe Dr. Machulla „Orale Immunologie“ nach identischen methodischen Prinzipien und standardisierten Abläufen durchgeführt. Deshalb weicht die hierzu vorgelegte Beschreibung der Methodik und Materialien sprachlich und inhaltlich nur unwesentlich von der anderer Mitglieder der Arbeitsgruppe ab (221).

Die spezifische und reproduzierbare Typisierung von HLA-Merkmalen wurde erstmalig auf genetischer Ebene durch die Anwendung molekularbiologischer Methoden ermöglicht und somit konnten die Ergebnisse serologischer Typisierungstechniken abgesichert und, aufgrund der höheren Auflösung dieses Verfahrens, insbesondere für die HLA-Klasse II-Merkmale präzisiert werden.

Die Grundlage für die molekulargenetische Analyse der HLA-Merkmale ist die Polymerase-Kettenreaktion (PCR), bei der in vitro DNA-Moleküle, ähnlich dem natürlichen Prinzip der DNA-Replikation, in einer Kettenreaktion amplifizieren. Die ersten Experimente dazu machten Mullis und Faloona (154) sowie Saiki et al. (196). Die dadurch mögliche hochgradige Vervielfältigung bestimmter DNA-Sequenzen (Amplifikation) basiert auf drei sich zyklisch

wiederholenden Prozesse: die Denaturierung der DNA, die Primeranlagerung (Annealing) und die Polymerisation (Extension). Die Denaturierung der DNA erfolgt durch Temperaturerhöhung auf $\geq 95\text{ °C}$ (Schmelzen), wodurch der DNA-Doppelstrang in seine Einzelstränge aufgetrennt wird. Ein schnelles Abkühlen auf ca. 55 °C ermöglicht ein Anlagern der spezifischen Primer (synthetisierte einsträngige Oligonukleotide, die als Starternukleotide für die DNA-Polymerasen dienen) an die komplementären Sequenzen der Matrizen-DNA (Annealing) und erfordert je nach Länge der Primer und Art der Nukleotidbasen eine spezifische Temperatur. Die DNA-Polymerase synthetisiert dann bei einer Temperatur von 72 °C , in Gegenwart von freien Desoxyribonukleosidtriphosphaten (dNTP), den komplementären DNA-Strang (Extension). Bereits nach dem 3. Zyklus entstehen DNA-Doppelstränge, die genau dem gesuchten DNA-Abschnitt entsprechen. Im allgemeinen reichen 25 Zyklen aus, um eine millionenfache Kopie zu erreichen. Um die je Zyklus erforderliche Zugabe einer hitzeinstabilen DNA-Polymerase zu vermeiden, wird eine aus dem thermostabilen Bakterium *Thermus aquaticus* isolierte DNA-Polymerase verwendet (Taq-Polymerase) und damit die Automatisierung der PCR ermöglicht.

Das PCR-SSP-Verfahren (SSP = sequenzspezifische Primer) bildete die methodische Grundlage bei der vorliegenden Bestimmung der HLA-Klasse II-Merkmale. Die zu bestimmenden HLA-Allele bzw. -Allelgruppen werden hier über die Bildung sequenzspezifischer PCR-Produkte bereits auf der Ebene der Amplifikation differenziert, da die Amplifikationsreaktion nur bei Komplementarität zwischen dem 3'-Ende des Primers und der Zielsequenz ablaufen kann (161). Die hierfür verwendeten Primer bilden entsprechend ihrer Sequenz nur in Anwesenheit eines bestimmten Allels ein PCR-Produkt, das nach abgelaufener Polymerase-Kettenreaktion gelelektrophoretisch nachgewiesen wird.

3.3.2. Die DNA-Isolierung

Für die Isolierung der DNA aus Citratblut oder aus leukozytenhaltiger Gradientenflüssigkeit bzw. isolierten und resuspendierten Milzzellen werden unterschiedliche Methoden der DNA-Extraktion beschrieben, z.B. die Chloroform-Triethylammoniumbromid (CTAB)-Methode (252) oder die Phenol-Chloroformreinigung (252). In der Arbeitsgruppe „Orale Immunologie“ wurde die DNA aus 10 ml Citratblut bzw. leukozytenhaltiger Gradientenflüssigkeit mit der Aussalzmethode nach Miller (147) präpariert, nachdem nach einer 5-minütigen Zentrifugation bei 4000 U/min die kernhaltigen Zellen aus dem Citratblut abgetrennt, der Plasmaüberstand verworfen und durch Zugabe von 45 ml 1 x RCLB (Red Cell Lysis Buffer; s. Anlage) die noch vorhandenen Erythrozyten lysiert wurden.

Nach Verwerfen des Überstandes wurde den sedimentierten kernhaltigen Zellen nochmals RCLB zugesetzt und diese erneut zentrifugiert. Dieser Vorgang wird bis zur vollständigen

Entfernung der restlichen Erythrozyten 2 bis 3 mal zu wiederholen, bis das Zellpellet keine Verunreinigungen mehr aufweist. Die so gewaschenen kernhaltigen Zellen wurden in ein Eppendorf Cap (Fa. Eppendorf, Hamburg) überführt, in 1 ml 1 x RCLB resuspendiert und 1 Minute in einer Eppendorfszentrifuge bei 14000 U/min zentrifugiert. Nach dem Absaugen des Überstandes wurden 200 µl 0,5 x RCLB und 50 µl Proteinase K-Lösung (Fa. Boehringer, Mannheim) zum „Verdauen“ der kernhaltigen Zellen und zusätzlich 30 µl SDS-Lösung (Sodium Dodecyl Sulfat 10 %, Serva Feinbiochemica GmbH, Heidelberg) zugegeben und das Zellpellet 1 Stunde bei 65 °C im Eppendorf-Thermomixer inkubiert. Zur Ausfällung der Proteine wurden der Lösung dann 100 µl NaCl zugesetzt und anschließend noch einmal 30 Minuten bei 4 °C inkubiert. Durch eine weitere Zentrifugation (1 Minute, 14000 U/min) und die Überführung der im Überstand befindlichen DNA in ein Saarestedt Cap mit 750 µl vorgelegtem Isopropanol (Laborchemie Apolda GmbH) wurde die DNA unter vorsichtigem Schwenken ausgefällt, noch einmal zentrifugiert (3 Minuten, 14000 U/min) und nach dem Verwerfen des Überstandes in 200 µl Aqua dest. aufgelöst. Nach einer abschließenden Inkubation von 30 Minuten bei 37 °C wurde das DNA-Pellet bei einer Temperatur von -70 °C gelagert. Je nach Notwendigkeit war dadurch eine wiederholte DNA-Typisierung möglich.

Nach der DNA-Präparation erfolgte die Bestimmung des DNA-Gehaltes bzw. -Reinheitsrades. Die DNA-Konzentration wurde durch die Messung der optischen Dichte (OD) am Spektrometer (UV/VIS-Spektrometer, Fa. Pharmacia, Uppsala) bestimmt, wobei bei einer Wellenlänge von 260 nm die Extinktion einer DNA-Probe von 1,0 einer Konzentration von 50 µg/ml doppelsträngiger DNA entsprach. Die Extinktion eventuell vorhandener Verunreinigungen durch störende Proteine wurde anschließend bei einem Maximum von 280 nm gemessen und mit der optischen Dichte der DNA bei 260 nm ins Verhältnis gesetzt. Die DNA-Konzentration wurde dann auf 50 ng/µl eingestellt, wenn der Reinheitsindex der DNA (OD_{260} / OD_{280}) kleiner als 1,8 war.

3.3.3. PCR-Amplifikation mit sequenzspezifischen Primern (PCR-SSP)

Für die Amplifikation mittels PCR-SSP wurden kommerzielle Testkits verschiedener Firmen eingesetzt: für die Typisierung der Klasse I-Merkmale Primer-Kits der Firmen Deutsche Dynal (Hamburg) und CTS (Universität Heidelberg), für die HLA-Klasse II-Typisierung die Primer-Kits HLA-DRB/DQB1 der Firmen BAG (Lich) und One Lambda (Conaga, USA) sowie die Primer-Kits HLA-DRB1, -DRB3, -DRB4, -DRB5 und DQB1 der Firma Deutsche Dynal GmbH (Hamburg).

Ein sogenannter Mastermix und Primermix enthält die für den Reaktionsansatz notwendigen Materialien. Der Mastermix besteht aus jeweils 3 µl PCR-Lösung (mit dNTPs zu gleichen Anteilen; s. Anlage), 2 µl der Proben-DNA mit 100 ng DNA-Gehalt und 0,1 µl Taq-Polymerase

(0,4 Units AmpliTaq, AGS, Heidelberg). Der Primermix enthält jeweils ein spezifisches Primerpaar, das die Amplifikation von DNA-Abschnitten bestimmter HLA-Allele bzw. Allelgruppen gestattet, sowie ein Kontroll-Primerpaar, das an nichtallelische Sequenzen bindet. Aus einem Set verschiedener Primermischungen wurden pro PCR-Reaktion jeweils 5 µl des Primermixes einer entsprechenden HLA-Spezifität in einem Eppendorf-cap vorgelegt, weitere 5 µl des PCR-Mastermixes zugegeben und die DANN dann in einem programmierten Thermocycler (Gene Amp 9600, Perkin Elmer, Weiterbach) amplifiziert, wobei die nachfolgenden Temperaturprofile durchlaufen werden mussten. Nach einer 2 minütigen Denaturierung bei 94 °C folgten 10 Zyklen mit jeweils 10 Sekunden bei 94 °C (Denaturierung) und 60 Sekunden bei 65 °C (Annealing und Extension), danach schlossen sich 20 Zyklen mit jeweils 10 Sekunden bei 94 °C (Denaturierung), 50 Sekunden bei 65 °C (Annealing) und 30 Sekunden bei 72 °C (Extension) an. Eine Verringerung der Annealingtemperatur nach den ersten 10 Zyklen führt durch die größere Stabilität des Komplexes aus dem Primer und der Matrizen-DNA zu einem größeren Gewinn an PCR-Produkten.

3.3.4. Nachweis der Amplifikate mittels Gelelektrophorese

Die horizontale Agarosegelelektrophorese weist durch die Auftrennung der DNA-Amplifikate nach ihrer Größe nach, ob eine Amplifikation stattgefunden hat oder ein PCR-Produkt im zu erwartenden Größenbereich liegt. Die Unterscheidung richtiger Ergebnisse von unspezifischen (falsch positiven) PCR-Produkten ist mit dieser Methode innerhalb kurzer Zeit möglich.

Das Grundprinzip ist einfach. Nach dem Anlegen einer elektrischen Spannung wandern die negativ geladenen DNA-Moleküle in einem dafür geeigneten Laufpuffer (pH = 7,2) in Richtung Anode, wobei die Wanderungsgeschwindigkeit einerseits von der Maschenweite des Gels (Filterwirkung) und andererseits von der Größe der DNA-Fragmente bestimmt wird. Die Größe der einzelnen PCR-Produkte wird aus dem Vergleich mit Längenstandards aus DNA-Fragmenten bekannter Größe bzw. aus dem Vergleich der Laufweite der verschiedenen Amplifikate bestimmt.

Zur Vorbereitung der Agarosegelelektrophorese wurden unter Mikrowellenbestrahlung 3 g Agarose (Agarose N, Pharmacia, Uppsala) in 100 ml 1 x TBE-Laufpuffer (s. Anlage) gelöst, die nach dem Abkühlen auf 60 °C mit 30 µl Ethidiumbromid (10 mg/ml, Fa. Merck, Darmstadt) versetzt, anschließend in spezielle Gelträger ausgegossen und in die mit Puffer gefüllte und mit entsprechenden Elektroden versehene submarine Elektrophoresekammer (10 x 20 cm, Pharmacia Biotech, Fa. Biometra, Berlin) eingespannt wurde. Noch vor der Erstarrung des Argarosegels wurden mit sog. Kämmen (24 Vertiefungen pro Kamm) Slots für die Aufnahme

der Amplifikate gebildet, in welche anschließend die DNA-Produkte, nach dem Zusatz von jeweils 2 µl Blue-Ethidiumbromid-Marker (s. Anlage), mit einer Pipette eingefüllt wurden. Das Ethidiumbromid ermöglichte die anschließende Auswertung der Elektrophorese unter UV-Licht.

Bei einer an die Elektroden angelegten Spannung von 100 V erfolgte für ca. 15 Minuten die Elektrophorese. Die Ergebnisse wurden anschließend an einem Transilluminator (Gel Print 1000i+, MWG Biotech, Ebersberg) unter UV-Licht-Bestrahlung ausgewertet.

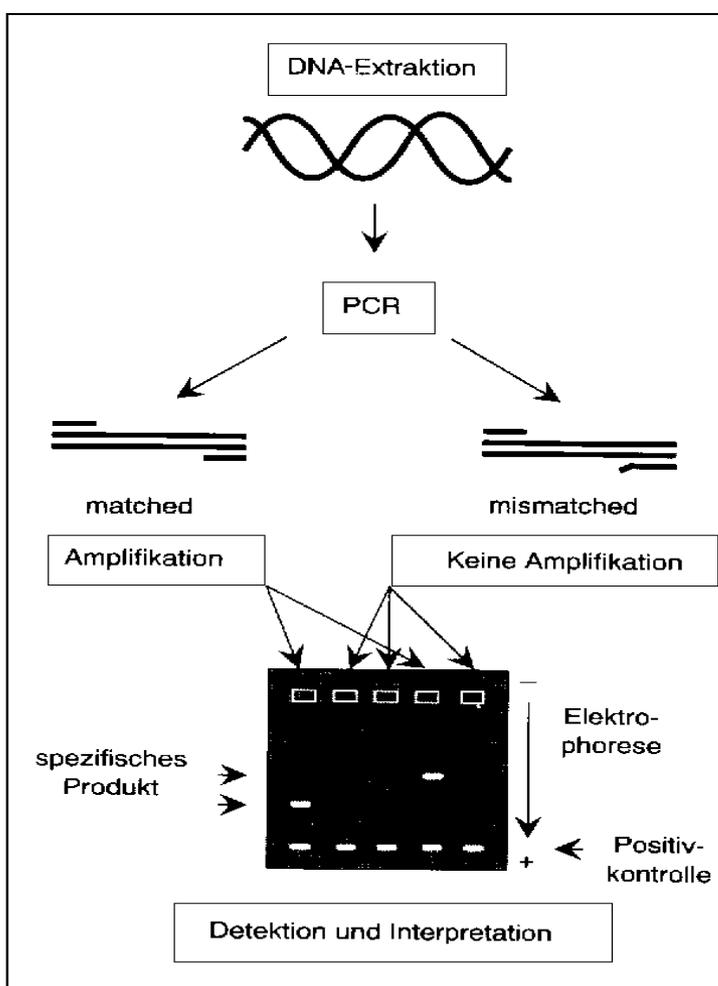


Abb. 3: Prinzip der Polymerasekettenreaktion mit sequenzspezifischen Primern (246)

3.3.5. Differenzierungsgrad der HLA-Typisierung

In Abhängigkeit vom Auflösungsvermögen der eingesetzten Primer-Kits können die HLA-Merkmale mit der molekularbiologischen Typisierungsmethode unterschiedlich stark differenziert werden, wobei die niedrig-auflösende (low-resolution-) von der hoch-auflösenden (high-resolution-) Typisierung unterschieden wird.

Durch serologische Techniken konnten sowohl die Hauptmerkmale als auch deren Splits bestimmt werden, aber den sicheren Nachweis einiger Antigene (HLA-DQ, HLA-Cw) und Splits (z.B. B44+45) schränkten die dafür unzureichenden Antikörperspezifitäten ein, wobei ebenfalls noch die bekannten Kreuzreaktionen zwischen verschiedenen Antisera in der Interpretation der Resultate berücksichtigt werden mussten.

Die vorliegende Arbeit hatte deshalb die Aufgabe, die serologischen Typisierungsergebnisse für die HLA-Merkmale A, B, Cw, DRB1, DRB3/4/5 und DQB1 noch einmal molekularbiologisch durch eine niedrig-auflösende Typisierung abzusichern bzw. zu präzisieren, wobei die Merkmale HLA-A*68 und -A*69 zu HLA-A28 sowie HLA-B*64 und -B*65 zu HLA-B*14 zusammengefasst wurden. Eine Auflösung des Merkmals HLA-Cw*blank in HLA-Cw*12-18 war zum Zeitpunkt der Arbeit noch nicht möglich, so dass durch die zusätzliche low-resolution-Typisierung eine Unterscheidung von 20 HLA-A-, 40 HLA-B-, 9 HLA-Cw-, 14 HLA-DRB1- und 9 HLA-DQB1-Merkmale ermöglicht wurde (Tabelle 3).

3.4. Statistische Methoden

Um HLA-Typisierungsergebnisse der AP-Patienten mit denen der Resistenz- bzw. Kontrollgruppe statistisch vergleichen zu können, wurden jeweils die Häufigkeiten (n) der untersuchten HLA-Merkmale gezählt und prozentual (Phänotypfrequenz, pf) wiedergegeben, wobei zusätzlich die jeweilige Genotypfrequenz (gf) mit der Formel $gf = 1 - \sqrt[3]{1 - pf}$ aus der Dezimalzahl der Phänotypfrequenz errechnet wurde. Deshalb konnte beim Vorliegen von Homozygotien ein auf dem Genotyp basierender Erwartungswert (gf^2) der beobachteten Phänotypfrequenz gegenübergestellt werden. Die statistische Signifikanz von positiv oder negativ assoziierten HLA-Merkmalen wurde mit dem Chi²-Heterogenitätstest bestimmt, der, ausgehend von einer Vierfeldertafel, mit der Formel $Chi^2 = \sum (O-E)^2/E$ (O = engl. observed, beobachtet; E = engl. expected, erwartet) berechnet wurde. Die so erhaltenen Werte wurden zusätzlich mit Hilfe der Yates-Kontinuitätskorrektur (py) berichtigt, weil die Chi²-Werte keine kontinuierliche, sondern nur eine diskrete Verteilung darstellen, also letztlich nur eine Annäherung an die wahre Verteilung wiedergeben können (65). Eine Assoziation wurde dann als statistisch signifikant bewertet, wenn der Wert des Wahrscheinlichkeitsgrades p kleiner als 0,05 und der entsprechende Chi²-Wert größer als 3,84 war, wobei hier das Bestehen einer

Nullhypothese angezweifelt wurde. Für den Fall, dass die erwarteten Häufigkeiten zu klein waren, also in der Gruppe der Patienten und/oder der Referenzgruppe ein untersuchtes Merkmal weniger als 5 mal auftrat, wurde die statistische Signifikanz mit dem Fisher's Exact Test berechnet (p_F) (65). Zusätzlich musste durch die Bonferroni-Korrektur (65) dann eine zufällige Assoziation durch multiple Vergleiche innerhalb eines HLA-Locus ausgeschlossen werden, wenn die Assoziation eines HLA-Merkmals mit AP bzw. RPP nicht schon aus früheren Studien bekannt war. Die erhaltenen P-Werte wurden hierfür mit der Anzahl der pro Locus untersuchten HLA-Merkmale multipliziert.

Das relative Krankheitsrisikos (RR) wurde berechnet, um eine Aussage zur Stärke der Assoziation zwischen der AP und bestimmten HLA-Merkmalen zu treffen. Dabei wird angegeben, um welches Vielfache größer bzw. kleiner das Risiko für den Träger des entsprechenden Merkmals im Vergleich zum Nichtträger des Merkmals ist. Dazu wurde mit einer Vierfeldertafel das Kreuzprodukt (engl. Odds Ratio) der Quotienten antigenpositiver und -negativer Patienten (a, b) und Kontrollprobanden (c, d) gebildet (253). Für die Fälle mit $a < 5$ oder $b < 5$ wurde eine Modifikation nach Haldane (88) verwendet und mit der Formel $RR = \frac{(2a+1)(2d+1)}{(2b+1)(2c+1)}$ gerechnet. Ein relatives Risiko größer 1 weist auf eine positive, ein relatives Risiko kleiner 1 hingegen auf eine negative Assoziation hin, wobei ein relatives Risiko von 1 einer fehlenden Krankheitsassoziation entspricht.

Tab. 3: Darstellung der untersuchten HLA Merkmale (Nomenklatur 1994). Die serologischen Hauptmerkmale sind jeweils in Klammern angegeben.

HLA-	HLA-	HLA-Cw	HLA-	HLA-
A*01	B*51 (B5) B*18 B*73	Cw*01	DRB1*01	DQB1*05 (DQ1)
A*02	B*52 (B5) B*49 (B21) B*78	Cw*02	DRB1*15 (DR2)	DQB1*06 (DQ1)
A*03	B*07 B*50 (B21)	Cw*03	DRB1*16 (DR2)	DQB1*02
A*23 (A9)	B*08 B*54 (B22) Bw4	Cw*04	DRB1*03 (DR17)	DQB1*03 (DQ7)
A*24 (A9)	B*44 (B12) B*55 (B22) Bw6	Cw*05	DRB1*03 (DR18)	DQB1*03 (DQ8)
A*25 (A10)	B*45 (B12) B*56 (B22)	Cw*06	DRB1*04	DQB1*03 (DQ9)
A*26 (A10)	B*13 B*27	Cw*07	DRB1*11 (DR5)	DQB1*04
A*34 (A10)	B*14 (B64) B*35	Cw*08	DRB1*12 (DR5)	
A*66 (A10)	B*14 (B65) B*37	Cw*blank	DRB1*13 (DR6)	
A*11	B*15 (B62) B*40 (B60)		DRB1*14 (DR6)	
A*29 (A19)	B*15 (B63) B*40 (B61)		DRB1*07	
A*30 (A19)	B*15 (B71) B*41		DRB1*08	
A*31 (A19)	B*15 (B72) B*42		DRB1*09	
A*32 (A19)	B*15 (B75) B*46		DRB1*10	
A*33 (A19)	B*15 (B76) B*47			
A*74 (A19)	B*15 (B77) B*48		DRB3* (DR52)	
A*68 (A28)	B*38 (B16) B*53		DRB4* (DR53)	
A*69 (A28)	B*39 (B16) B*59		DRB5* (DR51)	
A*36	B*57 (B17) B*67		DRBblank*	
A*80	B*58 (B17)			

Das Merkmal HLA-DRBblank* bedeutet, dass keines der HLA-Übermerkmale DRB3* (DR52), DRB3* (DR53) und DRB4* (DR51) nachgewiesen wurde.

4. Ergebnisse

4.1. Patienten und Kontrollgruppen

In den niedergelassenen Zahnarztpraxen Gautsch in Bremen und Wilcken in Burg auf Fehmarn wurden im Zeitraum von Mai 1995 bis März 1999 102 Patienten mit einer Erwachsenenparodontitis ausgewählt, untersucht und nach Blutentnahme im Interdisziplinären HLA-Labor auf ihre HLA-Merkmale getestet. Darunter befanden sich 63 Frauen (61,77%) und 39 Männer (38,23 %) (♀:♂ = 1,6:1. Das Durchschnittsalter (Stichtag 01.01. 1998) betrug

insgesamt 52,09 Jahre ($\pm 11,06$ Jahre), unter den Frauen 51,92 Jahre ($\pm 11,01$ Jahre) und unter den Männern 52,36 Jahre ($\pm 11,14$ Jahre). Die durchschnittlichen Werte des approximalen Plaqueindex (API) und des Sulkusblutungsindex (SBI) zum Zeitpunkt der Erstuntersuchung sowie die durchschnittliche Anzahl kariöser/gefüllter (decayed/filled, DF), fehlender (missing, M) Zähne, die metrischen Werte für Sondierungstiefe (T), Retraktion (R) und daraus resultierendem Attachmentverlust (AV) sind mit Angabe der Standardabweichung (STABWN) in Tabelle 4 aufgeführt. Alle Patienten befanden sich seit dem Zeitpunkt der Ersttherapie in einem strengen Dispensaireprogramm, so dass die Oralhygieneindizes (API, SBI) weit unter 30% lagen. In der Abbildung 4 sind die durchschnittlichen Attachmentverluste in den Untersuchungsgruppen graphisch dargestellt.

Tab. 4: Klinische Parameter in der Gruppe der AP-Patienten (N = 102)

Statistik	Alter	DF	M	T (mm)	R (mm)	AV (mm)	API (%)	SBI (%)
Mittelwert Gesamt	52,09	8,64	9,60	4,93	1,39	6,32	>> 30	>> 30
STABWN Gesamt	$\pm 11,06$	$\pm 4,57$	$\pm 5,37$	$\pm 0,66$	$\pm 0,66$	$\pm 1,32$	-	-
Mittelwert weiblich	51,92	9,17	9,54	4,88	1,43	6,31	>> 30	>> 30
STABWN weiblich	$\pm 11,01$	$\pm 4,80$	$\pm 5,10$	$\pm 0,62$	$\pm 0,71$	$\pm 1,33$	-	-
Mittelwert männlich	52,36	7,77	9,69	5,00	1,33	6,33	>> 30	>> 30
STABWN männlich	$\pm 11,14$	$\pm 4,01$	$\pm 5,79$	$\pm 0,70$	$\pm 0,60$	$\pm 1,30$	-	-

Zusätzlich wurden 102 Patienten mit schlechter Oralhygiene, aber ohne klinische Zeichen einer Parodontitis ausgewählt, untersucht und HLA-typisiert. Darunter befanden sich 62 Frauen (61,77%) und 40 Männer (38,23 %) ($\varnothing : \sigma = 1,6:1$). Das Durchschnittsalter (Stichtag 01.01. 1998) betrug insgesamt 59,22 Jahre, unter den Frauen 62,87 Jahre ($\pm 13,78$ Jahre) und unter den Männern 53,55 Jahre ($\pm 14,93$ Jahre).

Die durchschnittlichen Werte des approximalen Plaqueindex (API) und des Sulkusblutungsindex (SBI) zum Zeitpunkt der Erstuntersuchung sowie die durchschnittliche Anzahl kariöser/gefüllter (decayed/filled, DF), fehlender (missing, M) Zähne, die durchschnittlichen metrischen Werte für Sondierungstiefe (T), Retraktion (R) und daraus resultierendem Attachmentverlust (AV) sind mit Angabe der Standardabweichung (STABWN) in Tabelle 5a aufgeführt. In Abbildung 4 sind die durchschnittlichen Attachmentverluste in den Untersuchungsgruppen graphisch dargestellt.

Tab. 5a: Klinische Parameter in der Gruppe der „Resistenz“- Probanden (N = 102)

Statistik	Alter	DF	M	T (mm)	R (mm)	AV (mm)	API (%)	SBI (%)
Mittelwert Gesamt	59,22	11,70	9,68	1,93	1,43	3,36	56,92	60,78
STABWN Gesamt	±14,95	±4,10	±5,87	±0,32	±1,01	±1,33	±19,22	±20,23
Mittelwert weiblich	62,87	12,65	10,93	1,95	1,52	3,47	57,81	64,62
STABWN weiblich	±13,78	±4,04	±5,80	±0,29	±0,96	±1,25	±21,91	±21,69
Mittelwert männlich	53,55	10,23	7,74	1,90	1,30	3,20	55,54	54,87
STABWN männlich	±14,93	±3,74	±5,44	±0,35	±1,07	±1,42	±14,00	±16,06

Zur besseren Kontrastierung der auffälligen Frequenzunterschiede in der Verteilung der HLA-Merkmale wurde aus der oben beschriebenen Gruppe der Resistenzprobanden zusätzlich eine Subgruppe aus 29 über 70- jährigen Resistenten gebildet werden. Darunter befanden sich 21 Frauen (72,41%) und 8 Männer (27,59%) (♀ : ♂ = 2,6:1). Das Durchschnittsalter (Stichtag 01.01. 1998) betrug insgesamt 77,21 Jahre, unter den Frauen 77,14 Jahre (± 5,95 Jahre) und unter den Männern 77,38 Jahre (± 5,70 Jahre).

Die durchschnittlichen Werte des approximalen Plaqueindex (API) und des Sulkusblutungsindex (SBI) zum Zeitpunkt der Erstuntersuchung sowie die durchschnittliche Anzahl kariöser/gefüllter (decayed/filled, DF), fehlender (missing, M) Zähne, die durchschnittlichen metrischen Werte für Sondierungstiefe (T), Retraktion (R) und daraus resultierendem Attachmentverlust (AV) sind mit Angabe der Standardabweichung (STABWN) in Tabelle 5b aufgeführt. In Abbildung 4 sind die durchschnittlichen Attachmentverluste in den Untersuchungsgruppen graphisch dargestellt.

Tab. 5b: Klinische Parameter in der Gruppe der Resistenz-Probanden über 70 Jahre (N = 29)

Statistik	Alter	DF	M	T (mm)	R (mm)	AV (mm)	API (%)	SBI (%)
Mittelwert Gesamt	77,21	12,83	15,24	2,13	2,49	4,62	67,16	71,79
STABWN Gesamt	±5,88	±4,16	±4,53	±0,21	±0,66	±0,83	±20,36	±21,22
Mittelwert weiblich	77,14	13,76	15,33	2,13	2,49	4,62	68,65	74,24
STABWN weiblich	±5,95	±3,93	±3,97	±0,20	±0,58	±0,78	±21,39	±23,37
Mittelwert männlich	77,38	17,00	15,00	2,11	2,50	4,61	63,25	65,38
STABWN männlich	±5,70	±3,74	±5,74	±0,26	±0,83	±1,09	±16,73	±11,92

Als Vergleichspopulation wurde eine aus 157 Blutspendern bestehende Gruppe aus Halle/Saale herangezogen, die im Zeitraum von Dezember 1994 bis Juli 1995 als Testblutspender des Interdisziplinären HLA-Labors typisiert wurden. Einer parodontologischen Differentialdiagnostik wurde diese Gruppe nicht zugeführt. Unter den Testblutspendern waren 94 Frauen (60 %) und 63 Männer (40 %) ($\text{♀}:\text{♂} = 1,5:1$). Das Durchschnittsalter der Probanden betrug 29 Jahre (± 10 Jahre), das der Frauen 28 Jahre (± 9 Jahre) und das der Männer 31 Jahre (± 11 Jahre).

Eine Gesamtgruppe aus bereits untersuchten Patienten mit Erwachsenenparodontitis (N=102) und Patienten mit rapid progressiver Parodontitis (N=50) aus der Parallelstudie der Arbeitsgruppe Dr. H.K.G. Machulla „Orale Immunologie“ (188) wurde zusätzlich mit der Resistenzgruppe hinsichtlich ihrer HLA-Typen verglichen.

Sowohl alle untersuchten Patienten als auch Resistenz- bzw. Kontrollprobanden stammten aus Deutschland und gehörten der kaukasischen Rasse an.

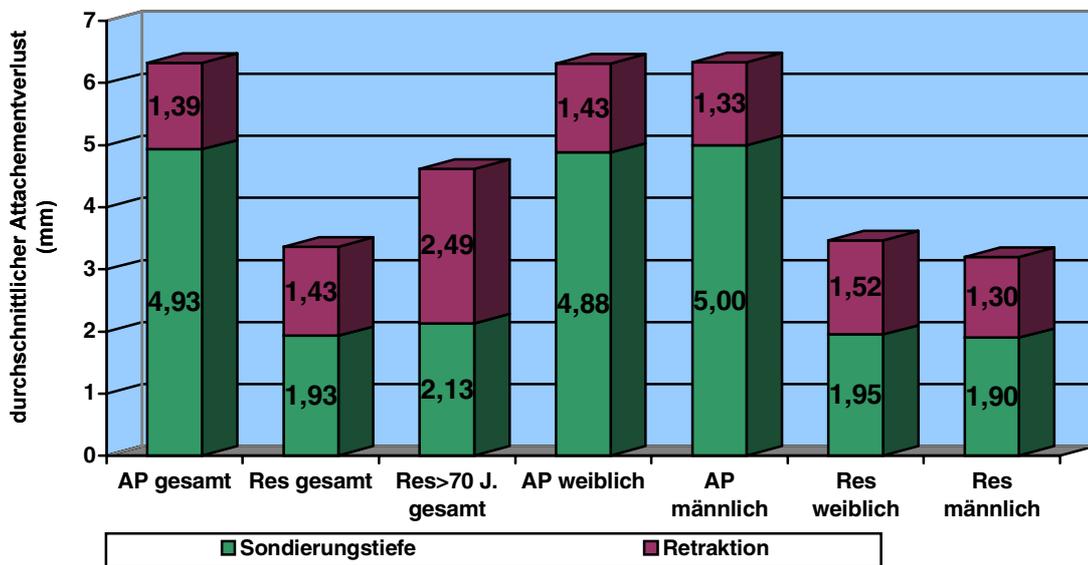


Abb. 4: Durchschnittlicher Attachmentverlust in den Untersuchungsgruppen

4.2. Verteilung der HLA-Merkmale unter Patienten mit AP und parodontitisfreien Probanden („Resistenz“gruppe)

Die Ergebnisse der serologischen und molekularbiologisch abgesicherten HLA-Typisierung werden nachfolgend aufgeführt und beschrieben. Die Häufigkeit der HLA-Merkmale bei den AP-Patienten sowie in der Parodontitis-Gesamtgruppe (AP + RPP) wird mit denen der Resistenzprobanden verglichen und statistisch ausgewertet. Zur Beurteilung der Abweichungen in diesen Gruppen wurde als Bezugssystem die Normalverteilung der HLA-Merkmale in einer Blutspendergruppe (Dr. H.K.G. Machulla, persönliche Mitteilungen)

herangezogen. Die Phänotypfrequenzen (pf in %) der einzelnen HLA-Antigene sind zum Vergleich in den folgenden Tabellen nach Genloci getrennt dargestellt und im Text zusammenfassend beschrieben. Außerdem ist der nach Yates bzw. Fisher korrigierte p-Wert – hier als p_c bezeichnet (p_Y oder p_F) – angegeben. Des Weiteren werden auffällige Unterschiede unter Männern und Frauen beider Gruppen berücksichtigt und gesondert im Text angegeben.

4.2.1. Verteilung der HLA-Klasse I-Merkmale

Vergleich der AP-Patienten mit parodontitisfreien Probanden („Resistente“)

Die Tabelle 6 zeigt, dass in der Gruppe der AP-Patienten im Vergleich zu Probanden ohne klinische Anzeichen einer Parodontitis („Resistente“) das Merkmal HLA-A*11 (15/102, 14.71% vs. 6/102, 5.88%; $p_Y = 0.041$; NV: 8.28%) signifikant häufiger vorkommt. Weiterhin zeigten „Resistente“ eine verringerte Häufigkeit der Merkmale HLA-A*29 (7/102, 6.86% vs. 1/102, 0.98%; $p_F = 0.032$; NV: 5.10%). Das Merkmal HLA-A*33 tritt hingegen bei AP-Patienten mit erhöhter Frequenz auf, während es bei „Resistenten“ gar nicht nachzuweisen war (5/102, 4.90% vs. 0/102, 0.00%; $p_F = 0.030$; NV: 1.27%). Andererseits ergab sich bei HLA-A*03 eine umgekehrte Tendenz (20/102, 19.61% vs. 33/102, 32.35%; $p_Y = 0.039$; NV: 25.48%). Auffällig ist auch eine tendenzielle Erhöhung der Frequenz von HLA-A*31 bei den „Resistenten“ (9/102, 8.82% vs. 4/102, 3.92%, $p_c > 0.050$; NV: 3.82%), die auch nach Zusammenfassung der beiden verwandten Split-Merkmale HLA-A*30+31 in der Tendenz bestehen bleibt (6/102, 5.88% vs. 12/102, 11.76%; $p_c > 0,050$; NV: 8.29%).

Tab. 6: Verteilung der HLA-A-Merkmale bei AP-Patienten und „Resistenten“
(A28= A*68/69, A19= A*29/30/31/32/33/74)

↑↓ - tendenzielle, nicht signifikante Erhöhung oder Verminderung

↑↓ - signifikante Erhöhung oder Verminderung

HLA-	AP (N = 102)		Resistente (N = 102)		RR	P _c
	N	%	N	%		
A*01	35	34,31	28	27,45	1,25	n.s.
A*02	49	48,03	52	50,98	0,94	n.s.
A*03	20	19,61↓	33	32,35	0,61	0,039
A*11	15	14,71↑	6	5,88	2,50	0,041
A*23	5	4,90	6	5,88	0,83	n.s.
A*24	17	16,67	22	21,57	0,77	n.s.
A*25	6	5,88	4	3,92	1,50	n.s.
A*26	5	4,90	4	3,92	1,25	n.s.
A28	8	7,84	10	9,80	0,80	n.s.
A*29	7	6,86	1	0,98↓	7,00	0,032
A*30	2	1,96	3	2,94	0,71	n.s.
A*31	4	3,92	9	8,82↑	0,47	n.s.
(A*30+31)	6	5,88	12	11,76↑	0,50	n.s.
A*32	7	6,86	8	7,84	0,88	n.s.
A*33	5	4,90↑	0	0,00	-----	0,030
(A19)	25	24,51	21	20,59	1,19	n.s.

In Tabelle 7 ist die in der parodontitisfreien Gruppe („Resistente“) signifikant verringerte Häufigkeit des Merkmals HLA-B14 gegenüber AP-Patienten auffällig (6/102, 5.88% vs. 0/102, 0.00%; $p_F = 0,013$; NV: 5.10%). Dem gegenüber zeigt sich beim Merkmal HLA-B*27 (9/102, 8.82% vs. 15/102, 14.71%; $p_c > 0.050$; NV: 7.64%) eine genau umgekehrte Tendenz. HLA-B*39 ist wiederum bei AP Patienten auffällig verringert (1/102, 0.98% vs. 5/102, 4.90; $p_c > 0.050$; NV: 5.73%). Beide letztgenannten Tendenzen bleiben statistisch ohne Signifikanz.

Tab. 7 Verteilung der HLA-B-Merkmale bei AP-Patienten und „Resistenten“

(B*14= B64/65, B*15= B62/63/71/72/75/76/77)

↑↓ - tendenzielle, nicht signifikante Erhöhung oder Verminderung

↑↓ - signifikante Erhöhung oder Verminderung

HLA-	AP (N = 102)		Resistente (N = 102)		RR	p _c
	n	%	n	%		
B*07	35	34,30	34	33,33	1,03	n.s.
B*08	23	22,55	23	22,55	1,00	n.s.
B*13	9	8,82	9	8,82	1,00	n.s.
B*14	6	5,88	0	0,00↓	-----	0,014
B*18	12	11,76	7	6,86	1,71	n.s.
B*27	9	8,82	15	14,71↑	0,60	n.s.
B*35	15	14,71	20	19,61	0,75	n.s.
B*37	3	2,94	6	5,88	0,54	n.s.
B*38	4	3,92	6	5,88	0,69	n.s.
B*39	1	0,98↓	5	4,90	0,27	n.s.
B*44	20	19,61	18	17,65	1,11	n.s.
B*45	1	0,98	0	0,00	3,00	n.s.
B*47	1	0,98	1	0,98	1,00	n.s.
B*49	1	0,98	3	2,94	0,43	n.s.
B*50	0	0,00	1	0,98	0,33	n.s.
B*51	8	7,84	12	11,76	0,67	n.s.
B*52	2	1,96	0	0,00	5,00	n.s.
B*53	1	0,98	2	1,96	0,60	n.s.
B*55	2	1,96	0	0,00	5,00	n.s.
B*57	2	1,96	5	4,90	0,45	n.s.
B*58	0	0,00	1	0,98	0,33	n.s.
B*40 (B60)	16	15,69	11	10,78	1,45	n.s.
B*40 (B61)	3	2,94	1	0,98	2,33	n.s.
B*15 (B62)	18	17,65	13	12,75	1,38	n.s.
B*15 (B63)	0	0,00	1	0,98	0,33	n.s.
Bw*4	53	51,96	82	80,39	0,65	n.s.
Bw*6	89	87,25	83	81,37	1,07	n.s.

In der Verteilung der HLA-Cw-Antigene fällt beim Vergleich der beiden Gruppen die signifikante Verringerung von HLA-Cw*08 (6/102, 5.88% vs. 0/102, 0.00%, $p_F= 0.014$; NV: 5.10%) durch das bei den „Resistenten“ fehlende Merkmal auf (Tabelle 8).

Tab. 8: Verteilung der HLA-Cw-Merkmale bei AP-Patienten und „Resistenten“

↑↓ - tendenzielle, nicht signifikante Erhöhung oder Verminderung

↑↓ - signifikante Erhöhung oder Verminderung

HLA-	AP (N = 102)		Resistente (n = 102)		RR	p _c
	n	%	n	%		
Cw*01	0	0,00	3	2,94	0,14	n.s.
Cw*02	11	10,78	16	15,69	0,69	n.s.
Cw*03	37	36,27	25	24,51	1,48	n.s.
Cw*04	20	19,61	28	27,45	0,71	n.s.
Cw*05	7	6,86	8	7,84	0,88	n.s.
Cw*06	19	18,63	20	19,61	0,95	n.s.
Cw*07	65	63,73	59	57,84	1,10	n.s.
Cw*08	6	5,88	0	0,00↓	-----	0,014
Cw*blank	24	23,52	25	24,51	0,96	n.s.

Vergleich von Parodontitispatienten (RPP+AP) mit parodontitisfreien Probanden („Resistente“)

Wie in Abbildung 5 dargestellt, kommen innerhalb der Gesamtgruppe der Patienten mit Parodontitis die Merkmale HLA-A*11 (21/152, 13.82% vs. 6/102, 5.88%, $p_Y= 0.044$; NV: 8.28%), -A*29 (11/152, 7.24% vs. 1/102, 0.98%, $P_F= 0.017$; NV: 5.10%) und -A*33 (6/152, 3.95% vs. 0/102, 0%, $P_F= 0.044$; NV: 1.27%) signifikant häufiger als in der Gruppe der parodontitisfreien Probanden („Resistente“) vor. Hingegen sind HLA-A*31 (4/152, 2.63% vs. 9/102, 8.82%, $p_F= 0.029$; NV: 3.82%) und -A*30/*31 (6/152, 3.95% vs. 12/102, 11.76%, $p_Y= 0.022$; NV: 8.28%) signifikant seltener unter den Patienten als unter den „Resistenten“ vertreten.

Unter den HLA-B-Antigenen weisen die Parodontitispatienten gegenüber den „Resistenten“ eine signifikant erhöhte Frequenz von HLA-B*14 (7/152, 4.61% vs. 0/102, 0.00%; $p_F= 0.026$; NV: 5.10%) auf. Außerdem sind das nicht signifikant häufigere Auftreten von HLA-B*18 (19/152, 12.50% vs. 7/102, 6.86%, $p_c > 0.050$; NV: 7.64%) bei den AP- Patienten und die tendenziell erhöhte Frequenz von HLA-B*27 (14/152, 9.21% vs. 15/102, 14.71%, $p_c > 0.050$; NV: 7.64%) bei den „Resistenten auffällig.

Des Weiteren zeigt sich in der Gesamtgruppe der Parodontitispatienten im Vergleich zur „Resistenz“gruppe eine Erhöhung der Frequenz von HLA-Cw*08 (7/152, 4.61% vs. 0/102, 0.00%; $p_F = 0.026$; NV: 5.10%). Eine Korrektur der gefundenen p-Werte mittels der Methode multipler Vergleiche (Bonferroni-Korrektur) widerlegte jedoch die statistische Signifikanz der Ergebnisse.

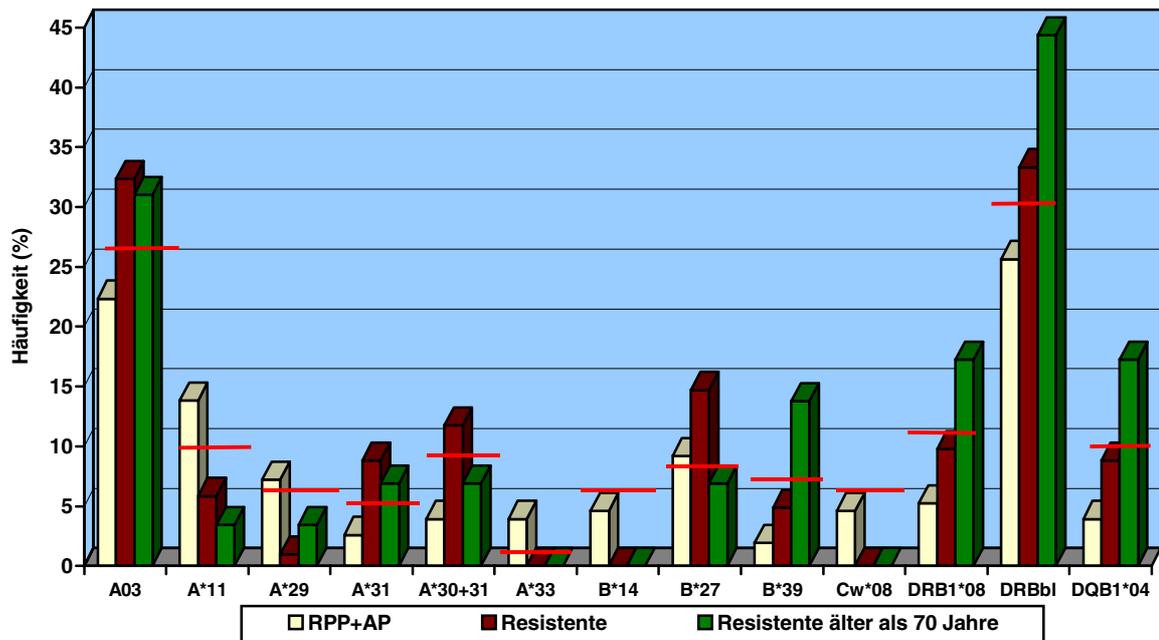


Abb. 5: Auffällige HLA Merkmale bei Parodontitis (RPP+AP) Patienten (N=152) im Vergleich zu „Resistenten“ (N=102) und Resistenten über 70 Jahre (N=29). Die Normalverteilung ist jeweils mit „-“ gekennzeichnet.

Vergleich der AP-Patienten mit sehr alten parodontitisfreien Probanden (über 70 Jahre)

In Tabelle 9 sind alle die HLA-Klasse I-Merkmale dargestellt, die auffällige Frequenzunterschiede im Vergleich der AP-Patienten mit den über 70-jährigen Resistenten aufweisen. Besonders erwähnenswert ist der Frequenzunterschied des Merkmals HLA-B*39 (B16), welches bei den über 70-jährigen Resistenten gegenüber den AP-Patienten signifikant erhöht (4/29, 13.79% vs. 6/102, 5.88%, $p_F = 0.009$; NV: 5.73%) vorkommt. In der Gruppe der AP-Patienten treten im Vergleich mit den über 70-jährigen Resistenten die HLA-Merkmale A*11 (15/102, 14.71% vs. 1/29, 3.45%, $p_c > 0.050$; NV: 8.28%), A*29 (7/102, 6.86% vs. 1/29, 3.45%, $p_c > 0.050$; NV: 5.10%), A*33 (5/102, 4.90% vs. 0/29, 0.00%, $p_c > 0.050$; NV: 1.27%), B*14 (6/102, 5.88% vs. 0/29, 0.00%, $p_c > 0.050$; NV: 5.10%) und Cw*08 (6/102, 5.88% vs.

0/29, 0.00%, $p_c > 0.050$; NV: 5.10%) tendenziell erhöht auf, während das HLA-Merkmal A*03 (20/102, 19.61% vs. 9/29, 31.03%, $p_c > 0.050$; NV: 25.48%) tendenziell verringert auftritt. Alle nicht in der Tabelle 9 aufgeführten HLA-Merkmale zeigen dagegen keine Frequenzunterschiede.

Tab. 9: Verteilung auffälliger HLA-Klasse I-Merkmale bei AP-Patienten und sehr alten Resistenzprobanden (über 70 Jahre) (B*14= B64/65)

↑↓ - tendenzielle, nicht signifikante Erhöhung oder Verminderung

↑↓ - signifikante Erhöhung oder Verminderung

HLA-	AP (N = 102)		Resistente (N = 29)		RR	P _c
	n	%	n	%		
A*03	20	19,61↓	9	31,03	0,63	n.s.
A*11	15	14,71↑	1	3,45	4,26	n.s.
A*29	7	6,86↑	1	3,45	1,99	n.s.
A*33	5	4,90↑	0	0,00	-----	n.s.
B*14	6	5,88	0	0,00↓	-----	n.s.
B*39 (B16)	1	0,98↓	4	13,79	0,10	0,040
Cw*08	6	5,88	0	0,00↓	-----	n.s.

4.2.2. Verteilung der HLA-Klasse II-Merkmale

Vergleich der AP-Patienten mit parodontitisfreien Probanden („Resistente“)

Wie aus den Tabellen 10 bis 12 zu ersehen ist, traten keine auffälligen Unterschiede in der Verteilung der HLA-DRB1-, DRB3/4/5- und DQB1-Merkmale auf.

Tab. 10: Verteilung der HLA-DRB1-Merkmale bei AP-Patienten und parodontitisfreien Probanden („Resistenten“)

↑↓ - tendenzielle, nicht signifikante Erhöhung oder Verminderung

↑↓ - signifikante Erhöhung oder Verminderung

HLA-	AP (N = 102)		Resistente (N = 102)		RR	p _c
	n	%	n	%		
DRB1*01	22	21,56	26	25,49	0,85	n.s.
DRB1*03	23	22,55	18	17,65	1,28	n.s.
DRB1*04	26	25,49	24	23,53	1,00	n.s.
DRB1*07	17	16,67	24	23,53	0,71	n.s.
DRB1*08	6	5,88	10	9,80	0,60	n.s.
DRB1*09	0	0,00	2	1,96	0,20	n.s.
DRB1*10	2	1,96	2	1,96	1,00	n.s.
DRB1*11	20	19,61	19	18,63	1,05	n.s.
DRB1*12	5	4,90	7	6,86	0,71	n.s.
DRB1*13	27	26,47	21	20,59	1,29	n.s.
DRB1*14	6	5,88	5	4,90	1,20	n.s.
DRB1*15	36	35,29	35	34,31	1,03	n.s.
DRB1*16	2	1,96	1	0,98	1,67	n.s.

Tab. 11: Verteilung der HLA-DRB3/4/5/blank-Merkmale bei AP-Patienten und parodontitisfreien Probanden („Resistenten“) (DRBblank* = nonDRB3/4/5)

↑↓ - tendenzielle, nicht signifikante Erhöhung oder Verminderung

↑↓ - signifikante Erhöhung oder Verminderung

HLA-	AP (N = 102)		Resistente (N = 102)		RR	p _c
	n	%	N	%		
DRB3* (DR52)	69	67,65	60	58,82	1,15	n.s.
DRB4* (DR53)	39	38,24	46	45,10	0,85	n.s.
DRB5* (DR51)	37	36,27	36	35,29	1,03	n.s.
DRBblank*	30	29,41	34	33,33	0,88	n.s.

Tab. 12: Verteilung der HLA-DQB1-Antigene bei AP-Patienten und parodontitisfreien Probanden („Resistente“)

↑↓ - tendenzielle, nicht signifikante Erhöhung oder Verminderung

↑↓ - signifikante Erhöhung oder Verminderung

HLA-	AP (N= 102)		Resistente (N = 102)		RR	p _c
	n	%	n	%		
DQ1	86	84,31	83	81,37	1,04	n.s.
DQB1*05 (DQ1)	33	32,35	35	34,31	0,94	n.s.
DQB1*06 (DQ1)	53	51,96	48	47,06	1,10	n.s.
DQB1*02	33	32,35	32	31,37	1,03	n.s.
DQB1*03	55	53,92	59	57,84	0,93	n.s.
DQB1*03 (DQ7)	30	29,41	32	31,37	0,94	n.s.
DQB1*03 (DQ8)	22	21,96	20	19,61	1,10	n.s.
DQB1*03 (DQ9)	3	2,94	7	6,86	0,47	n.s.
DQB1*04	5	4,90	9	8,82	0,56	n.s.

Vergleich von Parodontitispatienten (RPP+AP) mit parodontitisfreien Probanden („Resistente“)

Im Vergleich der Gesamtgruppe der Parodontitispatienten mit parodontitisfreien Probanden hinsichtlich ihrer Verteilung der HLA-Klasse II-Merkmale wurden keine signifikanten Frequenzunterschiede nachgewiesen. Erwähnenswert ist jedoch das unter den Patienten seltenere Auftreten von HLA-DQB1*04 (6/152, 3.95% vs. 9/102, 8.82%, p_c > 0.050; NV: 8.82%). Alle anderen Merkmale unterscheiden sich nicht oder nur unwesentlich innerhalb beider Gruppen.

Vergleich der AP-Patienten mit sehr alten parodontitisfreien Probanden (über 70 Jahre)

In Tabelle 13 sind alle die HLA-Klasse II-Merkmale dargestellt, die auffällige Frequenzunterschiede im Vergleich der AP-Patienten mit den über 70-jährigen Resistenten aufweisen. AP-Patienten weisen im Vergleich mit den über 70-jährigen Resistenten eine tendenzielle Verringerung der HLA-Frequenz der HLA-Merkmale DRB1*08 (6/102, 5.88% vs. 5/29, 17.24%, p_c > 0.050; NV: 9.55%) und DQB1*04 (5/102, 4.90% vs. 5/29, 17.24%, p_c > 0.050; NV: 8.92%) auf, während in der Gruppe der über 70-jährigen Resistenten das HLA-Merkmal DRBblank* (13/29, 44.83% vs. 30/102, 29.41%, p_c > 0.050; NV: 28.66%) tendenziell häufiger auftritt. Alle nicht in der Tabelle 13 aufgeführten HLA-Merkmale zeigen keine Frequenzunterschiede.

Tab. 13: Verteilung auffälliger HLA-Klasse II-Merkmale bei AP-Patienten und sehr alten Resistenzprobanden (über 70 Jahre)

↑↓ - tendenzielle, nicht signifikante Erhöhung oder Verminderung

↑↓ - signifikante Erhöhung oder Verminderung

HLA-	AP (N = 102)		Resistente (N = 29)		RR	P _c
	n	%	N	%		
DRB1*08	6	5,88↓	5	17,24	0,34	n.s.
DRBblank*	30	29,41	13	44,38↑	0,10	n.s.
DQB1*04	5	4,90↓	5	17,24	0,28	n.s.

4.2.3. Verteilung der HLA-Merkmale unter Berücksichtigung des Geschlechts

HLA- Klasse I- Merkmale

Wie aus Tabellen 14 und 15 ersichtlich, treten in der Gruppe der AP-Patienten die folgenden HLA-Klasse I-Merkmale bei den Frauen im Vergleich zu den Männern tendenziell verringert, aber nicht signifikant auf, HLA-A*26 (2/63, 3.17% vs. 3/39, 7.69%, $p_c > 0.050$; NV: 10,83%), HLA-B*37 (0/63, 0.00% vs. 3/39, 7.69%, $p_c > 0.050$; NV: 5.73%) und HLA-B*57 (1/63, 1.59% vs. 4/39, 10.26%, $p_c > 0.050$; NV: 7.64%), während bei den Männern die Merkmale HLA-A*24 (4/39, 10.26% vs. 13/63, 20.63%, $p_c > 0.050$; NV: 19.11%), HLA-B*13 (2/39, 5.13% vs. 7/63, 11.11%, $p_c > 0.050$; NV: 9.55%) und HLA-Cw*5 (0/39, 0.00% vs. 6/63, 9.52%, $p_c > 0.050$; NV: 8.92%) im Vergleich zu den Frauen tendenziell verringert vorkommen, wobei nur für HLA-A*32 diese Verringerung signifikant ist (0/39, 0.00% vs. 7/63, 11.11%; NV 9/157, 5.73%, $p_F = 0,030$). Tendenzuell häufiger treten bei den männlichen AP-Patienten HLA-A*23 (3/39, 7.69% vs. 2/63, 3.17%, $p_c > 0.050$; NV: 4.46%), HLA-A*25 (4/39, 10.26% vs. 2/63, 3.17%, $p_c > 0.050$; NV: 5.73%) und HLA-B*27 (5/39, 12.82% vs. 4/63, 6.35%, $p_c > 0.050$; NV: 7.64%) als bei den Frauen auf.

In der Gruppe parodontitisfreier Probanden haben Frauen signifikant häufiger HLA-B*40 als „resistente“ Männer (11/62, 17.74% vs. 1/40, 2.50%, $p_F = 0.017$; NV: 9.55%), wohingegen bei „resistenten“ Männern HLA-B*13 signifikant häufiger als bei „resistenten“ Frauen auftritt (8/40, 20.00% vs. 3/62, 4.84%, $p_F = 0.020$; NV: 9.55%). „Resistente“ Frauen scheinen gegenüber „resistenten“ Männern tendenziell seltener HLA-A*68/69 (A28) (4/62, 6.45% vs. 6/40, 15.00%, $p_c > 0.050$; NV: 11.46%), HLA-A*32 (7/62, 11.29% vs. 1/40, 2.50%, $p_c > 0.050$; NV: 5.73%) und HLA- Cw*06 (9/62, 14.52% vs. 11/40, 27.50%, $p_c > 0.050$; NV: 23.57%), aber tendenziell häufiger HLA-Cw*02 (12/62, 19.35% vs. 4/40, 10.00%, $p_c > 0.050$; NV: 8.28%) zu haben,

wobei keines dieser Unterschiede signifikant ist. Bei männlichen „Resistenten“ ist dagegen das Merkmal HLA-A*02 (14/40, 35.00% vs. 37/62, 59.68%, $p_F = 0,016$; NV: 48.41%,) signifikant verringert, während HLA-B*39 (0/40, 0.00% vs. 4/62, 6.45%, $p_c > 0.050$; NV: 5.73%) und HLA-Cw01 (0/40, 0.00% vs. 3/62, 4.84%, $p_c > 0.050$; NV: 8.92%) nur eine tendenzielle, nicht signifikante Verringerung gegenüber den „resistenten“ Frauen zeigen.

Im geschlechtsspezifischen Vergleich haben Patientinnen mit AP tendenziell häufiger HLA-A*33 als weibliche „Resistente“ (3/63, 4.76% vs. 0/62, 0.00%, $p_c > 0.050$; NV-w: 2/94, 2.13%), aber weniger häufig HLA-A*23 (2/63, 3.17% vs. 4/62, 6.45%, $p_c > 0.050$; NV-w: 5/94, 5.32%), HLA-B*37 (0/63, 0.00% vs. 3/62, 4.84%, $p_c > 0.050$; NV-w: 5/94, 5.32%) HLA-B*39 (0/63, 0.00% vs. 4/62, 6.45%, $p_c > 0.050$; NV-w: 7/94, 7.45%), HLA-B*51 (4/63, 6.35% vs. 8/62, 12.90%, $p_c > 0.050$; NV-w: 12/94, 12.77%), HLA-B*57 (1/63, 1.59% vs. 3/62, 4.84%, $p_c > 0.050$; NV-w: 10/94, 10.64%) und HLA-Cw*01 (0/63, 0.00% vs. 3/62, 4.84%, $p_c > 0.050$; NV-w: 9/94, 9.57%), wobei keines der Unterschiede signifikant ist. Bei weiblichen „Resistenten“ tritt HLA-A*31 (6/62, 9.68% vs. 2/63, 3.17%, $p_c > 0.050$; NV-w: 5/94, 5.32%) und HLA- B*27 (11/62, 17.74% vs. 4/63, 6.35%, $p_c > 0.050$; NV-w: 7/94, 7.45%) nicht signifikant häufiger als bei Frauen mit AP auf, wohingegen bei den „resistenten“ Frauen im Vergleich mit AP-Patientinnen die Merkmale HLA-A*29 (0/62, 0.00% vs. 4/63, 6.35%, $p_c > 0.050$; NV-w: 6/94, 6.38%) und HLA-Cw*08 (0/62, 0.00% vs. 4/63, 6.35%, $p_c > 0.050$; NV-w: 3/94, 3.19%) nicht signifikant, für HLA-A*11 aber signifikant verringert sind (3/62, 4.84% vs. 10/63, 15.87%, $p_F = 0.040$; NV-w: 10/94, 10.64%).

Im Vergleich der männlichen Gruppen untereinander zeigt sich bei den AP-Patienten gegenüber „resistenten“ Männern eine nicht signifikante Erhöhung bei den Merkmalen HLA-A*25 (4/39, 10.26% vs. 1/40, 2.50%, $p_c > 0.050$; NV-m: 3/63, 4.76%), HLA-A*29 (3/39, 7.69% vs. 1/40, 2.50%, $p_c > 0.050$; NV-m: 2/63, 3.17%) und HLA-A*33 (2/39, 5.13% vs. 0/40, 0.00%, $p_c > 0.050$; NV-m: 0/63, 0.00%), während HLA-A*11 (5/39, 12.82% vs. 0/40, 0.00%, $p_F = 0,026$; NV-m: 3/63, 4.76%) und HLA- B*18 (5/39, 12.82% vs. 2/40, 5.00%, $p_F = 0,026$; NV-m: 5/63, 7.94%) dagegen signifikant erhöht sind. Die Merkmale HLA-A28 (A*68/69) (2/39, 5.13% vs. 6/40, 15.00%, $p_c > 0.050$; NV-m: 10/63, 15.87%) und HLA-Cw*05 (0/39, 0.00% vs. 2/40, 5.00%, $p_c > 0.050$; NV-m: 9/63, 14.29%) sind gegenüber den männlichen „Resistenten“ ohne Signifikanz verringert. „Resistente“ Männer haben tendenziell häufiger die Merkmale HLA-A*03 (11/40, 27.50% vs. 7/39, 17.95%, $p_c > 0.050$; NV-m: 23/63, 36.51%), HLA-A*24 (10/40, 25.00% vs. 4/39, 10.26%, $p_c > 0.050$; NV-m: 10/63, 15.87%) und HLA-B*13 (8/40, 20.00% vs. 2/39, 5.13%, $p_F = 0,048$; NV-m: 3/63, 4.76%), wobei diese Unterschiede nur für HLA-B*13 signifikant sind. Sie zeigen gegenüber männlichen AP-Patienten für HLA-B*14 (0/40, 0.0% vs. 2/39, 5.13%, $p_c > 0.050$; NV-m: 5/63, 7.94%) und HLA-Cw*08 (0/40, 0.00% vs. 2/39, 5.13%, $p_c > 0.050$; NV-m: 5/63, 7.94%) eine tendenziell verringerte Frequenz, jedoch für HLA-B*40 (1/40, 2.50% vs. 5/39, 12.82%, $p_c > 0.050$; NV-m: 4/63, 6.35%) und HLA-Cw*02 (4/40,

10.00% vs. 5/39, 12.82%, $p_c > 0.050$; NV-m: 5/63, 7.94%) eine ebenso erwähnenswerte Verringerung (Tabellen 14 und 15).

Tab. 14 Verteilung der Phänotypfrequenzen in Abhängigkeit vom Geschlecht für das HLA-Klasse I-Merkmal HLA-A (A28 = A*68/69)

↑↓ - tendenzielle, nicht signifikante Erhöhung oder Verminderung

↑↓ - signifikante Erhöhung oder Verminderung

HLA-	AP w N=63 m N=39			Res w N=62 m N=40			weiblich AP N=63 Res N=62			männlich AP N=39 Res N=40		
	%	%	p_c	%	%	p_c	%	%	p_c	%	%	p_c
A*01	33,33	35,90	n.s.	24,19	32,50	n.s.	33,33	24,19	n.s.	35,90	32,50	n.s.
A*02	49,21	46,15	n.s.	59,68	35,00↓	0,016	49,21	59,68	n.s.	46,15	35,00	n.s.
A*03	20,63	17,95	n.s.	33,87	27,50	n.s.	20,63	33,87	n.s.	17,95	27,50↑	n.s.
A*11	15,87	12,82	n.s.	4,84	0,00↓	n.s.	15,87	4,84↓	0,040	12,82↑	0,00	0,026
A*23	3,17	7,69↑	n.s.	6,45	5,00	n.s.	3,17↓	6,45	n.s.	7,69	5,00	n.s.
A*24	20,63	10,26↓	n.s.	19,35	25,00	n.s.	20,63	19,35	n.s.	10,26	25,00↑	n.s.
A*25	3,17	10,26↑	n.s.	4,84	2,50↓	n.s.	3,17	4,84	n.s.	10,26↑	2,50	n.s.
A*26	3,17↓	7,69	n.s.	3,23	5,00	n.s.	3,17	3,23	n.s.	7,69	5,00	n.s.
A28	9,52	5,13	n.s.	6,45↓	15,00	n.s.	9,52	6,45	n.s.	5,13↓	15,00	n.s.
A*29	6,35	7,69	n.s.	0,00	2,50	n.s.	6,35	0,00↓	n.s.	7,69↑	2,50	n.s.
A*31	3,17	5,13	n.s.	9,68	7,50	n.s.	3,17	9,68↑	n.s.	5,13	7,50	n.s.
A*32	11,11	0,00↓	0,030	11,29↓	2,50	n.s.	11,11	11,29	n.s.	5,13	2,50	n.s.
A*33	4,76	5,13	n.s.	0,00	0,00	n.s.	4,76↑	0,00	n.s.	5,13↑	0,00	n.s.

Tab. 15: Verteilung der Phänotypfrequenzen in Abhängigkeit vom Geschlecht für die HLA-Klasse I-Merkmale HLA-A, B, Bw und Cw

(A28 = A*68/69, B*40= B60/61, B*14= B64/65, B*15= B62/63/71/72/75/76/77)

↑↓ - tendenzielle, nicht signifikante Erhöhung oder Verminderung

↑↓ - signifikante Erhöhung oder Verminderung

HLA-	AP			Res			weiblich			männlich		
	w N=63	m N=39	p _c	w N=62	m N=40	p _c	AP N=63	Res N=62	p _c	AP N=39	Res N=40	p _c
	%	%		%	%		%	%		%	%	
B*13	11,11	5,13↓	n.s.	4,84	20,00↑	0,020	11,11	4,84	n.s.	5,13	20,00↑	0,048
B*14	6,35	5,13	n.s.	0,00	0,00	n.s.	6,35	0,00↓	n.s.	5,13	0,00↓	n.s.
B*15	19,05	15,38	n.s.	12,90	15,00	n.s.	19,05	12,90	n.s.	15,38	15,00	n.s.
B*18	11,11	12,82	n.s.	8,06	5,00	n.s.	11,11	8,06	n.s.	12,82↑	5,00	0,026
B*27	6,35	12,82↑	n.s.	17,74	10,00	n.s.	6,35	17,74↑	n.s.	12,82	10,00	n.s.
B*35	14,29	15,38	n.s.	16,13	25,00	n.s.	14,29	16,13	n.s.	15,38	25,00	n.s.
B*37	0,00↓	7,69	n.s.	4,84	7,50	n.s.	0,00↓	4,84	n.s.	7,69	7,50	n.s.
B*39	0,00	2,56	n.s.	6,45	0,00↓	n.s.	0,00↓	6,45	n.s.	2,56	0,00	n.s.
B*40	17,46	12,82	n.s.	17,74↑	2,50	0,017	17,46	17,74	n.s.	12,82	2,50	n.s.
B*51	6,35	10,26	n.s.	12,90	10,00	n.s.	6,35↓	12,90	n.s.	10,26	10,00	n.s.
B*52	3,17	0,00	n.s.	0,00	0,00	n.s.	3,17	0,00	n.s.	0,00	0,00	n.s.
B*55	1,59	2,56	n.s.	0,00	0,00	n.s.	1,59	0,00	n.s.	2,56	0,00	n.s.
B*57	1,59↓	10,26	n.s.	4,84	5,00	n.s.	1,59↓	4,84	n.s.	10,26	5,00	n.s.
Bw4	46,03	61,54	n.s.	61,29	50,00	n.s.	46,03	61,29	n.s.	61,54	50,00	n.s.
Bw6	88,89	84,62	n.s.	82,26	75,00	n.s.	88,89	82,26	n.s.	84,62	75,00	n.s.
Cw*1	0,00	0,00	n.s.	4,84	0,00↓	n.s.	0,00↓	4,84	n.s.	0,00	0,00	n.s.
Cw*2	9,52	12,82	n.s.	19,35↑	10,00	n.s.	9,52	19,35↑	n.s.	12,82	10,00	n.s.
Cw*5	9,52	0,00↓	n.s.	8,06	5,00	n.s.	9,52	8,06	n.s.	0,00↓	5,00	n.s.
Cw*6	15,87	20,51	n.s.	14,52↓	27,50	n.s.	15,87	14,52	n.s.	20,51	27,50	n.s.
Cw*8	6,35	5,13	n.s.	0,00	0,00	n.s.	6,35	0,00↓	n.s.	5,13	0,00↓	n.s.

HLA-Klasse II-Merkmale

Aus Tabelle 16 ist ersichtlich, dass in der Gruppe der AP-Patienten die Frauen tendenziell weniger HLA- DRB1*07 haben als die Männer (8/63, 12.70% vs. 9/39, 23.08%, p_c > 0.050; NV: 28.03%). Die Männer mit AP haben demgegenüber tendenziell weniger häufig HLA-DRB1*12 (1/39, 2.56% vs. 4/63, 6.35%, p_c > 0.050; NV: 4.46%) als die AP-Patientinnen. In der „Resistenz“gruppe haben Frauen weniger HLA-DRB1*03 (8/62, 12.90% vs. 9/40, 22.50%, p_c > 0.050; NV: 24.84%) als die Männer, bei den „resistenten“ Männern ist dagegen die Frequenz von HLA-DRB1*04 (6/40, 15.00% vs. 18/62, 29.03%, p_c > 0.050; NV: 22.93%) in der Tendenz verringert. Bei den Frauen haben AP-Patientinnen tendenziell weniger häufig HLA-DRB1*07 (8/63, 12.70% vs. 14/62, 22.58%, p_c > 0.050; NV-w: 33/94, 35.11%) als „resistente“ Frauen, die „resistenten“ Frauen dagegen weniger häufig HLA-DRB1*03 (8/62, 12.90% vs.

15/63, 23.81%, $p_c > 0.050$; NV-w: 24/94, 25.53%) als AP-Patientinnen. „Resistente“ Männer scheinen gegenüber männlichen AP-Patienten eine verringerte Frequenz von HLA-DRB1*04 (6/40, 15.00% vs. 12/39, 30.77%, $p_c > 0.050$; NV-m: 14/63, 22.22%) und HLA-DRB1*14(1/40, 2.50% vs. 2/39, 5.13%, $p_c > 0.050$; NV-m: 4/63, 6.35%) zu haben. Keine der genannten Unterschiede war signifikant (Tabelle 14a).

Tab. 16: Verteilung der HLA Phänotypfrequenzen in Abhängigkeit vom Geschlecht für die HLA-Klasse II-Merkmale HLA-DRB1 und -DRB3/4/5

↑↓ - tendenzielle, nicht signifikante Erhöhung oder Verminderung

↑↓ - signifikante Erhöhung oder Verminderung

HLA-	AP			Res			weiblich			Männlich		
	w N=63	m N=39	p_c	w N=62	m N=40	p_c	AP N=63	Res N=62	p_c	AP N=39	Res N=40	p_c
DRB1	%	%	p_c	%	%	p_c	%	%	p_c	%	%	p_c
*01	25,40	15,38	n.s.	32,26↑	15,00	n.s.	25,40	32,26	n.s.	15,38	15,00	n.s.
*15	38,10	30,77	n.s.	30,65	37,50	n.s.	38,10	30,65	n.s.	30,77	37,50	n.s.
*16	1,59	2,56	n.s.	1,61	0,00	n.s.	1,59	1,61	n.s.	2,56	0,00	n.s.
*03	23,81	20,51	n.s.	12,90↓	22,50	n.s.	23,81	12,90↓	n.s.	20,51	22,50	n.s.
*04	22,22	30,77	n.s.	29,03	15,00↓	n.s.	22,22	29,03	n.s.	30,77	15,00↓	n.s.
*11	19,05	20,51	n.s.	14,52	25,00	n.s.	19,05	14,52	n.s.	20,51	25,00	n.s.
*12	6,35	2,56↓	n.s.	6,45	5,00	n.s.	6,35	6,45	n.s.	2,56	5,00	n.s.
*13	26,98	25,64	n.s.	24,19	15,00	n.s.	26,98	24,19	n.s.	25,64	15,00	n.s.
*14	6,35	5,13	n.s.	6,45	2,50↓	n.s.	6,35	6,45	n.s.	5,13	2,50↓	n.s.
*07	12,70↓	23,08	n.s.	22,58	25,00	n.s.	12,70↓	22,58	n.s.	23,08	25,00	n.s.
*08	6,35	5,13	n.s.	9,68	7,50	n.s.	6,35	9,68	n.s.	5,13	7,50	n.s.
*09	0,00	0,00	n.s.	1,61	2,50	n.s.	0,00	1,61	n.s.	0,00	2,50	n.s.
*10	1,59	2,56	n.s.	3,23	0,00	n.s.	1,59	3,23	n.s.	2,56	0,00	n.s.
DRB3 *52	73,02	58,97	n.s.	54,84	60,00	n.s.	73,02	54,84	n.s.	58,97	60,00	n.s.
DRB4 *53	31,75	48,72	n.s.	46,77	42,50	n.s.	31,75	46,77	n.s.	48,72	42,50	n.s.
DRB5 *51	39,68	30,77	n.s.	32,26	37,50	n.s.	39,68	32,26	n.s.	30,77	37,50	n.s.

Tabelle 17 zeigt durch das Fehlen von HLA-DQB1*09 eine signifikant verringerte Frequenz von HLA-DQB1*09 für AP-Patientinnen im Vergleich zu „resistenten“ Frauen (0/63, 0.00% vs. 5/62, 8.06%, $p_Y = 0,032$; NV-w: 12/94, 12.77%) sowie in der Gruppe der AP-Patienten eine tendenzielle Verringerung dieses Merkmals bei den Frauen (0/63, 0.00% vs. 3/39, 7.69%, $p_c > 0.050$; NV: 8.28%), dessen anfängliche Signifikanz (RR= 0.09, $p = 0.025$) aber nach Korrektur verschwindet. Bei den männlichen AP-Patienten ist eine tendenzielle Verringerung von HLA-

DQB1*04 gegenüber männlichen „Resistenten“ (1/39, 2.56% vs. 3/40, 7.50%, $p_c > 0.050$; NV-m: 4/63, 6.35%) zu erkennen.

Tab. 17: Verteilung der HLA Phänotypfrequenzen in Abhängigkeit vom Geschlecht für das HLA-Klasse II-Merkmal HLA-DQB1 (DQB1*03= DQ7/8/9)

↑↓ - tendenzielle, nicht signifikante Erhöhung oder Verminderung

↑↓ - signifikante Erhöhung oder Verminderung

HLA-	AP			Res			Weiblich			Männlich		
	w N=63	m N=39	p_c	w N=62	m N=40	p_c	AP N=63	Res N=62	p_c	AP N=39	Res N=40	p_c
DQB1	%	%		%	%		%	%		%	%	
*02	33,33	30,77	n.s.	27,42	35,00	n.s.	33,33	27,42	n.s.	30,77	35,00	n.s.
*04	4,76	2,56	n.s.	8,06	7,50	n.s.	4,76	8,06	n.s.	2,56↓	7,50	n.s.
*05	33,33	30,77	n.s.	43,55	20,00↓	n.s.	33,33	43,55	n.s.	30,77	20,00	n.s.
*06	53,97	48,72	n.s.	48,39	42,50	n.s.	53,97	48,39	n.s.	48,72	42,50	n.s.
7	33,33	23,08	n.s.	30,65	30,00	n.s.	33,33	30,65	n.s.	23,08	30,00	n.s.
8	17,46	28,21	n.s.	24,19	12,50	n.s.	17,46	24,19	n.s.	28,21	12,50	n.s.
9	0,00↓	7,69	$p < 0,03$	8,06	5,00	n.s.	0,00↓	8,06	0,028	7,69	5,00	n.s.

Vergleich von Parodontitispatienten (RPP+AP) mit parodontitisfreien Probanden („Resistente“)

Beim Vergleich von Parodontitispatienten (RPP+AP) mit parodontitisfreien Probanden („Resistente“) ergeben sich für die aufgeführten Frequenzunterschiede gleichsinnige Tendenzen unter Männern und Frauen. Herauszuheben ist dabei, dass das insgesamt signifikant häufigere Vorkommen von HLA-A*11 unter den Parodontitispatienten gegenüber den „Resistenten“ auch in der Gruppe der Frauen statistisch signifikant ist (13/82, 15.85% vs. 3/63, 4.76%, $p_F = 0,032$; NV: 8,28%). Die übrigen Frequenzunterschiede sind unter beiden Geschlechtern ebenfalls auffällig, jedoch nicht signifikant.

Unter den HLA-Antigenen, die in der Gesamtzahl der Probanden keine auffälligen Frequenzunterschiede aufwiesen, zeigen weibliche Patienten mit Parodontitis ein signifikant häufigeres Auftreten von HLA-DRB3*(DR52) (59/82, 71.95 % vs. 34/62, 54.84%, $p_Y = 0,035$; NV: 70.70%) als „resistente“ Frauen. Außerdem kommen unter Patientinnen HLA-A*02 (37/82, 45.12% vs. 37/62, 59.68%, $p_c > 0.050$; NV: 48.41%), -B*39 (1/82, 1.21% vs. 4/62, 6.45 %, $p_c > 0.050$; NV: 5.73%), -B*27 (7/82, 8.54% vs. 11/62, 17.74%, $p_c > 0.050$; NV: 7.64%) und -DQB1*05 (24/82, 29.27% vs. 27/62, 43.55%, $p_c > 0.050$; NV: 28.02%) seltener vor, allerdings nicht signifikant.

Männliche Parodontitispatienten weisen gegenüber männlichen „Resistenten“ eine signifikant erhöhte Frequenz von HLA-B*40 (B60) (7/53, 13.21% vs. 0/40, 0.00%, $p_F = 0,016$; NV: 9.55%) auf. Des Weiteren tritt bei Männern mit Parodontitis HLA-A*24 (5/53, 9.43% vs. 10/40, 25.00%, $p_c > 0.050$; NV: 19.11%) und -B*13 (2/53, 3.77% vs. 6/40, 15.00 %, $p_c > 0.050$; NV: 9.55%) mit geringer Häufigkeit auf als unter „resistenten“ Männern, jedoch nicht signifikant. Nach Bonferroni-Korrektur bleibt keiner der genannten Frequenzunterschiede signifikant.

4.2.4. Zusammenfassung der Verteilung der HLA-Merkmale

Im Vergleich von AP-Patienten mit Probanden ohne Parodontitis („Resistente“) zeigt sich nach Korrektur der Ergebnisse (Yates, Fisher) eine signifikant positive Assoziation zu HLA-A*11, HLA-A*29, -A*33 und, -B*14 und -Cw*08 sowie eine signifikant negative Assoziation zu HLA-A*03 (Abb. 6). Nach Bonferronikorrektur bleibt keine dieser Differenzen signifikant.

Im geschlechtsspezifischen Vergleich haben Männer mit AP eine signifikant verringerte Frequenz von HLA-A*02 und -A*11 gegenüber AP-Patientinnen, diese wiederum eine Verringerung von HLA-DQB1*09 gegenüber männlichen AP-Patienten. Bei den „resistenten“ Männern tritt im Vergleich mit „resistenten“ Frauen das Merkmal HLA-B*13 häufiger, HLA-Cw*02 jedoch verringert auf. „Resistente“ Frauen haben eine erhöhte Frequenz von HLA-B*40 (B60).

Unter den Frauen ist HLA-A*11 bei den AP-Patientinnen erhöht und gleichzeitig bei den „Resistenten“ verringert (NV: 13/157, 8.28%), HLA-DQB1*03 (DQ9) bei den AP-Patientinnen verringert. Innerhalb der Männergruppe zeigen sich bei AP-Patienten signifikante Erhöhungen für HLA-B*13, wobei HLA-A*11 bei „resistenten“ Männern gar nicht nachgewiesen wurde, bei den „Resistenten“ Verringerungen für das Merkmal HLA-B*40 (B60) sowie eine erhöhte Frequenz für HLA-B*13. Nach Bonferroni-Korrektur bleibt jedoch keiner der Frequenzunterschiede signifikant. Beim Vergleich der Gesamtgruppe der an Parodontitis (RPP+AP) erkrankten Patienten mit den Probanden der „Resistenz“gruppe fanden sich signifikant positive Assoziationen zu den Merkmalen HLA-A*11, -A*29, -B*14 und -Cw*08 sowie signifikant negative Assoziationen zu HLA-A*31 bzw. A*(30/31). Weiterhin war ein unter den Parodontitispatienten häufigeres Vorkommen von HLA-A*33, -B*18 und ein selteneres Auftreten von HLA-DQB1*04 auffällig (Abb. 5).

Unter den Patientinnen war vor allem die Frequenz von HLA-A*11 und -DRB3*(DR52) gegenüber den weiblichen „Resistenten“ erhöht. Männer mit Parodontitis zeigten hingegen ein häufigeres Vorkommen von HLA-B*40 (B60) als „resistente“ Männer. Auch hier lagen nach multiplem Vergleich nach Bonferroni keine statistisch signifikanten Werte vor.

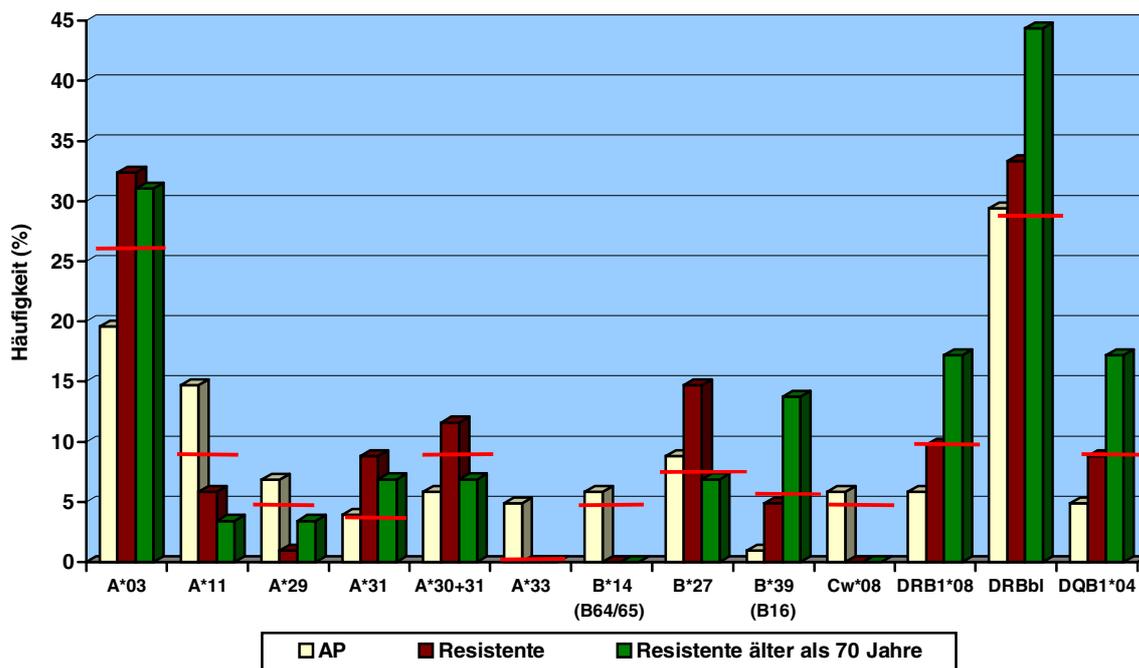


Abb. 6: Auffällige HLA-Merkmale bei AP-Patienten (N=102) im Vergleich zu „Resistenten“ (N=102) und Resistenten älter als 70 Jahre (N=29). Die Normalverteilung ist jeweils mit „-“ gekennzeichnet.

4.3. Homozygotien

Als homozygot wird ein HLA-Merkmal dann bewertet, wenn kein zweites Merkmal innerhalb einer HLA-Region nachgewiesen werden kann. Die Häufigkeiten homozygot auftretender HLA-Antigene in den HLA-typisierten Gruppen werden nachfolgend in der Tabelle sowie im Text dargestellt, statistisch ausgewertet und die auffälligen Unterschiede in der Homozygotenfrequenz einzelner Merkmale beschrieben.

Der in der Tabelle zusätzlich angegebene Erwartungswert der Homozygotenfrequenz veranschaulicht, ob der Frequenzunterschied eines homozygot vorkommenden Merkmals dem Frequenzunterschied des einzelnen Allels entspricht oder unabhängig davon auftrat. Errechnet wurde er nach dem Hardy-Weinberg-Gesetz aus dem Genotyp eines jeden Merkmals unter Annahme idealer Populationsbedingungen (siehe 2.2.4.).

Vergleich der Homozygotiefrequenzen von AP-Patienten und parodontitisfreien Probanden („Resistente“)

Im Vergleich der AP-Patienten mit den „Resistenten“ (Tabelle 18) zeigt sich innerhalb des DR-Lokus für die Homozygotenrate von HLA-DRB*blank (0/102, 0.00% vs. 5/102, 4.90%, $P_F= 0.030$; NV: 3.18%,) eine signifikante Verringerung sowie für HLA-DRB*05 (5/102, 4.90% vs. 1/102, 0.98%, $p_c > 0.050$; NV: 0.64%) eine nicht signifikante Erhöhung. Bei den „Resistenten“ deutet sich in der Tendenz eine Erhöhung der Homozygotenrate im Cw- und DQB1-Lokus und in der AP-Patientengruppe eine tendenzielle Erhöhung der Homozygotenrate im DQ-Lokus sowie bei den Einzelmerkmalen HLA-DRB1*15 und -DQB1*06 an.

Tab. 18: Homozygotien unter AP-Patienten und und parodontitisfreien Probanden („Resistente“)

↑↓ - tendenzielle, nicht signifikante Erhöhung oder Verminderung

↑↓ - signifikante Erhöhung oder Verminderung

homozygot HLA-	AP (N = 102)			Resistente (N = 102)			RR	Chi ²	p _c
	erw.%	beob.	Pf %	erw.%	beob.	Pf%			
A*	14,50	19	18,63	16,30	18	17,65	1,06	0,033	n.s.
B*	9,20	9	8,82	8,70	9	8,82	1,00	0,000	n.s.
Cw*	24,00	15	14,71	19,90	20	19,61	0,75	0,862	n.s.
Cw*07	5,10	8	7,84	12,10	15	14,71	0,53	2,401	n.s.
Cw*blank	0,50	2	1,96	1,70	0	0,00	5,00	2,020	n.s.
DRB1*	12,30	12	11,76	12,10	10	9,80	1,20	0,204	n.s.
DRB1*15	1,20	4↑	3,92	3,50	1	0,98	3,00	1,845	n.s.
DRB1*08	0,00	0	0,00	0,20	2	1,96	0,20	2,020	n.s.
DRB3*	6,00	17	16,67	12,60	14	13,73	1,21	0,342	n.s.
DRB4*	1,50	7	6,86	6,60	7	6,86	1,00	0,000	n.s.
DRB5*	1,30	5↑	4,90	3,80	1	0,98	3,67	2,747	n.s.
DRBbl*	0,80	0	0,00	3,30	5↑	4,90	0,09	5,126	0,032
DQB1*	19,70	25	24,51	18,30	21	20,59	1,19	0,449	n.s.
DQB1*06	3,00	10↑	9,80	7,30	5	4,90	2,00	1,799	n.s.

Vergleich der Homozygotiefrequenzen von Patienten mit Parodontitis (RPP+AP) und parodontitisfreien Probanden („Resistenten“)

Verglichen mit der Resistenzgruppe weisen die Parodontitispatienten keine auffälligen Unterschiede in der Gesamtzahl der Homozygoten innerhalb der Regionen HLA-A, -B, -Cw, -DRB1 und -DQB1 auf. Unter den Merkmalen der Region DRB3/4/5/blank sind bei den „Resistenten“ signifikant häufiger Personen mit einer Homozygotie für HLA-DRBblank* zu finden (1/152, 0,66 % vs. 5/102, 4,90%, $p_F = 0,014$; NV: 1,91%). Der Erwartungswert der Homozygotenfrequenz für HLA-DRBblank* ist in der Patientengruppe größer und in der „Resistenz“gruppe kleiner als die beobachteten Werte, was im Vergleich zum heterozygoten Auftreten des Merkmals mit einem geringeren relativen Risiko verbunden ist. Die Homozygotiefrequenzen für HLA-DRB3*(DR52), -DRB4*(DR53) zeigen keinen, für HLA-DRB5* (DR51) (7/152, 4,61 % vs. 1/102, 0,98 %, $p_c > 0,050$; NV: 1,27%) aber nur einen geringen Unterschied. Im einzelnen tritt das Merkmal HLA-DQB1*06 (16/152, 10,53 % vs. 5/102, 4,90%, $p_c > 0,050$, $p_c > 0,050$; NV: 4,46%) tendenziell häufiger in homozygoter Form unter Parodontitispatienten auf. Der Erwartungswert für eine Homozygotie ist dabei für HLA-DQB1*06 innerhalb der Patientengruppe unwesentlich kleiner und in der „Resistenz“gruppe größer sowie für HLA-DQ3 unter den Patienten größer und unter den „Resistenten“ kleiner als die tatsächliche Homozygotiefrequenz. Im Vergleich zum heterozygoten Auftreten ist eine Homozygotie für HLA-DQB1*06 mit einem größeren und für HLA-DQ3 mit einem geringeren relativen Risiko verbunden (Tabelle 19).

Tab. 19: Homozygotien unter Patienten mit Parodontitis (RPP + AP) und „Resistenten“

↑↓ - signifikante Erhöhung oder Verminderung

homozygot HLA-	AP + RPP (n = 152)			Resistente (n = 102)			RR	Chi ²	p _c
	erw.%	beob.	Pf %	erw.%	beob.	Pf %			
A*	13,49	30	19,74	16,57	18	17,65	1,12	0,174	n.s.
B*	8,88	14	9,21	8,73	9	8,82	1,04	0,011	n.s.
Cw*	23,09	23	15,13	19,90	20	19,61	0,77	0,870	n.s.
DRB1*	12,11	18	11,84	12,06	10	9,80	1,21	0,259	n.s.
DRB3*	18,68	27	17,76	12,84	14	13,73	1,29	0,735	n.s.
DRB4*	6,12	10	6,58	6,67	7	6,86	0,96	0,008	n.s.
DRB5*	3,42	7	4,61	3,82	1	0,98	3,36	2,629	n.s.
DRBblank*	1,91	1 ↓	0,66	3,63	5 ↑	4,90	0,18	4,767	0,040
DQB1*	19,74	36	23,68	18,33	21	20,59	1,15	0,336	n.s.
DQB1*06	9,41	16	10,53	7,45	5	4,90	2,15	2,546	n.s.

4.4. Kombinationen der HLA-Merkmale („Haplotypen“)

Zur Bewertung eines bevorzugten Auftretens von bestimmten Kombinationen solcher HLA-Merkmale, die mit einem höheren oder geringeren relativen Risiko verbunden sind, wurden die HLA-Merkmale hinsichtlich ihrer Kopplung mit dem zweiten HLA-Merkmal desselben Locus oder mit einem der Merkmale der anderen HLA-Loci überprüft. Die errechneten Kombinationen mit den Merkmalen anderer HLA-Regionen werden dabei als Haplotypen aufgefaßt. In diesem Zusammenhang soll noch erwähnt werden, dass eine Verifizierung der postulierten Haplotypen durch Familienuntersuchungen im Rahmen dieser Arbeit nicht erfolgen konnte.

Vergleich der Frequenzen von HLA-Antigen-Kombinationen unter AP-Patienten und parodontitisfreien Probanden

In der Tabelle 20 sind die auffälligsten Kombinationen aufgeführt, bei denen „Resistente“ und AP-Patienten offenbar in ihrer Häufigkeit abweichen. Die Tendenzen (durch Pfeile angegeben) wurden durch Bezug auf die Normalverteilung der Kombinationen in der Blutspenderpopulation markiert.

Als besonders auffällig soll das hohe relative Risiko (RR) für die Erwachsenenparodontitis bei Probanden mit den Haplotypen HLA-A*01 : B60, HLA-A*11 : B*18, HLA-B*14 : Cw*08 sowie das besonders geringe relative Risiko bei Probanden mit den HLA-Haplotypen HLA-A*03 : DRB1*04, HLA-A*03 : DRB1*08, HLA-B*37 : DQB1*03 (DQ7), HLA-Cw*05 : DQB1*03 (DQ7) und HLA- DRBb1* : DRBb1* genannt werden.

Obwohl nicht in diesem Maße auffällig, sind weitere in der Tabelle 20 aufgeführte Kombinationen erwähnenswert. Diese zeigen gleichmaßen entweder ein erhöhtes oder ein verringertes relatives Risiko. Dabei sind die signifikanten Abweichungen zwischen der Patienten- und der „Resistenten“gruppe bei den Kombinationen HLA-A*01 : B*40 (B60) : (Cw*03), HLA-A*03 : DRB1*08, HLA-B*08 : Cw*03, HLA- B*14 : Cw*08 und HLA-Cw*03 : DRB1*03 besonders hoch.

Dabei könnten auch solche Abweichungen zwischen den Patienten mit Erwachsenenparodontitis und parodontitisfreien Probanden („Resistenten“) von Interesse sein, die ein erhöhtes relatives Risiko (RR= 9,00) für eine Erwachsenenparodontitis, aber keine Signifikanz aufweisen, wie zum Beispiel die Kombinationen HLA-B*14 : DQB1*03 (DQ8) und HLA-B*14 : DRB1*04 und HLA-Cw*08 : DQB1*03 (DQ8).

Tab. 20: Häufigkeit von kombiniert auftretenden Merkmalen des HLA-Komplexes (rechnerische „Haplotypen“) bei AP-Patienten im Vergleich mit einer Gruppe parodontitisfreier Probanden („Resistenten“)

↑↓ - tendenzielle, nicht signifikante Erhöhung oder Verminderung

↑↓ - signifikante Erhöhung oder Verminderung

HLA	AP (N=102)		Res. (N=102)		RR	Chi ²	P _c
	n	%	n	%			
A*01 : A*03	1	0,98	7	6,86 ↑	0,20	4,684	0,032
A*01 : B60 (Cw*03)	6	5,88 ↑	0	0,00	13,00	6,182	0,014
A*03 : DQ*04	0	0,00	5	4,90 ↑	0,09	5,126	0,030
A*03 : DR*01	4	3,92	13	12,75 ↑	0,33	5,198	0,020
A*03 : DR*07	1	0,98	7	6,86 ↑	0,20	4,684	0,032
A*03 : DR*08	0	0,00	6	5,88 ↑	0,08	6,182	0,014
A*11 : B*18	5	4,90 ↑	0	0,00	11,0	5,126	0,030
B*08 : Cw*03	9	8,82 ↑	1	0,98	6,33	6,730	0,009
B*14 : Cw*08	6	5,88 ↑	0	0,00 ↓	13,0	6,182	0,014
B*14 : DQ*08	4	3,92 ↑	0	0,00 ↓	9,00	4,080	n.s.
B*14 : DR*04	4	3,92 ↑	0	0,00 ↓	9,00	4,080	n.s.
B*35 : DQ*05	6	5,88	15	14,71 ↑	0,40	4,300	0,041
B*37 : DQ*07	0	0,00	5	4,90 ↑	0,09	5,126	0,030
B*44 : DR*13	9	8,82 ↑	2	1,96	3,80	4,708	0,029
Cw*03 : DR*03	8	7,84 ↑	1	0,98 ↓	5,67	5,696	0,017
Cw*04 : DQ*05	7	6,86 ↓	17	16,67 ↑	0,41	4,722	0,032
Cw*05 : DQ*07	0	0,00 ↓	5	4,90	0,09	5,126	0,030
Cw*08 : DQ*08	4	3,92 ↑	0	0,00	9,00	4,080	n.s.
DR*07 : DQ*05	1	0,98	7	6,86 ↑	0,20	4,684	0,032
DRBb1* : DRBb1*	0	0,00	5	4,90 ↑	0,09	5,126	0,030

Dabei kam es zu Frequenzunterschieden aufgrund von Erhöhungen oder Verringerungen in einer der beiden Untersuchungsgruppen bzw. in beiden, wie z. B. :

HLA-B*14 : Cw*08 war bei den AP- Patienten signifikant erhöht, bei den „Resistenten“ fehlte es vollständig.

HLA-A*01 : B*40 (B60) war bei den AP- Patienten signifikant erhöht.

HLA-B*35 : DQ*05 war bei den „Resistenten“ signifikant erhöht.

Aus den Zweifachkombinationen wurden signifikante Mehrfachkombinationen gebildet und in Abbildung 7 dargestellt. Dabei deutet sich trotz der geringen Zahlen an, dass bestimmte, sich dabei ergebende Kombinationen bzw. spekulative Haplotypen mit signifikanter Differenz ($p < 0,05$ bzw. $P_C < 0,005$) zwischen den AP-Patienten- und „Resistenz“gruppen, gekoppelt mit HLA- B*14, HLA-B*44 bzw. HLA-B*18 mehr mit Suszeptibilität, während die mit HLA- A*03-gekoppelten Mehrfachkombinationen mehr mit Resistenz gegenüber AP assoziiert sind.

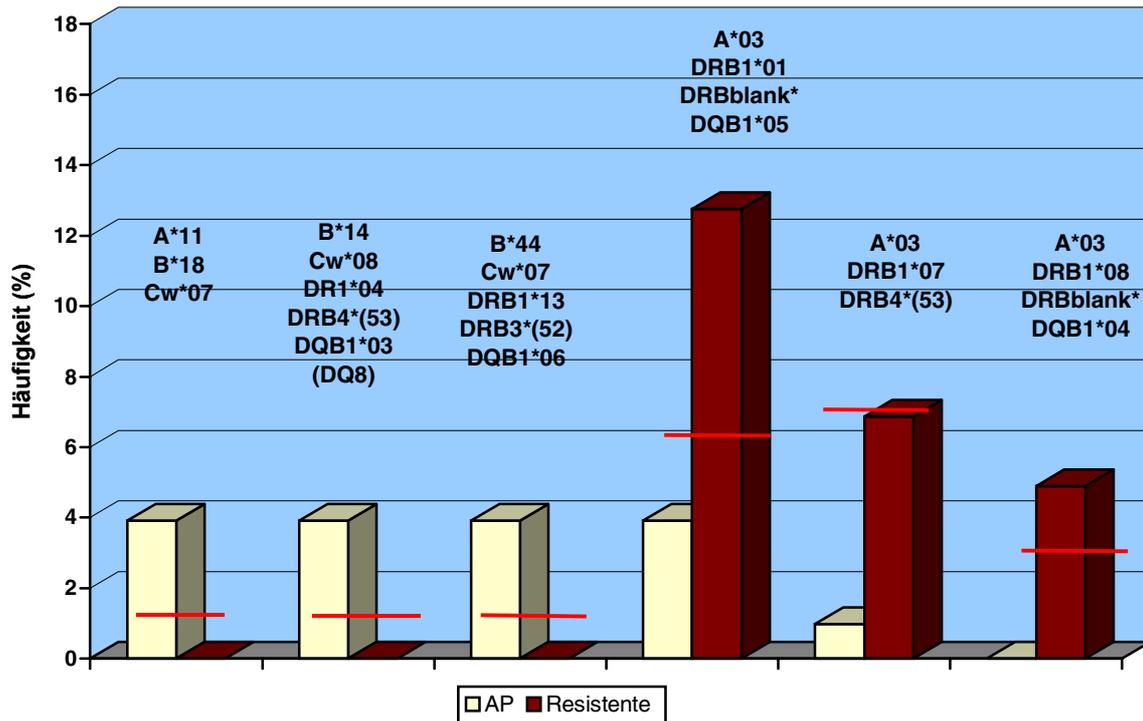


Abb. 7: Darstellung der Verteilung der mit AP assoziierten HLA Kombinationen (Die Normalverteilung ist jeweils mit einem Querbalken „—“ gekennzeichnet)

Vergleich der Frequenzen von HLA-Antigen-Kombinationen unter Patienten mit Parodontitis (RPP + AP) und parodontitisfreien Probanden („Resistente“)

Auch für die Gesamtgruppe der an AP und RPP erkrankten Patienten bestehen im Vergleich zu den Probanden ohne Parodontitis signifikante Frequenzunterschiede bei den Zweifachkombinationen (Tabelle 21). Dabei zeigen sich, ähnlich wie in der Tabelle 20 Unterschiede, die entweder auf Schwankungen in einer der Untersuchungsgruppen oder auf Schwankungen in beiden Gruppen zurückzuführen sind. In der Parodontitis-Gesamtgruppe (AP + RPP) konnten, bis auf eine Ausnahme (HLA-A*11 : Cw*07 : B*18), keine der in der AP-Gruppe auffälligen Mehrfachkombinationen bestätigt werden.

Tab.21: Häufigkeit kombiniert auftretender HLA-Merkmale unter Patienten mit Parodontitis (AP + RPP) und „Resistenten“

↑↓ - tendenzielle, nicht signifikante Erhöhung oder Verminderung

↑↓ - signifikante Erhöhung oder Verminderung

HLA-	AP + RPP (N = 152)		Resistente (N = 102)		RR	Chi ²	p _c
	n	%	n	%			
A*02 :A*03	6	3,95 ↓	12	11,76	0,34	5,665	0,022
DRBblank : DRBblank	1	0,66 ↓	5	4,90	0,18	4,767	0,040
DQ*02 : DQ*07	14	9,21	2	1,96 ↓	4,70	5,435	0,015
A*01 : B*40 (B60)	6	3,95	0	0,00 ↓	-----	4,124	0,044
A*11 : B*18	6	3,95 ↑	0	0,00	-----	4,124	0,044
A*03 : DR*01	5	3,29	13	12,75 ↑	0,26	8,288	0,006
A*03 : DR*08	1	0,66	6	5,88 ↑	0,16	6,217	0,018
A*03 : DQ*04	1	0,66	5	4,90 ↑	0,18	4,767	0,040
A*03 : DQ*05	8	5,26	14	13,73 ↑	0,38	5,525	0,023
A28 : DQ*06	10	6,58	1	0,98 ↓	6,71	4,618	0,027
B*08 : Cw*03	9	5,92 ↑	1	0,98 ↓	6,04	3,940	0,042
B*14 : Cw*08	6	4,44	0	0,00 ↓	-----	4,124	0,044
B*44 : DR*13	12	7,89 ↑	2	1,96	4,03	4,127	0,035
B*35 : DQ*05	10	6,58	15	14,71 ↑	0,45	4,543	0,038
Cw*03 : DR*03	9	5,92	1	0,98 ↓	6,04	3,940	0,042
DR*11 : DQ*02	9	5,92 ↑	1	0,98 ↓	6,04	3,940	0,042

Dabei zeigen sich, ähnlich wie in der Tabelle 20 Unterschiede, die entweder auf Schwankungen in einer der Untersuchungsgruppen oder auf Schwankungen in beiden Gruppen zurückzuführen sind.

Vergleich der Kombinationen des ancestralen Haplotyps HLA-Cw*08 : B*14 mit Klasse II-Merkmalen (DRB1*) zwischen AP-Patienten, IgAD-Probanden, Blutspendern, „Resistenten“ und RPP-Patienten

Durch einen Vergleich zwischen den verschiedenen Untersuchungsgruppen, mit welchem der Klasse II-Merkmale des DRB1*-Lokus der ancestrale Haplotyp HLA-Cw*08 : B*14 Kombinationen eingeht, ergaben sich die in Tabelle 22 dargestellten Häufigkeitsverteilungen.

Tab. 22: Häufigkeit der Kombinationen des ancestralen Haplotyps HLA-Cw*08 : B*14 mit Klasse II-Merkmalen (DRB1*)

Kombination	AP (N=102)		IgAD (N=80)		Blutspender (N=157)		Resistente (N=102)		RPP (N=50)	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
mit DRB1*01	2	1,96	10	12,50	3	1,91	0	0,00	1	2,00
mit DRB1*04	4	3,92	3	3,75	0	0,00	0	0,00	0	0,00
mit DRB1*07	0	0,00	0	0,00	1	0,64	0	0,00	0	0,00
mit DRB1*13	0	0,00	1	1,25	3	1,91	0	0,00	0	0,00
mit DRB1*15	0	0,00	1	1,25	1	0,64	0	0,00	0	0,00
Gesamt	6	4,90	15	18,75	8	5,09	0	0,00	1	2,00

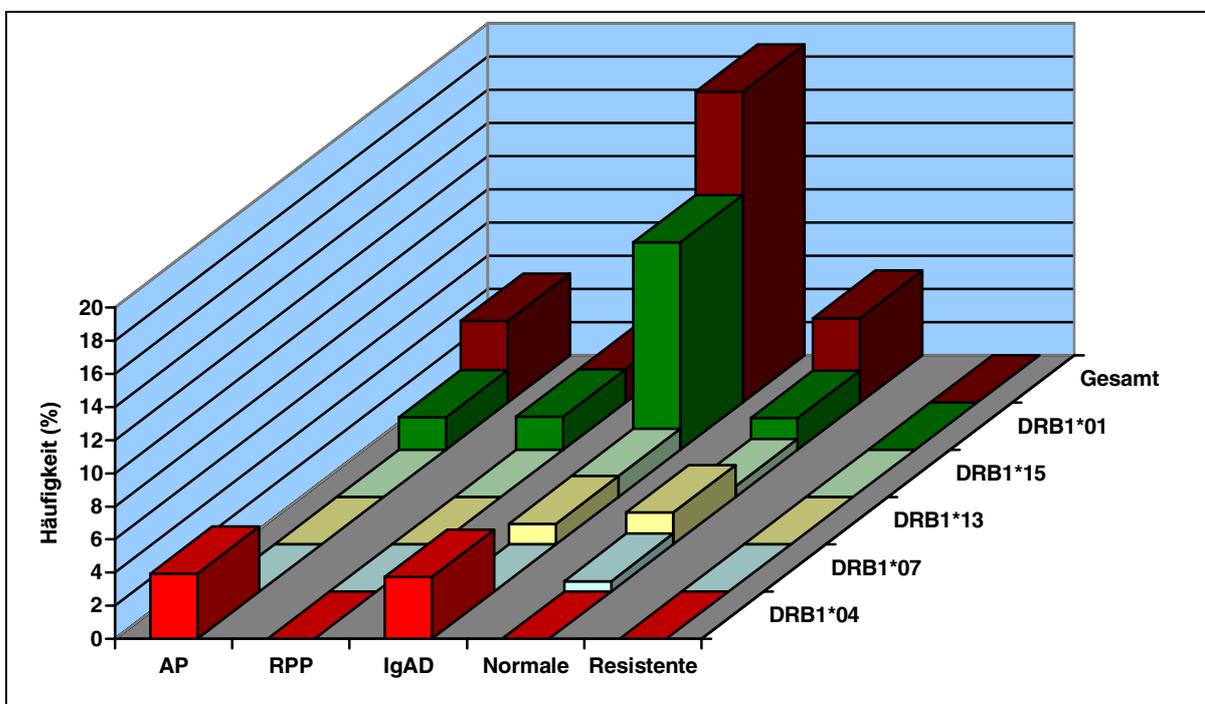


Abb. 8: Häufigkeit der Kombination des HLA-Haplotypes Cw*08 : B*14 mit HLA-DRB1*

5. Diskussion

Auf Grund einer Reihe internationaler Studien kann ein Einfluß bestimmter HLA -Merkmale auf entzündliche Parodontitisformen angenommen werden. Jedoch sind die Ergebnisse dieser Untersuchungen nicht immer übereinstimmend (Übersicht in Tabelle 1). Ursächlich dafür könnte die unterschiedliche ethnographische Herkunft und diagnostische Zusammensetzung der Untersuchungsgruppen sein, wobei in Deutschland bisher nur eine Untersuchung kaukasoider Patienten in der Literatur zu finden ist (134). Diese Untersuchung ausschließlich an Patienten mit profunden Parodontopathien konnte vor über 10 Jahren nur mit serologischer Technik durchgeführt werden, während Daten über AP und RPP bisher von deutschen Patienten nicht vorliegen. Da die verschiedenen Patientengruppen zu unterschiedlichen Zeiten (von 1975 bis 1999) HLA-typisiert worden sind, ergeben sich aus heutiger Sicht auch methodische Differenzen (Serologie vs. molekularbiologische Methoden). Deshalb sollten in der vorliegenden Arbeit im Rahmen einer größer angelegten Studie an deutschen Parodontitispatienten (Arbeitsgruppe Dr. H.K.G. Machulla „Orale Immunologie“), neben RPP-Patienten (221) auch eine Gruppe an AP erkrankten Patienten mit modernen molekularbiologischen Methoden untersucht werden.

Patienten und Kontrollgruppen

Als besonderes Charakteristikum dieser Arbeit sollte hervorgehoben werden, dass die Patienten mit parodontitisfreien Kontrollprobanden ohne nachgewiesene HLA-assoziierte Allgemeinerkrankungen, nicht aber nur mit diesbezüglich diagnostisch undifferenzierten Blutspendern als HLA-Normalverteilung verglichen werden. Durch diese Referenzgruppe ergab sich, wie vermutet, ein besserer Kontrast zwischen Patienten und „Kontrollen“ als es in vielen vorausgehenden Studien der Fall war.

Auch wurde die Kontrastierung der zu vergleichenden Gruppen in der vorliegenden Arbeit dahingehend verschärft, dass die Altersgrenze der bis dahin parodontitisfreien Probanden (in der vorliegenden Arbeit als „Resistente“ bezeichnet) gegenüber allen anderen vorausgehenden Studien (Übersicht in Tab. 1) deutlich angehoben und speziell Probanden mit einer schlechten Oralhygiene (API und SBI <30%) ausgewählt wurden (Tab. 5a), wobei ebenso die Gesamtzahl der typisierten „Resistenten“ (N= 102) in der vorliegenden Untersuchung deutlich größer als in den bisherigen Studien ist. So wählten z. B. Goteiner et al. 1984 als parodontitisfreie Vergleichsgruppe 25 Probanden im durchschnittlichen Alter von 49,9 Jahren (83), Amer et al. 1988 30 „jüngere“ und 40 „ältere“ in ihrer Altersstruktur nicht genauer definierte (5), Alley et al. 1993 15 „jüngere“ Probanden (4) und Bonfil et al. 1999 ebenso nur 55 parodontitisfreie Blutspender „älter als 20 Jahre“ (26) .

Da bei sehr alten parodontitisfreien Probanden das Vorliegen einer Resistenz gegenüber der Entstehung einer Parodontitis im Hinblick auf die altersgruppenbezogenen epidemiologischen

Daten (6,73,74,77,93,116,117,127,138,145,146,175,188) anzunehmen ist, haben wir in der vorliegenden Untersuchung zusätzlich aus der Gesamtgruppe der „Resistenten“ eine Untergruppe von 29 Probanden über 70 Jahre gebildet, um die in den statistischen Vergleichen auffälligen Frequenzunterschiede zwischen den AP-Patienten und den parodontitisfreien Probanden in ihrer grundlegenden Tendenz zu überprüfen und eine weitestgehende Resistenz der zum Untersuchungszeitpunkt parodontitisfreien Gesamtgruppe annehmen zu können. Diese Annahme wird durch die annähernde Kongruenz der Werte beim Vergleich der AP-Patienten mit den parodontitisfreien Probanden und der Gruppe der über 70-jährigen „Resistenten“ zumindest erhärtet, wie aus den Abbildungen 5 und 6 ersichtlich ist.

Weiterhin war es im Rahmen der Arbeitsgruppe Dr. H.K.G. Machulla möglich, die bereits von Stein (221) vorgestellte Gesamtgruppe von Parodontitispatienten (N = 135), bestehend aus den untersuchten RPP-Patienten und Patienten mit Erwachsenenparodontitis, auf 155 Patienten zu vergrößern und erneut auszuwerten. Die Frequenzen der HLA-Merkmale in der Gruppe der Blutspender entsprachen denen von bereits publizierten Normalverteilungen (2,13,15,18,41,122,123,139,194,247).

Auf einen direkten Vergleich zwischen der Gruppe mit AP bzw. RPP+AP und der Normalpopulation für eine Aussage über das Erkrankungsrisiko wurde deshalb verzichtet, da die Gruppe der Blutspender eine inhomogene Population darstellt, deren Probanden nicht als parodontitisfrei bezeichnet werden können. Das bedeutet, unter der Normalpopulation sind statistisch sowohl gesunde als auch ein Großteil parodontal erkrankter Personen vorhanden, wobei unter letzteren vorwiegend Patienten mit plaqueverursachter Gingivitis, Erwachsenenparodontitis, aber auch vereinzelt mit frühbeginnenden Parodontitiden zu erwarten sind (145,146). Somit konnte die Normalpopulation vielmehr als Aussage dafür herangezogen werden, ob ein Merkmal eine Abweichung innerhalb der Patientengruppe, der Resistenzgruppe oder innerhalb beider Gruppen aufweist, um zu erkennen, ob es sich bei einer HLA-Frequenzabweichung um eine Verringerung oder eine Erhöhung handelt.

Befunde an HLA-A-Allelen

Die für die RPP bei Kaukasiern von einigen Autoren beschriebene Erhöhung der Merkmale HLA-A9 (A*23/24) bzw. A*24 und A28 (A*68/69) (s. Tabelle 1), die auch bei deutschen Kaukasiern von Marggraf et al. 1983 (134) gefunden wurden, sowie auch die Verringerung von HLA-A*02 (s. Literaturübersicht in Tabelle 1), können in der vorliegenden Arbeit nicht bestätigt werden, da in dieser Studie Patienten mit AP, nicht aber mit einer EOP untersucht worden sind. Beide Parodontitisformen wurden hier differentialdiagnostisch eindeutig getrennt. Jedoch konnte eine nicht signifikante Verringerung von HLA-A*02 (A2) bei RPP-Patienten gegenüber „Resistenten“ in der vorliegenden Gesamtstudie der Arbeitsgruppe Dr. H.K.G. Machulla gefunden werden (188). Eigentümlicherweise ergab sich in der Gruppe der männlichen „Resistenten“ gegenüber den männlichen AP-Patienten eine nicht signifikante

sowie gegenüber den weiblichen „Resistenten“ eine signifikante Verringerung des Merkmals HLA-A*02. Das würde bedeuten, dass HLA-A*02-positive männliche Probanden gegenüber der AP weniger resistent als die weiblichen Patienten zu sein scheinen. Im Kontrast zu den Befunden von Terasaki (229) und Kaslick (103), die eine Verringerung von HLA-A*02 bei AP-Patienten mitteilten, konnten in der vorliegenden Studie weder gegenüber den „Resistenten“ noch gegenüber den Blutspendern eine wesentliche Abweichung konstatiert werden. Es zeigte sich sogar, dass bei einem Vergleich von männlichen AP-Patienten mit männlichen „resistenten“ Probanden HLA-A*02 bei letzteren verringert war, während es bei weiblichen Patienten im Vergleich mit weiblichen „Resistenten“ nur dezent erhöht auftrat. Deshalb kann geschlußfolgert werden, dass männliche „Resistente“ mit dem Merkmal HLA-A*02 wahrscheinlich eine verringerte Resistenz gegenüber Parodontitis aufweisen. Im Vergleich der Häufigkeiten der HLA-Merkmale unter den Patienten mit AP mit denen unter den parodontitisfreien Probanden wurde für die AP-Patienten eine positive Assoziation zu den Merkmalen HLA-A*11 und -A*33, sowie eine negative Assoziation zu HLA-A*03 nachgewiesen.

Außerdem ergab sich eine signifikante Erhöhung des Merkmals HLA-A*03 bei den „Resistenten“ wie auch bei der Subgruppe der über 70-jährigen Resistenten gegenüber der verringerten Frequenz bei AP-Patienten (die Normalverteilung bei Blutspendern liegt etwa in der Mitte zwischen beiden Gruppen). Die Erhöhung von HLA-A*03 zeigt keine Geschlechtsspezifität, da bei beiden Geschlechtern dieses Merkmal bei den „Resistenten“ häufiger auftrat. Interessanterweise wiesen Bucin et al. (32) einen möglichen Resistenzmechanismus dadurch nach, dass Lymphozyten von HLA-A*03 positiven Personen schneller durch PHA stimuliert werden, als die von HLA-A*03 negativen Probanden. Unter Voraussetzung einer bakteriellen Beteiligung in der Pathogenese entzündlicher Parodontopathien könnte das im Fall der vorliegenden Studie bedeuten, dass HLA-A*03 positive Probanden aufgrund ihrer höheren Reaktivität gegenüber immunogenen Reizen, wie z.B. Bakterienoberflächenpolysaccharide oder Lektine (PHA), über eine höhere Resistenz verfügen als diejenigen, die kein HLA-A*03 exprimieren. Eine Beziehung zwischen dem intrazellulären Eisenpool und der Expression von Rezeptoren durch PHA stimulierte T-Zellen, wie z.B. der für die Immunantwort essentiellen IL-2 Rezeptoren und des Transferrinrezeptors (171,172) könnte damit im Zusammenhang stehen, da HLA-A*03 bekanntlich auch Marker der Eiseneinlagerungserkrankung idiopathische Hämochromatose ist (208,209). Wie sich zeigte, wirkte diese für HLA-A*03 festgestellte erhöhte Resistenz in Kombination mit den Merkmalen HLA-DRB1*01 und -DQB1*05 sowie mit den Merkmalen des Haplotypes HLA-DRB1*08 und -DQB1*04. Dabei zeigte sich jedoch eindeutig, dass offenbar der Marker HLA-A*03 für die Widerstandsfähigkeit gegenüber der Entstehung einer Parodontitis von größerer Bedeutung als der dieses Merkmal tragende Haplotyp ist.

Andererseits trat bei AP-Patienten und in der Parodontitisgruppe (AP+RPP) das Merkmal HLA-A*33 gegenüber den „Resistenten“ signifikant häufiger auf, wobei es unter den „Resistenten“ und in der Subgruppe der über 70-jährigen Resistenten überhaupt nicht nachzuweisen war. Dies zeigt eine signifikante Assoziation des Merkmales HLA-A*33 mit der AP. Das bestätigt sich auch darin, dass dieses Merkmal bei der RPP nur halb so häufig auftrat (221), während es bei den „Resistenten“ überhaupt nicht nachgewiesen werden konnte. Dabei zeigte sich keine geschlechtsspezifische Besonderheit für dieses Merkmal.

Ebenso wie für das Merkmal HLA-A*33 ergab sich bei den AP-Patienten für HLA-A*11 eine signifikante Erhöhung der Häufigkeit gegenüber den „Resistenten“, was sich, allerdings nicht signifikant, im Frequenzunterschied des HLA-Merkmals A*11 in einer Gegenüberstellung der Gruppe der RPP-Patienten zu den „Resistenten“ widerspiegelt (221). Die gleiche Tendenz zeigte sich beim Vergleich mit der Subgruppe der über 70-jährigen Resistenten. Außerdem trat eine signifikant positive Assoziation zu HLA-A*11 bei der Gesamtgruppe der an Parodontitis (RPP+AP) erkrankten Patienten (21/152, 13.82% vs. 6/102, 5.88%, RR= 4.044, $p_Y= 0.044$) auf, so dass man HLA-A*11 als Anfälligkeitsmerkmal betrachten könnte. Hierbei zeigte sich, dass unter den HLA-A*11-positiven Probanden nicht ein männlicher Proband resistent war. Eine Assoziation des HLA-Merkmals A*11 zu anderen Krankheiten ist nicht bekannt.

Das als potentieller Risikofaktor für akute optische Neuropathie „Birdshot Chorioretinopathie“ (124,180) assoziierte HLA-Merkmal A*29 ist bei den „Resistenten“ signifikant verringert. Auch beim Vergleich mit der Subgruppe der über 70-jährigen Resistenten wird dieser Frequenzunterschied in der Tendenz bestätigt. Dieses Phänomen tritt ebenso im Vergleich mit den RPP-Patienten nicht signifikant und mit der Gesamtgruppe an Parodontitis erkrankter Patienten (RPP+AP) signifikant (1/102, 0.98% vs. 11/152, 7.24%, RR= 5.308, $p_F= 0.017$) auf. Dabei zeigte sich, dass keine weibliche Person mit HLA-A*29 frei von Parodontitis war. Ebenso wie HLA-A*11 kann man HLA-A*29 als ein Anfälligkeitsmerkmal für die Parodontitis betrachten.

„Resistente“ weisen eine nicht signifikant größere Häufigkeit von HLA-A*31 und damit verbunden HLA-A*30/31 auf, wobei letztere generell mit einer höheren Resistenz gegenüber entzündlichen Parodontopathien assoziiert zu sein scheinen, da sie einerseits bei den „Resistenten“ auch gegenüber den Patienten der Parodontitisgruppe (AP+RPP) sogar signifikant häufiger (6/152, 3.95% vs. 12/102, 11.76%; RR= 0.34, $p_Y= 0.022$) und andererseits bei den RPP-Patienten überhaupt nicht auftreten (0/50, 0.00% vs. 12/102, 11.76%; RR= 0.08, $p_F=0.007$). Ebenso bestätigt sich dieser Trend, jedoch in einer etwas abgeschwächten Form, beim Vergleich der Subgruppe der über 70-jährigen Resistenten mit den AP-Patienten. Möglicherweise haben Probanden mit HLA-A*30/31 generell eine erhöhte Widerstandsfähigkeit gegenüber entzündlichen Parodontopathien, wobei auch keine

wesentlichen geschlechtsspezifischen Unterschiede festgestellt werden konnten. Dafür spricht ebenfalls, dass in der Gesamtstudie der Arbeitsgruppe Dr. Machulla „Orale Immunologie“ diese Merkmale bei den aggressiven Parodontitisformen (RPP) überhaupt nicht aufgetreten sind (188,221). Mit der aufgrund der relativ kleinen Probandenzahl gebotenen Vorsicht kann deshalb angenommen werden, dass zusätzlich zu einer erhöhten Resistenz die Suszeptibilität gegenüber Parodontopathien bei Probanden mit den HLA-Merkmalen A*30 und A*31 verringert ist. Das könnte ein Hinweis darauf sein, dass, wenn man die beiden Erkrankungsformen vergleicht, bei der RPP eine erhöhte Resistenz gepaart mit einer erhöhten Abwehrfähigkeit gegenüber Parodontopathien auftritt, während bei AP eine höhere Resistenz durch die verminderte Abwehrfähigkeit teilweise kompensiert wird. HLA-A*31 scheint auch für ein besseres Überleben bei Chronisch Myeloischer Leukämie (CML) verantwortlich zu sein (47). Erstaunlich ist jedoch, dass HLA- A*31 bei adulter Rheumatoid- Arthritis ein Anfälligkeitsmerkmal (200) sowie für Kehlkopfkrebs ein Früheerkrankungsmerkmal darstellen soll (113). Eine Verbindung zwischen Rheumatoid-Arthritis und Leukämie wurde bereits vermutet (43,60).

Andererseits ist bekannt, dass die HLA-Merkmale A*03 und A*30 einer kreuzreagierenden Gruppe angehören, so dass zu einem gewissen Grade ein gleichsinniger Effekt auf das ätiologische Geschehen nicht verwunderlich scheint.

Befunde an HLA-B-Allelen

Die unter den HLA-B-Merkmalen festgestellten Abweichungen können wie folgt diskutiert werden: die im Vergleich zu den „Resistenten“ verminderte Anzahl von HLA-B*39 positiven AP-Patienten könnte bedeuten, dass dieses Merkmal für eine gute Abwehrfähigkeit solcher Individuen gegen Parodontopathien verantwortlich gemacht werden kann, was sich vor allem beim Vergleich der AP- Patienten mit den über 70-jährigen Resistenten aufgrund des dann signifikanten Unterschieds vermuten läßt. Hinsichtlich der fehlenden Signifikanz dieser Abweichung sollte dies jedoch nur als Hinweis für weitere diesbezügliche Untersuchungen gewertet werden, zumal Assoziationen zu anderen Infektionskrankheiten bisher nicht bekannt sind. Jedoch könnte man die Abweichungen der Merkmale HLA-B*14 und -B*27 als ernst zu nehmenden Hinweis dafür auffassen, dass eine Beziehung zur Auslösung einer Parodontitis bestehen kann. Diese Abweichungen sind aber, bezogen auf die Normalverteilung der Blutspender, nur in der Gruppe der „Resistenten“ präsent. Dabei hat es den Anschein, dass offenbar die HLA- B*27-positiven Frauen resistenter als die Männer sind. Interessanterweise zeigte sich bei dem in der Gesamtpopulation unauffälligen, mit HLA-B*27 kreuzreagierenden HLA-B*13 eine signifikante Erhöhung bei den männlichen „Resistenten“. Auch bei dem mit HLA-B*13 und -B*27 verwandten Merkmal HLA-B*40 zeigten sich Abweichungen in der Frequenz, indem dieses Merkmal bei männlichen „Resistenten“ im Vergleich zu den weibliche Resistenten bzw. männlichen Patienten gar nicht auftrat. Solche HLA-assoziierten

Geschlechtseffekte sind ebenso für andere Erkrankungen beschrieben worden (62,63,97,132). Da HLA-B*14 positive Probanden in der Resistenzgruppe gar nicht auftraten ($P_F = 0.014$), kann eine stark verminderte Resistenz bei solchen Individuen angenommen werden. Dieser Fakt bestätigt sich auch in der aus AP und RPP-Patienten zusammengefassten Gruppe der Parodontitis-Patienten (7/152, 4.61% vs. 0/102, 0.00%; $RR = 10.08$, $p_F = 0.026$). Da in der parallelen Studie der Arbeitsgruppe Dr. H.K.G. Machulla (221) RPP-Patienten keine wesentliche Abweichung der HLA-B*14-Frequenz von der der „Resistenten“ aufgewiesen haben und nur tendenziell in Richtung der Normalverteilung abgewichen sind (1/50, 2.00% vs. 0/102, 0.00%; $RR = 6.09$, $p_c > 0.050$;) könnte vermutet werden, dass Parodontitispatienten mit dem Marker HLA-B*14 eher zur Ausprägung einer AP als zur Ausprägung einer RPP neigen. Interessanterweise existiert auch eine Assoziation zwischen HLA-B*14-Haplotypen und selektiver IgA-Defizienz (44,49).

In Anbetracht dessen wäre hier ebenfalls eine Verbindung zwischen der Entstehung von Parodontopathien und dem HLA-Typ denkbar, da das IgA als Immunglobulin der Schleimhaut auch in der oralen Immunologie eine Rolle bei der Abwehr von bakteriellen Noxen spielen könnte. Außerdem ist bereits ein Einfluß des HLA-Typs auf die Immunglobulinkonzentration (IgG, IgM, IgA) im Serum nachgewiesen worden (148). Andererseits ist auch bekannt, dass die Stärke der Immunreaktivität gegen bestimmte bakterielle Antigene unter anderem vom HLA-Typ abhängt (33,84,174), wobei ebenso Kreuzreaktivitäten zwischen mikrobiellen und viralen Erregern und HLA-Merkmalen im Sinne einer Mimikry (10,17,51,59,67,68,69,94,130,174,179,183,184,232) bestehen können. Bestimmte Leitkeime werden mit der Entstehung der Parodontitis (210,211,212,213) und der RPP (159,167,181) in Verbindung gebracht, wobei neuere Untersuchungen auf Unterschiede in der immunologischen Abwehr vor allem zwischen Patienten mit aggressiven Parodontitisformen und parodontal gesunden Patienten hinweisen (5,26,72,106,112,160,207,225,226). Interessanterweise zeigte sich bei genauerer Auswertung von HLA-B*14-positiven Haplotypen, dass im Gegensatz zu den Blutspendern, „Resistenten“ und den RPP-Patienten bei den AP-Patienten die ungewöhnliche Kopplung des ancestralen Haplotyps (HLA-Cw*08 : B*14) mit dem Klasse II-Merkmal HLA-DRB1*04 auftritt, während dieser HLA-Haplotyp bei den „Resistenten“ völlig zu fehlen scheint. Normalerweise (Blutspender, RPP-Patienten) ist der ancestrale Haplotyp wie folgt zusammengesetzt (76): HLA-Cw*08 : B*14 : (DRB1*01 : DRBblank* : DQB1*05). Erwähnenswert ist eine geringfügige Verringerung von HLA-B*51 bei den AP-Patienten im Vergleich zu den „Resistenten“ (7.84% vs. 11.76%; $NV = 11.46\%$), da diese auch bei den RPP-Patienten (6.00% vs. 11.76%; $NV = 11.46\%$) zu beobachten war. Dies könnte damit im Zusammenhang stehen, dass HLA-B*51 häufig mit dem Merkmal HLA-A*03 kombiniert (0.00% vs. 3.92%) aufgetreten ist, das bei den AP-Patienten gegenüber den „Resistenten“ signifikant verringert ist. Diese Verringerung von HLA-B*51 könnte eine Folge dessen sein, dass daran besonders

die männlichen AP-Patienten beteiligt sind. Außerdem scheinen HLA-B*40-positive Männer im Gegensatz zu Frauen signifikant keine Resistenz gegenüber AP aufzuweisen.

Die unter den HLA-Cw-Merkmalen festgestellten Abweichungen können wie folgt diskutiert werden: Interessanterweise zeigte sich bei HLA-Cw*08 die gleiche Konstellation wie bei HLA-B*14, das heißt, dass die „Resistenten“ (0/102, 0.00%; NV= 5,10%) dieses Merkmal signifikant nicht aufwiesen, während es bei den AP-Patienten (6/102, 5.88%; NV= 5.10%) und in der Parodontitisgesamtgruppe (7/152, 4.61%; NV= 5.10%) der Normalverteilung entsprach. Dies deutet darauf hin, dass HLA-Cw*08 und -B*14 kombiniert auf einem (Haplotyp) bzw. auf den beiden Chromosomen 6 (Kombination) der gleichen Person tretend, mit diesem Effekt assoziiert sein könnten. Das wiederum würde bedeuten, dass die Probanden aus der Normalpopulation durch diesen HLA-Typ für eine Erkrankung an AP prädestiniert werden. Auch scheint dieser HLA-Typ weniger charakteristisch für eine RPP (2.00%), als für eine AP zu sein (5.88%).

In diesem Zusammenhang soll erwähnt werden, dass HLA-Cw*08 : B*14 bekanntlich als einer der ancestralen Haplotypen der IgA-Defizienz angesehen wird (76), allerdings in Kombination mit dem HLA-Klasse II-Merkmal DRB1*01. Gerade das scheint aber bei den AP-Patienten offenbar nicht typisch zu sein, da bei diesen, ähnlich wie bei Blutspendern (3/8, 37.5%) und Probanden mit HLA-B*14 : Cw*08 (2/6, 33.3%), die Kombination mit HLA- DRB1*01 nur zu einem Drittel auftritt. Das ist nicht verwunderlich, da ein nicht unerheblicher Teil der Blutspender (durchschnittliches Alter: 29 Jahre \pm 10) bereits eine AP haben dürfte, was sich aus der für die Parodontitis bekannten Prävalenz in dieser Altersgruppe (Abb. 1) schlußfolgern lässt (146). Bei den „Resistenten“ trat dieser Haplotyp jedoch überhaupt nicht auf. Deshalb ist der Gedanke naheliegend, dass die Entstehung eine Reihe von Erkrankungen durch den ancestralen Haplotyp HLA-Cw*08 : B*14 : DRB1*01 begünstigt werden kann, deren Ätiologie ursächlich mit bakteriellen Infektionen der Schleimhäute und der Mundhöhle in Verbindung gebracht werden (20,27,55,142,163 230,236,243,255).

Erwartungsgemäß konnte der ancestrale Haplotyp HLA-Cw*08 : B*14 : DRB1*01 bei einer retrospektiven Analyse der Untersuchung einer Gruppe IgA-defizienter Probanden durch die Arbeitsgruppe Dr. Machulla (131,202) wesentlich häufiger (10/15, 66.7%) als bei gesunden Blutspendern (3/8, 37.5%) bzw. bei den „Resistenten“ (0.00%) nachgewiesen werden (siehe Abbildung 8). Auffällig in dieser Untersuchung ist, dass bei zwei Dritteln der AP-Patienten mit dem ancestralen Haplotyp Cw*08 : B*14 dieser nicht mit dem HLA-Klasse II-Merkmal HLA-DRB1*01, sondern mit HLA-DRB1*04 kombiniert ist (4/6, 66.7%). Interessanterweise tritt diese Kombination auch bei den oben erwähnten IgAD-Probanden auf (3/15, 20.00%). Sie scheint ebenfalls ungünstig zu sein, da sie ausschließlich bei den AP-Patienten und IgAD-Probanden, nicht aber bei den Blutspendern und „Resistenten“ zu finden ist. Zur Erklärung wäre in diesem Zusammenhang eine Besonderheit innerhalb der HLA-Klasse III-Merkmale

denkbar, wie man sie z. B. analog bei IgAD-Probanden in Form einer Häufung von Deletionen oder Duplikationen im Genbereich des Komplementfaktors C4 und der 21-Hydroxylase festgestellt hat (250). Insgesamt gesehen zeigt sich, dass HLA-Cw*08 : B*14 als der ancestrale Haplotyp, egal ob mit HLA- DRB1*01 oder HLA- DRB1*04 (90,220,233) kombiniert, hier fast ausschließlich nur bei den AP-Patienten und IgAD-Probanden auftritt (19/22, 86.4%). Weiterhin soll nicht unerwähnt bleiben, dass weitere Kombinationen des ancestralen Haplotyps HLA-Cw*08 : B*14 bei den IgAD-Probanden (je 1x mit HLA-DRB1*13) sowie bei den Blutspendern (3x HLA-DRB1*13, je 1x mit HLA-DRB1*07 und HLA-DRB1*15) aufgetreten sind. Weder die aufgezählten noch weitere Kombinationen mit dem ancestralen Haplotyp traten bei den AP-Patienten auf.

HLA-DRB1*04 (DR4) ist bekanntlich vor allem mit der Rheumatoid- Arthritis (RA) assoziiert (Übersicht in 90,233). Interessanterweise gibt es auch Mitteilungen, dass Rheumatoid- Arthritis (RA) und Parodontitis in Beziehung stehen (85,140,235). Dafür spricht, dass gerade HLA-DRB1*04 mit dem ancestralen Haplotyp HLA-Cw*08 : B*14 assoziiert erscheint. Offenbar erklärt das die enge Beziehung zwischen der Ausprägung einer Rheumatoid- Arthritis und der Anfälligkeit gegenüber Parodontitis (140) oder umgekehrt (unter Parodontitispatienten hatten 3.95% RA, unter parodontal gesunden Probanden nur 0.66%; Patienten mit RA hatten 62.5% fortgeschrittene Parodontitis).

Befunde an Klasse II-Merkmalen

Es zeigt sich also, dass bei den AP-Patienten nur Abweichungen von HLA-Klasse I-Merkmalen aufgetreten sind, während bei den HLA-Klasse II-Merkmalen keine bemerkenswerten Auffälligkeiten zu verzeichnen waren. Vergleicht man jedoch die AP- Patienten mit der zahlenmäßig kleinen Subgruppe der über 70-jährigen Resistenten, so zeigen sich stärkere, aber nicht signifikante Kontraste vor allem bei den Frequenzunterschieden der HLA-Klasse II-Merkmale DRBblank*, DRB1*08 und DQB1*04, die denen bei den parallel untersuchten RPP-Patienten ähnlich sind (221). Beides könnte ein Hinweis darauf sein, dass analog zur RPP bei der Entstehung der AP autoimmune Mechanismen eine Rolle spielen können, da die Autoimmunerkrankungen mehr mit den HLA-Klasse II-Merkmalen assoziiert sind (90,248). Auch ist bekannt, dass die immunstimulatorischen T-Zellen durch HLA-Klasse II- und die immunsuppressiv wirksamen T - Zellen durch HLA-Klasse I-Merkmale aktiviert werden können (58,141). In diesem Zusammenhang ist es zu erwarten, dass die eine Parodontitis induzierenden Bakterien als externes Antigen über bestimmte HLA-Klasse II-Merkmale besonders gut oder schlecht den immunstimulatorischen CD4⁺T-Zellen präsentiert werden und damit eine besondere Immunantwort gegen diese Bakterien auslösen oder nicht auslösen. Dies könnte z. B. über die Allele der HLA-Klasse II-Supertypen (HLA-DRB3/4/5 bzw. DR52/53/51) vermittelt werden, die ja, wie in dieser Arbeit gezeigt, offenbar resistenzvermittelnd sein könnten. Das heißt, wenn sie vorhanden sind, können sie mit den T-

Zellrezeptoren der immunstimulatorischen CD4⁺T-Zellen interagieren (Resistenzgruppe) oder, falls nicht vorhanden, nicht interagieren (Parodontitispatienten). Andererseits wäre eine Beeinflussung der Immunregulation in der Form denkbar, dass antigene Determinanten von Bakterien, die mit Parodontitis assoziiert sind, durch die durch Bjorkman et al. (21) und Brown et al (31) nachgewiesenen Paratope der Klasse I- bzw. Klasse II-Merkmale präsentiert werden können oder nicht (11, 36,86).

Verteilung der Homozygotien

Wenn innerhalb eines HLA-Locus kein zweites HLA-Merkmal gefunden wurde, so wurde das betreffende HLA-Merkmal als homozygot bewertet und die Häufigkeit seines homozygoten Auftretens ermittelt.

Unter den Homozygotien war auffällig, dass HLA-DRB5* (DR51) bei den AP-Patienten häufiger als erwartet und häufiger als bei den „Resistenten“ homozygot auftrat, wobei die „Resistenten“ eine Homozygotie dieses Merkmals weniger häufig als erwartet aufwiesen. HLA-DRB5* (DR51) scheint ein Marker für erhöhte Anfälligkeit gegenüber der Erwachsenenparodontitis zu sein, da die Häufigkeit bei den „Resistenten“ der der Blutspender entspricht (4.90% vs. 0.98%, NV= 1.27%). Andererseits waren bei den „Resistenten“ Homozygotien von DRBblank* signifikant erhöht. Von Interesse könnte in diesem Zusammenhang die Beobachtung sein, dass in der Parallelstudie der Arbeitsgruppe Dr. H.K.G. Machulla zur RPP (221) HLA-DRBblank* (non DRB3/4/5) als Einzelmerkmal ebenfalls im Sinne einer höheren Resistenz bzw. verringerten Anfälligkeit auffällig wurde. Die Vermutung liegt nahe, dass mit dem Fehlen der HLA-Supergene (DRB3/4/5) eine höhere Resistenz oder geringere Anfälligkeit gegen Parodontitiden gegeben sein kann. Das zeigt sich darin, dass alle untersuchten Gruppen (AP, RPP, AR+RPP) gegenüber der parodontitisfreien Gruppe eine deutlich verringerte bzw. keine Homozygotie von HLA-DRBblank* gezeigt haben. Dabei handelt es sich offenbar um einen Resistenzfaktor, da die Normalverteilung unter parodontologisch undifferenzierten Blutspendern mehr den Werten der Patientengruppen entspricht (3/157, 1.91%). Das hieße also, dass Probanden, die keinen der Supertypen (HLA-DRB3/4/5) aufweisen, offenbar weniger anfällig gegenüber einer Erwachsenenparodontitis sind. Dieser Mechanismus tritt offenbar bei der Erwachsenenparodontitis nur bei Homozygotie in Erscheinung. Interessanterweise existieren Literaturhinweise darüber, dass die HLA-Supertypen mit an der Entstehung und dem Verlauf von Erkrankungen beteiligt sind, z. B. bei Leukämien (60,61), Vitiligo (3), hämolytischer Urämie bei Erwachsenen (102) und Sarkoidose (96).

Es ist allgemein bekannt, dass HLA-Homozygotie die Entwicklung von Krankheiten begünstigen kann und auch als Grundlage für selektiven genetischen Mißerfolg anzusehen ist (56,108,178).

Zusammenfassende Diskussion

Suszeptibilitäts- und Resistenzfaktoren als Teil des genetischen 'Backgrounds' können eine Rolle in der Ätiopathogenese entzündlicher Parodontopathien spielen (89). Die in der Literatur beschriebenen Assoziationen von HLA-Merkmalen bei Patienten mit Erwachsenenparodontitis bzw. RPP wie auch die in dieser Arbeit gefundenen legen diese Vermutung nahe, wobei die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit und der Untersuchungen von Stein (221) darauf hindeuten, dass nicht nur die Wirkung einzelner HLA-Merkmale einen Einfluß auf die Manifestation der Erkrankungen zu haben scheinen, sondern deren Kombinationen bzw. Haplotypen von Bedeutung sein können.

Es werden verschiedene Mechanismen einer solchen Krankheitsassoziation diskutiert, da deren Grundlage bisher nicht eindeutig geklärt ist. Eine durchaus plausible Erklärung stellt hier die sog. molekulare Mimikry vor allem in Hinblick auf die mit der Parodontitis assoziierten Keime dar, wobei nach Snell (215) auf der Zelloberfläche strukturelle Ähnlichkeiten (Epitopgemeinschaften) zwischen HLA-Antigenen und bakteriellen Bestandteilen bestehen. Die daraus resultierende Nichterkennung der antigenen Determinanten (Kreuztoleranz) bzw. die Induktion autoreaktiver Antikörper (Autoimmunreaktion) könnten so zur Entstehung der Erkrankung beitragen. Diese Hypothese wird durch Untersuchungen zur Kreuzreaktivität von HLA-Molekülen und Bakterien bekräftigt (10,17,51,59,67,68,69,94,130,174,179,183,184, 232, 256). So wird z. B. von Ebringer et al. (67,68,69), Avakian et al. (10) und Benjamin et al. (17) die Kreuzreaktivität zwischen Klebsiella-Bakterien und HLA-B27 mit der Manifestation einer Spondylitis ankylosans in Zusammenhang gebracht, da Klebsiellen von HLA-B27-positiven Personen nicht genügend erkannt und ausgeschaltet oder aber die HLA-B27-tragenden Zellen autoreaktiv zerstört werden können. Prendergast et al. (179) fand zusätzlich Kreuzreaktivität bei einer Reihe gram-positiver Bakterien, wie Streptokokken, Staphylokokken und Clostridien. Derartige Kreuzreaktionen beschrieben Lyampert et al. (130) sowie Zabriskie (256) zwischen Mikroorganismen (Streptokokken) und dem Mammagewebe, während The et al. (232) Hinweise dafür fand, dass der im Serum von Parodontitispatienten festgestellte Rheumafaktor (IgM-RF) durch verschiedene Mikroorganismen der subgingivalen Plaque induziert worden sein kann. Weiterhin vermuten sie, dass *C. gingivalis*, *F. nucleatum* und *A. actinomycetem-comitans* anscheinend Oberflächenantigen-Epitope exprimieren können, die antigenetische Ähnlichkeit mit IgG-Determinanten haben und somit die Kreuzreaktivität zu IgM-RF auslösen können. In dieser oder ähnlicher Weise ist eine molekulare Mimikry zwischen bestimmten HLA-Antigenen oder HLA-Haplotypen und den mit der Parodontitis assoziierten Keimen denkbar. Interessanterweise ist unter Patienten mit EOP eine Verringerung der lokalen Antikörperkonzentration gegen *Porphyromonas gingivalis* bekannt (87, 135), was eventuell auf einen solchen Mechanismus zurückzuführen sein könnte. Buckley et al. (33), Petrunin et al. (174) und Greenberg et al. (84) beschrieben eine vom HLA-Typ abhängige Immunantwort auf

bakterielle Antigene. Ebenso ist zu vermuten, dass die von Ohyama et al. (159) festgestellte starke Immunantwort von EOP-Patienten auf das aus *Porphyromonas gingivalis* isolierte Membranprotein Ag53 auf einer HLA-abhängigen Immunreaktion beruht. Einen ähnlichen Effekt beobachteten Petrunin et al. (174) an *Escherichia coli*-Bakterien und Greenberg et al. (84) an Streptokokkenantigenen.

Vorstellbar wäre aber auch, dass an der Pathogenese nicht die HLA-Gene selbst, sondern eng mit ihnen gekoppelte Suszeptibilitätsgene beteiligt sind (233). Hierfür könnten z. B. die Tumornekrosefaktoren α und β in Betracht kommen, da die Lokalisation der sog. Suszeptibilitätsantigene in der HLA-Region vermutet wird. Ein Indiz dafür könnte sein, dass TNF- β in der Lage ist, die Expression von HLA-Klasse II-Genen auszulösen bzw. zu verstärken. Dieses könnte insofern die Entstehung oder Ausprägung einer Erkrankung beeinflussen, als die Veränderung der Expressionsrate der HLA-Klasse II-Moleküle durchaus einen nachweislichen Effekt auf T-Zell-Antworten hat (119). Effekte durch postulierte Immunantwortgene vermutet man beispielsweise in Form von klonalen Deletionen im Thymus (35) bzw. Lücken (86) innerhalb des T-Zell-Repertoires. Eine autoimmune Reaktion wird durch die Deletion von potentiell autoreaktiven Zellen verhindert, die ein bestimmtes HLA-Merkmal tragen. Des Weiteren wird eine HLA-abhängige Induktion von T-Suppressorzellen vermutet (119). Einer weiteren Hypothese zufolge könnten HLA-Moleküle auch als Rezeptoren für Viren oder Medikamente wirken (233).

Die Vielzahl möglicher Erklärungen für den Wirkungsmechanismus von HLA-Assoziationen darf jedoch nicht dazu verleiten, die Assoziation zu bestimmten HLA-Merkmalen bzw. -Haplotypen als den ausschlaggebenden ätiologischen Faktor in der Pathogenese entzündlicher parodontaler Erkrankungen sehen zu wollen. Selbst bei bekannten, mit bestimmten HLA-Merkmalen assoziierten vererbaren Erkrankungen muß diese nicht zwangsläufig bei all den Nachkommen auftreten, die dieses HLA-Merkmal aufweisen, da eine Assoziation vom Vererbungstyp der Erkrankung selbst abhängt, d.h. davon, ob ein dominanter oder rezessiver Erbgang vorliegt (234).

Letztlich konnte bislang noch für keine parodontale Erkrankung einheitlich eine Kopplung oder Assoziation zu einem spezifischen Genort zugeordnet werden, obwohl der MHC-Komplex und andere Gene für andere Erkrankungen bereits als mögliche Suszeptibilitätsmarker diskutiert werden.

6. Zusammenfassung

Mit der zunehmenden Erkenntnis, dass sich die Zusammensetzung der mikrobiellen Plaque bei verschiedenen Formen parodontaler Erkrankungen qualitativ unterscheidet, gewann die spezifische Plaquehypothese an Bedeutung. Besonders die Untersuchungen von Slots (211,212,213) erbrachten den Nachweis, dass sich die qualitative Zusammensetzung der Bakterienflora wie auch das quantitative Verhältnis der Bakterienspezies zueinander je nach Schweregrad der parodontalen Entzündung verändert und nur bestimmte virulente Keime eine Parodontitis verursachen können (210). Gegenwärtig betrachtet man die entzündlichen Parodontopathien jedoch eher als opportunistische Infektionen, deren Voraussetzung, neben dem Vorkommen pathogener Keime, ein für deren Vermehrung günstiges Milieu ist (114). Studien aus verschiedenen Ländern lassen den Schluss zu, dass ungefähr 80 % der Bevölkerung eine Anfälligkeit für eine langsam voranschreitende Erwachsenenparodontitis (AP), ca. 10 % ein hohes Risiko für destruktive Formen der Parodontitis (EOP,LJP,RPP) haben und ebenso ca. 10% der Bevölkerung, trotz Vorliegen einer chronischen Gingivitis, relativ resistent gegenüber der Entstehung einer Parodontitis erscheinen (127,169).

Eine mögliche Erklärung für diese individuell unterschiedliche Prädisposition wäre die Vermutung, dass auch die entzündlichen Parodontalerkrankungen unter einer genetischen Kontrolle des HLA-Systems stehen, worauf die beschriebenen Assoziationen zwischen marginalen Parodontitiden (AP, LJP, RPP) und bestimmten HLA-Merkmalen hinweisen (5,26, 72,105,112,160,207,225,226). Denkbar wäre in diesem Zusammenhang eine den Kreuzreaktionen von HLA-Antigenen und Bakterien ähnliche Beziehung zwischen den paropathogenen Keimen und dem Wirts-HLA-Typ oder eine vom jeweiligen HLA-Typ abhängige Immunreaktivität gegen bestimmte Bakterien (10,17,51,59,67,68,69, 94,130,174,179,183,184,232,256). Die Uneinheitlichkeit der Ergebnisse vorangegangener Untersuchungen zu dieser Thematik beruhen zumeist auf der Anwendung unterschiedlicher Untersuchungsmethoden, auf Populations- oder Rassenunterschieden, einer für die statistische Auswertung zahlenmäßig zu geringen und in der parodontalen Diagnose inhomogen zusammengesetzten Patientengruppe sowie in der Verwendung von Vergleichsgruppen, die im Hinblick auf die parodontale Diagnose bisher völlig undifferenziert waren. Außerdem überwiegt die Zahl der Untersuchungen an Patienten mit aggressiven Parodontitisformen deutlich denen an Patienten mit einer Erwachsenenparodontitis.

Problemstellung und Ziel der Arbeit

Erstmalig sollte in einer Gruppe von deutschen AP-Patienten die Verteilung der HLA-Merkmale A, B, C, DR und DQ mit serologischen und molekularbiologischen Methoden untersucht werden. Die Ergebnisse der HLA-Typisierung sollten mit denen einer klinisch parodontitisfreien und zahlenmäßig kongruenten Probandengruppe („Resistente“) unter

Berücksichtigung der Normalverteilung der HLA-Merkmale innerhalb der Population verglichen werden. Zusätzlich zur Gruppe der AP-Patienten konnte eine Parodontitis-Gesamtgruppe, bestehend aus den bereits untersuchten Patienten mit Erwachsenenparodontitis (N=102) und Patienten mit rapid progressiver Parodontitis (N=50) aus der Parallelstudie der Arbeitsgruppe Dr. H.K.G. Machulla (188,221) mit der „Resistenz“-gruppe hinsichtlich ihrer HLA-Typen verglichen werden. So wurden bei 102 Patienten mit Erwachsenenparodontitis, 102 parodontitisfreien Probanden, 50 Patienten mit rapid progressiver Parodontitis, und 157 Gelegenheitsblutspendern die HLA-Merkmale bestimmt. Die parodontitisfreien Probanden („Resistente“) waren durchschnittlich 59 Jahre alt und wiesen keinen pathologischen Attachmentverlust auf. Die Typisierungsdaten der parodontologisch undifferenzierten Blutspender repräsentierten die Normalverteilung der HLA-Antigene innerhalb der Population.

Zusammenfassende Literaturdiskussion

Die bei Kaukasiern für die LJP und RPP von einigen Autoren beschriebene Erhöhung der Merkmale HLA-A9 (A*23/24) bzw. A24 (5,112,190) und A28 (A*68/69) (190) die auch bei deutschen Kaukasiern von Marggraf et al. 1983 (134) gefunden wurde, sowie auch die Verringerung von HLA-A2 (103,104,229) können in der vorliegenden Arbeit nicht bestätigt werden, da in dieser Studie Patienten mit AP, nicht aber mit einer EOP (LJP oder RPP) untersucht worden sind. Ebenso sind die von einigen Autoren für die AP beschriebenen positiven Assoziationen zu den HLA-Klasse II-Merkmalen DR4 (DRB1*04) (4,64), DR53 (DRB4*) und DQB1*03 (DQ7/8/9) (64), so wie die Verringerungen der HLA-Klasse I-Merkmale A2 (103,104,229) A28 (A*68/69) und B5 (B*51/52) (83) in unserer Studie nicht festgestellt worden. Erwähnenswert erscheint aber, daß bei den AP-Patienten und in der Parodontitisgruppe (AP+RPP) im Vergleich mit der Subgruppe der über 70-jährigen Resistenten nicht signifikante Frequenzunterschiede bei den Merkmalen HLA-DRB1*08, -DRBblank* und -DQB1*04 auftraten.

Zusammenfassung der Befunde an Klasse I- und II-Merkmalen

In dieser Studie zeigt sich im Vergleich von AP-Patienten mit Probanden ohne Parodontitis („Resistente“) und nach Korrektur der Ergebnisse (Yates, Fisher) eine signifikant positive Assoziation der AP zu HLA-A*11, HLA-A*29, -A*33 und, -B*14 und -Cw*08 sowie eine signifikant negative Assoziation zu HLA-A*03, die sich ebenso in der Tendenz, aber nicht signifikant bei der Gruppe der Parodontitispatienten (AP+RPP) darstellt (Abb. 5). Ebenfalls erwähnenswert ist die bei AP-Patienten tendenzielle Verringerung des Merkmals HLA-B*39, da dieser Frequenzunterschied beim Vergleich mit der Subgruppe der über 70-jährigen Resistenten signifikant wird.

Beim Vergleich der Gesamtgruppe der an Parodontitis (RPP+AP) erkrankten Patienten mit den Probanden der „Resistenz“-gruppe finden sich in gleicher Weise wie bei den AP-Patienten die signifikant positiven Assoziationen zu den Merkmalen HLA-A*11, -A*29, -B*14 und -Cw*08

wieder, während die negativen Assoziationen zu HLA-A*31 bzw. HLA-A*(30/31) nur in dieser Gruppe signifikant, aber bei AP-Patienten durch die offensichtlichen Frequenzunterschiede ebenfalls auffällig sind. In der Gesamtstudie der Arbeitsgruppe Dr. H.K.G. Machulla (188,221) sind die Merkmale HLA-A*31 bzw. HLA-A*(30/31) bei den aggressiven Parodontitisformen (RPP) überhaupt nicht aufgetreten, was ein Hinweis darauf sein kann, dass, wenn man die beiden Erkrankungsformen vergleicht, bei der RPP eine erhöhte Resistenz gepaart mit einer erhöhten Abwehrfähigkeit gegenüber Parodontopathien auftritt, während bei AP eine höhere Resistenz durch die verminderte Abwehrfähigkeit teilweise kompensiert wird. Nach Bonferronikorrektur bleibt jedoch keine der hier erwähnten Differenzen signifikant.

Homozygotien

In der vorliegenden Studie ist auffällig, dass bei den „Resistenten“ Homozygotien von DRBblank* signifikant erhöht aufgetreten sind. Das könnte bedeuten, dass Probanden, die keinen der Supertypen (HLA-DRB3/4/5) aufweisen, offenbar weniger anfällig gegenüber einer Erwachsenenparodontitis sind. Dieser Mechanismus tritt jedoch offenbar bei der Erwachsenenparodontitis nur bei Homozygotie in Erscheinung. Von Interesse könnte in diesem Zusammenhang sein, dass in der Parallelstudie zur RPP (221) HLA-DRBblank* (non DRB3/4/5) als Einzelmerkmal ebenfalls im Sinne einer höheren Resistenz bzw. verringerten Anfälligkeit auffällig wurde. Dabei handelt es sich offenbar um einen Resistenzfaktor, da die Normalverteilung unter parodontologisch undifferenzierten Blutspendern mehr den Werten der Patientengruppen entspricht. Bei Fehlen der HLA-Supergene (DRB3/4/5) könnte damit eine höhere Resistenz oder geringere Anfälligkeit gegen Parodontitiden gegeben sein.

Kombinationen und Haplotypen

Einige der gefundenen Häufigkeitsunterschiede der HLA- Merkmale können auch auf die Assoziation bestimmter rechnerisch ermittelter Haplotypen zurückgeführt werden. Dabei deutet sich trotz der geringen Zahlen an, dass bestimmte, sich dabei ergebende Kombinationen bzw. spekulative Haplotypen mit signifikanter Differenz ($p < 0,05$ bzw. $PC < 0,005$) zwischen den AP-Patienten- und „Resistenz“gruppen, gekoppelt mit HLA-B*14 (B64/65) mehr mit Suszeptibilität, während die mit HLA-A*03 gekoppelten Mehrfachkombinationen mehr mit Resistenz gegenüber AP assoziiert sind. In der hier durchgeführten Kopplungsanalyse treten auch HLA-Merkmale in Erscheinung, die ausschließlich nur als Haplotypen signifikante Frequenzunterschiede aufwiesen, wie zum Beispiel die mit HLA-B*44 bzw. HLA-B*18 gekoppelten Mehrfachkombinationen, die wie die B*14-gekoppelten Kombinationen mit Suszeptibilität gegenüber einer AP assoziiert zu sein scheinen. Besonders bemerkenswert ist in diesem Zusammenhang, dass bei genauerer Auswertung von HLA-B*14-positiven Haplotypen bei den AP-Patienten und den Probanden

mit IgA-Mangel, im Gegensatz zu den Blutspendern, „Resistenten“ und RPP- Patienten, die ungewöhnliche Kopplung des ancestralen Haplotyps (HLA-Cw*08 : B*14) mit dem Klasse II-Merkmal HLA-DRB1*04 auftritt. Es zeigt sich, dass der ancestrale Haplotyp HLA-Cw*08 : B*14, egal ob mit HLA-DRB1*01 oder HLA-DRB1*04 (90,220,233) kombiniert, fast ausschließlich nur bei den AP-Patienten und IgAD-Probanden auftritt und dadurch eine positive Assoziation zu eben diesen Erkrankungen vermuten lässt.

Zusammenfassung der geschlechtsspezifischen Unterschiede

In der vorliegenden Untersuchung sind einige wenige geschlechtsspezifische Unterschiede in der Verteilung der HLA-Merkmale auffällig. Dabei scheinen Frauen mit AP signifikant den größten Anteil an der positiven Assoziation zu HLA-A*11 zu haben, während HLA-A*02 bei „resistenten“ Frauen signifikant häufiger als bei männlichen „Resistenten“ auftritt.

Für alle anderen signifikanten Frequenzunterschiede zwischen AP-Patienten und „Resistenten“ konnte keine Geschlechtsabhängigkeit bei den Einzelmerkmalen nachgewiesen werden. Beim Vergleich der Gesamtgruppe der an Parodontitis (RPP+AP) erkrankten Patienten mit „Resistenten“ ist vor allem unter den Patientinnen die Frequenz von HLA-A*11 und -DRB3*(DR52) gegenüber den weiblichen „Resistenten“ erhöht. Männer mit Parodontitis zeigen hingegen ein häufigeres Vorkommen von HLA-B*40 (B60) als „resistente“ Männer. Nach Bonferronikorrektur bleibt jedoch keiner der Frequenzunterschiede signifikant.

Schlussfolgerungen

Obwohl die vorgelegten Ergebnissen mit denen anderer Studien nicht oder nur zum Teil in Einklang zu bringen sind, lässt die vorliegende Arbeit die Vermutung zu, dass bestimmte HLA-Merkmale an der Ätiopathogenese der AP beteiligt sind, ebenso scheint für einige dieser Merkmale eine übergeordnete Assoziation zur Parodontitis vorzuliegen. Die dargelegten Untersuchungsergebnisse deuten an, dass eine Assoziation zu einzelnen HLA-Merkmalen besteht und ebenso auf eine Kopplung zu bestimmten Haplotypen bzw. Kombinationen zurückgeführt werden kann. Gender-Effekte scheinen bei der AP keine wesentliche Rolle zu spielen. Die Erklärungen für eine Beteiligung der verschiedenen HLA-Moleküle an der Genese autoimmuner Krankheiten basieren auf verschiedenen Hypothesen. So könnten von Sasazuki et al. (115) beschriebene sogenannte Suszeptibilitätsgene möglicherweise direkt oder auch indirekt über die Kopplung an HLA-Gene für die Assoziation mit der Erkrankung verantwortlich sein (224). Ebenso wird eine sog. Epitopgemeinschaft zwischen dem HLA-Molekül und einem Fremdantigen diskutiert, die im Ergebnis zu einer epitopspezifischen Kreuzreaktion (molekulares Mimikry) und zur Beeinträchtigung der Unterscheidung „fremd“ und „eigen“ führen soll (69,215), deren Folge dann eine Kreuztoleranz oder Autoimmunität wäre. Andererseits vermutet man als Ursache eine unterschiedliche Affinität der Bindung und Präsentation von Antigenen bei assoziierten und nichtassoziierten Allelen (Immunmodulation) oder, als immunologische Reaktion auf spezifische Antigene, eine vermehrte Bildung von T-

Suppressorzellen (Immunsuppression). Ebenfalls zieht man eine im Rahmen der Maturation der Thymuszellen durch HLA-abhängige Deletion verursachte Lücke (klonale Deletion) im Repertoire der Spezifitäten antigenerkennender T-Lymphozytenrezeptoren gegen bestimmte Pathogene als mögliche Ursache in Betracht (246). Einer weiteren Hypothese zufolge könnten HLA-Moleküle auch als Rezeptoren für Viren oder Medikamente wirken (233).

Da alle Ergebnisse der vorliegenden Arbeit nach Anwendung der Bonferroni-Korrektur ihre statistische Signifikanz verloren, scheint eine HLA-Typisierung, auch bedingt durch die fehlende Einheitlichkeit der bisherigen Resultate, für die parodontologische Differentialdiagnostik noch kein praktikables Instrument zu sein. Vermutlich ist der HLA-Komplex jedoch eine nicht unwesentliche Komponente im multifaktoriellen Geschehen der Ätiopathologie von Parodontitiden.

7. Literaturverzeichnis

- 1 Africa CW, Parker JR, Reddy J: Bacteriological studies of subgingival plaque in a periodontitis resistant population. Darkfield microscopic studies. *J Periodont Res* 20(1) (1985) 1-7
- 2 Albert ED, Scholz S, Bertrams J, Ewald RW, Westphal E, Ratschko K-W, Spielmann W, Seidel S: Representative HL-A phenotype and haplotype frequencies of the German population. *Z Immunitätsforsch* 148 (1975) 367-371
- 3 al-Fouzan A, al-Arbash M, Fouad F, Kaaba SA, Mousa MA, al-Harbi SA Study of HLA class I/IL and T lymphocyte subsets in Kuwaiti vitiligo patients. *Eur J Immunogenet* 22(2) (1995) 209-13
- 4 Alley CS, Reinhardt RA, Maze CA, DuBois LM, Wahl TO, Duckworth WC, Dyer JK, Petro TM: HLA-D and T lymphocyte reactivity to specific periodontal pathogens in type 1 diabetic periodontitis. *J. Periodontol.* 64(10) (1993) 974-979
- 5 Amer A, Singh G, Darke C, Dolby AE: Association between HLA antigens and periodontal disease. *Tissue Antigens* 31(2) (1998) 53-58
- 6 Anerud KE, Robertson PB, Loe H, Anerud LA, Boysen HMR, Patters MR: Periodontal disease in three young adult populations. *J Periodontal Res* 18(6) (1983) 655-68
- 7 Arai H, Chihara T, Takahashi K, Nagai A, Akutsu I, Takashiba S, Nishimura F, Kurihara H, Murayama Y: Host defensive functions in a family manifesting early-onset periodontitis. *J. Periodontol.* 67(4) (1996) 433-442
- 8 Armitage GC, Svanberg GK, Loe H: Microscopic evaluation of clinical measurements of connective tissue attachment levels. *J Clin Periodontol* 4(3) (1977) 173-190
- 9 Attstrom R, Schroeder HE: Effect of experimental neutropenia on initial gingivitis in dogs. *Scand J Dent Res* 87 (1979) 7-23
- 10 Avakian H, Welsh J, Ebringer A, Entwistle CC: Ankylosing spondylitis, HLA- B27 and Klebsiella. II. Cross- reactivity studies with human tissue typing sera. *Br J Exp Pathol* 61 (1980) 92-96
- 11 Babbitt B, Allen PM, Matsueda G, Haber E, Unuanue ER: Binding of immunogenetic peptides to Ia compatibility molecules. *Nature* 317 (1985) 359
- 12 Baer PN: The case for periodontosis as a clinical entity. *J Periodontol* 42 (1971) 516-519
- 13 Baldauf C, Kubel M: HLA und Leukämie. *Folia Haemat (Leipzig)* 116 (1989) 123-132
- 14 Balndin-TeXier A, Gueguin M, Fauchet R, Yardin M, Cathelineau G: Antigène HLA. A9 et parodontites chroniques [The HLA-A9 antigen and chronic periodontitis]. *J Parodontol* 5(3) (1986) 221-227
- 15 Baur MP, Neugebauer M, Deppe H, Sigmund M, Luton T, Mayr WR, Albert ED: Population analysis of the basis of deduced haplotypes from random families. In: Albert

- ED, Baur MP, Mayr WR [eds]: Histocompatibility Testing 1984. Springer- Verlag Berlin Heidelberg New York Tokyo (1984) 333-341
- 16 Bender K.: Das HLA-System. Biotest AG, Dreieich (1987)
 - 17 Benjamin R, Parham P: Guilt by association: HLA- B27 and ankylosing spondilitis. *Immunology Today* 11 (1990)137-142
 - 18 Bertrams J, Kuwert E, Bohme U: HL-A phenotype and gene frequencies in the German Ruhr area population. *Eur J Immunol* 1 (1971) 306-309
 - 19 Bial JJ, Mellonig JT: Radiographic evaluation of juvenile periodontitis (periodontosis) J. *Periodontol.* 58 (1987) 321-326
 - 20 Bickley HC: Immunity and oral disease: a synopsis of the science of immunity. *J Am Dent Assoc* 79(2) (1969) 368-374
 - 21 Bjorkman PJ, Saper MA, Samraoui B, Bennett WS, Strominger JL, Wiley DC: The antigen-binding site and T-cell recognition regions of class I histocompatibility antigens. *Nature* 329 (1987) 512-518
 - 22 Bjorkman PJ, Saper MA, Samraoui B, Benntt WS, Strominger JL, Wiley DC: Structure of the human class I histocompatibility antigen, HLA-A2. *Nature* 329 (1987) 506-512
 - 23 Bodmer JG, Marsh SG, Albert ED, Bodmer WF, Bontrop RE, Charron D, Dupont B, Erlich HA, Fauchet R, Mach B, Mayr WR, Parham P, Sasazuki T, Schreuder GM, Strominger JL, Svejgaard A, Terasaki PI: Nomenclature for factors of the HLA system, 1996. *Tissue Antigens* 49 (1997), 297-321
 - 24 Bodmer WF, Bodmer JG: Evolution and function of the HLA system. *Brit Med Bull* 34 (1978) 309-316 (1978)
 - 25 Bodmer WF: Population genetics of the HL-A system: Retrospective and prospective histocompatibility testing 1972. Munsgaard, Kopenhagen (1973) 611-617
 - 26 Bonfil JJ, Dillier FL, Mercier P, Reviron D, Foti B, Sambuc R, Brodeur JM, Sedarat C: A „case control“ study on the role of HLA DR4 in severe periodontitis and rapidly progressive periodontitis. *J Clin Periodonto.* 26 (1999) 77-84
 - 27 Borovskii EV, Ionov ID, Kats MM, Shevchenko AK: The anaphylactic autosensitization of patients with periodontitis [Artikel in russisch]. *Stomatologija (Mosk)* 5 (1990) 9-10
 - 28 Boughman JA, Astemborski JA, Suzuki JB: Phenotypic assessment of early onset periodontitis in sibships. *J. Clin. Periodontol.* 19(4) (1992) 233-229
 - 29 Boyum A: A one-stage procedure for isolation of granulocytes and lymphocytes from human blood. General sedimentation properties of white blood cells in a 1g gravity field. *Scand J Clin Lab Invest Suppl* 97 (1968) 51-76
 - 30 Brewerton DA, Caffrey M, Hart FD, James DCO, Nicholls A, Sturrock RD: Ankylosing spondylitis and HL-A 27. *Lancet* 1(7809) (1973) 904-907

- 31 Brown JH, Jardetzky TS, Gorga JC, Stern LJ, Urban RG, Strominger JL, Wiley DC: The three-dimensional structure of the human class II histocompatibility antigen HLA-DR1. *Nature* 364 (1993), 33-39
- 32 Bucin D, Löw B: Human alloantiserum against PHA-activated cells. Cytotoxicity associated with HLA- A3 antigen. *Tissue Antigens* 25 (1985) 50-54
- 33 Buckley CE, Dorsey FC, Corley RB, Ralph WB, Woodbury MA, Amos DB: HL-A-linked human immune-response genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 70(7) (1973) 2157-2161
- 34 Burmeister JA, Best AM, Palcanis KG, Caine FA, Ranney RR: Localized juvenile periodontitis and generalized severe periodontitis: clinical findings. *J Clin Periodont* 11(3) (1984) 181-192
- 35 Burnet FM: The clonal selection theory of acquired immunity. London Cambridge University Press 1959
- 36 Buus S, Sette A, Colon SM, Miles C, Grey HM: The relation between major histocompatibility complex (MHC) restriction and the capacity of Ia to bind immunogenetic peptides. *Science* 235 (1987) 1353-1358
- 37 Campbell RD, Trowsdale J: Map of the human MHC. *Immunol. Today* 14 (1993) 349-352
- 38 Carcassi C, Trucco G, Trucco M, Contu L: A new HLA-DR2 extended haplotype is involved in insulin-dependent diabetes mellitus susceptibility. *Hum Immunol* 31(3) (1991) 159-164
- 39 Carlsson J.: Mikrobiologie der plaquebedingten Parodontopathien. In: Lindhe J [Hrsg]: *Klinische Parodontologie*. Thieme, Stuttgart - New York (1986) 99-120
- 40 Ceppellini R, Curtoni ES, Mattiuz PL, Miggiano V, Scudeller G, Serra A: Genetics of leukocyte antigens. A family study of segregation and linkage. In: Curtoni ES, Mattiuz PL, Tosi RM [eds]: *Histocompatibility Testing 1967*. Munsgaard, Kopenhagen (1967) 149-187
- 41 Chen DF, Chen HY, Pastucha LT, Stangel W: German Normal. In: Terasaki PI, Gjertson DW [eds]: *HLA 1997*. The Regents of the University of California (1997)
- 42 Chilton NW: Conference on clinical trials in periodontal diseases. Chicago, USA, May 21-23, 1985. Dedicated to the memory of John W. Fertig, Ph.D. *J Clin Periodontol* 13(5) (1986) 335-549
- 43 Coakley G, Brooks D, Iqbal M, Kondeatis E, Vaughan R, Loughran TP Jr, Panayi GS, Lanchbury JS: Major histocompatibility complex haplotypic associations in Felty's syndrome and large granular lymphocyte syndrome are secondary to allelic association with HLA-DRB1 *0401. *Rheumatology (Oxford)* 39(4) (2000) 393-398
- 44 Cobain TJ, French MAH, Christiansen FT, Dawkins RL: Association of IgA deficiency with HLA A28 and B*14. *Tissue Antigens* 22 (1983) 151-154
- 45 Cogen RB, Roseman JM, Al-Joburi W, Louv WC, Acton RT, Barger BO, Go RC, Rasmussen RA: Host factors in juvenile periodontitis. *J Dent Res* 65(3) (1986) 394-399

- 46 Corey LA, Nance WE, Hofstede P, Schenklein HA: Self-reported periodontal disease in a Virginia twin population. *J Periodontol* 64 (1993) 1205-1208
- 47 Cortes J, Fayad L, Kantarjian H, O'Brien S, Lee MS, Talpaz M: Association of HLA phenotype and response to interferon-alpha in patients with chronic myelogenous leukemia. *Leukemia* 12(4) 1998 455-462
- 48 Crawford A, Socransky SS, Bratthall G: Predominant cultivable microbiota of advanced periodontitis. In: Program and Abstracts AADR New York. Abstract 209 (1975)
- 49 Cuccia-Belvedere M, Monafo V, Martinetti M, Plebani A, De Paoli F, Burgio GR: Recurrent extended HLA haplotypes in children with selective IgA deficiency. *Tissue Antigens* 34 (1989) 127-132
- 50 Cullinan MP, Sachs J, Wolf E, Seymour GJ: The distribution of HLA-A and -B antigens in patients and their families with periodontosis. *J Periodont Res* 15(2) (1980) 177-184
- 51 Damian RT: Molecular mimicry: antigen sharing by parasite and host and its consequences. *Am Nat* 98 (1964) 129-134
- 52 Dausset J: Iso-leuco-anticorps. *Acta haemat* 20 (1958) 156-166
- 53 Dausset J: Leuco-agglutinins IV. Leuco-agglutinins and blood transfusion. *Vox Sang* 4 (1954) 190-198
- 54 Davies RM, Smith RG, Porter SR: Destructive forms of periodontal disease in adolescents and young adults. *Br Dent J* 158(12) (1985) 429-436
- 55 Debelian GJ, Olsen I, Tronstad L: Systemic diseases caused by oral microorganisms. *Endod Dent Traumatol* 10(2) (1994) 57-65
- 56 Degos L, Colombani J, Chaventre A, Bengtson B, Jacquard A: Selective pressure on HLA-A polymorphism. *Nature* 249(452) (1974) 62-63
- 57 Deutsche Gesellschaft für Parodontologie: Nomenklatur der marginalen Parodontopathien. Hanser München-Wien (1988)
- 58 Doherty PC, Zinkernagel RM: A biological role for major histocompatibility antigens. *Lancet* 2 (1975) 1406
- 59 Dorak MT, Burnett AK: Molecular mimicry of an HLA-DR53 epitope by viruses. *Immunol Today* 15 (1994) 138-139
- 60 Dorak MT, Chalmers EA, Gaffney D, Wilson DW, Galbraith I, Henderson N, Worwood M, Mills KI, Burnett AK: Human major histocompatibility complex contains several leukemia susceptibility genes. *Leuk Lymphoma* 12(3-4) (1994) 211-222
- 61 Dorak MT, Mills KI, Gaffney D, Wilson DW, Galbraith I, Henderson N, Burnett AK: Homozygous MHC genotypes and longevity. *Hum Hered* 44(5) (1994) 271-278
- 62 Dorak MT, Owen G, Galbraith I, Henderson N, Webb D, Mills KI, Darke C, Burnett AK: Nature of HLA-associated predisposition to childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 9(5) (1995) 875-878

- 63 Dorak MT, Sproul AM, Machulla HKG, Burnett AK, Gibson BES: Confirmation of the male-specific HLA- DRB4*01 association in childhood leukaemia. *Eur J Immunogenet* 27 (2000) 262: Abstr. of 12th BSHI Conference (Manchester 11. – 13. Sept. 2000) P5.1
- 64 Dyer JK, Peck MA, Reinhardt RA, Duckworth WC, Booth SJ, Seymour GJ, Patil KD: HLA-D types and serum IgG responses to *Capnocytophaga* in diabetes and periodontitis. *J. Dent. Res.* 76(12) (1997) 1825-1832
- 65 Dyer P, Warrens A: Design and interpretation of studies of the major histocompatibility complex in disease. In: Lechler R [ed]: *HLA and disease*. Academic Press, 100-120 (1994)
- 66 Dzink JL, Socransky SS, Haffajee AD: The predominant cultivable microbiota of active and inactive lesions of destructive periodontal diseases. *J Clin Periodontol* 15 (1988) 316-323
- 67 Ebringer A, Baines M, Ptaszynska T: Spondylarthritis, uveitis, HLA- B27 and *Klebsiella*. *Immunol Rev* 86 (1985) 101 - 116
- 68 Ebringer A, Ghuloom M: Ankylosing spondylitis, HLA-B27, and *klebsiella*: cross reactivity and antibody studies. *Ann Rheum Dis* 45(8) (1986) 703-704
- 69 Ebringer A: Ankylosing spondylarthritis, HLA B27 and the theory of crossed tolerance [Article in French]. *Rev Rhum Mal Osteoartic* 50(11) (1983) 763-9
- 70 Egelberg J.: The blood vessels of the dentogingival junction. *J Periodont Res* 1 (1966) 163
- 71 Falk K, Rötzschke O, Stevanović S, Jung G, Rammensee HG: Allele-specific motifs revealed by sequencing of self-peptides eluted from MHC molecules. *Nature* 351 (1991) 290-296
- 72 Firatli E, Kantarci A, Cebeci I, Tanyeri H, Sonmez G, Carin M, Tuncer O: Association between HLA antigens and early onset periodontitis. *J Clin Periodontol* 23(6) (1996) 563-566
- 73 Flores-de-Jacoby L, Schoop S, Weichsler C, Zafiropoulos GG: Periodontal conditions in Hesse, Federal Republic of Germany, measured by CPITN. *Community Dent Oral Epidemiol* 17(6) (1989) 307-309
- 74 Flores-de-Jacoby L: Epidemiology of periodontal diseases in West Germany. *Phillip J Restaur Zahnmed* 4(4) (1987) 211-212
- 75 Freitas E, Meyer K, Davis RK, Kristoffersen T: A baseline study of periodontal conditions among youths and adults in Portugal. *Community Dent Oral Epidemiol* 11(4) (1983) 250-254
- 76 French MA, Dawkins RL: Central MHC genes, IgA deficiency and autoimmune disease. *Immunol Today* 11(8) (1990) 271-274

- 77 Gamonal JA, Lopez NJ, Aranda W: Periodontal conditions and treatment needs, by CPITN, in the 35-44 and 65-74 year-old population in Santiago, Chile. *Int Dent J* 48(2) (1998) 96-103
- 78 Genco RJ, Lars A, Christersson A, Zambon JJ: Juvenile periodontitis. *Int Dent J* 36(3) (1986) 168-176
- 79 Genco RJ: Host responses in periodontal disease: Current concepts. *J Periodontol* 63, 338-355 (1992)
- 80 Germain R: Immunology: The ins and outs of antigen processing and presentation. *Nature* 322 (1986) 687-689
- 81 Goldberg AL, Rock KL: Proteolysis, proteasomes and antigen presentation. *Nature* 357 (1992) 375-379
- 82 Gorer PA: The detection of antigenic differences in mouse erythrocytes by the employment of immune sera. *Brit J Exp Path* 17 (1936) 42-50
- 83 Goteiner D, Goldman MJ: Human lymphocyte antigen haplotype and resistance to periodontitis. *J Periodont* 55 (1984) 155-158
- 84 Greenberg LJ, Gray ED, Yunis EJ: Association of HL-A 5 and immune responsiveness in vitro to streptococcal antigens. *J Exp Med* 141(5) (1975) 935-943
- 85 Greenwald RA, Kirkwood K: Adult periodontitis as a model for rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 26(8) (1999) 1650-1653
- 86 Guilet JG, Lai MZ, Briner TJ, Smith JA, Geftter ML: Interaction of peptide antigens and class II major histocompatibility complex antigens. *Nature* 324 (1986) 260-262
- 87 Gunsolley JC, Burmeister JA, Tew JG, Best AM, Ranney RR: Relationship of serum antibody to attachment level patterns in young adults with juvenile periodontitis or generalized severe periodontitis. *J Periodontol* 58 (1987) 314-320
- 88 Haldane JBS: The estimation and significance of the logarithm of a ratio of frequencies. *Ann Hum Genet* 20 (1956) 309-311
- 89 Hart TC: Genetic considerations of risk in human periodontal disease. *Curr Opin Periodontol* 1994 3-11
- 90 Heard R: HLA and autoimmune disease (chapter 7). In: Lechler R [ed]: HLA and disease. Academic Press Limited London (1994) 123-151
- 91 Heijl L, Rifkin BR, Zander HA: Conversion of chronic gingivitis to periodontitis in squirrel monkeys. *J Periodontol* 47 (1976) 710-716
- 92 Hellwig E, Klimek J, Attin T: Einführung in die Zahnerhaltung. Urban & Schwarzenberg München-Wien-Baltimore (1995)
- 93 Henne HA, Flores-de-Jacoby L, Zafiroopoulos GG: Epidemiological examination of the periodontal condition of West German soldiers by the means of the community periodontal index of treatment needs. *Dtsch Zahnärztl Z* 43(6) (1988) 696-700

- 94 Hirata AA, Terasaki PI: Cross-reactions between streptococcal M proteins and human transplantation antigens. *Science* 168 (1970) 1095-1096
- 95 Hughes AL, Hughes MK: Natural selection on the peptide-binding regions of major histocompatibility complex molecules. *Immunogenetics* 42(4) (1995) 233-243
- 96 Ishihara M, Ohno S, Ishida T, Kagiya M, Ando H, Inoko H: Analysis of susceptibility genes in sarcoidosis[Article in Japanese] *Nippon Ganka Gakkai Zasshi* 98(1) (1994) 80-85
- 97 James WH: Sex ratios and hormones in HLA related rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis* 50 (1991) 401-404
- 98 Johansen SB, Johansen JR: A survey of causes of permanent tooth extractions in South Australia. *Aust Dent J* 22(4) (1977) 238-242
- 99 Johnson NW, Griffith GS, Wilton JM, Maiden MF, Curtis MA, Gillett IR, Wilson DT, Sterne JA: Detection of high-risk groups and individuals for periodontal diseases. Evidence for the existence of high-risk groups and individuals and approaches to their detection. *J Clin Periodontol* 15(5) (1988) 276-282
- 100 Johnson NW: Detection of high-risk groups and individuals for periodontal diseases. *Int Dent J* 39 (1989) 33-47
- 101 Jones JH, Mason DK: Oral manifestations of systemic disease. London-Philadelphia-Toronto-Sydney-Tokyo, Baillière Tindall (1990)
- 102 Joseph G, Smith KJ, Hadley TJ, Djulbegovic B, Troup GM, Oldfather J, Barker RL: HLA-DR53 protects against thrombotic thrombocytopenic purpura/adult hemolytic uremic syndrome. *Am J Hematol* 47(3) (1994)189-193
- 103 Kaslick RS, West TL, Chasens AI, Terasaki PI, Lazzara R, Weinberg S: Association between HL-A2 antigen and various periodontal diseases in young adults. *J Dent Res* 54(2) (1975) 424
- 104 Kaslick R.S., West T.L., Chasens A.I.: Association between ABO blood groups, HL-A antigens and periodontal diseases in young adults: a follow-up study. *J Periodontol* 51(6) (1980) 339-342
- 105 Katz J, Goultschin J, Benoliel R, Brautbar C: Human leukocyte antigen (HLA) DR4. Positive association with rapidly progressing periodontitis. *J Periodontol* 58(9) (1987) 607-610
- 106 Katz J, Goultschin J, Benoliel R, Schlesinger M: Peripheral T-lymphocyte subsets in rapidly progressive periodontitis. *J Clin Periodontol* 15 (1988) 266-268
- 107 Kelstrup J, Theilade E: Microbes and periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1 (1974) 15-35
- 108 Khan MA, Kushner I, Braun WE, Zachary AA, Steinberg AG: HLA--B27 homozygosity in ankylosing spondylitis: relationship to risk and severity. *Tissue Antigens* 11(5) (1978) 434-438

- 109 Kilian M, Karsen H, Fejerskov A, Thylstrup A: Effects of fluoride on the initial colonization of teeth in vivo. *Caries Res* 13 (1979) 319-329
- 110 Kleber BM: Nomenklatur und Klassifikation. In: Haunfeder D., Hupfauf L., Ketterl W., Schmuth G. [Hrsg.]: *Praxis der Zahnheilkunde, Band 4, Parodontologie*. Urban & Schwarzenberg München-Wien-Baltimore (1997) 3-20
- 111 Kleber BM: *Parodontologie. Kompendium für Studierende und Zahnärzte*. Deutscher Ärzte-Verlag Köln (1998)
- 112 Klouda PT, Porter SR, Scully C, Corbin SA, Bradley BA, Smith R, Davies RM: Association between HLA-A9 and rapidly progressive periodontitis. *Tissue Antigens* 28(3) (1986) 146-149
- 113 Konieczna A, Turowski G: HLA-ABC antigens in supraglottic cancer patients and their relationship with incidence and survival. *Mater Med Pol* 25(2) (1993) 73-79
- 114 Lang NP, Gusberti FA, Siegrist BE: Ätiologie der Parodontalerkrankungen. *Acta Parodontol* 14 (1985) 1-38
- 115 Lange DE: Zytologische Charakteristika der akuten Gingivitis. *Dtsch Zahnärztl Z* 27 (1972) 273-282
- 116 Lange DE, Schwoppe G: Epidemiological studies of West German army recruits (oral and dental findings). *Dtsch Zahnärztl Z* 36(7) (1981) 432-434
- 117 Lange DE: Epidemiological data from West Germany on attitudes and behaviour with respect oral hygiene and on periodontal treatment needs in selected age groups: children, young adults and 35 years-old. In: A. Fransen [ed]: *Public health aspects of periodontal disease in Europe*. Quintessenz Verlag Berlin (1984)
- 118 Lavine WS, Maderazo EG, Stolman J, Ward PA, Cogen RB, Greenblatt I, Robertson PB: Impaired neutrophil chemotaxis in patients with juvenile and rapidly progressing periodontitis. *J Periodont Res* 14 (1979) 10-19
- 119 Lechler R: Mechanisms of HLA and disease associations. In: Lechler R [ed]: *HLA and disease*. Academic Press (1994) 83-91
- 120 Lechler R: The roles of class I and II molecules of the major histocompatibility complex in T-cell immunity. In: Lechler R [ed]: *HLA and disease*. Academic Press (1994) 49-60
- 121 Lehner T, Wilton JMA, Ivanyi L, Manson JD: Immunological aspects of juvenile periodontitis (periodontosis). *J Periodont Res* 9 (1974) 261-272
- 122 Lenhard V, Peters A, Ballas M: Caucasian German Normal. In: Terasaki PI, Gjertson DW [eds]: *HLA 1997. The Regents of the University of California* (1997)
- 123 Lenhard V, Peters A, Ballas M: Caucasian German Normal. In: Terasaki PI, Gjertson DW [eds]: *HLA 1998. American Society for Histocompatibility and Immunogenetics* (1998)
- 124 Lenworth N, Johnson MD, Helen CK, Anthony CA: HLA- A29 as a Potential Risk Factor for Nonarteritic Anterior Ischemic Optic Neuropathy. *Am J Ophthal* 115 (1993) 540-542

- 125 Listgarten MA: Pathogenesis of periodontitis. *J Clin Periodontol* 13 (1986) 418-425
- 126 Listgarten MA: Structure of the microbial flora associated with periodontal health and disease in man. *J Periodontol* 47 (1976) 1-18
- 127 Loe H, Anerud A, Boysen H, Smith M: The natural history of periodontal disease in man. Tooth mortality rates before 40 years of age. *J Periodontal Res* 13(6) (1978) 563-572
- 128 Loe H, Theilade E, Jensen, SB: Experimental gingivitis in man. *J Periodontol* 36 (1965) 177-187
- 129 Long JC, Nance WE, Waring P, Burmeister JA, Ranney RR: Early onset periodontitis: a comparison and evaluation of two proposed modes of inheritance. *Genet Epidemiol* 4(1) (1987) 13-24
- 130 Lyampert IM, Danilova TA: Immunological phenomena associated with cross-reactive antigens of micro-organisms and mammalian tissues. *Prog Allergy* 18 (1975) 423-477
- 131 Machulla HKG, Schönermarck U, Schaaf A, Müller LP, Kloß C, Krüger J, Kunze G, Schönermarck G, Langner J: HLA-A, -B, -Cw and -DRB1, -DRB3/4/5, -DQB1, -DPB1 frequencies in German immunoglobulin A-deficient individuals *Scand J Immunol* 52 (2000) 207-211
- 132 Mallon E, Bunce M, Wojnarowska F, Welsh K: HLA-CW*0602 is a susceptibility factor in type I psoriasis, and evidence Ala-73 is increased in male type I psoriatics. *J Invest Dermatol* 109(2) (1997) 183-186
- 133 Marazita ML, Burmeister JA, Gunsolley JC, Koertge TE, Lake K, Schenklein HA: Evidence for autosomal dominant inheritance and race – specific heterogeneity in early onset periodontitis. *J Periodontol* 65 (1994) 623-630
- 134 Marggraf E, Von Keyserlingk-Eberius HJ, Komischke B, Wöllert N: Die Assoziation von Histokompatibilitätsantigenen (HLA-Antigene) mit profunden Parodontopathien. *Dtsch Zahnärztl Z* 38 (1983), 585-589
- 135 Martin SA, Falkler WA Jr, Suzuki JB, Hawley CE, Mackler BF: Focal and systemic immunoglobulins reactive to *Bacteroides gingivalis* in rapidly progressive and adult periodontitis. *J Periodont Res* 21 (1986) 351-358
- 136 Matsuki K, Juji T, Tokunaga K, Naohara T, Satake M, Honda Y : Human histocompatibility leukocyte antigen (HLA) haplotype frequencies estimated from the data on HLA class I, II, and III antigens in 111 Japanese narcoleptics. *J Clin Invest* 91(6) (1985) 2078-2083
- 137 Mayr WR: Der HLA- Genkomplex. *Infusionsther Transfusionsmed* 21(3) (1994) 185-91
- 138 Mengel R, Koch H, Pfeifer C, Flores-de-Jacoby L: Periodontal health of the population in eastern Germany (former GDR). *J Clin Periodontol* 20(10) (1993) 752-725
- 139 Menzel GR, Richter KV: The distribution of the HL-A antigens and genes in a German population. *Tissue Antigens* 2 (1972) 287-292

- 140 Mercado F, Marshall RI, Klestov AC, Bartold PM: Is there a relationship between rheumatoid arthritis and periodontal disease? *J Clin Periodontol* 27(4) (2000) 267-272
- 141 Meuer SC, Schlossmann SF, Reinherz E: Clonal analysis of human cytotoxic T lymphocytes T4* and T8* effector T-cells recognize products of different major histocompatibility complex regions. *Proc Natl Acad Sci USA* 79 (1982), 4395
- 142 Meyer DH, Fives- Taylor PM: Oral pathogens: from dental plaque to cardiac disease. *Curr Opin Microbiol* 1(1) (1998) 88-95
- 143 Michalowicz BS, Aeppli D, Virag JG, Klump DG, Hinrichs JE, Segal NS, Bouchard TJ, Pihlstrom BL: Periodontal findings in Adult Twins. *J Periodontol* 62 (1991) 293-299
- 144 Michalowicz BS: Genetic risk factors for the periodontal diseases. *Compend Contin Educ Dent Vol XV No 8* (1994) 1036-1050
- 145 Micheelis W, Bauch J: Mundgesundheitszustand und –verhalten in der Bundesrepublik Deutschland. Hrsg: Institut der Deutschen Zahnärzte (IDZ). Deutscher Ärzte-Verlag Köln 1991
- 146 Micheelis W, Bauch J: Mundgesundheitszustand und –verhalten in Ostdeutschland. Hrsg: Institut der Deutschen Zahnärzte (IDZ). Deutscher Ärzte-Verlag Köln 1993
- 147 Miller SA, Dykes DD, Polesky HF: A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research* 16 (1988) 1215-1218
- 148 Modica MA, Freddi S, Caruso C: Blood IgA, IgM and IgE levels are influenced by sex and HLA phenotype. *Exp Clin Immunogeet* 6 (1989) 251-257
- 149 Monaco JJ: A molecular model of MHC class-I-restricted antigen processing. *Immunol Today* 13(5) (1992) 173-179
- 150 Moore WEC, Holdeman LV, Cato EP, Smibert RM, Burmeister JA, Palcanis KG, Ranney RR: Comperative bacteriology of juvenile periodontitis. *Infect Immun* 48 (1985) 507-519
- 151 Moore WEC, Holdeman LV, Smibert RM, Good IJ, Burmeiser JA, Palcins KG: Bacteriology of experimental gingivitis in young adult humans. *Infect Immun* 38 (1982) 651-667
- 152 Moses JH, Tsichti P, Donaldson P, Smith PB, Johnson NW, Bodmer JG: HLA and susceptibility to juvenile periodontitis in Afro-Caribbeans. *Tissue Antigens* 43 (1994) 316-319
- 153 Müller-Glauser W, Schroeder HE: The pocket epithelium: a light and electron microscopic study. *J Periodontol* 53 (1982)133-144
- 154 Mullis K B, Faloona FA: Specific synthesis of DNA in vitro via polymerase catalyzed chain reaction. *Meth Enzymol* 255 (1997) 335-350
- 155 Murro DC, Nisini R, Cattabriga M, Arca, ASD, Moll SL, Paolantonio M, Sebastiani L, D'Amelio R: Rapidly progressive periodontitis, neutrophil chemotaxis inhibitory factors

- associated with the presence of *Bacteroides gingivalis* in crevicular fluid. *J Periodontol* 58 (1987) 868-872
- 156 Nagy ZA, Baxewanis CN, Ishii N, Klein J: Ia antigens as restriction molecules in Ir- gene controlled T-cell proliferation. *Immunological Rev* 60 (1981) 60-83
- 157 Nakagawa M, Kurihara H, Nishimura F, Isoshima O, Arai H, Sawada K, Nagai A, Murayama Y: Immunological, genetic, and microbiological study of family members manifesting early-onset periodontitis. *J Periodontol* 67 (1996) 254-263
- 158 Nathan DG, Oski FA: Hematology of infancy and childhood. Saunders Philadelphia-London-Toronto-Montreal-Sydney-Tokyo (1993) 913-937
- 159 Ohyama H, Matsushita S, Kato N, Nishimura F, Oyaizu K, Koikeguchi S, Kurihara H, Takashiba S, Nishimura Y, Murayama Y: T cell responses to 53-kDa outer membrane protein of *Porphyromonas gingivalis* in humans with early-onset periodontitis. *Human Immunol* 59(10) (1998) 635-643
- 160 Ohyama H, Takashiba S, Oyaizu K, Nagai A, Naruse T, Inoko H, Kurihara H, Murayama Y: HLA Class II genotypes associated with early-onset periodontitis: DQB1 molecule primarily confers susceptibility to the disease. *J Periodontol* 67(9) (1996) 888-894
- 161 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* 39 (1992) 225-235
- 162 Orban B, Weinmann JP: Diffuse atrophy of the alveolar bone (periodontosis). *J Periodontol* 13 (1942) 31
- 163 Orekhova Llu, Levin Mla, Kalinin VI: A comparative evaluation of the autoimmune processes in inflammatory periodontal diseases [Artikel in russisch]. *Stomatologija (Mosk) Spec No* (1996) 71-72
- 164 Page RC, Altman LC, Ebersole JL, Vandesteen GE, Dahlberg WH, Williams B., Osterberg SK: Rapidly progressive periodontitis. A distinct clinical condition. *J Periodontol* 54 (1983) 197
- 165 Page RC, Schroeder HE: Current status of the host response in chronic marginal periodontitis. *J Periodontol* 52 (1981) 477
- 166 Page RC, Schroeder HE: Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summery of current work. *Lab Invest* 34 (1976) 235-249
- 167 Page RC, Schroeder HE: Periodontitis in man and other animals. Karger Basel (1982)
- 168 Papapanou N: Epidemiology and natural history of periodontal disease. In: Lang NP, Karring Th [eds]: Proceedings of the First European Workshop on Periodontology. Quintessenz London (1994) 23

- 169 Papapanou PN, Wennstrom JL, Grondahl K: A 10-year retrospective study of periodontal disease progression. *J Clin Periodontol* 16(7) (1989) 403-411
- 170 Payne R, Rolfs MR: Fetomaternal leukocyte incompatibility. *J Clin Invest* 37 (1958) 1756-1763
- 171 Pelosi E, Testa U, Louache F, Thomopopoulos P, Salvo G, Samoggia P, Peschle C: Expression of transferrin receptors in phytohemagglutinin- stimulated human T-lymphocytes. Evidence for a three- step modell. *J Biol Chem* 261 (1986) 3036-3042
- 172 Pelosi- Testa E, Samoggia P, Gianella G, Montesorgo E, Caravita T, Salvo G, Camagno A, Isacchi G, Testa U, Peschle C: Mechanisms underlying T- lymphocyte activation: mitogen initiates and IL-2 amplifies the expression of transferrin receptors via intracellular iron level. *Immunology* 64 (1988) 273-279
- 173 Petrov RV: Regulation of immune system functions. *Arkh Patol* 45(4) (1983) 3-11
- 174 Petrunin JP, Bokovoi AT, Tulchenetskaia TA, Neliubin OV: Antigeni gistosowmestimosti i infekzionnije bolezni (russisch). *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol* 4 (1982) 15-22
- 175 Pilot T, Miyazaki H, Leclercq MH, Barmes DE: Profiles of periodontal conditions in older age cohorts, measured by CPITN. *Int Dent J* 42(1) (1992) 23-30
- 176 Pilot T, Miyazaki H: Global results: 15 years of CPITN epidemiology. *Int Dent J* 44 (1994) 553-560
- 177 Polson AM, Goodson JM: Periodontal diagnosis. Current status and future needs. *J Periodontol* 56(1) (1985) 25-34
- 178 Potts WK, Wakeland EK: Evolution of MHC genetic diversity: a tale of incest, pestilence and sexual preference. *Trends Genet* 9(12) (1993) 408-412
- 179 Prendergast JK, McGuigan LE, Geczy AF, Kwong TS, Edmons JP: Persistence of HLA-B27 cross- reactive bacteria in bowel flora of patients with ankylosing spondylitis. *Infect Immun* 46 (1984) 686-689
- 180 Priem HA, Kijstra A, Noens L, Baarsma GS, De Laey JJ, Oosterhuis JA: HLA typing in Birdshot Chorioretinopathy. *Am J Ophthal* 105 (1988) 182-185
- 181 Purucker P: Therapie der rasch fortschreitenden Parodontitis (RPP) mittels systemischer Antibiotikagabe. *Parodontologie* 3 (1995) 181-189
- 182 Ranney RR, Ruddy S, Tew JG, Welshimer HJ, Palcanis KG, Segreti A: Immunological studies of young adults with severe periodontitis. I. Medical evaluation and humoral factors. *J Periodont Res* 16 (1981) 390-397
- 183 Rapaport FT, Markowitz AS, Raisbeck AP, Ayvazian JH, Balner H: Cross-reactions between human, chimpanzee, and streptococcal antigens. *Transplant Proc* 4(1) (1972) 87-91

- 184 Rapaport FT: The biological significance of crossreactions between histocompatibility antigens of bacterial and/or heterologous mammalian origin. In: Transplantation antigens. Academic Press New York (1972) 181-208
- 185 Rateitschak K, Rateitschak EM, Wolf H: Parodontologie (4), rasch fortschreitende Parodontitis. Schweiz Monatsschr Zahnmed 98 (1988) 51
- 186 Rateitschak KH: Wandlungen in der Parodontologie. Z Stomatol 91(6) (1994) 9
- 187 Raum D, Awdeh Z, Glass D, Kammer G, Khan MA, Coblyn JS, Weinblatt M, Holdsworth D, Strong L, Rossen RD et al: Extended haplotypes of chromosome 6 in adult rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 27(5) (1984) 516-521
- 188 Reichert S, Stein J, Gautsch A, Machulla HKG: HLA bei deutschen Patienten mit Rasch Fortschreitender Parodontitis (RPP). Dtsch Zahnärztl Z 55 (2000) 502-507
- 189 Reinherz EL, Meuer SC, Fitzgerald KA, Hussey RE, Hodgdon JC, Acuto O, Schlossman SF: Comparison of T3-associated 49- and 43-kilodalton cell surface molecules on individual human T-cell clones: evidence for peptide variability in T-cell receptor structures. Proc Natl Acad Sci USA 80(13) (1983) 4104-4108
- 190 Reinholdt J, Bay I, Svejgaard A: Association between HLA-antigens and periodontal disease. J Dent Res 56(10) (1977) 1261-1263
- 191 Renggli HH, Mühlemann HR, Rateitschak KH: Parodontologie: gesundes Parodont, Epidemiologie, Ätiologie, Diagnostik, Prophylaxe u. Therapie parodontaler Erkrankungen. Thieme Stuttgart-New York (1984)
- 192 Renggli HH: Ätiologie der marginalen Parodontopathien. In: Horch HH, Hupfaut L, Ketterl W, Schuth G [Hrsg]: Praxis der Zahnheilkunde, Band 4. Urban & Schwarzenberg München-Wien-Baltimore (1990) 33-65
- 193 Robertson M: Antigen processing. Proteasomes in the pathway [news; comment]. Nature 353 (1991) 300-301
- 194 Rose M, Waltz H: Die Antigenverteilung des HLA- Systems in der Population der DDR. Dt Ges-wesen 34 (1974) 2005-2010
- 195 Rudensky AY, Rath S, Preston-Hurlburt P, Murphy DB, Janeway CA Jr: On the complexity of self. Nature 353 (1991) 660-662
- 196 Saiki RK, Gelfand DH, Stoffel SJ, Scharf SJ, Higuchi R, Horn GT, Mullis KB, Erlich HA: Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. Science 239 (1988) 487-491
- 197 Sanderink R, Bengel W: Mikrobiell bedingte Destruktionen im marginalen Parodont - eine Übersicht. Parodontologie 2 (1995) 97-120
- 198 Sasazuki T, Nishimura Y, Muto M, Ohta N: HLA-linked genes controlling immune response and disease susceptibility. Immunol. Rev. 70 (1983) 51-75

- 199 Saxen L, Koskimies S: Juvenile periodontitis – no linkage with HLA-antigens. *J. Periodont. Res.* 19(5) (1984) 441-444
- 200 Schiff B, Mizrachi Y, Orgad S, Yaron M, Gazit E: Association of HLA-Aw31 and HLA-DR1 with adult rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 41(4) (1982) 403-404
- 201 Schließl B: HLA-Bestimmung - Probleme und Lösungen, Biotest Diagnostics, Labor für Immungenetik, München (1986)
- 202 Schönermarck U: IgA-Mangel und HLA-Assoziationen. Dissertation A – Medizinische Fakultät der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg (1999)
- 203 Schroeder HE, Attström R: The borderland between caries and periodontal disease. Vol 2. Grune and Satton London (1980) 99-123
- 204 Schroeder HE: Klinik und Pathologie verschiedener Formen von Parodontitis. *Dtsch Zahnärztl Z* 42 (1987) 417
- 205 Schroeder HE: Pathobiologie oraler Strukturen. Karger Basel (1983)
- 206 Schroeder HE, Listgarten MA: Fine structure of the developing epithelial attachment of human teeth. *Monogr Dev Biol* 2 (1971) 1-134
- 207 Shapira L, Eizenberg S, Sela MN, Soskolne A, Brautbar H: HLA A9 and B15 are associated with the generalized form, but not the localized form, of early-onset periodontal diseases. *J Periodontol* 65(3) (1994) 219-223
- 208 Shewan WG, Monat SA, Allan TM: HL-A antigens in haemochromatosis. *Brit Med J* 1 (1976) 281-282
- 209 Simon M, Bourel M, Fauchet R, Genetet B: Association of HLA- A3 and -B14 antigens with idiopathic haemochromatosis. *Gut* 17 (1976) 332-334
- 210 Slots J: Bacterial specificity in adult periodontitis - A summary of recent work. *J Clin Periodontol* 13 (1986) 912-917
- 211 Slots J: Microflora in the healthy gingival sulcus in man. *Scan J Dent Res* 85 (1977a) 247-254
- 212 Slots J: Subgingival microflora and periodontal disease. *J Clin Periodontol* 6 (1979) 351-382
- 213 Slots J: The predominant cultivable flora of advanced periodontitis. *Scan J Dent Res* 85 (1977b) 114-121
- 214 Snell GD: Methods for the study of histocompatibility genes. *J Genet* 49 (1948) 87-108
- 215 Snell GD: The H-2 locus of the mouse: Observations and speculations concerning its comparative genetics and its polymorphism. *Folia Biol* 14 (1968) 335-358
- 216 So A : Genetics, polymorphism and regulation of expression of HLA region genes. In: Lechler R [ed]: HLA and disease. Academic Press (1994) 1-29
- 217 Socransky SS: Microbiology of periodontal disease-present status and future considerations. *J Periodontol* 48 (1977) 497-504

- 218 Socransky SS, Haffajee AD, Goodson JM, Lindhe J: New concepts of destructive periodontal disease. *J Clin Periodontol* 11(1) (1984) 21-32
- 219 Spektor MD, Vandesteen GE, Page RC: Clinical studies of one family manifesting rapidly progressive, juvenile and prepubertal periodontitis. *J Periodont* 56(2) (1985) 93-101
- 220 Stastny P, Ball EJ, Khan MA, Olsen NJ, Pincus T, Gao X: HLA-DR4 and other genetic markers in rheumatoid arthritis. *Br J Rheumatol* 27(2) (1988) 132-138
- 221 Stein J: Untersuchung der HLA-Merkmale A, B, Cw, DR und DQ bei einer Gruppe deutscher Patienten mit rapid progressiver Parodontitis. Dissertation - Medizinische Fakultät der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg (2000)
- 222 Suzuki J B: Diagnosis and Classification of the Periodontal Diseases. *Dental Clin North America* 32 (1988) 195-215
- 223 Svejgaard A, Ryder LP: HLA markers and disease. *Prog Clin Biol Res* 32 (1979) 523-543
- 224 Svejgaard A, Platz P, Ryder LP: HLA and disease 1982 – a survey. *Immunol Rev* 70 (1983) 193-218
- 225 Takashiba S, Noji S, Nishimura F, Ohyama H, Kurihara H, Nomura Y, Taniguchi S, Murayama Y: Unique intronic variations of HLA-DQ beta gene in early-onset periodontitis. *J Periodontol* 65(5) (1994) 379-386
- 226 Takashiba S: Molecular biological study of periodontal diseases by restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis of human leukocyte antigen (HLA) genes. *Nippon Shishubyo Gakkai Kaishi* 32(2) (1990) 386-401
- 227 Tanner ACR, Haffer C, Bratthall GT, Visconti RA, Socransky SS: A study of bacteria associated with advancing periodontitis in man. *J Clin Periodontol* 6 (1979) 278-307
- 228 Terasaki P I, McClelland J D: Microdroplet assay of human serum cytotoxins. *Nature* 204 (1964) 998-1000
- 229 Terasaki PI, Kaslick RS, West TL, Chasens AI: Low HL-A2 frequency and periodontitis. *Tissue Antigens* 5(4) (1975) 286-288
- 230 Terezhalmay GT, Safadi TJ, Longworth DL, Muehrcke DD: Oral disease burden in patients undergoing prosthetic heart valve implantation. *Ann Thorac Surg* 63(2) (1997) 402-404
- 231 Tew JG, Miller GA, Greene EJ, Rice PL, Jordan WP, Palcanis KG, Ranney RR: Immunological studies of young adults with severe periodontitis. II. Cellular factors. *J Periodont Res* 16 (1981) 403-416
- 232 The J, Ebersole JL: Rheumatoid factor from periodontitis patients cross- reacts with epitopes on oral bacteria. *Oral Diseases* 2(4) (1996) 253- 262
- 233 Tiwari JL, Terasaki PI: HLA and Disease Associations. Springer-Verlag New York (1985)
- 234 Topic B, Basic V, Cokorilo N, Malic M: HLA frequency and juvenile periodontitis. *Folia Med Fac Univ Saraviensis* (1986) 113-121

- 235 Treister N, Glick M: Rheumatoid arthritis: a review and suggested dental care considerations. *J Am Dent Assoc* 130(5) (1999) 689-98
- 236 Valtonen VV: Role of infections in atherosclerosis. *Am Heart J* 138(5 Pt 2) (1999) 431-433
- 237 Van Dyke TE, Horoszewicz HU, Cianciola LJ, Genco RJ: Neutrophil chemotaxis dysfunction in human periodontitis. *Infect Immunol* 27 (1980) 124-132
- 238 Van Dyke TE, Zinney WB: Biochemical basis for control of plaque-related oral diseases in the normal and compromised host: Periodontal Disease. *J Dent Res* 68 (1989) 1588-1596
- 239 Van Palenstein Helderman WH: Microbial etiology of periodontal disease (Review article). *J Clin Periodontol* 8 (1981) 261-280
- 240 Van Rood JJ, Eernisse JG, Van Leeuwen A: Leukocyte antibodies in sera from pregnant women, *Nature* 181 (1958) 1735-1736
- 241 Van Rood JJ, Van Leeuwen A, Persijn G, Landsbergen Q, Goulmy E, Termijtelen A, Bradley BA: Role of the HLA system in transplantation. HLA compatibility in clinical transplantation. *Transplant Proc* 9 (1977) 459-467
- 242 Vartdal F, Gaudernack G, Funderud S, Bratlie A, Lea T, Ugelstad J, Thorsby E: HLA class I and II typing using cells positively selected from blood by immunmagnetic isolation – a fast and reliable technique. *Tissue Antigens* 28 (1986) 301
- 243 Vose JM, Smith PW, Henry M, Colan D: Recurrent *Streptococcus mutans* endocarditis. *Am J Med* 82(3 Spec No) (1987) 630-632
- 244 Waerhaug J: Subgingival plaque and loss of attachment in periodontosis as observed in autopsy material. *J Periodontol* 47 (1976) 636-642
- 245 Wannemacher E: Umschau auf dem Gebiet der Parodontose. *Zbl f ges Zahn-Mund-Kieferhkl* 3 (1938) 81
- 246 Wassmuth R: Einführung in das HLA-System. Ecomed Verlagsgesellschaft Landsberg (1995)
- 247 Wegener RS, Wegener S: HLA-A, -B, -C-Gen-, Antigen- und Haplotypfrequenzen aus dem Norden der DDR. *Folia Haemat (Leipzig)* 110 (1983) 126-132
- 248 Wegener S: HLA und Krankheitsassoziationen. *Infusionsther Transfusionsmed* 21(3) (1994) 213-219
- 249 WHO: Epidemiology, etiology, and prevention of periodontal diseases. Report of a WHO Scientific Group. *World Health Organ Tech Rep Ser* (621) (1978) 1-60
- 250 Wilton AN, Cobain TJ, Dawkins RL: Family studies of IgA deficiency. *Immunogenetics* 21(4) (1985) 333-42
- 251 Wilton JMA, Griffiths GS, Curtis MA et al.: Detection of high-risk groups and individuals for periodontal diseases. Systemic predisposition and markers of general health. *J Clin Periodontol* 15 (1988) 339-346

- 252 Wink M, Wherle H: PCR im medizinischen und biologischen Labor – Handbuch für den Praktiker. Git Verlag Darmstadt (1994)
- 253 Woolf B: On estimating the relation between blood group and disease. *Ann Hum Genet* 19 (1955) 251-253
- 254 Wynne SE; Walsh LJ, Seymour GJ, Powell RN: In situ demonstration of natural killer (NK) cells in human gingival tissue. *J Periodont* 57 (1986) 699-702
- 255 Yusof ZA: Prevention of bacterial endocarditis in localised juvenile periodontitis and Papillon-Lefevre syndrome patients. *Dent J Malays* 10(2) (1988) 31-35
- 256 Zabriskie JB: Mimetic relationship between group A streptococci and mammalian tissues. In: Dixon FJ, Kunkel HG [eds]: *Advances in Immunology* vol.7. Academic Press New York (1967) 147-188
- 257 Zafiropoulos GG, Flores-de-Jacoby L, Wirth J, Todt G: Chemotaxis-Untersuchung von peripheren Granulozyten bei Patienten mit rasch fortschreitender Parodontitis. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 98 (1988) 225-230
- 258 Zinkernagel RM, Doherty PC: H-2 compatibility requirement for T-cell-mediated lysis of target cells infected with lymphocytic choriomeningitis virus. Different cytotoxic T-cell specificities are associated with structures coded for in H-2K or H-2D. *J Exp Med* 141(6) (1975)1427-36

Anlagen

Chemikalien

Ethidiumbromid/Acridinorange - Färbelösung:

- 1.1 Stammlösung: 50 mg Ethidiumbromid (No. 11615, Merck, Darmstadt), 15 mg Acridinorange (No. 15931, Merck, Darmstadt), 49 ml 10% EDTA-Lösung (Carl Roth GmbH, Karlsruhe) in isotonischem Puffer (PBS, bica, Frankfurt/O.)
 Gebrauchslösung: 1 ml Stammlösung + 9 ml PBS (kühl und dunkel gelagert)

Red Cell Lysis Buffer:

- 1.2 Stammlösung: 12,1 g TRIS (Sigma Chemical Co., St. Louis), 10,2 g $MgCl_2$ (Carl Roth GmbH, Karlsruhe), 5,8 g NaCl (Merck, Darmstadt), 5 ml konzentrierte Salzsäure auf 1 l Aqua dest. bei pH = 7,6
 Gebrauchslösung: (1 x RCLB): Stammlösung 1 : 10 mit Aqua dest. verdünnen

Elektrophoreselösung:

- Stammlösung: 108 g (0,9 M) TRIS (Fluka AG, Buchs SG, Schweiz), 55 g (0,9 M) Borsäure (Pharmacia Biotech, Uppsala, Schweden), 40 ml (0,5 M) EDTA mit pH = 8,0 (20 mM EDTA, Carl Roth GmbH, Karlsruhe); Tris-Basis und Borsäure in 700 ml Aqua dest. auflösen, EDTA zugeben und mit Aqua dest. auf 1 l auffüllen
 Gebrauchslösung: (1 x TBE): 50 ml Stammlösung + 975 ml Aqua dest.

Blue-Ethidium-Marker:

- Ethidiumbromid-Lösung: 1 g Ethidiumbromid (No. 11615, Merck, Darmstadt) in 100 ml PBS (bica, Frankfurt/O.)
 Blue Marker: 2 mg Bromphenolblau (Merck, Darmstadt) in 10 ml Ficoll (Dichte = 1,076) (Pharmacia, Uppsala, Schweden)
 Blue Marker und Ethidiumbromid-Lösung (10 mg/ml) im Verhältnis 10 : 1

1.2.1.1 PCR-Lösung:

- 500 µl 10 x PCR-Puffer (Applied Biosystem, Weiterstadt): 500 mM KCl, 15 mM $MgCl_2$ (Carl Roth GmbH, Karlsruhe), 100 mM Tris-HCl (pH = 8,3), 0,01% w/v Gelatine)
 250 µl Glycerol (99%, Endkonzentration 5%, Sigma Chemical Co., St. Louis)
 350 µl autoklaviertes Aqua dest. (Pharmacia & Upjohn GmbH, Heidelberg)
 je 100 µl dATP, dCTP, dGTP, dTTP (je 10 mM, Endkonzentration 200 µM, Applied Biosystems, Weiterstadt)



HISTO TRAY ABC 144

Mikrotestkammern (72) mit vorgetropften HLA-ABC Antisera und Kontrollen (human oder monoklonal) zur Typisierung eines Probanden
 Microtest trays (72) with predropped HLA-ABC anti sera and controls (human or monoclonal) for typing one specimen

Best.-Nr. : 7035
 Cat. No.
 Ch.-B. : 91T241
 Lot No.
 Verw. bis : 31.11.1999
 Exp. Date
 Lagerung : mindestens - 20°C
 Storage : at least
 Kaninchenkompl. Ch.-B.: B3H816
 Rabbit Complement Lot No.
 Verw. bis : 31.12.1999
 Exp. Date

Ergebnisprotokoll/Worksheet

Testdatum/Test Date: _____ Untersucher/Tech: _____
 Name: _____ Vorname/First Name: _____
 Geb. Datum/born: _____ Proben Nr./Specimen No.: _____

A _____ B _____
 Cw _____ Cw _____ Bw _____ Bw _____

Pos. Well	Serum Ch.-B. Lot No.	Anti-HLA	Reaktion Reaction	Pos. Well	Serum Ch.-B. Lot No.	Anti-HLA	Reaktion Reaction
1A	93 H 655	pos. Kontrolle		7A	93 H 596	A32 (25)	
1B	93 H 656	neg. Kontrolle		7B	93 H 595 *	A32	
1C	93 H 809	A1		7C	93 H 510	A32	
1D	93 H 676	A1+36 (80)		7D	92 H 685	A33+34 (66)	
1E	93 H 283	A1 (8 35)		7E	03 H 813	A33	
1F	93 H 349	A2 (28)		7F	93 H 472	A33 1	
2F	93 H 478	A2		8F	03 H 388	A33+31	
2E	93 H 454	A2		8E	93 H 358	A34	
2D	93 H 576	A3		8D	93 H 665	A36	
2C	93 H 675	A3		8C	93 H 588	A36+3+11	
2B	93 H 577	A3		8B	93 H 296	A6601	
2A	93 H 592	A 23		8A	93 H 570	B 51	
3A	93 H 514	A 23		9A	93 H 496	B 51	
3B	93 H 772	A9[23+24]		9B	93 H 643	B5[51+52]	
3C	93 H 593	A 24		9C	93 H 423	B7+81	
3D	93 H 437	A 24		9D	93 H 599	B7+81	
3E	93 H 471	A25		9E	93 H 379	B7+81 (42+67+55)	
3F	93 H 418	A25		9F	93 H 412	B8+59	
4F	93 H 207	A25+26+6601 (34)		10F	92 H 738	B8 (59)	
4E	03 H 053	A 26+66+43		10E	93 H 615	B8	
4D	93 H 339	A 26+6601		10D	93 H 530	B 44 + s.t.e.	
4C	93 H 781	A11		10C	93 H 459 *	B12[44+45]	
4B	93 H 589	A11		10B	93 H 243	B12[44+45]	
4A	93 H 590	A11		10A	93 H 329	B12[44+45]	
5A	93 H 607	A28[68+69]		11A	93 H 616	B 45+76	
5B	93 H 605	A28[68+69]		11B	93 H 468	B13	
5C	92 H 741	A28[68+69]+10+33		11C	93 H 457	B13	
5D	93 H 606	A28[68+69]		11D	93 H 517 *	B 65	
5E	93 H 677	A29+31(30)		11E	93 H 302	B 65	
5F	93 H 333	A29		11F	93 H 617	B14[64+65]	
6F	93 H 416 *	A29		12F	93 H 504 *	B14[64+65] (8)	
6E	03 H 564	A30		12E	93 H 653 **	B62	
6D	93 H 657	A30		12D	93 H 983 *	B62 (63)	
6C	93 H 509	A30+31+74 (33)		12C	92 H 409 *	B62+63 (75, 57)	
6B	93 H 672 *	A30+31+74		12B	93 H 853 *	B 63	
6A	93 H 673 *	A 31		12A	93 H 301	B 63 wk	

Pos. Well	Serum Ch.-B. Lot No.	Anti-HLA	Reaktion Reaction	Pos. Well	Serum Ch.-B. Lot No.	Anti-HLA	Reaktion Reaction
1A	93 H 522	B 38		7A	92 H 758	B41 (60)	
1B	93 H 647	B 38		7B	93 H 855 *	B42	
1C	93 H 584	B16[38+39]		7C	93 H 660	B46	
1D	93 H 555	B16[38+39]		7D	93 H 011	B47+27 (44)	
1E	93 H 487	B 39		7E	93 H 569	B47+44 (49,45)	
1F	93 H 651	B 57		7F	93 H 469	B47+40+13 (41)	
2F	92 H 789	B 57		8F	93 H 694	B47+40	
2E	93 H 697	B17[57+58]+63		8E	92 H 707	B67+55+42 (56,41)	
2D	93 H 357	B17[57+58]		8D	12 H 406	B70+51+52 (49, 18, 53)	
2C	93 H 364	B18		8C	93 H 586	B70+51+52+35+53+18+62	
2B	93 H 648	B18		8B	93 H 776	B70[71+72]+62 (63)	
2A	93 H 568 *	B18+37+47+52 (41, 39)		8A	93 H 578 *	B70[71+72]+62+46	
3A	93 H 415	B 49		9A	93 H 746	B70[71+72]+62 (50)	
3B	93 H 642	B 49 (52)		9B	93 H 328	B70[71+72]+62+75+76+77+57+63	
3C	92 H 736	B21[49+50]		9C	93 H 658	B73+27	
3D	93 H 735	B21[49+50]		9D	93 H 520	B73	
3E	93 H 788	B21[49+50]		9E	92 H 753	B73	
3F	93 H 331	B 55		9F	93 H 729	Cw1+B46	
4F	93 H 771	B 55		10F	93 H 753	Cw1+B46	
4E	93 H 693	B22[54+55+56]+42		10E	92 H 024	Cw2	
4D	93 H 529	B 56		10D	93 H 630	Cw2	
4C	93 H 098	B 56		10C	93 H 527	Cw3+B46	
4B	93 H 769	B27		10B	93 H 631	Cw3	
4A	93 H 512	B27		10A	92 H 937	Cw4	
5A	93 H 397	B35		11A	93 H 367	Cw5	
5B	92 H 733	B35		11B	93 H 730	Cw5	
5C	93 H 775	B35+53		11C	93 H 814	Cw6+4	
5D	93 H 723	B35+53		11D	93 H 669	Cw6	
5E	93 H 701	B37		11E	93 H 444	Cw7	
5F	93 H 700	B37		11F	93 H 574	Cw7	
6F	92 H 833	B 60 (48,81)		12F	93 H 698	Cw8	
6E	93 H 779	B 60+81+48		12E	93 H 854 *	Cw8	
6D	93 H 202	B60+41+50+45 (62,61,70)		12D	03 H 346 *	Bw4 (A 32)	
6C	93 H 042	B40[60+61]+81+48		12C	93 H 760	Bw4 (A 32, 49)	
6B	93 H 341	B40[60+61]		12B	13 H 347 *	Bw6	
6A	93 H 186	B41		12A	93 H 763	Bw6	

Bemerkungen/Remarks:
 s.t.wk = manchmal schwach/sometimes weak + e = extra Reaktion/extra reaction ↓ = carry over possible
 [] = Split-Reaktion/Split-reactions () = kann Reaktion zeigen/may show reactions
 + = monoclonal * = Neues Antiserum oder neue Position/new antiserum or new position

**Ergebnisprotokoll zur serologischen HLA-Typisierung
 (Beispiel: HLA-A,B,C-Typisierung, BAG)**



SPECIFICITY TABLE

Dynal *Classic* SSP

DR "low resolution"

THIS SPECIFICITY TABLE IS VALID FOR BATCH NUMBER B662

Tube No.	Approx. size (bp)	Amplified DRB1* alleles
1	195	0101 - 01022, 0104, 0105
2	200	0103
3	210	15011 - 1508
4	205, 215, 220	16011 - 1608
5	225	03011 - 0310, 0311 ^{weak} , 0312, 1107
6	85	03011, 03012, 0304 - 0306, 0308 - 0312, 1327
7	95	03021 - 0303, 1315, 1319, 1326, 1402, 1403, 1406, 1412, 1413, 1418 - 1420, 1424, 1427, 1429
8	265	04011 - 0432, 1122, 1410
9	230, 215	0701 - 0704
10	215, 220, 165	1415, 0801 - 0821
11	195	09012
12	205	1001
13	170, 180	0308, 0415, 11011 - 1134
14	105	1201 - 1205
15	205	1102, 1114, 1116, 1118 - 1121, 1131, 1301 - 1304, 1306, 1308 - 1310, 1312, 1313, 1315, 1316, 1319, 1322, 1323, 1327, 1328, 1330 - 1334, 1416, 1424
16	205, 215, 195	11011-11042, 1106, 1109-1112, 1114-1116, 1120, 1121, 1123-1125, 1127-1129, 1132, 1133, 12021, 12022, 1301, 1302, 1304, 1305, 13071-1308, 1311, 1314-1324, 1326-1329, 1331, 1332, 1334, 1415, 1416, 1422, 1425, 1427, 0801 - 08022, 08041 - 0809, 0811, 0816, 0817, 0821
17	180	03011 - 0307, 0309, 0311, 0312, 1301 - 1316, 1318 - 1334, 1402, 1403, 1405, 1406, 1409, 1412 - 1414, 1417 - 1421, 1423, 1424, 1427, 1429, 1430
18	210, 200	1113, 1117, 1401, 1404, 1405, 1407, 1408, 1411, 1414, 1418, 1423, 1426, 1428, 1431
19	150, 145	1310, 1402, 1406, 1409, 1413, 1417, 1419 - 1421, 1429, 1430
20	225, 155	1123, 1125, 1313, 1318, 1403, 1412, 1415, 1427, 0809, 0821
21	175	0310, 1401, 1407, 1410, 1416, 1422, 1425, 1426
		Amplified DRB3/4/5* Alleles
31	220	DRB3*01011 - 0105, 0201 - 0208, 0301 - 0303
32	200	DRB4*01011 - 0105
33	265	DRB5*01011 - 0109, 0202 - 0204

Ergebnisprotokoll zur mikrobiologischen HLA-Typisierung mittels PCR-SSP

(Beispiel: HLA-DR-low-resolution-Typisierung, Dynal)

Informationsblatt zur Untersuchung „HLA und Parodontitis“

Sehr geehrte/r Frau/Herr

Im Rahmen einer wissenschaftlichen Studie untersuchen wir, ob ein Zusammenhang zwischen den Merkmalen des HLA-Systems des Menschen und der Neigung zu Entzündungen des Zahnfleisches besteht. Dazu benötigen wir eine Blutprobe von Menschen, die unter solchen Entzündungen leiden bzw. gesundes Zahnfleisch haben, sowie deren Geschlecht und Alter. Der Name wird anonymisiert. Hierzu einige bewußt allgemein verständlich gehaltene Erläuterungen der Begriffe:

Das HLA-System umfaßt mehrere Gruppen an Merkmalen, die blutgruppenartig über die Einzigartigkeit eines jeden Menschen wachen, indem sie die Resistenz und Anfälligkeit gegenüber Krankheiten und Krebs sowie die Abwehrstärken und -schwächen gegenüber Krankheitserregern wesentlich mitbeeinflussen.

Zahnfleiscentzündungen können chronisch oder aggressiv verlaufen und letztlich zu Zahnerkrankungen oder gar zum Zahnausfall führen. Es sind daran neben einer ganzen Reihe anderer Ursachen auch verschiedene Mikroorganismen beteiligt. Das HLA-System könnte einerseits die Anfälligkeit/Abwehrfähigkeit gegenüber pathogenen Mikroorganismen direkt mitbestimmen oder/und andererseits indirekt über das Immunsystem wirkend Krankheiten verhindern.

Diese Studie könnte mit zu einer besseren Kenntnis der Vorgänge beitragen, die Zahnfleiscentzündungen aggressiv werden lassen. Solche Erkenntnisse führen früher oder später zu einer Verbesserung der Gesundheitsvorsorge bzw. Krankheitsbekämpfung.

Durch Ihren Beitrag in Form einer kleinen Blutprobe von 20 ml würden Sie gemeinsam mit uns dazu beitragen, neue Erkenntnisse zu erzielen.

Einverständnisbogen

Hiermit erkläre ich mein Einverständnis, mir zur Bestimmung meiner HLA-Merkmale eine kleine Blutprobe von 20 ml abnehmen zu lassen.

Ich gestatte, meine HLA-Merkmale anonymisiert in einer wissenschaftlichen Studie auswerten zu lassen. Über den Sinn der Studie wurde ich informiert.

Unterschrift

Datum

Thesen

1. Die Erwachsenenparodontitis (AP) ist mit einer Prävalenz von mehr als 70% in der Altersgruppe ab 35 Jahre die häufigste Form der Parodontitiden. Sie entwickelt sich in der Regel aus einer langjährig bestehenden Gingivitis und ist mit einer spezifischen subgingivalen Bakterienflora assoziiert. Charakteristisch für die AP ist der langsame und intermittierende entzündliche Attachmentverlust.
2. Auf eine Assoziation bestimmter HLA-Merkmale zu entzündlichen Parodontopathien weisen bereits vorliegende Untersuchungen hin, deren Ergebnisse aber durch unterschiedliche methodologische Ansätze und Inhomogenität der Untersuchungs- und vor allem der Vergleichsgruppen nicht kongruent sind. Deshalb wurden in der vorliegenden Untersuchung gezielt 102 ältere, klinisch parodontitisfreie Probanden als Vergleichsgruppe ausgewählt, die durch ihr Alter (59 ± 15 Jahre) und wegen ihrer kontinuierlich schlechten Mundpflege eine weitestgehende Resistenz gegenüber Parodontitiden erwarten lassen, wie sie in der Literatur für etwa 10% der Bevölkerung beschrieben wird. Zur Verifizierung dieser Annahme wurde eine Vergleichsgruppe aus 29 parodontitisfreien Probanden im Alter über 70 Jahre gebildet und vergleichend statistisch ausgewertet.
3. Erstmals wurden 102 deutsche AP-Patienten serologisch und molekularbiologisch typisiert und mit parodontitisfreien Kontrollprobanden, nicht aber nur mit diesbezüglich parodontologisch undifferenzierten Blutspendern (HLA-Normalverteilung) verglichen. Die Kontrastierung der zu vergleichenden Gruppen wurde durch die gegenüber anderen Studien deutlich angehobene Altersgrenze der parodontitisfreien Probanden und die höhere Gesamtzahl der typisierten „Resistenten“ (N= 102) sowie durch die spezielle Auswahl von Probanden mit schlechter Oralhygiene verschärft. Eine Gesamtgruppe aus Patienten mit Erwachsenenparodontitis und Patienten mit RPP aus einer Parallelstudie (221) wurde ebenfalls mit der „Resistenz“gruppe hinsichtlich ihrer HLA-Typen verglichen.
4. Die AP-Patienten wiesen einen Attachmentverlust von mehr als 4 mm an mindestens 5 Zähnen und einen röntgenologisch verifizierbaren Knochenabbau auf. Die parodontitisfreien Probanden waren durchschnittlich 59 Jahre alt und wiesen keinen entzündlichen Attachmentverlust auf. Die parodontologisch undifferenzierten Blutspender dienten ausschließlich zur Repräsentation der Normalverteilung der HLA-Antigene in der Population.
5. Die vorliegende Arbeit bestätigt nicht die von einigen Autoren (103,104,229) für die AP beschriebenen positiven Assoziationen zu den HLA-Klasse II-Merkmalen DR4 (DRB1*04),

DR53 (DRB4*) und DQ3 (DQB1*03), ebenso nicht die Verringerungen der HLA-Klasse I-Merkmale A2 (A*02), A28 (A*68/69) und B5 (B*51/52). Erwähnenswert erscheint aber, daß bei den AP-Patienten und in der Parodontitisgruppe (AP+RPP) im Vergleich mit der Subgruppe der über 70-jährigen Resistenten nicht signifikante Frequenzunterschiede bei den Merkmalen HLA-DRB1*08, -DRBblank* und -DQB1*04 auftraten.

6. In dieser Studie zeigt sich bei Patienten mit Erwachsenenparodontitis nach rechnerischer Korrektur der Ergebnisse (Yates, Fisher) eine signifikant positive Assoziation zu HLA-A*11, HLA-A*29, -A*33, -B*14 und -Cw*08 sowie eine signifikant negative Assoziation zu HLA-A*03, die sich ebenso in der Tendenz, aber nicht signifikant in der Gruppe der Parodontitispatienten (AP+RPP) darstellt. Ebenfalls erwähnenswert ist die bei AP-Patienten tendenzielle Verringerung des Merkmals HLA-B*39, da dieser Frequenzunterschied beim Vergleich mit der Subgruppe der über 70-jährigen Resistenten signifikant wird. In der Gesamtgruppe der an Parodontitis (RPP+AP) erkrankten Patienten finden sich in gleicher Weise wie bei den AP-Patienten die signifikant positiven Assoziationen zu den Merkmalen HLA-A*11, -A*29, -B*14 und -Cw*08 wieder, während die negativen Assoziationen zu HLA-A*31 bzw. HLA-A*(30/31) nur in dieser Gruppe signifikant, bei AP-Patienten durch die offensichtlichen Frequenzunterschiede ebenfalls auffällig sind. Eine weitestgehend gesicherte Resistenz der Probanden in der parodontitisfreien Vergleichsgruppe kann aufgrund der Kongruenz der statistischen Werte im Vergleich mit der Subgruppe der über 70-jährigen Resistenten angenommen werden.

7. Es ergaben sich nur wenige geschlechtsspezifische Unterschiede. Frauen mit AP scheinen signifikant den größeren Anteil an der positiven Assoziation zu HLA-A*11 zu haben. HLA-A*02 tritt bei „resistenten“ Frauen signifikant häufiger als bei männlichen „Resistenten“ auf.

8. Die rezessive Suszeptibilität oder Resistenz kann durch homozygote HLA-Merkmale nachgewiesen werden. Dazu wurde die Häufigkeiten homozygot auftretender Merkmale überprüft, wobei in der vorliegenden Studie Homozygotien von DRBblank* (non DRB3/4/5) bei den „Resistenten“ signifikant häufiger auftraten, wobei in der Parallelstudie zur RPP (221) das Einzelmerkmal HLA-DRBblank* ebenfalls im Sinne einer höheren Resistenz bzw. verringerten Anfälligkeit auffällig wurde. Da die Normalverteilung unter parodontologisch undifferenzierten Blutspendern mehr den Werten der Patientengruppen entspricht, handelt es sich offenbar um einen Resistenzfaktor, so dass beim Fehlen der HLA-Supergene (DRB3/4/5) eine höhere Resistenz oder geringere Anfälligkeit gegen Parodontitiden gegeben sein könnte.

9. Kombinationen bzw. spekulative Haplotypen, gekoppelt mit HLA-B*14 scheinen mehr mit Suszeptibilität, während die mit HLA-A*03 gekoppelten Mehrfachkombinationen mehr mit

Resistenz gegenüber AP assoziiert zu sein. In der Kopplungsanalyse treten HLA-Merkmale in Erscheinung, die nur als Haplotypen signifikante Frequenzunterschiede aufwiesen, wie zum Beispiel die mit HLA-B*44 bzw. HLA-B*18 gekoppelten Mehrfachkombinationen. Diese scheinen wie die B*14-gekoppelten Kombinationen mit Suszeptibilität gegenüber einer AP assoziiert zu sein. Bemerkenswert ist die ungewöhnliche Kopplung des ancestralen Haplotyps (HLA-Cw*08 : B*14) mit dem Klasse II-Merkmal HLA-DRB1*04. Der ancestrale Haplotyp HLA-Cw*08 : B*14, egal ob mit HLA-DRB1*01 oder HLA-DRB1*04 (90,220,233) kombiniert, tritt fast ausschließlich nur bei den AP-Patienten und IgAD-Probanden der Arbeitsgruppe Dr. H.K.G. Machulla (Dissertation Schönermarck, 1999) auf, was eine positive Assoziation zu diesen Erkrankungen vermuten lässt.

10. Ein HLA-abhängiger Responderstatus in der Immunantwort gegenüber bakteriellen Antigenen kann aufgrund der ätiopathologisch unbestreitbaren Rolle pathogener Keime bei der Entstehung der AP angenommen werden. So könnten Kreuzreaktionen zwischen HLA-Merkmalen und Leitkeimen (molekulares Mimikry) das im Vergleich zu Resistenten häufigere Auftreten von bestimmten HLA-Merkmalen bzw. -Haplotypen unter AP-Patienten erklären.

11. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit liefern Hinweise auf eine mögliche Beteiligung des HLA-Systems an der Manifestation der AP. Dabei scheinen für einige HLA-Merkmale gleichermaßen Assoziationen zur AP und zur Parodontitis im allgemeinen vorzuliegen.

Im Hinblick auf die mangelnde Einheitlichkeit der Untersuchungsergebnisse zur AP bzw. zu aggressiven Parodontitisformen erscheint eine präventive Früherkennung der AP durch die Bestimmung von HLA-Merkmalen als Suszeptibilitäts- oder Resistenzmarker jedoch derzeit nicht praktikabel. Anscheinend beeinflusst der Haupthistokompatibilitätskomplex die Suszeptibilität für Parodontitiden, kann diese jedoch aufgrund der Heterogenität der Erkrankungen nicht vollständig determinieren. Bevor die Kenntnisse zur HLA-Assoziation differenzialdiagnostisch genutzt werden können, sind weitere standardisierte Untersuchungen notwendig.

Tabellarischer Lebenslauf

Name: Gautsch
Vorname: Andreas
Geburtstag: 29.05. 1957
Geburtsort: Lauchhammer (Kreis Senftenberg)
Familienstand: verheiratet

Schulausbildung:

1963-1971 Besuch der POS „German Titow“ in Hoyerswerda
1971-1973 Besuch der EOS „Dr. Theodor Neubauer“ in Hoyerswerda
1973-1975 Besuch der EOS „Gotthold Ephraim Lessing“ in Hoyerswerda
1975 Abitur

Studium:

1978- 1980 Vorklinisches Studium an der Humboldt-Universität zu Berlin
1980 Zahnärztliche Vorprüfung
1980- 1983 Klinisches Studium an der Humboldt-Universität zu Berlin
1983 Staatsexamen, Diplomverteidigung und Approbation als Zahnarzt

Beruf:

1983-1987 Facharztausbildung und Arbeit als Assistenzzahnarzt in der stomatologischen Poliklinik in Woldegk (Bezirk Neubrandenburg)
1985-1990 Mitarbeit im Arbeitskreis Parodontologie (Leitung MR Dr. I. Mieler)
1987 Facharztprüfung zum Facharzt für Allgemeine Stomatologie
1987-1989 Vertragszahnarzt in einer NVA-Dienststelle in Neubrandenburg
1989-1990 Vertragszahnarzt in einer NVA-Dienststelle in Karlshagen/Peenemünde
1990-1992 angestellter Zahnarzt in einer Privatpraxis in Burg auf Fehmarn
seit 1993 Niederlassung in eigener Praxis in Bremen

Selbständigkeitserklärung:

Hiermit erkläre ich, Andreas Gautsch, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und nur unter Verwendung der angegebenen Hilfsmittel und Literatur angefertigt habe.

Weiterhin erkläre ich, dass ich diesen Antrag auf Eröffnung des Promotionsverfahrens der vorliegenden Arbeit erstmalig beim Dekan der Medizinischen Fakultät der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg stelle und in der Vergangenheit auch an keiner anderen Universität gestellt habe.

Teile der vorliegenden Arbeit wurden in folgender Form bereits veröffentlicht:

- Reichert S, Stein J, Gautsch A, Kloß C, Krüger J, Schaaf A, Langner J, Machulla HKG: HLA bei deutschen Patienten mit rapid progressiver Parodontitis. Autoreferate und Kurzvorträge – Tagungskompodium. Wissenschaftliche Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Parodontologie e.V., Dresden, September 1999
- Reichert S, Stein J, Gautsch A, Machulla HKG: HLA bei deutschen Patienten mit Rasch Fortschreitender Parodontitis (RPP). Dtsch Zahnärztl Z 55 (2000) 502-507
- Reichert S, Stein J, Gautsch A, Machulla HKG: HLA in German patients with rapidly progressive periodontitis (RPP) in comparison to resistant controls. J Clin Periodontol 27, Suppl. 1 (2000) 81
- Machulla HKG, Stein J, Gautsch A, Langner J, Schaller H-G, Reichert S: HLA-A, B, Cw; DRB1, DRB3/4/5, DQB1 in German patients suffering from rapidly progressive periodontitis (RPP) and adult periodontitis (AP). J Clin Periodontol. 7(2002) accepted; manuscript # CPE00203B
- Stein J, Reichert S, Gautsch A, Machulla HKG: Homozygosity and linkage analyses of HLA alleles in German patients suffering from rapidly progressive periodontitis (RPP) and adult periodontitis (AP). J Period Res, eingereicht am 07.10. 2000, Nr. PERO345

Halle (Saale), den 26.08. 2001

Danksagung

Hiermit danke ich allen, die zum Gelingen der vorliegenden Arbeit beitrugen:

Herrn Prof. Dr. med. habil. J. Langner danke ich besonders für die freundliche Überlassung des Themas, die entgegenkommende Betreuung und kritische Durchsicht meiner Arbeit.

Dem Leiter des Interdisziplinären HLA-Labors, Herrn Dr. rer. nat. H.K.G. Machulla, der mir mit vielen nützlichen Hinweisen zur Erstellung der Arbeit geholfen hat, danke ich sehr herzlich für die Betreuung und die Vergabe des Themas, das ihm besonders am Herzen lag. Weiterhin bedanke ich mich bei Herrn OA Dr. Reichert für seine fachliche Unterstützung.

Besonderer Dank gilt ebenso Frau A. Schaaf sowie den unter Ihrer Leitung arbeitenden MTLA J. Krüger und C. Kloß für die erbrachten HLA-Typisierungen.

Weiterhin möchte ich Herrn Dr. J. Stein für die statistische Bearbeitung eines Teils der HLA-Typisierungsergebnisse danken.

Ebenso danke ich Herrn ZA E. Wilcken in Burg auf Fehmarn für die Überlassung seiner Patienten und Probanden, deren klinische Daten in dieser Arbeit verwendet worden sind. Auch danke ich allen Mitarbeiterinnen der Praxen Gautsch und Wilcken für die organisatorische Unterstützung.

Ein großer Dank gilt nicht zuletzt allen HLA-typisierten Patienten bzw. Probanden, ohne deren Teilnahme die vorliegende Untersuchung nicht möglich gewesen wäre.