

Aus der Klinik für Allgemeine Pädiatrie des Otto-Heubner-Centrums für Kinder- und
Jugendmedizin Campus Virchow Klinikum
der Medizinischen Fakultät Charité - Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Bedeutung von Typ 1 Diabetes-spezifischen Autoantikörpern zum Zeitpunkt der Diabetesmanifestation für den klinischen Verlauf der Erkrankung im Kindes- und Jugendalter unter besonderer Berücksichtigung der Entwicklung einer zweiten Autoimmunerkrankung

Zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité - Universitätsmedizin Berlin

von
Nicola Charpentier, geb. Meyer
aus Chicago

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. O. Kordonouri
 2. Prof. Dr. med. B. Niggemann
 3. Priv.-Doz. Dr. med. Neu

Datum der Promotion: 21.11.2008

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	7
1.1	Typ 1 Diabetes (T1D)	7
1.2	Epidemiologie des Typ 1 Diabetes	7
1.2.1	Ätiopathogenese des Typ 1 Diabetes	8
1.2.2	T1D-spezifische Autoantikörper (T1D-AAK)	9
1.3	Klinischer Verlauf des Typ 1 Diabetes	11
1.4	Typ 1 Diabetes-assoziierte Erkrankungen	13
1.4.1	Autoimmunthyreoiditis (AIT)	13
1.4.2	Zöliakie (Coeliac Disease, CD)	14
2	Zielsetzung und Fragestellungen	16
3	Material und Methoden	17
3.1	Beschreibung des Patientenkollektivs	17
3.2	Durchgeführte Untersuchungen	19
3.3	Methoden	20
3.3.1	Bestimmung von T1D-spezifischen Autoantikörpern	20
3.3.2	Bestimmung von HbA1c-Werten	21
3.3.3	HLA-DR-Typisierung	22
3.3.4	Bestimmung von SD-spezifischen Autoantikörpern	24
3.3.5	Bestimmung von Zöliakie-spezifischen Autoantikörpern	24
3.4	Diagnostik	25
3.4.1	Diagnosestellung der klinischen Autoimmunthyreoiditis	25
3.4.2	Diagnosestellung der klinischen Zöliakie	25
3.4.3	Berechnung der Remissionsdauer	26
3.5	Statistische Auswertung	26

4	Ergebnisse	28
4.1	Prävalenz der Diabetes-spezifischen Autoantikörper bei T1D-Manifestation	28
4.1.1	Prävalenz einzelner und multipler positiver T1D-AAK	28
4.1.2	Prävalenz der Diabetes-spezifischen Autoantikörper in Abhängigkeit von verschiedenen Faktoren:	30
4.1.2.1	Geschlecht der Patienten	30
4.1.2.2	Alter der Patienten bei T1D-Manifestation	30
4.1.2.3	Herkunft der Patienten	32
4.1.3	HLA-DR Merkmale und Prävalenzen der T1D-AAK	33
4.2	Klinischer Verlauf des Typ 1 Diabetes	39
4.2.1	Glykämische Stoffwechsellage im ersten Diabetesjahr	39
4.2.2	Einfluss der T1D-Antikörperpositivität auf die glykämische Stoffwechsellage	39
4.2.3	Remissionsdauer im Krankheitsverlauf	41
4.2.4	Einfluss der T1D-Antikörperpositivität auf die Remissionsdauer	43
4.3	Auftreten einer zweiten Autoimmunerkrankung bei Patienten mit Typ 1 Diabetes	46
4.3.1	Autoimmunthyreoiditis	46
4.3.1.1	Schilddrüsen-Autoimmunität bei T1D-Manifestation	46
4.3.1.2	Inzidenz von Schilddrüsenautoantikörpern im Verlauf	47
4.3.1.3	Prävalenz einer klinischen AIT bei T1D-Manifestation	49
4.3.1.4	Inzidenz der klinischen AIT im Verlauf	49
4.3.1.5	Bedeutung von T1D-AAK für das Auftreten einer AIT	52
4.3.2	Zöliakie	56
4.3.2.1	Zöliakie-assoziierte Autoimmunität bei T1D-Manifestation	56
4.3.2.2	Inzidenz der Zöliakie-spezifischen Antikörper im Verlauf	56
4.3.2.3	Prävalenz einer Zöliakie bei T1D-Manifestation	58
4.3.2.4	Inzidenz einer Zöliakie im Verlauf	58

4.3.2.5	Bedeutung von T1D-AAK für das Auftreten einer Zöliakie	60
5	Diskussion	65
5.1	Bedeutung der T1D-spezifischen Autoantikörper	65
5.2	Charakterisierung der Patienten durch T1D-AAK	66
5.3	T1D-AAK als Marker des klinischen Verlaufs des T1D	69
5.4	T1D-AAK als prädiktive Marker für die Entwicklung einer zweiten Autoimmunerkrankung	73
5.5	Evaluation der Arbeit und Ausblick	78
6	Zusammenfassung	80
7	Literaturverzeichnis	83
8	Danksagung	95

Abkürzungsverzeichnis

AAK	Autoantikörper
AGA	Anti-Gliadin Antikörper
AK	Antikörper
AIT	Autoimmunthyreoiditis
Anti-TG	Antikörper gegen Thyreoglobulin
Anti-TPO	Antikörper gegen Thyreoperoxidase
AU	Arbitrary units, willkürliche Einheiten
CD	Celiac Disease (Zöliakie)
CI	Confidence interval (Konfidenzintervall)
CTLA	Cytotoxic T-cell lymphocyte antigen (zytotoxisches T-Lymphozyten Antigen)
DASP	Diabetes Autoantibody Standardization Program
DCCT	Diabetes Control and Complications Trial
EmA	Endomysiale Antikörper
GADA	Glutamat Decarboxylase Antikörper
HbA1c	Glykiertes Hämoglobin A1c
HIB	Hämophilus Influenza B
HEV- B	Humanes Enterovirus B
HLA	Human leucocyte antigen
IAA	Insulinautoantikörper
IA2A	Protein-Tyrosin-Phosphatase IA2A-Antikörper
ICA	Inselzellantikörper
IgA	Immunoglobulin A
kDa	Kilodalton
KI	Kumulative Inzidenz
LADA	Late onset of autoimmune diabetes in adults (latenter Autoimmundiabetes des Erwachsenen)
RIA	Radioimmunoassay
SD	Schilddrüse
T1D	Typ 1 Diabetes
TSH	Thyreotropin-stimulierendes Hormon
UKPDS	UK Prospective Diabetes Study
U/ml	Units/milliliter
WHO	World Health Organization

1 Einleitung

1.1 Typ 1 Diabetes (T1D)

Laut WHO ist der Diabetes mellitus eine chronische Stoffwechselerkrankung, die entweder durch eine angeborene oder erworbene Mangelproduktion von Insulin aus dem Pankreas verursacht wird oder durch eine unzureichende Insulinwirksamkeit, die zu erhöhten Blutglukosespiegeln führt (WHO 2006). Abzugrenzen vom häufigen Typ 2 Diabetes, der circa 90% aller Fälle ausmacht und durch die insuffiziente Wirkung von Insulin im Körper entsteht, ist der Typ 1 Diabetes (T1D). Der T1D, auch insulinabhängiger Diabetes mellitus genannt, entsteht durch die Zerstörung der insulinproduzierenden β -Zellen der Langerhans'schen Inseln des Pankreas und macht circa 5-10% aller Diabetesfälle aus (Atkinson 2004, American Diabetes Association 2007). Während der Typ 2 Diabetes meist später im Leben auftritt, kann der T1D in allen Altersgruppen auftreten, hauptsächlich jedoch bei Kindern, Jugendlichen und jungen Erwachsenen. Der T1D wird weiter unterteilt in den dominierenden autoimmunen Typ 1A, den idiopathischen Typ 1B und den latenten Autoimmundiabetes des Erwachsenen (LADA) (Atkinson 2004, Schmidt 2005, American Diabetes Association 2007). Beim Typ 1A, der 90% der T1D-Fälle ausmacht, entsteht durch die autoimmune Destruktion der β -Zellen ein absoluter Insulinmangel. Das Ausmaß der Zellschädigung wird durch spezifische Autoantikörper angezeigt, die im Rahmen einer Autoimmunreaktion gegen verschiedene Substanzen und Strukturen der pankreatischen β -Zelle gebildet werden (Achenbach 2004).

1.2 Epidemiologie des Typ 1 Diabetes

Der Typ 1 Diabetes ist die häufigste Stoffwechselerkrankung im Kindesalter (Gardner 1997, Karvonen 2000). Die Inzidenz des T1D, besonders in den jüngeren Altersgruppen, hat in den letzten Jahren weltweit zugenommen. Bis 1994 lag sie zwischen 0.1 Fälle/100.000/Jahr in China und Venezuela, 3.2 Fälle/100.000/Jahr in der Ehemaligen Jugoslawischen Republik Mazedoniens und 40.2 Fälle/100.000/Jahr in Finland (Eurodiab 2000, Karvonen 2000). Die globale T1D-Inzidenz steigt jährlich um 3.4%. Im Zeitraum von 1998 bis 2010 vermutet man einen Inzidenzanstieg von circa 40% (Eurodiab 2000, Onkamo 1999). Als europäisches Beispiel gilt Dänemark, wo die T1D-Inzidenz bei Kindern unter 15 Jahren seit 1970 jährlich gestiegen ist und nun eine Inzidenz von 19.5/100.000/Jahr erreicht hat (Svensson 2002). Auch in Deutschland (Nordrhein-Westfalen) ist die T1D-Inzidenz zwischen 1987 und 2000 jährlich um 3.6% gestiegen. Insgesamt betrug die Inzidenz des T1D in diesem Zeitraum in Nordrhein - Westfalen 13.1 pro 100.000/Jahr (Rosenbauer 2002a). T1D-Inzidenzraten von mehreren westdeutschen Regionen zwischen 1993 bis 1995 lagen zwischen 14.2 und 17.0 pro 100.000/Jahr, welche deutlich höher waren als die Inzidenz von 7.4 pro 100.000/ Jahr aus der

ehemaligen DDR, die in den achtziger Jahren erhoben wurde (Rosenbauer 2002b, Neu 2001). Über alle Altersgruppen hinweg liegt die Prävalenz in Deutschland bei circa 0.3% in Deutschland (Hauner 1998). Die T1D-Inzidenz bei Kindern nimmt mit dem Alter zu und ist bei Kindern zwischen 10-14 Jahren am höchsten.

1.2.1 Ätiopathogenese des Typ 1 Diabetes

Die genaue Ätiologie und Pathogenese des T1D ist bisher noch immer nicht bekannt (Atkinson 1994). Man nimmt an, dass gewisse Umweltfaktoren bei genetisch prädisponierten Patienten einen, durch CD4+ und CD8+ T-Zellen und Makrophagen gesteuerten, Entzündungsprozess triggern, der wiederum zu einer Zerstörung der β -Zellen in den Langerhans'schen Inseln des Pankreas führt (Knip 2005, Tisch 1996, Gillespie 2006). Dieser immunologisch-bedingte Zerstörungsprozess beginnt in der präklinischen- oder Prodromalphase, die einige Monate bis mehrere Jahre vor Krankheitsmanifestation beginnen kann. Erst ein Verlust von über 80% der funktionellen β -Zellen führt zum absoluten Insulinmangel und somit zur klinischen Manifestation des Typ 1 Diabetes (Robles 2001).

Wiederholt wurde untersucht, ob genetische Marker oder bestimmte Umweltfaktoren die Entwicklung von β -Zell-Autoantikörpern bei gesunden Kindern beeinflussen können. Wie bei anderen organspezifischen Autoimmunerkrankungen besteht beim T1D eine Verbindung zu den human leucocyte antigens (HLA) auf Chromosom 6p21 (Davies 1994, Bertrams1984). Mehrere HLA-Klasse II Moleküle werden mit der Entstehung von T1D assoziiert. Darunter sind DR4-DQ8 und DR3-DQ2 die wichtigsten HLA Haplotypen, welche bei circa 90-95% der Patienten mit T1D vorliegen (Devendra 2003). Das größte Risiko besteht bei Individuen, die beide Haplotypen (DR4 und DR3) aufweisen, und somit prädisponiert sind, einen T1D sehr früh im Leben zu entwickeln (Caillat-Zucman 1992). Bei Untersuchungen des Genoms fielen 15 weitere Genloci auf, die mit dem T1D assoziiert sind, wie zum Beispiel das Insulin Gen auf Chromosom 2 oder das zytotoxische T-Lymphozyten Antigen 4 (CTLA-4) auf Chromosom 2q33 (Bell 1984, Ueda 2003). Allerdings gibt es auch protektive Allele, wie HLA-DQB1*0602, welche einen Schutz vor der T1D-Entwicklung signalisieren (Seissler 1998). Insgesamt erkranken nur circa 10% der genetisch prädisponierten Personen an T1D (Gorus 1997).

Der europaweite Inzidenzanstieg und die weltweite, geographische Variabilität der Inzidenz, weisen darauf hin, dass Umweltfaktoren zusätzlich eine große Rolle in der Pathogenese des T1D spielen, da genetische Faktoren allein nur unwahrscheinlich zu so raschen Inzidenzerhöhungen führen (Rosenbauer 2002b, Caillat-Zucman 1992). Zu den bisher untersuchten Umweltrisikofaktoren gehören Ernährungsfaktoren wie frühe Kuhmilchexposition, Vitamin D- Mangel in den ersten Lebensjahren und Virusinfektionen durch Enteroviren wie Coxsackie B4 und Humanes Enterovirus B (HEV-B), Rotaviren und Rubellaviren (Bingley 2006,

Gerstein 1994, Honeyman 2000, Hyoty 2002).

Eine Hypothese, die versucht die Verbindung zwischen Umweltfaktoren und gesteigerter Autoimmunität zu erklären, ist die molecular mimicry (molekulare Nachahmung)- Hypothese, welche besagt, dass es bei genetisch Prädisponierten zu einer Kreuzreaktion zwischen antigenen Strukturen von Umweltfaktoren (z.B. Virusepitope, bovines Albumin) und β -Zell-Antigenen (z.B. Glutamat Decarboxylase, GAD) kommt (Albert 1999). Verschiedene Virusproteine des Coxsackie B4 Virus zeigen eine hohe Affinität für verschiedene HLA-Klasse-II Moleküle. Bei Individuen mit gewissen T1D-prädisponierenden Haplotypen kommt es zur einer Präsentation von speziellen Virusepitopen, welche die immunologische Kreuzreaktion zwischen den mikrobiellen Proteinen und den β -Zell-Antigenen fördern könnte (Ellis 2005). 1993 folgte zwei Jahre nach einer Masernepidemie in Philadelphia, USA ein sprunghafter Anstieg der Inzidenz des Typ 1-Diabetes auf über die doppelte Anzahl an Neudiagnosen, so dass die Virusinfektion als wahrscheinlicher Triggerfaktor des T1D vermutet wurde (Lipman 2002). Wahlberg et al. beschrieben, dass gewisse Faktoren, wie frühe Exposition gegenüber Kuhmilch in den ersten Lebensmonaten, Hämophilus Influenza B (HIB) Impfungen im ersten Lebensjahr, Geburt im Frühjahr, das männliche Geschlecht, sowie erstgradige Verwandte mit T1D, das Risiko erhöhen, bestimmte Autoantikörper gegen β -Zellstrukturen zu entwickeln (Wahlberg 2003, 2005). Dahlquist argumentierte, dass sich die steigende T1D-Inzidenz mit Phänomenen des westlichen Lebensstils, wie Überfütterung, akzeleriertes Wachstum, mangelnde Bewegung und Übergewicht, erklären lässt (Dahlquist 2006). Zusammengefasst bleibt ungeklärt, welche genauen pathogenetischen Mechanismen Genetik und Umwelt verbinden, um die Autoimmunreaktion gegen die β -Zellen des Pankreas hervorzurufen.

1.2.2 T1D-spezifische Autoantikörper (T1D-AAK)

Seit über 30 Jahren ist bekannt, dass Antikörper aus Seren von Patienten mit T1D gegen Strukturen der pankreatischen Inselzellen gerichtet sind (Botazzo 1974, Gillespie 2006). Zu den T1D-spezifischen Autoantikörpern (T1D-AAK) gehören die Inselzellantikörper (ICA), Autoantikörper gegen Insulin (IAA), Autoantikörper gegen das Enzym Glutaminsäure-Decarboxylase (GADA₆₅) und Autoantikörper gegen die Proteine Tyrosin-Phosphatase IA2A und IA2A β (Baekkeskov 1989, Achenbach 2004, Lan 1996). Die AAK werden lange vor Krankheitsbeginn, in der sogenannten Prodromalphase, im Rahmen von Autoimmunprozessen gebildet und können somit die klinische Manifestation des T1D vorhersagen (Leslie 1999). Bei 85-100% der Patienten mit T1D findet man mindestens einen T1D-AAK bei Diabetesmanifestation und bei der Mehrzahl der Patienten sind diese schon im Alter von 5 Jahren, teilweise sogar schon bei Geburt, nachweisbar (Eurodiab 2000, Seissler 1998, Verge 1994, Ziegler 1999). T1D-AAK werden nicht nur zur Präventionsdiagnostik eingesetzt, sondern

zusätzlich zur Klassifikation des Diabetes. So ermöglicht die Bestimmung von GADA im Serum eine Abgrenzung der Spätmanifestation des Autoimmundiabetes bei Erwachsenen (LADA) oder eines Gestationsdiabetes vom Typ 2 Diabetes (Schmidt 2005).

Die T1D-spezifischen AAK GADA reagieren hauptsächlich mit räumlichen Epitopen des Enzyms Glutaminsäure-Decarboxylase mit einem Molekulargewicht von 65kDa (GADA₆₅). Dieses Enzym katalysiert die Synthese des Neurotransmitters GABA im Gehirn und in den β -Zellen des Pankreas (Blu 1992). GADA treten in 62-80% der Fälle zum Zeitpunkt der Typ 1 Diabetesmanifestation auf (Lühder 1994, Kordonouri 2004, Seissler 1998). GADA persistieren am längsten und sind noch im Erwachsenenalter nachweisbar (Atkinson 1993, Decochez 2000). Das dominante Epitop, welches spezifisch für den T1D ist, liegt im mittleren Teil von GADA₆₅, während andere Epitope sich eher bei Patienten mit LADA präsentieren (Kobayashi 2003). GADA sind allerdings nicht T1D-spezifisch, da sie auch bei 70% der Patienten mit dem seltenen Stiff-man-Syndrom auftreten (Lohmann 2000)

Insulin-Autoantikörper (IAA) sind oft die ersten Autoantikörper, die im Serum bestimmt werden können (Yu 2000). Sie richten sich gegen körpereigenes Insulin, können aber nach Therapiebeginn nicht von den Antikörpern gegen das therapeutisch eingesetzte Insulin unterschieden werden, so dass die IAA Bestimmung nur vor Insulintherapie sinnvoll ist. Insulin ist das einzige β -Zell-spezifische Antigen. Somit sind IAA diagnostisch wertvolle Marker für den T1D, da sie ein Indikator für das Fortschreiten der β -Zell-Destruktion sind (Palmer 1987). IAA treten am häufigsten im Kindes- und Jugendalter auf, so dass eine inverse Korrelation zwischen IAA und T1D-Manifestationsalter besteht (Vanderwalle 1993, Vardi 1988). Die Prävalenz der IAA von über 90% ist bei T1D Patienten mit Manifestation unter 5 Jahren am höchsten, während sie bei Patienten mit einem T1D-Manifestationsalter von über 20 Jahren unter 20% liegt. Im gesamten Patientengut liegt die IAA-Prävalenz zwischen 45-70% (Bingley 1997, Ziegler 1991).

Bei IA2A handelt es sich um Autoantikörper gegen die Tyrosin-Phosphatase (IA2), ein Inselzellmembranprotein, welches mit den höchsten Konzentrationen in den Langerhans'schen Inseln des Pankreas und im Hirn vorkommt. Gegen IA2 gerichtete Autoantikörper finden sich in Abhängigkeit vom Alter bei 55-75% der Patienten bei T1D-Manifestation (Kordonouri 2002c, Kordonouri 2004a, Seissler 1998). Die IA2-Prävalenz nimmt nach Manifestation im Krankheitsverlauf ab. Die Prävalenz der IA2A ist bei Manifestation im Kindes- und Jugendalter am höchsten und bei Manifestation im Erwachsenenalter am niedrigsten (Verge 1994). IA2A haben eine hohe Spezifität für T1D sowie eine starke Aussagekraft für das Auftreten von klinischen Symptomen und die schnelle Progression der Krankheit (Leslie 1999, Decochez 2002).

1.3 Klinischer Verlauf des Typ 1 Diabetes

Nach einer Prodromalphase von mehreren Jahren, in der die Patienten nur durch positive T1D-AAK im Serum auffallen können, kommt es zur klinischen T1D Manifestation mit den Symptomen Polyurie, Polydipsie, Gewichtsverlust und Müdigkeit (WHO 2006). Wie auch beim Typ 2 Diabetes, kommt es bei Patienten mit T1D infolge der hyperglykämischen Stoffwechsellage, trotz Insulintherapie, im Verlauf zu einem weiten Spektrum von Folgeschäden. Diese manifestieren sich hauptsächlich an den Blutgefäßen als Mikro- oder Makroangiopathien, Abb. 1. Die sekundären Erkrankungen, auch sekundäre Komorbiditäten genannt, sind entscheidend für die Lebensqualität und die Prognose der Patienten mit T1D, da sie die Morbidität und Mortalität des Typ 1 Diabetes erhöhen (Diabetes Control and Complications Trial- DCCT 1993, Wie 1998).

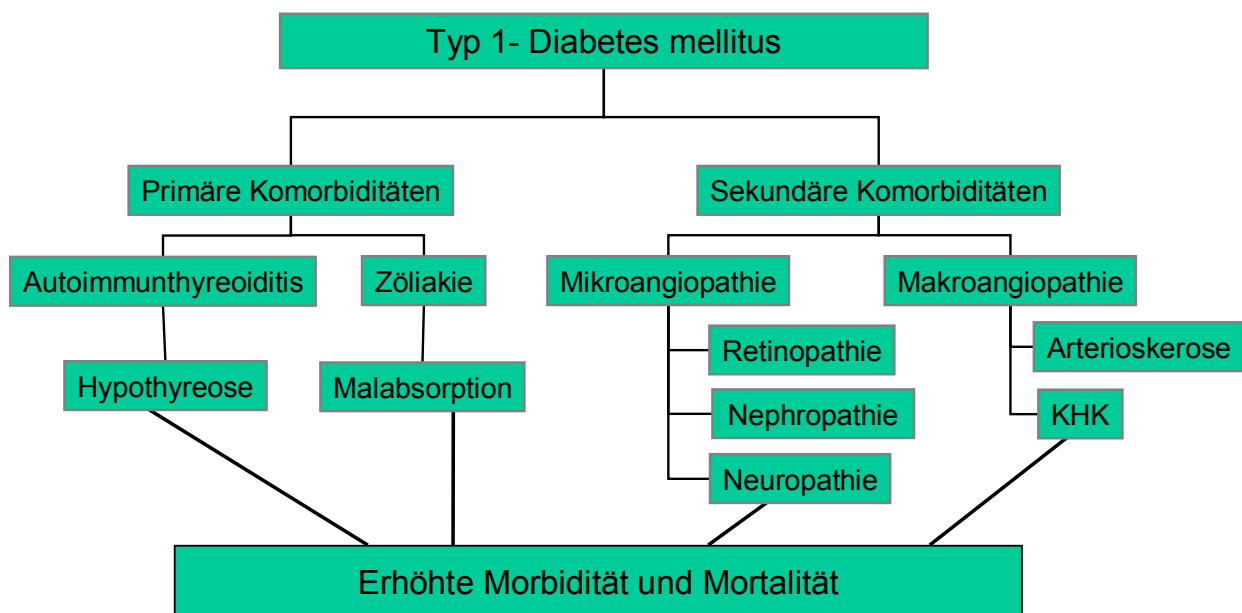


Abb. 1: Primäre und Sekundäre Komorbiditäten des T1D, die zur erhöhten Morbidität und Mortalität führen.

Im Kindes- und Jugendalter manifestieren sich die Komplikationen am häufigsten als diabetische Retinopathie oder Nephropathie (Brownlee 2001, Burger 1986, Deckert 1991). Diese Komplikationen können nicht nur zur Erblindung und zur Niereninsuffizienz führen, sondern auch zu einer verminderten Lebenserwartung der Patienten um 5 bis 10 Jahre im Vergleich zur Gesamtbevölkerung (Diliberti 2001, Green 1985, Krolewski 1987, DCCT-Group 1993).

Schon lange ist bekannt, dass eine normoglykämische Stoffwechsellage das Auftreten und Fortschreiten der Spät komplikationen verzögern kann (DCCT-Group 1987 und 1993, UKPDS 1993). Dies erklärt die Wichtigkeit der Therapieoptimierung und der regelmäßigen Kontrolle der

Blutzuckerspiegel und der Stoffwechsellage.

Zur Beurteilung der Stoffwechseleinstellung wird bei Patienten zum Zeitpunkt der Diabetesmanifestation und im weiteren Verlauf das glykierte Hämoglobin A1c (HbA1c) bestimmt, da dies den Blutzuckerlauf des Patienten über die letzten 80-120 Tage spiegelt. Ein HbA1c-Anstieg von 1% entspricht einem Blutzuckeranstieg von 1.99 mmol/l (35.8 mg/dl) (DCCT-Group 1987). Der HbA1c-Wert erlaubt somit nicht nur eine Beurteilung des bisherigen Therapieerfolges, sondern auch die Risikoeinschätzung für das Auftreten von Komplikationen. HbA1c-Werte über 7.2% führen häufiger zu Folgeschäden wie Retinopathie oder Nephropathie (Danne 1998, Kordonouri 1999). Studien zeigten, dass eine Senkung des HbA1c-Wertes von 1% die diabetesbezogenen Folgeschäden um 21%, die mikroangiopathischen Komplikationen um 37%, die diabetesbezogenen Todesfälle um 21% und die Gesamtmortalität um 14% signifikant reduzieren kann (Stratton 2000, Trautner 1997, Wie 1998). Schon die HbA1c-Werte im ersten Jahr der T1D-Erkrankung haben einen starken Einfluss auf das Auftreten von Komplikationen. Die diabetische Retinopathie, welche beim T1D eine Prävalenz von 80-90% aufweist, tritt bei Patienten mit höheren HbA1c-Werten im ersten Erkrankungsjahr häufiger auf als bei Patienten mit niedrigeren HbA1c- Werten (Danne 1998, Janka 2002).

Nach Beginn der exogenen Insulinsubstitution bei Manifestation des Typ 1 Diabetes kommt es in circa 65-80% der Fälle zu einer sogenannten Remissionsphase, auch "Honeymoonphase" genannt (Abdul-Rasoul 2006, Lombardo 2002). Bisher wurde die Remissionsdauer definiert als Phase, in der der Insulinbedarf unter 0.5 IE/Kg/Tag bleibt. Da jedoch die Remissionsdauer bei jüngeren Kindern länger ist, obwohl sie selten mittlere HbA1c-Werte unter 8.0% haben, empfahlen Chase et al. eine neue Definition der Remissionsdauer, welche auch HbA1c-Werte beinhalten sollte, da eine gute glykämische Stoffwechseleinstellung die Voraussetzung für einen niedrigen Insulinbedarf ist (Abdul-Rasoul 2006, Chase 2004). Je kürzer die Remissionsphase ist, desto gravierender der T1D-Krankheitsverlauf. Studien zeigten, dass eine suboptimale Stoffwechsellage nicht nur die Rate der Spätkomplikationen erhöht, sondern auch einen negativen Einfluss auf das Wachstum, das Gewicht und auf die sexuelle Entwicklung der pädiatrischen Patienten hat (Brown 1994, Holl 1998a, DCCT 1993).

1.4 Typ 1 Diabetes-assoziierte Erkrankungen

Bei Kindern und Jugendlichen mit Typ 1 Diabetes treten weitere Autoimmunerkrankungen häufiger auf als in der Normalbevölkerung. Zu diesen Autoimmunkrankheiten zählen die Autoimmunthyreoiditis (AIT), Zöliakie (Celiac Disease, CD), Morbus Basedow, Morbus Addison, Vitiligo, Alopezie, Hypogonadismus oder perniziöse Anämie. Sie können im Zusammenhang mit einem T1D auftreten und dessen Verlauf negativ beeinflussen (Dittmar 2003). Bei Kindern und Jugendlichen mit T1D ist die Autoimmunthyreoiditis die häufigste primäre Komorbidität und Zöliakie die zweithäufigste (Collin 2002, Kordonouri 2001). Bisher ist die enge Assoziation von primären Komorbiditäten mit Typ 1 Diabetes noch nicht komplett geklärt. Bei Typ 1 Diabetes, Autoimmunthyreoiditis und Zöliakie gibt es gemeinsame, prädisponierende genetische Merkmale wie HLA-Marker, Polymorphismen für CTLA-4 und bestimmte Interleukine, welche zum Teil für die ähnliche Pathogenese und für das häufige gemeinsame Auftreten der Erkrankungen verantwortlich sind (Becker 1999, Gregersen 2005, Sumnik 2006).

1.4.1 Autoimmunthyreoiditis (AIT)

Die Autoimmunthyreoiditis und der Typ 1 Diabetes sind beides Autoimmunerkrankungen, bei denen eine T-Zell-Infiltration zur Dysfunktion eines endokrinen Organs führt. Bei der Autoimmunthyreoiditis führt die lymphozytäre Autoimmunreaktion zur Entzündung und Zerstörung von Schilddrüsen-Gewebe, welche sich klinisch meist als Hypothyreose äußert (Levin 2003). Die klinische Manifestation der Autoimmunthyreoiditis ist sehr variabel. Zum Beispiel kann die Hypothyreose erst nach langer euthyreoter Stoffwechsellage auftreten, während die Schilddrüse entweder gar nicht palpabel oder diffus strumatös verändert sein kann. So findet man auch bei der Definition der Autoimmunthyreoiditis große Variabilität. Die lymphoide Autoimmunthyreoiditis, auch Hashimoto Thyreoiditis genannt, wird definiert durch das Zirkulieren von Schilddrüsen-spezifischen Autoantikörpern im Blut, die im Verlauf zu einer Hypothyreose mit erhöhtem TSH und/oder vergrößerter Schilddrüse führen (Konttinenen 1990, Maclaren 1985, Riley 1981). Die Autoimmunthyreoiditis tritt bei Frauen 7 Mal häufiger auf, wobei die Inzidenz mit dem Alter zunimmt (Dayan 1996). Die Schilddrüsen-spezifischen Autoantikörper, Anti-Thyreoperoxidase (Anti-TPO) und Anti-Thyreoglobulin (Anti-TG) liegen bei 95% bzw. 60% der Patienten mit Autoimmunthyreoiditis vor (Huang 2000).

Diese Autoimmunthyreoiditis-Autoantikörper treten auch bei bis zu 25% der Patienten mit T1D auf, jedoch häufiger bei Mädchen als bei Knaben (Kordonouri 2005, Vondra 2004). Bis zu 50% der Patienten mit Schilddrüsen-spezifischen Antikörper erkranken im Verlauf an einer klinisch manifesten AIT (Kordonouri 2002b). Kordonouri et al. berichten über eine kumulative Inzidenz (KI) der Autoimmunthyreoiditis von 0.14 nach 10 Jahren Diabetesdauer. Bei Mädchen lag die KI der AIT bei 0.18 nach 10 Jahren Diabetesdauer (Kordonouri 2005). Die Prävalenz einer

klinischen Autoimmunthyreoiditis bei pädiatrischen Patienten mit T1D liegt bei bis zu 10% und bis zu 38% bei Erwachsenen, während die Prävalenz in der Allgemeinbevölkerung zwischen <1% - 7% angegeben wird (Lorini 1996, Maclaren 1985, Sawin 1985). Man vermutet, dass das Auftreten einer Autoimmunthyreoiditis bei Patienten mit Typ 1 Diabetes ein Zeichen der gesteigerten Autoimmunität ist. Schon mehrere Studien wurden durchgeführt, um den Einfluss von SD-Antikörpern und von Autoimmunthyreoiditis auf den Verlauf des T1D zu untersuchen (Kordonouri 2002a+b). Der diabetische Krankheitsverlauf könnte durch eine Hypothyreose negativ beeinflusst werden, zum Beispiel durch das vermehrte Auftreten von kardiovaskulären Komplikationen, wie Arteriosklerose und Myokardinfarkt (Hak 2000). Kinder, bei denen eine Autoimmunthyreoiditis diagnostiziert wurde, hatten einen schlechteren T1D-Verlauf, der durch erhöhten Insulinbedarf, schlechtere glykämische Stoffwechsellage und häufigere Ketoazidosen gekennzeichnet war (Franzese 2000). Kinder mit Schilddrüsen-spezifischen Autoantikörpern wiesen häufiger Hypoglykämien auf und hatten eine reduzierte Wachstumsgeschwindigkeit als Kinder ohne SD-AK (Chase 1990, Mohn 2002). Vondra et al. sahen keinen Einfluss von SD-Antikörpern auf den klinischen Verlauf des T1D, denn Insulinbedarf und C-Peptid-Nüchternwerte im ersten Diabetesjahr unterschieden sich nicht zwischen SD-Antikörper-positiven und -negativen Patienten. Jedoch beschrieben sie, dass die Prävalenz von GADA bei Patienten mit SD-AK höher ist als bei Patienten ohne SD-AK (Vondra 2004). Um das Auftreten einer Autoimmunthyreoiditis bei Patienten mit Typ 1 Diabetes frühzeitig zu erkennen und rechtzeitig eine Therapie mit L-Thyroxin einleiten zu können, wird ein SD-Autoantikörper Screening bei Diabetesmanifestation und in jährlichen Abständen empfohlen (ISPAD 2000, Meyer 2007).

1.4.2 Zöliakie (Coeliac Disease, CD)

Zöliakie ist eine gluteninduzierte Enteropathie, bei der Gliadinbestandteile von Weizen, Roggen und Gerste einen Immunprozess auslösen, der zur Schädigung der Dünndarmschleimhaut führt. Die lymphozytäre Epithelinfiltration und resultierende Dünndarmzottenatrophie führt zu Malabsorptionssymptomen wie Diarrhö, Gewichtsverlust und geblähtem Abdomen (Murray 1999). Bei Patienten mit T1D sind diese Symptome jedoch schwächer ausgeprägt, so dass die Erkrankung oft erst durch ein positives Autoantikörper Screening entdeckt wird.

Für das Zöliakie-Screening werden meistens die CD-spezifischen Antikörper Gliadin IgA (AGA) und endomysiale IgA Antikörper (EmA) bestimmt. Das Screening für EmA zeigte bisher die höchste Sensivität und Spezifität für CD (Ferreira 1992). Um die klinische Diagnose der CD zu bestätigen, wird nach wiederholt positiven AGA- und/oder EmA- Messungen eine Dünndarmbiopsie durchgeführt, in der man anhand der Marsh-Kriterien, die für CD typische, pathologische Histologie beurteilen kann (siehe unten).

Eine Zöliakie tritt in Europa 10 mal häufiger bei Patienten mit T1D auf als in der Allgemeinbevölkerung (Asher 2001, Collin 2002). Die Prävalenz der CD bei Kindern mit Diabetes liegt somit zwischen 1 und 8% und kann vor oder nach Diabetesmanifestation auftreten (Holmes 2002, Koletzko 1988). Bei 2.3 – 7.0% der Patienten mit Typ 1 Diabetes tritt mindestens ein CD-spezifischer Antikörper (EmA oder AGA) auf (Kaspers 2004, Lorini 1996b). Ein weiterer CD-spezifischer Antikörper, der AK gegen die Gewebstransglutaminase (tTGA), trat sogar bei 10.1% der Patienten mit T1D auf (Barker 2005). Durch die Malabsorption von Nährstoffen leiden Patienten mit Diabetes und Zöliakie unter erheblichen Blutzuckerschwankungen, Hypoglykämien und reduziertem Körperwachstum, welche den T1D-Verlauf erschweren (Kordonouri 2001, Mohn 2001, Kaspers 2004). Da eine Therapie im Sinne von glutenfreier Ernährung diese Komplikationen vermindern kann, erweist sich das CD-Antikörper Screening bei Patienten mit Typ 1 Diabetes als essentiell (Amin 2002, Kordonouri 2001).

Das simultane Auftreten von Typ 1 Diabetes und CD basiert zum Teil auf einer gemeinsamen genetischen Komponente, da beide Krankheiten eine Assoziation zum HLA-DR-DQ2 Haplotyp aufweisen. Das CD Risiko ist besonders bei Individuen mit den HLA-DR3-DQ2 oder -DQ8 Genotypen erhöht (Bao 1999). Patienten mit diesen Hochrisiko-Genotypen sind prädisponiert für das Auftreten von Autoimmunerkrankungen. Es bleibt jedoch weiterhin zu klären, ob die gesteigerte Autoimmunität im Sinne von positiven Autoantikörpern bei Diabetesmanifestation als Prädisposition für eine Zöliakie gilt oder ob die Zöliakie die Manifestation eines T1D begünstigt (Asher 2001).

2 Zielsetzung und Fragestellungen

Ziel dieser Arbeit ist die Bedeutung der T1D-spezifischen Autoantikörper (GADA, IA2A und IAA) bei Manifestation für den klinischen Verlauf des Diabetes zu untersuchen. Weiterhin soll untersucht werden, ob bestimmte T1D-AAK das Risiko für die Entwicklung einer zweiten Autoimmunerkrankung bei jungen Patienten mit T1D erhöhen. Ein weiteres Ziel ist es, den Zusammenhang zwischen prädisponierenden genetischen Markern und dem Ausmaß der Autoimmunität bei Patienten mit T1D zu verstehen.

Anhand einer retrospektiven Studie in einem repräsentativen Kollektiv von 341 Berliner Kindern und Jugendlichen wurden von 1989 bis 2004 standardisierte Untersuchungen durchgeführt, um folgende Fragen zu beantworten:

- (1) Wie hoch sind die Prävalenzen der einzelnen Typ 1 Diabetes-spezifischen Autoantikörper bei T1D-Manifestation?
- (2) Treten bestimmte Kombinationen von GADA, IA2A und IAA häufiger auf?
- (3) Haben Geschlecht, Alter oder Herkunft einen Einfluss auf die Prävalenz der T1D-AAK?
- (4) Gibt es eine Abhängigkeit zwischen T1D-AAK-Prävalenzen und bestimmten HLA-DR Markern?
- (5) Können die T1D-AAK als Marker dienen, um Krankheitsverlauf und Schweregrad des T1D einzuschätzen, z.B. anhand von HbA1c-Werten und Remissionsdauer?
- (6) Wie häufig treten SD- oder CD-spezifische Antikörper bei Patienten mit T1D auf?
- (7) Wie häufig treten zweite Autoimmunerkrankungen, wie Autoimmunthyreoiditis oder Zöliakie, bei Patienten mit Typ 1 Diabetes auf?
- (8) Besteht ein Zusammenhang zwischen T1D-AAK und dem Auftreten von SD- oder CD-spezifischen AAK?
- (9) Treten weitere Autoimmunerkrankungen häufiger auf bei Patienten mit positiven T1D-Autoantikörpern bei Manifestation?

3 Material und Methoden

3.1 Beschreibung des Patientenkollektivs

Bei der vorliegenden Arbeit handelt es sich um eine retrospektive Analyse. Es wurden Daten von Patienten erhoben, die zwischen 1989 und 2004 in der Klinik für Allgemeine Pädiatrie am Campus Virchow Klinikum der Charité, Universitätsmedizin Berlin, mit Manifestation eines Typ 1 Diabetes vorstellig wurden. Alle Patienten, bei denen zum Zeitpunkt der Diabetesmanifestation Diabetes-spezifische Autoantikörper bestimmt wurden, wurden für diese Arbeit eingeschlossen. Insgesamt wurden in der Diabetesambulanz der endokrinologischen Poliklinik 341 Kinder und Jugendliche zum Zeitpunkt der Diabetesmanifestation untersucht und im Verlauf beobachtet (Abb. 2).

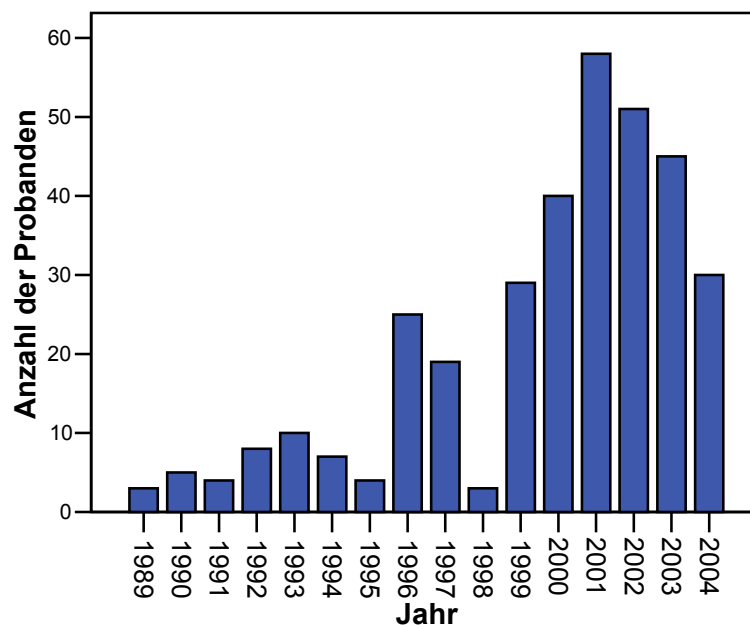


Abb. 2: Anzahl der Probanden die zwischen 1989 und 2004 pro Jahr in die Studie aufgenommen wurden (N = 341).

Zur Charakterisierung des Patientenkollektivs bei Diabetesmanifestation wurden Alter, Geschlecht und Herkunft veranschaulicht. Das durchschnittliche Alter der Patienten betrug 8.9 ± 4.2 Jahre (Bereich 0-17 Jahre). Darunter befanden sich 181 Knaben (53.1%) und 160 Mädchen (46.9%). Das mittlere Alter bei Diabetesmanifestation bei Knaben betrug 9.1 ± 4.2 Jahre und 8.6 ± 4.1 Jahre bei Mädchen ($p=0.239$, Tabelle 1).

Tabelle 1: Charakteristika des Patientenkollektivs (N=341).

	N	%	Manifestationsalter
Männlich	181	53.1	9.1 ± 4.2 Jahre
Weiblich	160	46.9	8.6 ± 4.1 Jahre
Deutsch	290	85.0	8.9 ± 4.2 Jahre
Nicht-Deutsch	51	15.0	8.3 ± 4.2 Jahre

290 der 341 Patienten (85.0%) waren deutscher und 51 (15.0%) ausländischer Herkunft. Ausländische Herkunft wurde definiert durch Kinder und Jugendliche mit mindestens einem, einer anderen Nationalität zugehörigem, Elternteil. Der Anteil von 15.0% in der vorliegenden Studie entspricht dem Anteil der Patienten mit ausländischer Herkunft, die pro Jahr in der Pädiatrie des Berliner Virchow Klinikums behandelt werden, welcher im Mittel 16.7 Prozent (Bereich 12.1-18.9 %) beträgt. Neben der geographischen Herkunft spielt auch die ethnische Herkunft eine Rolle für verschiedene ätiologische und pathogenetische Fragestellungen des T1D. Die Mehrzahl der Patienten waren Kaukasier (N=328, 96.2%), während nur 13 (3.8%) Nicht-Kaukasier waren. Für genauere Angaben bezüglich Herkunft siehe Tabelle 2.

Tabelle 2: Geographische Herkunft der Kinder und Jugendlichen mit T1D.

Nationalität	Anzahl der Patienten (N)	Prozent (%)
Deutsch	290	85.0
Türkisch	26	7.6
Arabisch*	9	2.6
Polnisch	4	1.2
Slawisch	3	0.9
Russisch	3	0.9
Afrikanisch*	2	0.6
Griechisch	1	0.3
Hebräisch*	1	0.3
Mexikanisch*	1	0.3
Portugiesisch	1	0.3
Gesamt	341	100.0

* Nicht-Kaukasier

3.2 Durchgeführte Untersuchungen

Alle 341 Patienten wurden zum Zeitpunkt der T1D-Manifestation auf das Vorhandensein von T1D-spezifischen Autoantikörpern GADA, IA2A und IAA untersucht (siehe 3.3.1). Die Untersuchungen fanden in den ersten 12 Wochen (Mittelwert 1.0 Wochen) nach der Aufnahme der Patienten statt. Seit 1999 werden die T1D-AAK Messungen als Routineuntersuchung, ohne jeglichen Selektionsbias, bei Patienten mit Diabetesmanifestation durchgeführt. Für die Patienten, die zwischen 1989 und 1998 an T1D erkrankten, wurden eingefrorene Restseren benutzt, um T1D-AAK bei Manifestation nachträglich zu bestimmen. Die unterschiedliche Anzahl von Patienten, die pro Jahr in die Studie aufgenommen wurden, erklärt sich durch die Anzahl an vorhandenen Restseren, die für nachträgliche Untersuchungen zur Verfügung standen. Auch Patienten, bei denen weitere Autoimmunerkrankungen bekannt waren, wurden für die Analysen berücksichtigt. Alle Patientendaten wurden kontinuierlich mit dem Computerbasiertem Diabetes-Patienten-Verlaufsdaten (DPV) Programm dokumentiert (Grabert 2002, Schwab 2006).

Die Patienten wurden im Mittel 3.3 ± 3.0 Jahre (Bereich 0-15 Jahre) beobachtet. In diesem Zeitraum erfolgten ambulante Vorstellungen alle zwei bis drei Monate, um den klinischen Verlauf des Diabetes zu beobachten. Bei diesen Terminen wurde der HbA1c-Wert bestimmt, die somatische Entwicklung (Länge, Gewicht) und die Therapiedaten erfasst und anschließend dokumentiert.

Während der ambulanten Vorstellungen wurde auch besonders auf das Auftreten von Symptomen einer möglichen zweiten Autoimmunerkrankung geachtet. Bei allen Patienten erfolgte jährlich ein Screening zur Erkennung einer Autoimmunthyreoiditis mittels Bestimmung der erkrankungsspezifischen Antikörper gegen Thyreoperoxidase (Anti-TPO) und Thyreoglobulin (Anti-TG). Für Patienten, bei denen mindestens ein SD-AK mehrmals positiv gemessen wurde, wurde die Verdachtsdiagnose Autoimmunthyreoiditis gestellt. Bei wiederholt positiven SD-AK-Titern wurde eine SD-Sonographie sowie eine TSH-Bestimmung als weiterführende Diagnostik veranlasst. Sonographische Auffälligkeiten sowie erhöhte TSH-Werte führten zur Diagnosestellung einer klinischen Autoimmunthyreoiditis.

Weiterhin erfolgte jährlich ein Screening für das Auftreten einer Zöliakie durch Bestimmung von Gliadin-IgA (AGA) und endomysiale IgA Antikörper (EmA). Auch hier wurde bei wiederholt positiven CD-AK Messungen die Verdachtsdiagnose Zöliakie gestellt und erst dann eine Dünndarmbiopsie durchgeführt, um die klinische Diagnose einer Zöliakie zu sichern.

3.3 Methoden

3.3.1 Bestimmung von T1D-spezifischen Autoantikörpern

Zum Zeitpunkt der T1D-Manifestation wurden alle Patientenserum auf das Vorhandensein von GADA, IA2A und IAA getestet. Patientenserum wurden nach Venenpunktion durch Zentrifugation isoliert und bis maximal drei Tage bei 2 - 8 °C gelagert. Proben, bei denen eine sofortige Antikörper-Messung nicht möglich war, vor allem bei Patienten mit Manifestation vor 1998, wurden bei -20 °C eingefroren und nachträglich untersucht. Zur Bestimmung der T1D-AAK wurden folgende Radioimmunoassays verwendet:

Die Autoimmunreaktion bei T1D ist gegen Epitope des Isoenzym GADA mit einem Molekulargewicht von 65 kDa gerichtet. GADA 65-Autoantikörper wurden mittels des Radioimmunoassays (RIA) CentAK® anti-GADA₆₅ der Medipan GmbH, Berlin-Dahlewitz, Deutschland nachgewiesen. Für den Radioligandenassay werden 20 µl Patientenserum mit 50 µl Tracer (rekombinantes 125-Jod-hGADA₆₅) zwei Stunden bei Raumtemperatur inkubiert. Es folgt die Zugabe von 50 µl der Protein A-Suspension, wodurch sich nach einer Stunde Inkubation bei Raumtemperatur die Sandwich-Komplexe mit 125-Jod-hGADA₆₅ und anti-GADA₆₅ Autoantikörper bilden. Nach Zugabe von 1 ml Waschpuffer und 20 Minuten Zentrifugation (1500 x g) wird der Überstand abgesaugt und die Radioaktivität der Präzipitate aller Teströhrchen im Gamma-Counter in counts per minute (cpm) gemessen (Medipan 2005a). Das Messsignal in cpm ist direkt proportional zur Konzentration von anti-GADA₆₅, welche danach anhand der erstellten Standardkurve in U/ml konvertiert werden. Normwerte des Assays für GADA lagen bei < 1.0 U/ml, so dass alle Messwerte ≥ 1.0 U/ml als positiv gewertet wurden (Medipan, Berlin-Dahlewitz, Deutschland). Die analytische Assay Sensitivität (0 + 3 Standardabweichungen) lag bei 0.2 U/ml. Dieser Assay erreichte eine Sensitivität von 80% und eine Spezifität von 90% beim Diabetes Autoantibody Standardization Program (DASP) im Jahre 2001. GADA Messungen wurden bei 341 von 341 (100%) der Patienten durchgeführt.

Antikörper gegen IA2 wurden mittels des Radioimmunoassays CentAK® anti-IA₂ der Medipan GmbH, Berlin-Dahlewitz, Deutschland nachgewiesen. Hierfür gilt das gleiche Testprinzip des direkten Assays wie schon für anti-GADA₆₅ beschrieben, jedoch unter Einsatz von rekombinantem humanem 125-Jod-IA₂ als Tracer (Medipan 2005b). Auch hier wurden die Testergebnisse in U/ml der erstellten Standardkurve für cpm Mittelwerte entnommen. Normwerte für IA2A lagen bei < 0.75 U/ml, so dass alle Messwerte ≥ 0.75 U/ml als positiv gewertet wurden (Medipan, Berlin-Dahlewitz, Deutschland). Die analytische Assay Sensitivität (0 + 3 Standardabweichungen) lag bei 0.2 U/ml. Dieser Assay erreichte eine Sensitivität von 58% und eine Spezifität von 100% beim DASP 2001. IA2A Messungen wurden bei 341 von 341 (100%) der Patienten durchgeführt.

Der RIA CentAK® IAA der Medipan GmbH, Berlin-Dahlewitz, Deutschland wurde verwendet, um Antikörper gegen Insulin nachzuweisen. IgG-spezifische IAA wurden mittels Radioligandenassay unter Verwendung von hoch gereinigtem humanem 125-Jod-(A14) monojodiertem Insulin als Tracer nachgewiesen. Die Radioaktivitätssignale des Tests in cpm sind der IAA-Konzentration direkt proportional (Medipan 2005c). Normwerte für IAA lagen bei < 3.0 U/ml, so dass alle Messwerte ≥ 3.0 U/ml als positiv gewertet wurden (Medipan, Berlin, Deutschland). Die analytische Assay Sensitivität (0 + 3 Standardabweichungen) lag bei 1.5 U/ml. IAA Messungen wurden bei 336 von 341 (98.5%) der Patienten durchgeführt.

3.3.2 Bestimmung von HbA1c-Werten

HbA1c-Werte wurden von 1989 bis 2000 im Institut für Laboratoriumsmedizin und Pathobiochemie der Charité mittels Ionenaustausch- high pressure liquid chromatography (HPLC) aus EDTA-Blut bestimmt (Diamat, Biorad, München, Deutschland). Ab 2001 wurden die HbA1c-Werte mit Hilfe der DCA 2000 Methode in der pädiatrischen Poliklinik ermittelt (Bayer Diagnostics, Leverkusen, Deutschland). Die Werte, die vor 2001 mittels HPLC bestimmt wurden, wurden an die Werte der neuen Methode mittels eines Methodenvergleiches mit 264 Parallelmessungen anhand der Transformationsgleichung

$$\text{HbA1c(DCA2000 angepasst)} = \text{HbA1c(HPLC)} \times 0.862 + 0.758$$

angepasst. Die Messungen fanden im Rahmen der Diabetessprechstunde bei 331 von 341 Patienten (nicht bestimmt bei 10 von 341 Patienten, 2.9%) im Zeitraum von 91 bis 365 Tagen nach Diabetesmanifestation statt. Im Durchschnitt wurden im ersten Jahr 4.1 ± 1.3 Messungen pro Patient durchgeführt (Bereich 1-10) und anschließend gemittelt, um einen HbA1c-Mittelwert für das erste Jahr zu gewinnen. Das arithmetische Mittel aller HbA1c-Messungen lag bei $7.4 \pm 1.1\%$ und der Median bei 7.3%. Allerdings wurde ein Median von 7.2% gewählt, um das Kollektiv in zwei gleichgroße Gruppen einzuteilen. Patienten mit einem durchschnittlichen Einjahres HbA1c-Wert unter 7.2% wurden in die erste Gruppe und Patienten mit einem Wert von 7.2% oder höher in die zweite Gruppe eingeteilt.

3.3.3 HLA-DR-Typisierung

Bei 83 von 341 der Patienten mit T1D konnte eine Genotypisierung aus eingefrorenen EDTA-Blutproben im Zentrallabor der Universität von Turku in Finnland durchgeführt werden. Dies geschah, kurz zusammengefasst, durch Aussalzen der DNA mittels Kochsalz (Miller 1988). Die HLA-DR Genotypen wurden mittels PCR-basierter Lanthanide-markierter Oligonukleotid-Hybridisierung und zeitaufgelöster Fluorometrie identifiziert. Die Assays basieren auf dem Prinzip der automatisierten Fluoreszenz-DNA-Sequenzierung mit Sequenz-spezifischen Primern (PCR-SSP), (MegaBace 1000, Amersham Biosciences CA, USA), (Hermann 2003, Nejentsev 1999, QiAamp 2006). Mit dieser Methode konnten folgende HLA-DR- Allele bestimmt werden: DR1, DR3, DR4, DR5, DR7, DR8, DR9, DR13, DR14, DR16. Die Allele, die nicht näher bestimmt werden konnten, also keines der Allele aus dem oben genannten Untersuchungspanel, wurden mit DRX bezeichnet. Die unterschiedlichen HLA-DR Genotypen werden in Tabelle 3 abgebildet. Für die HLA-Merkmale, deren Allelkombinationen mit ausreichender Fallzahl in dem Kollektiv repräsentiert wurden, wurden auch weiterführende Analysen durchgeführt.

Tabelle 3: HLA-DR Genotyp Prävalenzen.

HLA-DR	Prävalenz	Prozent (%)
	n=83/341	24.3
DR1/DR1	2	2.4
DR1/DR13	1	1.2
DR1/DR3	4	4.8
DR1/DR4	5	6.0
DR1/DRX	1	1.2
DR3/DR13	2	2.4
DR3/DR16	2	2.4
DR3/DR3	3	3.6
DR3/DR4	26	31.3
DR3/DR5	1	1.2
DR3/DR8	1	1.2
DR3/DR9	2	2.4
DR4/DR13	1	1.2
DR4/DR14	1	1.2
DR4/DR16	4	4.8
DR4/DR4	9	10.8
DR4/DR5	4	4.8
DR4/DR7	4	4.8
DR4/DR8	3	3.6
DR5/DR7	2	2.4
DR5/DRX	1	1.2
DR7/DR8	1	1.2
DR8/DR16	1	1.2
DR8/DR8	1	1.2
DRX/DRX	1	1.2
Gesamt	83	100.0

3.3.4 Bestimmung von SD-spezifischen Autoantikörpern

Die Bestimmung der Schilddrüsen-spezifischen Antikörper gegen Thyreoperoxidase (Anti-TPO) und gegen Thyreoglobulin (Anti-TG) erfolgte mittels kompetitiver Radioimmunoassays der Firma BRAHMS Diagnostica, Hennigsdorf, Deutschland. Anti-TG und Anti-TPO wurden mit dem Festphasen-Enzymimmunoassay vom Sandwichtyp (DYNOfest anti-TG_n /anti-TPO_n) bestimmt. Beide Assays wurden nach folgendem Testprinzip ausgeführt: 20 µl Patientenserum werden mit 200 µl Tracer (rekombinantes 125-Jod Tg oder TPO) 2.5 Stunden bei Raumtemperatur inkubiert. Nach Zugabe von 2 ml Waschpuffer wird der Überstand abgesaugt. Der Waschvorgang wird fünfmal wiederholt bevor die Radioaktivität aller Teströhrchen im Gamma-Counter in counts per minute (cpm) gemessen wird.

Für den Anti-TG Assay lag der Intraassayvariationskoeffizient bei 7.5%, und der Interassayvariationskoeffizient bei 5.5%. Die Nachweisgrenze lag bei 5.5 U/ml und Werte über 30 U/ml wurden als positiv gewertet. Für Anti-TPO lag der Intraassayvariationskoeffizient bei 4.3%, und der Interassayvariationskoeffizient bei 9.1%. Die Nachweisgrenze lag bei 5.5 U/ml und Titer über 40 U/ml wurden als positiv gewertet (Brahms Diagnostika, Hennigsdorf, Deutschland). Für Patienten, bei denen nur eine einmalige Antikörper-Messung vorlag, wurde die Messung als positiv gewertet, falls sie ≥ 100 U/ml lag. Einmalige Messungen für Anti-TPO oder Anti-TG unter 100 U/ml wurden als negativ gewertet. Patienten mit mehrfachen negativen Messungen und einer einzigen positiven Messung wurden als Antikörper-negativ gewertet. Alle Messungsergebnisse wurden in der DPV-Datenbank dokumentiert. Anti-TG- und Anti-TPO-Messungen lagen bei 335 von 341 Patienten (98.2%) vor.

3.3.5 Bestimmung von Zöliakie-spezifischen Autoantikörpern

Bei allen 341 Patienten erfolgte ein jährliches Screening für Zöliakie durch Bestimmung von CD-spezifischen IgA-Gliadin-Antikörpern (AGA) und endomysialen IgA-AK (EmA). Gliadin-IgA-Antikörper Bestimmungen erfolgten mittels Festphasen Immunometrischen Enzym Assays der Firma Pharmacia, Freiburg, die eine Sensitivität von 96.7% und Spezifität von 63.1% aufweisen. Gliadin-IgA-Werte über 20 AU galten als erhöht. Nach Ausschluss eines IgA-Mangels waren bei 321 von 341 Patienten (94.1%) AGA-Messwerte vorhanden. Endomysiale IgA-Antikörper wurden mittels indirekter Immunofluoreszenz auf kryostatischen Schnitten von Affenspeiseröhren (MAST Diagnostica, Reinfeld, Deutschland) bestimmt. Die Messung galt als positiv, falls ein dünnes fluoreszierendes Netzwerk in einer Verdünnung von 1:5 um die glatten Muskelfasern sichtbar wurde, mit einer Sensitivität von 98.0% und einer Spezifität von 90.2% (Kordonouri 2000). EmA-Messdaten waren bei 320 der 341 Patienten (93.8%) verfügbar.

3.4 Diagnostik

3.4.1 Diagnosestellung der klinischen Autoimmunthyreoiditis

Nach positivem SD-Antikörper-Screening wurde bei den Patienten das Thyreotropin-stimulierende Hormon (TSH) bestimmt. TSH-Messungen erfolgten mittels Immunfluoreszenz mit dem 1235 AutoDELFA automatic immunoassay System (Wallac Oy, Turku, Finnland). Die Intraassayvarianz lag zwischen 1.9 und 3.3% (in unterschiedlichen Konzentrationsbereichen); die Interassayvarianz entsprechend zwischen 1.5 und 2.0%. TSH-Messungen über 4.5 $\mu\text{U/ml}$ galten als signifikant erhöht und führten zur Schilddrüsensonographie als weitere Diagnostik. Es erfolgte die sonographische Volumen- und Echogenitätsbestimmung der Schilddrüse. Kriterien für die Diagnose einer Autoimmunthyreoiditis sind ein vergrößertes Schilddrüsenvolumen (Volumen > 2 Standardabweichungen der Altersnorm) und eine diffuse parenchymatöse Echogenitätsverminderung (Liesenkötter 1997). Nach mehrmaliger positiver SD-AK-Messung führte ein auffälliger Schilddrüsensonographie Befund und/oder zwei aufeinander folgende erhöhte TSH-Messungen zur Diagnosestellung einer klinischen Autoimmunthyreoiditis und zur Einleitung der Therapie mit L-Thyroxin ($100 \mu\text{g/m}^2$) bei den betroffenen Patienten.

3.4.2 Diagnosestellung der klinischen Zöliakie

Um die klinische Diagnose einer Zöliakie zu stellen, wurde bei Patienten mit positivem CD-Antikörper-Screening eine Dünndarmbiopsie durchgeführt. Bei 27 von 320 Patienten (8.4%) war mindestens ein CD-spezifischer Antikörper positiv, so dass bei diesen Patienten eine Dünndarmbiopsie veranlasst wurde. Es wurden vier Biopsieproben in Narkose mittels faseroptischer Endoskopie im distalen Duodenum entnommen und anhand der vordefinierten Kriterien ausgewertet. Zu den diagnostischen Kriterien einer CD gehören eine Unterbrechung der normalen Mukosastruktur, eine Abflachung der Dünndarmzotten mit irregulären kuboiden Enterozyten mit pyknotischen Kernen, ratifizierten Bürstensäumen und vermehrt intraepithelialen Lymphozyten (Marsh 1995). Falls die Dünndarmschleimhautveränderungen einem MARSH Stadium 2 oder 3 entsprachen, wurde die Diagnose CD gestellt und eine glutenfreie Ernährung als Therapie empfohlen.

3.4.3 Berechnung der Remissionsdauer

Bei jeder Verlaufskontrolle in der pädiatrischen Ambulanz der Charité wurde für alle Patienten der Insulinbedarf (IE/Kg/Tag) dokumentiert und der HbA1c-Wert gemessen. Der Beginn der Remissionsphase wurde definiert als Zeitpunkt nach Therapiebeginn, zu dem der Insulinbedarf der Patienten unter 0.5 IE/Kg/Tag schreitet, während die mittleren HbA1c-Werte 7.5% nicht überschreiten. Das Ende der Remissionsphase ist erreicht, sobald der Insulinbedarf des Patienten auf über 0.5 IE/Kg/Tag ansteigt oder die HbA1c-Messungen wiederholt über 7.5% liegen. Anhand der festgelegten Definition für die Remission (Insulinbedarf < 0.5 IE/Kg/Tag und HbA1c-Werte < 7.5%), wurde die Remissionsdauer retrospektiv aus der DPV-Datenbank berechnet.

3.5 Statistische Auswertung

Die statistischen Auswertungen wurden mit dem Softwarepaket „Statistical Package for Social Sciences“ (SPSS 12.0.1 für Windows; SPSS Inc., Chicago, IL) durchgeführt. Für deskriptive Statistikangaben wurden normalverteilte Daten als Mittelwert \pm Standardabweichung und nicht-normalverteilte Daten als Median und Bereich angegeben. Unterschiede zwischen den Gruppen wurden mit Hilfe von Kreuztabellierungen und Kontingenzanalysen untersucht und mit Pearson's χ^2 - oder exaktem Fischer-Test auf Signifikanz geprüft. Der χ^2 -Test wird eingesetzt, um die Nullhypothese zu prüfen, dass zwei Variablen unabhängig sind. Die Nullhypothese wird mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% verworfen, falls der χ^2 -Wert das Signifikanzniveau der χ^2 -Tabelle überschreitet (Backhaus 2000).

Der nicht-parametrische Mann-Whitney U-Test wurde verwendet, um quantitative Variablen zwischen Gruppen, z.B. die Verteilung zweier ungepaarter Stichproben, zu vergleichen. Als parametrischer Test wurde der t-Test zur Prüfung der Mittelwertgleichheit angewendet. Für die Untersuchung eines statistischen Zusammenhangs von zwei quantitativen Variablen, wurde der Spearman Korrelationskoeffizient (r) berechnet. Die verwendeten statistischen Tests wurden 2-seitig durchgeführt.

Die kumulative Inzidenz einer weiteren Autoimmunerkrankung, d.h. die Wahrscheinlichkeit ihres Auftretens nach T1D-Manifestation, wurde mit der Kaplan-Meier Methode berechnet. Aufgrund der geringen Anzahl von Patienten mit einem Beobachtungszeitraum von mehr als 10 Jahren, wurden die Kaplan-Meier Analysen und Abbildungen der kumulativen Inzidenz auf einen Auswertungszeitraum von 10 Jahren begrenzt.

Das relative Risiko für das Vorhandensein von T1D-AAK oder für das Auftreten einer zweiten Autoimmunerkrankung wurde bezüglich der genetischen Risikomarker HLA-DR3 und HLA-DR4 bestimmt. Das relative Risiko ist definiert als das Verhältnis der Wahrscheinlichkeit für das Auftreten eines Ereignisses in Gegenwart eines Risikofaktors zu der Wahrscheinlichkeit für das Auftreten des Ereignisses in Abwesenheit des Risikofaktors. Ein relatives Risiko von Eins bedeutet, dass die Wahrscheinlichkeit eines Folgeereignisses für Patienten mit Risikofaktor gleich groß ist wie für Patienten ohne Risikofaktor (Schwarzer 2004).

Um den unabhängigen Einfluss von Risikofaktoren auf das Auftreten von zweiten Autoimmunerkrankungen zu prüfen, wurde eine multivariate Cox-Regression der Überlebensanalyse mit einem Konfidenzintervall (confidence interval, CI) von 95% angewendet. Ein standardisierter Regressionskoeffizient $\text{Exp}(\text{Beta}) > 1$ bedeutet ein erhöhtes Risiko, während bei einem Regressionskoeffizient < 1 ein vermindertes Risiko vorliegt.

Alle Unterschiede galten bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit $p < 0.05$ als statistisch signifikant.

4 Ergebnisse

4.1 Prävalenz der Diabetes-spezifischen Autoantikörper bei T1D-Manifestation

Die T1D-spezifischen Autoantikörper GADA, IA2A und IAA wurden bei 341 Patienten zum Zeitpunkt der Diabetesmanifestation bewertet. Bei 5 von 341 (1.5%) Patienten lagen keine IAA-Ergebnisse vor; diese fünf Patienten wurden für Häufigkeitsberechnungen von multiplen Antikörpern als IAA-negativ bezeichnet. Antikörper-Messungen galten als erhöht, falls sie die Assay-spezifischen Titergrenzen überschritten. Folgende Titerwerte wurden mittels Radioimmunassay für die verschiedenen Autoantikörper erfasst, Tabelle 4.

Tabelle 4: Titer der T1D AAK (GADA, IA2A, IAA) bei T1D Manifestation (in U/ml).

Titer	Median	Bereich (Min.- Max.)
GADA (N=341)	3.3	0.10- 228.3
IA2A (N=341)	4.7	0.01- 357.4
IAA (N=336)	2.7	0.01- 363.6

4.1.1 Prävalenz einzelner und multipler positiver T1D-AAK

Die Prävalenzen der erhöhten T1D-AAK bei Diabetesmanifestation für die 341 Kinder und Jugendlichen werden in Abb. 3 wiedergegeben. Insgesamt waren bei Manifestation 73% der Patienten positiv für IA2A (>0.75 U/l), 71.6% für GADA (>1.0 U/l) und 45.5% für IAA (>3 U/l).

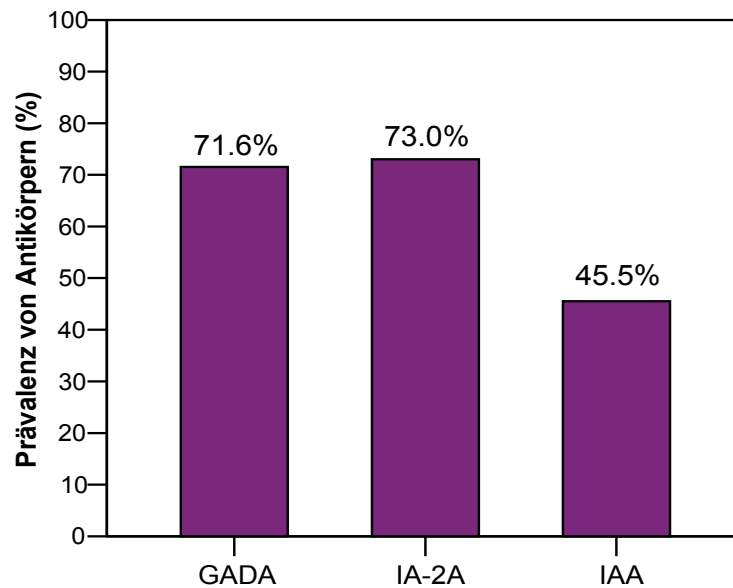


Abb. 3: Prävalenzen von Diabetes-spezifischen Autoantikörpern bei Kindern mit T1D (N=341). 244/341 waren GADA-positiv, 249/341 waren IA2A-positiv und 153/336 waren IAA-positiv.

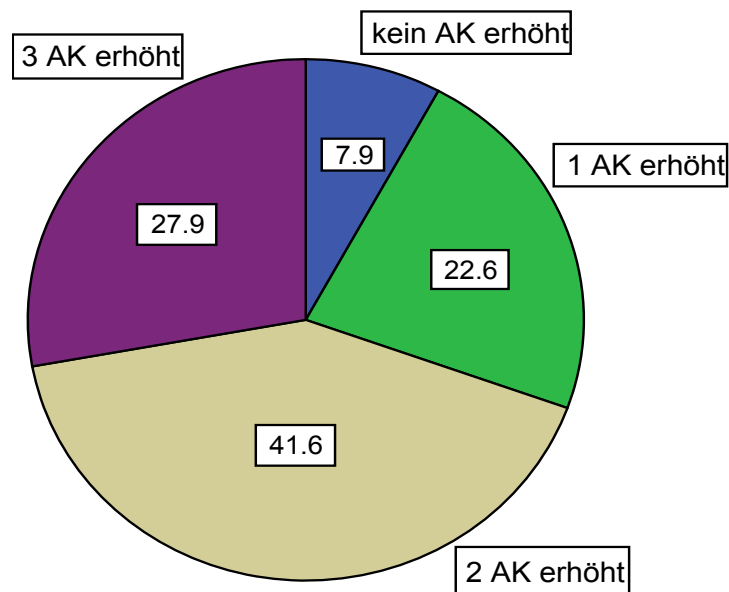


Abb. 4: Anzahl der Patienten mit 0, 1, 2 oder 3 erhöhten T1D-AAK (Angaben in Prozent).

In Abb. 4 wird die Anzahl der Kinder dargestellt, die bei Diabetesmanifestation positiv für 0, 1, 2 oder 3 T1D-AAK waren. 92.1% (N=314) der Patienten mit T1D hatten mindestens einen T1D-spezifischen Antikörper erhöht, während nur 7.9% (N=27) keinen Antikörper erhöht hatten. 22.6% (N=77) der Patienten hatten bei Diabetesmanifestation einen Antikörper erhöht, 41.6% (N=142) zwei Antikörper erhöht und 27.8% (N=95) alle drei Antikörper erhöht.

4.1.2 Prävalenz der Diabetes-spezifischen Autoantikörper in Abhängigkeit von verschiedenen Faktoren:

4.1.2.1 Geschlecht der Patienten

IAA waren signifikant öfter erhöht bei Knaben (52.5%) als bei Mädchen (37.6%, $p=0.006$), während die Geschlechtsverteilung von Knaben zu Mädchen bei den GADA-positiven und IA2A-positiven Patienten keine signifikanten Differenzen aufwies, Tabelle 5.

Tabelle 5: Prävalenz Diabetes-spezifischer AAK bei T1D-Manifestation.

T1D-spezifische AAK	Gesamt N=341	Knaben N=181	Mädchen N=160	p-Wert
IA2	73.0%	74.6%	71.3%	0.489
GADA	71.6%	70.7%	72.5%	0.716
IAA	45.5%	52.5%	37.6%	0.006
GADA+IA2	55.7%	56.4%	55.0%	0.082
GADA+IAA	34.2%	38.5%	29.3%	0.075
IA2+IAA	36.3%	40.8%	31.2%	0.069
GADA+IA2+IAA	28.3%	31.8%	24.2%	0.121

4.1.2.2 Alter der Patienten bei T1D-Manifestation

Zuerst wurde untersucht, ob eine Korrelation zwischen Autoantikörpertiter und Alter der Patienten bei T1D-Manifestation besteht. Es fand sich keine Korrelation zwischen GADA- und IA2A-Titern und dem Manifestationsalter ($r=0.072$, $p=0.187$ für GADA; $r=0.046$, $p=0.393$ für IA2A). Jedoch fand sich eine negative Korrelation zwischen IAA-Titern und dem Manifestationsalter ($r=-0.184$, $p=0.001$). Desto jünger die Patienten bei Manifestation waren, desto höher die IAA-Titer.

Für statistische Untersuchungen wurde das Kollektiv nach Alter bei T1D-Manifestation in drei Gruppen (1, 2 und 3) aufgeteilt: Gruppe 1- Kinder mit T1D-Manifestationsalter unter 6 Jahren, Gruppe 2- Kinder mit T1D-Manifestationsalter zwischen 6 bis unter 12 Jahren und Gruppe 3- Kinder mit T1D-Manifestationsalter von 12 oder mehr Jahren, Abb. 5.

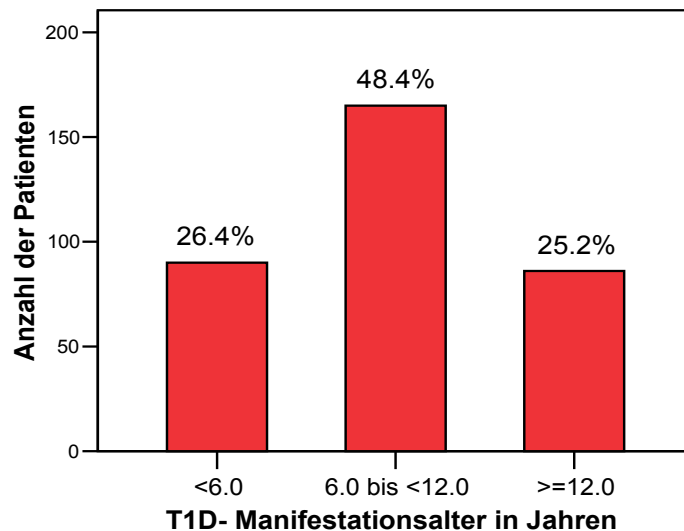


Abb. 5: Patientenkollektiv in 3 Altersgruppen aufgeteilt nach Alter bei T1D- Manifestation. Gruppe 1 (<6 Jahre) N=90, Gruppe 2 (6- <12 Jahre) N=165, Gruppe 3 (≥12 Jahre) N=86.

Anhand dieser Einteilung wurde der Einfluss des Alters auf die Prävalenz der T1D-spezifischen Autoantikörper untersucht, Tabelle 6. Kinder in den älteren Altersgruppen waren signifikant häufiger GADA-positiv als Patienten in der jüngeren Altersgruppe ($p < 0.001$). IAA waren grenzwertig signifikant öfter in jüngeren Altersgruppen erhöht als in der älteren Altersgruppe ($p = 0.047$). Die Prävalenz von IA2A war ungefähr gleich hoch in den unterschiedlichen Altersgruppen.

Tabelle 6: Altersverteilung der T1D-AAK positiven Patienten.

Alter	<6 Jahre N (%)	6 - <12 J. N (%)	>12 Jahre N (%)	p-Wert*
GADA erhöht	51 (56.7)	124 (75.2)	69 (80.2)	<0.001
IAA erhöht	45 (51.1)	77 (47.5)	31 (36.0)	0.047
IA2A erhöht	62 (68.9)	127 (77.0)	60 (69.8)	0.867

* p-Wert für lineare Zusammenhänge

GADA-positive Patienten waren bei T1D-Manifestation älter als GADA-negative Patienten (9.4 ± 4.1 vs. 7.6 ± 4.2 Jahre, $p < 0.001$). Die IAA-positiven Patienten waren im Mittel tendenziell jünger bei Diabetesmanifestation als IAA-negative Patienten (8.5 ± 4.3 vs. 9.2 ± 4.0 Jahre, $p = 0.130$). Es bestand jedoch eine grenzwertig signifikante negative Korrelation zwischen dem Manifestationsalter und der IAA-Positivität ($r = -0.109$, $p = 0.047$). Es gab keine Unterschiede bezüglich Manifestationsalter zwischen IA2A-negativen und -positiven Patienten (8.8 ± 4.5 Jahre vs. 8.9 ± 4.1 Jahre). Die Prävalenz von IA2A unterschied sich nicht zwischen den unterschiedlichen Altersgruppen, Abb. 6.

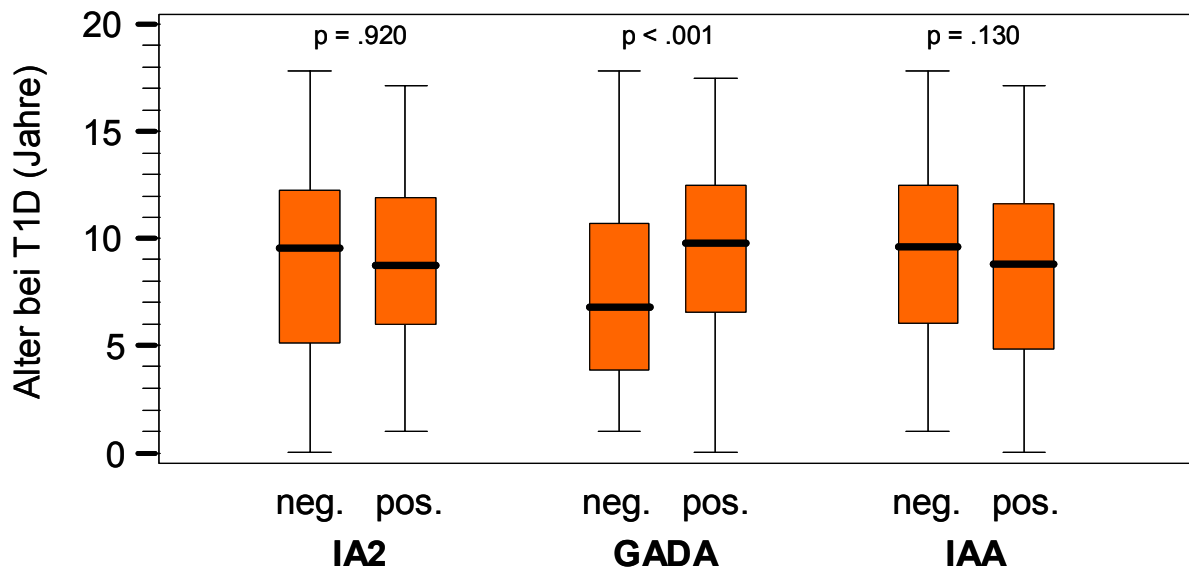


Abb. 6: Alter der Patienten mit positiven bzw. negativen T1D-AAK. Darstellung als Box- und Whiskerplot (Median, Interquartilbereich, 95. Perzentilenbereich).

4.1.2.3 Herkunft der Patienten

Es wurde untersucht, ob sich die T1D-AAK-Prävalenzen bei Manifestation bei Kindern und Jugendlichen mit unterschiedlicher Herkunft unterscheiden. IAA waren mit grenzwertiger Signifikanz häufiger bei Patienten mit deutscher Herkunft als bei Patienten mit ausländischer Herkunft erhöht ($p=0.076$, Tabelle 7).

Tabelle 7: T1D AAK-Prävalenzen bei Patienten mit deutscher Herkunft und bei Patienten mit ausländischer Herkunft.

	Deutsche Herkunft (N=290) N (%)	Ausländische Herkunft (N=51) N (%)	p-Wert
GADA erhöht	203 (70.0)	41 (80.4)	0.129
IA2A erhöht	216 (74.5)	33 (64.7)	0.147
IAA erhöht	136 (47.6)	17 (34.0)	0.076

Patienten mit deutscher und ausländischer Herkunft unterschieden sich nicht bezüglich ihres Diabetesmanifestationsalters (8.9 ± 4.2 Jahre vs. 8.3 ± 4.2 Jahre, $p=0.433$). Patienten mit ausländischer Herkunft hatten eine ähnliche Verteilung von 0, 1, 2 oder 3 erhöhten Diabetes-spezifischen Antikörper wie die Patienten mit deutscher Herkunft. 9.6% der ausländischen Patienten hatten keinen Antikörper erhöht (5/53), 23.1% hatten einen Antikörper erhöht (12/53), 44.2% hatten zwei Antikörper erhöht (23/53) und 23.1% der ausländischen Patienten hatten drei Antikörper erhöht (12/53).

4.1.3 HLA-DR Merkmale und Prävalenzen der T1D-AAK

Bei 24.3% der Patienten wurden HLA-DR Daten erhoben (83/341). Die Häufigkeiten der untersuchten Allele werden in Tabelle 8 angegeben.

Tabelle 8: Häufigkeit der untersuchten HLA-DR Allele.

HLA-DR	Allelfrequenz	
	N	Prozent
1	15	9.0
3	44	26.5
4	66	39.8
5	8	4.8
7	7	4.2
8	8	4.8
9	2	1.2
13	4	2.4
14	1	0.6
16	7	4.2
X*	4	2.4
Gesamt	166	100.0

*siehe Methode

Um die Repräsentativität dieses DNA-Teilkollektivs zu beurteilen, wurden die 83 Patienten mit den 258 restlichen Patienten verglichen, bei denen noch keine HLA-Typisierung durchgeführt werden konnte, Tabelle 9.

Tabelle 9: Repräsentativität des DNA-Teilkollektivs (N=83) im Vergleich mit dem Komplementärkollektiv (N=258) mit Hinsicht auf Basispatientenparameter und T1D-AAK.

	DNA-Kollektiv N=83 (%)	Komplementär-Kollektiv N=258 (%)	P-Wert
Männlich	51.8	45.7	0.335
GADA erhöht	67.5	72.9	0.343
IA2A erhöht	77.1	71.7	0.335
IAA erhöht	32.5	49.8	0.006
Andere Herkunft	18.1	14.0	0.360
Mittleres T1D Manifestationsalter (Jahre)	8.5 ± 3.7	9.0 ± 4.3	0.299

Im Vergleich zum Komplementärkollektiv ist das DNA-Teilkollektiv repräsentativ bezüglich des mittleren Alters bei T1D-Manifestation, der Geschlechtsverteilung, der Herkunft, sowie der GADA- und IA2A-Antikörper-Prävalenzen. Das DNA-Teilkollektiv ist nicht repräsentativ in Hinsicht auf das Vorkommen von IAA, da diese im DNA-Kollektiv viel seltener auftraten.

Da die HLA-Marker DR3 und DR4 am häufigsten im DNA-Teilkollektiv repräsentiert waren und als Hochrisiko-Genotypen für Typ 1 Diabetes bekannt sind, wurden diese Patientendaten genauer analysiert, um den Zusammenhang zwischen HLA-Markern und dem Auftreten von T1D-AAK zu untersuchen. Insgesamt waren 86.7% der 83 Patienten entweder HLA-DR3- oder DR4-positiv. An erster Stelle mit 31.3% der Patienten lag der Genotyp HLA-DR3/DR3 und an zweiter Stelle der Genotyp HLA-DR3/DR4. Somit war der Großteil der Patienten heterozygot für HLA-DR3 oder DR4. Insgesamt waren 49.4% HLA-DR3-positiv und 68.7% HLA-DR4-positiv. Das T1D-Manifestationsalter unterschied sich nicht wesentlich zwischen Patienten die positiv oder negativ für HLA-DR3 oder DR4 waren. Bei der Geschlechtsverteilung im genetisch untersuchten Kollektiv fiel auf, dass Mädchen häufiger DR3-positiv waren als Knaben ($p=0.090$, Tabelle 10). Der Anteil der ausländischen Patienten war größer bei HLA-DR3-positiven (19.5%) und HLA-DR4-positiven (17.5%) Patienten als im Gesamtkollektiv, in dem der Ausländeranteil bei 15.0% lag.

Tabelle 10: HLA-DR3 und DR4 Daten.

	HLA-DR3- positiv (N=41) %	HLA-DR3- negativ (N=42) %	p-Wert	HLA-DR4- positiv (N=57) %	HLA-DR4- negativ (N=26) %	p-Wert
Heterozygot	92.7			84.2		
Homozygot	6.3			15.8		
Männlich	39.0	57.1	0.090	52.6	38.5	0.231
Mittleres Manifest- ationsalter (Jahre)	8.5 ± 3.5	8.5 ± 4.0	0.980	8.8 ± 3.5	7.7 ± 4.1	0.198
Andere Herkunft	19.5	16.7	0.736	17.5	19.2	0.853

Des Weiteren wurde untersucht, ob HLA-DR3 oder -DR4 positive Patienten bei Manifestation höhere T1D-AAK-Prävalenzen haben. Diesbezüglich gab es keine Auffälligkeiten für HLA-DR3 oder HLA-DR4-positive Patienten, Tabelle 11 und Tabelle 12. Von grenzwertiger Signifikanz war der Unterschied der IA2A-Prävalenz, welche bei HLA-DR4-positiven Patienten (82.5%) höher war als bei HLA-DR4-negativen Patienten (69.2%, $p=0.086$, Tabelle 12). Weiterhin gab es keine Unterschiede bezüglich der Verteilung von 0, 1, 2, oder 3 Diabetes-spezifischen AAK zwischen HLA-DR3/4-positiven und -negativen Patienten, auch nicht im Vergleich zum Gesamtkollektiv. Bei HLA-DR3 Positiven hatten 9.8% der Patienten keine T1D-AAK erhöht, 22.0% einen Antikörper, 51.2% zwei Antikörper und 17.0% drei Antikörper erhöht. Die Antikörper-Verteilung bei HLA-DR4-positiven Patienten lag jeweils bei 8.8%, 17.5%, 52.6% und 21.1% für 0, 1, 2 oder 3 erhöhte Antikörper.

Tabelle 11: Vergleich der Prävalenzen von T1D-AAK bezüglich des HLA-DR3 Merkmals.

	HLA-DR3-positiv (N=41) (%)	HLA-DR3-negativ (N=42) (%)	p-Wert
GADA erhöht	73.2	61.9	0.273
IA2A erhöht	75.6	78.6	0.748
IAA erhöht	26.8	38.1	0.273

Tabelle 12: Vergleich der Prävalenzen von T1D-AAK bezüglich des HLA-DR4 Merkmals.

	HLA-DR4-positiv (N=57) (%)	HLA-DR4-negativ (N=26) (%)	p-Wert
GADA erhöht	66.7	69.2	0.817
IA2A erhöht	82.5	65.4	0.086
IAA erhöht	36.8	23.1	0.214

Das relative Risiko für eine erhöhte Prävalenz von T1D-AAK bezüglich der Genotypen HLA-DR3 und HLA-DR4 wurde berechnet. HLA-DR3 und -DR4-positive Patienten hatten kein erhöhtes Risiko bei Diabetesmanifestation vermehrt T1D-AAK-positiv zu sein. Nur das relative Risiko von HLA-DR4-positiven Patienten war grenzwertig erhöht bei IA2A-Positivität, Tabelle 13.

Tabelle 13: Relatives Risiko (RR) von HLA-DR3 und HLA-DR4-positiven Kindern für höhere T1D-AAK-Prävalenzen. RR-Werte mit 95% CI.

	RR	95% CI	p-Wert
HLA-DR3-positiv			
GADA-positiv	1.182	0.875-1.597	0.273
IA2A-positiv	0.962	0.761-1.217	0.748
IAA-positiv	0.704	0.373-1.330	0.273
HLA-DR4-positiv			
GADA-positiv	0.963	0.703-1.320	0.817
IA2A-positiv	1.261	0.930-1.710	0.086
IAA-positiv	1.596	0.732-3.482	0.214

Da die Genotypen HLA-DR3/4, DR4/4, DR3/3, DR1/3 und DR1/4 in dem DNA-Teilkollektiv besonders häufig auftraten und da sie in der Literatur häufig mit Typ 1 Diabetes assoziiert werden, wurden diese als Hochrisiko-Genotypen klassifiziert. Wie auch für die einzelnen Allele, wurde nach einer Assoziation zwischen bestimmten Genotypen und T1D-AAK bei Manifestation gesucht, Tabelle 14 und Tabelle 15. Keiner der Hochrisiko- Genotypen war mit höheren Prävalenzen von GADA, IA2A oder IAA assoziiert. Patienten mit dem Genotyp HLA-DR1/4 waren sogar häufiger GADA-negativ als GADA-positiv (p=0.019).

Tabelle 14: T1D-AAK-Prävalenzen bezüglich der Hochrisiko-Genotypen HLA-DR3/4 und HLA-DR4/4.

	HLA-DR3/4-positiv (N=26)		p-Wert	HLA-DR4/4-positiv (N=9)		p-Wert
	N	Prozent		N	Prozent	
GADA-positiv	20	76.9	0.214	6	66.7	0.975
IA2A-positiv	19	73.1	0.555	8	88.9	0.373
IAA-positiv	9	34.6	0.784	1	11.1	0.146

Tabelle 15: T1D-AAK-Prävalenzen bezüglich der Hochrisiko-Genotypen HLA-DR3/3, HLA-DR1/3 und HLA-DR1/4.

	HLA-DR3/3-positiv (N=3)			HLA-DR1/3-positiv (N=4)			HLA-DR1/4-positiv (N=5)		
	N	Prozent	p-Wert	N	Prozent	p-Wert	N	Prozent	p-Wert
GADA-positiv	2	66.7	0.976	3	75.0	0.747	1	20.0	0.019
IA2A-positiv	2	66.7	0.661	3	75.0	0.918	4	80.0	0.874
IAA-positiv	0	0.0	0.221	1	25.0	0.742	1	20.0	0.537

Zusätzlich wurde untersucht, ob Patienten mit multiplen T1D-AAK bei Manifestation die Diabetes-assoziierten Haplotypen HLA-DR3 und -DR4 oder die Hochrisiko-Genotypen (HLA-DR1/3, DR1/4, DR4/4, DR3/3, DR3/4) häufiger tragen als Patienten ohne Antikörper bei T1D-Manifestation. Keines der genetischen Merkmale kam bei den Patienten mit multiplen T1D-AAK häufiger vor als bei Patienten ohne Antikörper, Tabelle 16.

Tabelle 16: Frequenz der Haplotypen DR3, DR4 und der Hochrisiko-Genotypen bei Patienten ohne T1D-AAK gegenüber Patienten mit mindestens einem T1D-AAK.

	kein T1D-AAK erhöht (N=7)		mindestens 1 T1D-AAK erhöht (N=76)		p-Wert
	N	Prozent	N	Prozent	
HLA-DR3 positiv	4	57.1	37	48.7	0.668
HLA-DR4 positiv	5	71.4	52	68.4	0.870
HLA-DR1/3	0	0.0	4	5.3	0.534
HLA-DR1/4	1	14.3	4	5.3	0.337
HLA-DR4/4	1	14.3	8	10.6	0.760
HLA-DR3/3	1	14.3	8	2.6	0.114
HLA-DR3/4	2	28.6	24	31.6	0.780

4.2 Klinischer Verlauf des Typ 1 Diabetes

4.2.1 Glykämische Stoffwechsellage im ersten Diabetesjahr

Die durchschnittlichen HbA1c-Werte der Patienten im ersten Jahr nach Diabetesmanifestation wurden ermittelt, um die Güte der Stoffwechsellage beurteilen zu können. Bei 331 (97.1%) der 341 Patienten lagen Daten vor. 46.8% Patienten hatten durchschnittliche HbA1c-Werte unter 7.2% und 53.2% hatten Werte von 7.2% oder höher. Es wurde untersucht, ob sich die HbA1c-Werte unterscheiden in Hinblick auf Geschlecht, Herkunft und Alter, Tabelle 17. Die Kinder mit HbA1c-Werten $\geq 7.2\%$ waren bei Diabetesmanifestation jünger als die Kinder mit HbA1c-Werten $\leq 7.2\%$ (8.4 ± 4.3 vs. 9.3 ± 4.0 Jahre, $p=0.040$). Es gab keine signifikanten Zusammenhänge bezüglich HbA1c-Werten und Geschlechtsverteilung oder Herkunft.

Tabelle 17: Basisdaten von 331 Patienten mit günstiger und ungünstiger Stoffwechsellage.

	HbA1c < 7.2 % (N=155)		HbA1c ≥ 7.2 % (N=176)		p-Wert
	N	Prozent	N	Prozent	
Weiblich	72	47.1	82	46.6	0.927
Andere Herkunft	21	13.5	29	16.5	0.458
Mittleres T1D- Manifestationsalter (Jahre)	9.3 \pm 4.0		8.4 \pm 4.3		0.040

4.2.2 Einfluss der T1D-Antikörperpositivität auf die glykämische Stoffwechsellage

Es wurde analysiert, ob T1D-AAK-Prävalenzen bei Diabetesmanifestation einen Einfluss auf die Stoffwechsellage der Patienten haben. Der mediane HbA1c-Wert im ersten Diabetesjahr unterschied sich nicht zwischen Patienten, die entweder positiv oder negativ für GADA, IAA, oder IA2A waren, Abb. 7. IAA-positive Patienten hatten einen medianen HbA1c-Wert von 7.5% (Bereich 4.4 - 11.2%), während IAA-negative Patienten einen medianen HbA1c-Wert von 7.2% (Bereich 5.4 - 12.1%) hatten. Für GADA-positive lag der HbA1c Median bei 7.3% (Bereich 4.4 - 12.1%) und bei 7.2% (Bereich 5.4 - 10.5%) für GADA-Negative. IA2A-positive Patienten hatten einen medianen HbA1c von 7.4% (Bereich 5.1 - 12.1%) und IA2A-Negative einen Median von 7.1% (Bereich 4.4 - 11.1%).

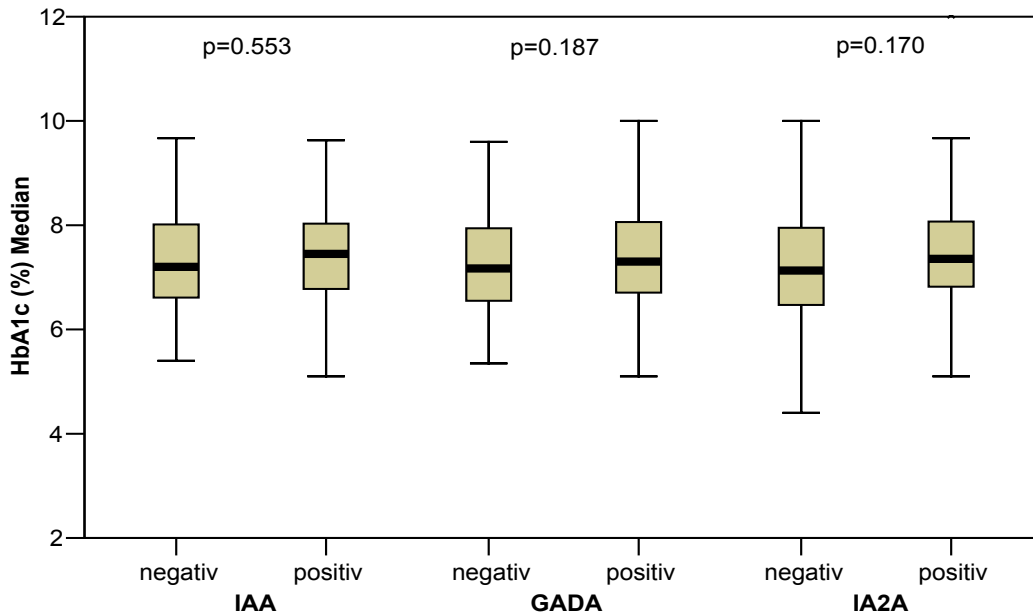


Abb. 7: Mediane HbA1c-Werte im ersten Diabetesjahr bei Patienten mit positiven bzw. negativen T1D-AAK.

Patienten ohne Diabetes-spezifische Autoantikörper bei Manifestation wiesen im ersten Jahr der Erkrankung niedrigere HbA1c-Werte auf als Patienten mit mindestens einem positiven T1D-AAK bei Manifestation. Der Median der HbA1c-Werte im ersten Jahr betrug 6.8% (Bereich 5.5 - 9.4%) bei Patienten ohne Autoantikörper im Vergleich zu 7.3% (Bereich 4.4 - 12.1%) bei Patienten mit Autoantikörpern, ($p=0.032$, Abb. 8).

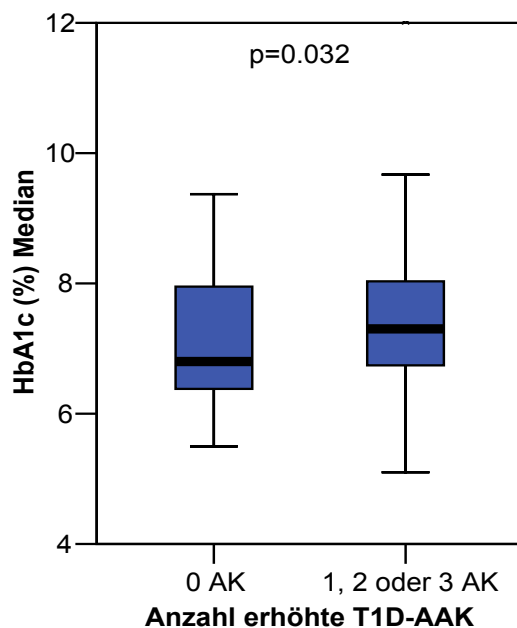


Abb. 8: Mediane HbA1c-Werte (%) von Patienten ohne T1D-AAK bzw. mit 1, 2 oder 3 T1D-AAK.

Zur weiteren Differenzierung wurde untersucht, ob Patienten mit einzelnen AAK oder Kombinationen von multiplen T1D-AAK mittlere HbA1c-Werte über oder unter 7.2% im ersten Erkrankungsjahr hatten, Tabelle 18.

Tabelle 18: T1D-AAK-Prävalenzen in Abhängigkeit von der Stoffwechsellage im ersten Diabetesjahr.

	HbA1c < 7.2% (N=155)		HbA1c ≥ 7.2 % (N=176)		p-Wert
	N	Prozent	N	Prozent	
GADA-positiv	107/155	69.0	129/176	73.3	0.392
IA2A-positiv	108/155	69.7	134/176	76.1	0.186
IAA-positiv	68/152	43.9	83/174	47.7	0.592
GADA+IA2	85/155	54.8	99/176	56.3	0.797
GADA+IAA	52/152	34.2	61/174	35.1	0.873
IA2+IAA	54/152	35.5	66/174	37.9	0.653
0 T1D-AK positiv	18/155	11.6	8/176	4.5	0.017
1, 2 oder 3 AK positiv	137/155	88.4	168/176	95.5	0.017
1 T1D-AK positiv	35/152	23.0	37/174	21.3	0.075
2 T1D-AK positiv	55/152	36.2	81/174	46.6	0.075
3 T1D-AK positiv	45/152	29.6	48/174	27.6	0.653

Wie beim HbA1c-Median bestand auch ein signifikanter Unterschied für den mittleren HbA1c-Wert zwischen Kindern mit und ohne T1D-AAK bei Manifestation. Kinder mit einem durchschnittlichem HbA1c $\geq 7.2\%$ hatten zu 95.5% mindestens einen T1D-AAK erhöht, bei HbA1c < 7.2% waren es nur 88.4% ($p=0.017$). 30.8% der Patienten ohne T1D-AAK (8/26) hatten HbA1c-Werte $\geq 7.2\%$ gegenüber 55.1% der Patienten mit 1, 2 oder 3 positiven AAK (168/314, $p=0.017$). Die Patienten mit HbA1c $\geq 7.2\%$ hatten häufiger zwei T1D-AAK erhöht (46.6%) und seltener keine Antikörper erhöht als Patienten mit niedrigeren HbA1c-Werten ($p=0.075$). Ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Vorkommen einzelner T1D-AAK und der Stoffwechsellage war anhand der HbA1c-Werte nicht erkennbar.

4.2.3 Remissionsdauer im Krankheitsverlauf

Die Remissionszeit, in der der Insulinbedarf unter 0.5 IE/Kg/Tag bleibt und der HbA1c-Wert unter 7.5%, gilt als zweiter Parameter, um die metabolische Stoffwechsellage der Patienten zu beurteilen. Da circa ein Drittel der Patienten per Definition keine Remission erreichten,

unterlagen die Daten der Remissionsdauer keiner Normalverteilung. Die durchschnittliche Remissionsdauer betrug 0.48 Jahre (Bereich 0.0-4.7 Jahre). Für weitere Analysen wurde die Remissionsdauer in drei Gruppen unterteilt: 108 Patienten (31.7%) erreichten keine Remission, 126 Patienten (37.0%) hatten eine kurze Remissionsdauer von 0.5 Jahren oder weniger und 107 Patienten (31.4%) hatten eine längere Remission von über 0.5 Jahren bis maximal 4.7 Jahre, (Abb. 9).

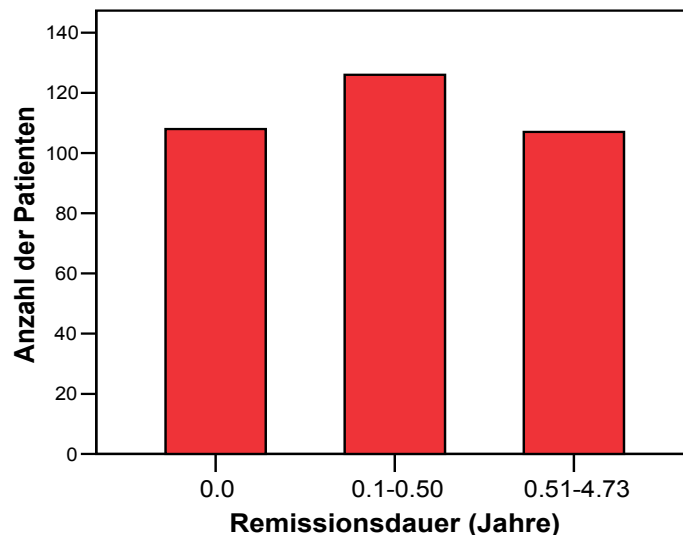


Abb. 9: Anzahl der Patienten ohne Remission, mit einer Remissionsdauer von bis zu 0.5 Jahren oder einer Remissionsdauer von mehr als 0.5 Jahren.

Die klinischen Charakteristika der Patienten ohne Remission versus der Patienten mit kurzer und langer Remission sind in Tabelle 19 dargestellt. Man erkennt, dass Mädchen seltener eine Remission erreichten als Knaben (39.9% vs. 60.1%). Knaben erreichten nicht nur öfter eine Remission als Mädchen, sondern hatten auch längere Remissionsphasen als die Mädchen ($p < 0.001$). Das Manifestationsalter und die Nationalität der Patienten hatten keinen Einfluss auf die Dauer der Remission. Es wurde untersucht, ob jüngere Patienten eine kürzere Remissionsdauer haben, jedoch gab es keine signifikante Korrelation zwischen Alter und Remissionsdauer ($r = 0.044$, $p = 0.419$). Beim Vergleich der Altersgruppe der 6 bis 12-Jährigen mit der Gruppe der über 12-Jährigen fiel auf, dass die 6 bis 12-Jährigen eine kürzere mittlere Remissionsdauer hatten als die über 12-Jährigen (0.42 vs. 0.66 Jahre, $p = 0.006$). Beim Vergleich der unter 6-Jährigen mit den 6 bis 12-Jährigen, gab es keinen signifikanten Unterschied zwischen den mittleren Remissionsdauern ($p = 0.198$). Um Vergleichbarkeit mit der Literatur zu erreichen, wurde das Diabetesmanifestationsalter in zwei Gruppen aufgeteilt: Eine Gruppe mit Kindern unter 10 Jahren und eine Gruppe für Kinder mit einem Manifestationsalter von 10 Jahren oder höher. Auch hier gab es für die mittlere Remissionsdauer keine

signifikanten Unterschiede zwischen den unter 10-Jährigen und den 10-Jährigen oder älter ($p=0.431$).

Wie zu erwarten bestand bezüglich der Remissionsdauer eine negative Korrelation zum HbA1c-Wert des ersten Jahres nach Diabetesmanifestation, ($r= -0.384$, $p<0.001$). Beim Vergleich der mittleren HbA1c-Werte im ersten Jahr mit der Dauer der Remission wurde deutlich, dass Patienten mit schlechteren HbA1c-Werten ($\text{HbA1c} \geq 7.2\%$) seltener eine lange Remissionsdauer hatten als Patienten mit niedrigen HbA1c-Werten [17.1% (30/176) vs. 50.0% (77/155), $p<0.001$]. Die Patienten mit schlechteren HbA1c-Werten hatten häufiger keine Remission (37.5%) oder nur eine kurze Remissionsdauer (45.5%).

Tabelle 19: Charakteristika der Patienten mit keiner, kurzer oder langen Remissionsphase.

	Keine Remission		Kurze (0.01-0.5J.) Remission		Lange(0.5-4.7J.) Remission		p-Wert
	N	Prozent	N	Prozent	N	Prozent	
Männlich	41/108	38.0	70/126	55.6	70/107	65.4	<0.001
Andere Herkunft	16/108	14.8	18/126	14.3	17/107	15.9	0.826
Mittleres T1D- Manifestationsalter (Jahre)	8.7± 4.2		9.1± 3.9		8.8± 4.5		0.809

4.2.4 Einfluss der T1D-Antikörperpositivität auf die Remissionsdauer

Um die Zusammenhänge zwischen Remissionsdauer und T1D-AAK Status bei Manifestation zu ermitteln, wurde die mediane Remissionsdauer für Antikörper-positive bzw. -negative Patienten berechnet, Abb. 10. Die mediane Remissionsdauer war bei Antikörper-positiven Patienten kürzer als bei Antikörper-negativen Patienten. Kinder, die bei Manifestation positiv für IA2A oder IAA getestet wurden, hatten durchschnittlich kürzere Remissionsphasen als IA2A bzw. IAA-negative Kinder. Für IA2A-negative betrug die mediane Remissionsdauer 0.29 (0.0-4.73) Jahre und 0.18 (0.0-3.59) Jahre für IA2A-positive Patienten, $p<0.001$. Bei IAA-negativen Patienten betrug die mediane Remissionsdauer 0.27 (0.0-4.73) Jahre und 0.16 (0.0-3.53) Jahre für IAA-positive Patienten ($p=0.004$). Für GADA-positive Patienten betrug die mediane Remissionsdauer 0.17 (0.0-3.59) Jahre versus 0.27 (0.0-4.73) Jahre für GADA-negative Patienten ($p=0.138$).

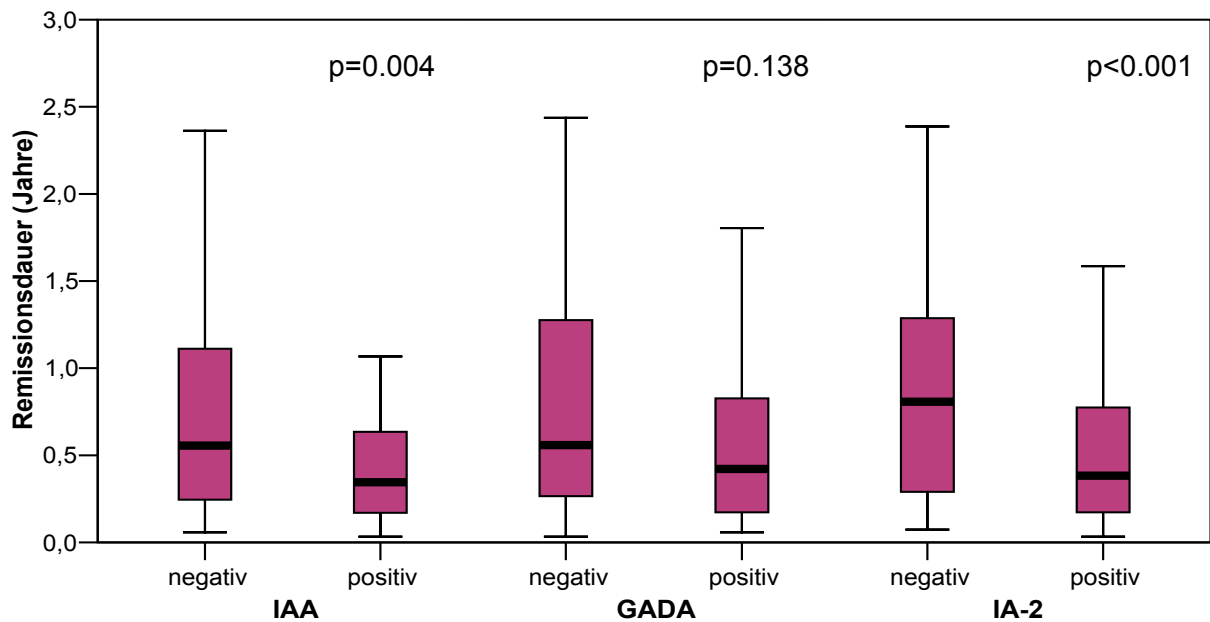


Abb. 10: Remissionsdauer der Patienten mit positiven bzw. negativen T1D-AAK.

Weiterhin wurde der Einfluss der einzelnen Diabetes-spezifischen AAK und bestimmter Autoantikörper-Kombinationen auf die Remissionsdauer untersucht. Patienten mit langer Remissionsdauer hatten bei T1D-Manifestation erheblich niedrigere Prävalenzen von GADA; IA2A und IAA als Patienten ohne Remission. Lineare Zusammenhänge zwischen Antikörper-Positivität und Remissionsdauer bestanden allerdings nur für den Antikörper IAA und die Kombination von GADA und IAA, Tabelle 20.

Die Prävalenz von IAA war bei Patienten mit langer Remissionsdauer niedriger als bei Patienten mit kurzer Remissionsdauer und niedriger als bei Kindern ohne Remission ($p=0.005$). Dementsprechend hatten IAA-positive Patienten kürzere Remissionsphasen als IAA-Negative. Um zu prüfen, ob für das Manifestationsalter ein von der Remissionsdauer unabhängiger Zusammenhang mit der IAA-Positivität besteht, wurde zusätzlich eine multiple logistische Regression durchgeführt. Dabei bestand zwischen Remissionsdauer und IAA ein signifikanter Zusammenhang ($\text{Exp}(\text{Beta})=0.611$, $p=0.008$), jedoch kein unabhängiger Zusammenhang mit dem Manifestationsalter ($\text{Exp}(\text{Beta})=0.964$, $p=0.167$).

Die Patienten mit langer Remissionszeit hatten bei Manifestation häufiger keine erhöhten T1D-AAK (13.1%) als die Patienten mit kurzer Remissionsdauer (4.0%) oder keiner Remission (7.4%). Patienten mit langer Remissionsdauer, das heißt guter Stoffwechseleinstellung, waren weniger häufig positiv für multiple T1D-AAK ($p=0.036$). Weiterhin kam die Kombination von GADA und IAA bei Manifestation häufiger bei Patienten mit keiner oder kurzer Remissionsphase ($p=0.049$) vor als bei Patienten mit langer Remissionsdauer. Kinder, die bei

Manifestation positiv für die Kombination von IA2A und IAA waren, hatten seltener eine lange Remissionsphase (p=0.018), Tabelle 20.

Tabelle 20: T1D-AAK-Prävalenzen in Abhängigkeit von der Remissionsdauer.

	Keine Remission		Kurze (0.01-0.5 J.) Remissionsdauer		Lange (0.51-4.73 J.) Remissionsdauer		p-Wert*
	N	Prozent	N	Prozent	N	Prozent	
GADA-positiv	79/108	73.3	93/126	73.8	72/107	67.3	0.343
IA2A-positiv	77/108	71.3	102/126	80.6	70/107	65.4	0.336
IAA-positiv	56/108	51.9	63/124	50.8	34/104	32.7	0.005
GADA+IA2	60/108	55.6	78/126	61.9	52/107	48.6	0.308
GADA+IAA	42/108	38.9	46/126	36.5	27/104	26.0	0.049
IA2+IAA	43/108	39.8	54/124	43.5	25/104	24.0	0.018
0 T1D-AK positiv	8/108	7.4	5/126	4.0	14/107	13.1	0.036
1 T1D-AK positiv	21/108	19.4	25/126	19.8	31/107	29.0	0.010
2 T1D-AK positiv	46/108	42.6	55/126	43.7	41/107	38.3	0.010
3 T1D-AK positiv	33/108	30.6	41/124	33.1	21/104	20.2	0.081
1, 2 oder 3 AK	100/108	92.6	121/126	96.0	93/107	86.9	0.036

* p-Wert für lineare Zusammenhänge

4.3 Auftreten einer zweiten Autoimmunerkrankung bei Patienten mit Typ 1 Diabetes

4.3.1 Autoimmunthyreoiditis

4.3.1.1 Schilddrüsen-Autoimmunität bei T1D-Manifestation

Um frühzeitig das Auftreten einer Autoimmunthyreoiditis bei Patienten mit T1D zu erkennen wurden alle Patienten bei T1D-Manifestation und in jährlichen Abständen danach auf Schilddrüsen-Antikörper Anti-TPO und Anti-TG getestet. Bei 6 von 341 Patienten konnten keine Daten erhoben werden, so dass sich die Auswertungen auf 335 Patienten (98.2%) beschränken.

Bei Manifestation hatten bereits 15 Patienten (4.5%) mindestens einen erhöhten Schilddrüsen-spezifischen Antikörper, Tabelle 21. Auffällig war, dass der Anteil der Mädchen in der Gruppe der Patienten mit erhöhten Antikörpern höher war als in der Gruppe ohne Antikörper (73.3% vs. 45.3%, $p=0.013$). Das T1D-Manifestationsalter war nicht signifikant unterschiedlich in der Gruppe der Patienten mit Schilddrüsenantikörpern bzw. ohne Antikörper. Der Anteil der ausländischen Patienten war ebenfalls nicht signifikant unterschiedlich in beiden Gruppen.

Tabelle 21: Thyreoid-Antikörper bei T1D-Manifestation.

	Anti-TPO positiv		Anti-TG positiv		TPO oder TG positiv		beide AK positiv	
	N	Prozent	N	Prozent	N	Prozent	N	Prozent
Häufigkeit	13/335	3.9	11/335	3.3	15/335	4.5	9/335	2.7
Anteil weiblich (%)	77.0 [p=0.034]		91.0 [p=0.002]		73.3 [p=0.013]		77.8 [p=0.028]	
Mittleres T1D Manifestationsalter (Jahre)	10.4 ± 2.8 [p=0.149]		10.1 ± 3.2 [p=0.318]		10.0 ± 3.2 [p=0.136]		10.1 ± 2.7 [p=0.150]	
Ausländische Herkunft	3/13	23.1	2/11	18.2	3/15	20.0	2/9	22.2

4.3.1.2 Inzidenz von Schilddrüsenautoantikörpern im Verlauf

Insgesamt wurde bei 70 der 335 Patienten (20.9%) mindestens ein erhöhter Schilddrüsen-spezifischer Antikörper innerhalb des Beobachtungszeitraumes gemessen. 58 Patienten (17.3%) waren Anti-TPO-positiv und 59 (17.6%) Anti-TG-positiv. Eine einmalige positive Testung lag bei 7 Patienten für Anti-TPO und bei 5 Patienten für Anti-TG vor, während 51 bzw. 54 Patienten mehrfach positive Messungen für Anti-TPO bzw. Anti-TG aufwiesen. Die Antikörpertiter werden in Tabelle 22 beschrieben.

Tabelle 22: Antikörpertiter bei insgesamt 70 Patienten mit mindestens einem erhöhten Schilddrüsen-spezifischen Antikörper.

Titer (U/ml)	Median	Minimum	Maximum
Anti-TPO (N=58)	695	42	>3000
Anti-TG (N=59)	67	31	2000

Von den 70 Schilddrüsenantikörper-positiven Patienten wurde bei 30 Patienten (42.9%) eine Autoimmunthyreoiditis diagnostiziert. Im Gegensatz zur Prävalenz der SD-Antikörper bei T1D-Manifestation traten die SD-AK im T1D-Verlauf bei Mädchen nicht häufiger auf als bei Knaben. Bezüglich Manifestationsalter oder Herkunft bestanden keine signifikanten Unterschiede zwischen Patienten mit bzw. ohne erhöhte SD-AK, Tabelle 23.

Tabelle 23: Thyreoid-Antikörper Verlaufsdaten von Patienten mit T1D.

	Anti-TPO positiv		Anti-TG positiv		TPO oder TG positiv		beide AK positiv	
	N	Prozent	N	Prozent	N	Prozent	N	Prozent
Häufigkeit	58/335	17.3	59/335	17.6	70/335	20.9	57/335	17.0
AK einmal positiv	7/335	2.1	5/335	1.5				
AK mehrmals positiv	51/335	15.2	54/335	16.1				
Anteil weiblich (%)	55.2 [p=0.270]		54.2 [p=0.224]		51.4 [p=0.449]		52.6 [p=0.597]	
Auftreten einer AIT	30/58	51.7	27/59	45.8	30/70	42.9	28/57	49.1
Mittleres T1D Manifestationsalter (Jahre)	8.9 ± 4.2		8.7 ± 4.1		8.7 ± 4.2		8.7 ± 4.2	
Ausländische Herkunft	12/58	20.7	10/59	16.9	13/70	18.6	12/57	21.1

Die mit der Kaplan-Meier Analyse ermittelte kumulative Inzidenz für das Auftreten von Schilddrüsen-spezifischen Autoantikörpern betrug bei einer medianen Beobachtungsdauer von 2.6 Jahren (Bereich 0-15 Jahre) 0.24 ± 0.03 nach 5 Jahren Diabetesdauer und 0.36 ± 0.06 nach 10 Jahren Diabetesdauer, Abb. 11.

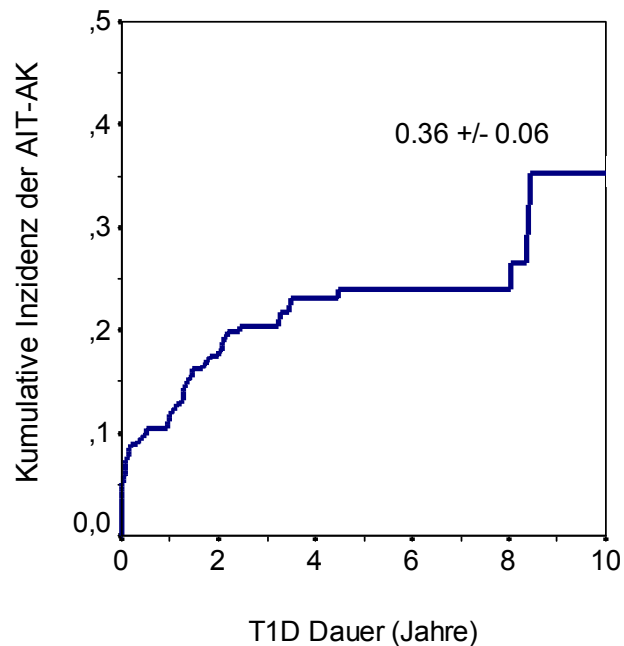


Abb. 11: Kumulative Inzidenz der AIT-AK bei 335 Kindern mit Typ 1 Diabetes.

4.3.1.3 Prävalenz einer klinischen AIT bei T1D-Manifestation

Die Diagnose klinische AIT wurde definiert durch das Vorhandensein erkrankungsspezifischer Autoantikörper, eine Vergrößerung des Schilddrüsenvolumens sowie durch erhöhte TSH-Spiegel. Zum Zeitpunkt der Diabetesmanifestation lag bei 5 der 335 Patienten (1.5%) bereits eine AIT vor. Ein Patient wurde 4.7 Jahre vor T1D-Manifestation mit einer AIT diagnostiziert, ein Patient 0.1 Jahre vor und drei weitere zum Zeitpunkt der T1D-Manifestation. Alle fünf Patienten, die zum Zeitpunkt der Diabetesmanifestation eine klinische AIT hatten, waren Mädchen ($p=0.015$). Das mittlere Manifestationsalter dieser 5 Patienten war höher, jedoch nicht signifikant, als bei den Patienten ohne AIT (10.9 ± 2.3 Jahre vs. 8.2 ± 4.5 Jahre, $p=0.204$). Alle fünf Patienten mit AIT bei Manifestation waren deutscher Herkunft.

4.3.1.4 Inzidenz der klinischen AIT im Verlauf

Bei insgesamt 30 der 335 Patienten (9.0%) trat im Durchschnitt 1.4 Jahre nach T1D-Manifestation (Bereich 0.0 - 9.4 Jahre) eine klinisch bestätigte bzw. therapiebedürftige AIT auf, einschließlich der fünf Patienten, die schon bei Diabetesmanifestation eine AIT hatten. Alle 30 Patienten mit AIT hatten erhöhte Anti-TPO- Antikörper. 27 von 30 (90%) hatten erhöhte Anti-TG Antikörper und bei 28 von 30 (93.3%) waren beide SD-AK erhöht. Das T1D-Manifestationsalter war nicht signifikant unterschiedlich bei Kindern mit AIT und Kindern ohne AIT (8.3 ± 4.2 Jahre vs. 8.9 ± 3.9 Jahre, $p=0.510$). Die Altersverteilung der Patienten mit AIT entsprach der Altersverteilung des Gesamtkollektivs ($p=0.343$), Abb. 5 und Abb. 12.

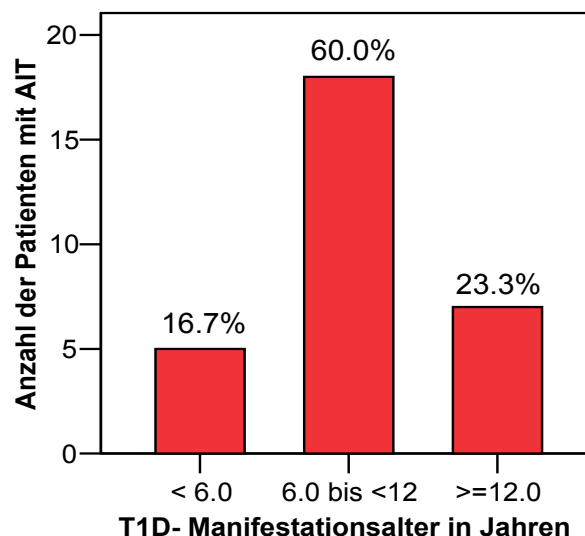


Abb. 12: Altersverteilung zum Zeitpunkt der T1D-Manifestation bei 30 Kindern mit AIT.

Die entsprechend der Kaplan-Meier Analyse berechnete kumulative 5-Jahres Inzidenz einer klinischen AIT betrug 0.14 ± 0.03 und die kumulative 10-Jahres Inzidenz betrug 0.24 ± 0.06 . Der späteste Zeitpunkt der Diagnose einer AIT lag bei 9.4 Jahren nach T1D-Manifestation, Abb. 13.

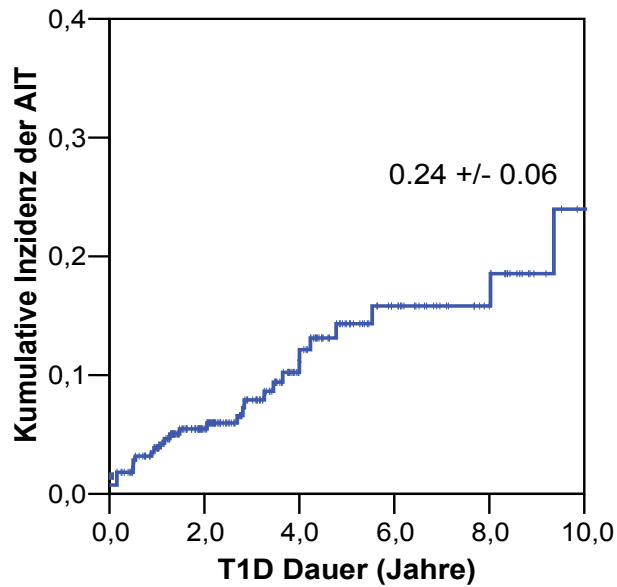


Abb. 13: Kumulative Inzidenz der AIT bei 335 Kindern mit T1D.

Eine AIT trat im Verlauf der Diabeteserkrankung bei beiden Geschlechtern gleich häufig auf; 50% der Patienten mit AIT waren Mädchen (15/30). Die kumulative Inzidenz der AIT unterschied sich ebenfalls nicht zwischen Mädchen und Knaben. Die 10-Jahres Inzidenz der AIT lag für Mädchen bei 0.21 ± 0.08 und für Knaben bei 0.26 ± 0.08 ($p=0.792$).

Patienten mit AIT gehörten häufiger einer anderen Nationalität an (7/30, 23.3%) als Patienten, die keine AIT entwickelten, (46/311, 14.8%). Eine AIT trat bei 8.0% der deutschen Patienten und bei 13.2% der Patienten mit anderer Nationalität auf ($p=0.217$).

Um die Frage zu klären, ob die metabolische Stoffwechsellage der Patienten mit T1D einen Einfluss auf das Auftreten einer AIT hat, wurde untersucht, wie häufig SD-AK bzw. eine AIT bei Patienten mit niedrigen HbA1c-Werten im Vergleich zu Patienten mit hohen HbA1c-Werten auftreten, Tabelle 24. Die Inzidenzen der SD-AK bzw. der AIT waren in beiden Stoffwechselgruppen nicht signifikant unterschiedlich.

Tabelle 24: Auftreten von SD-AK und AIT bei unterschiedlichen Hb1Ac-Werten.

	HbA1c < 7.2%		HbA1c ≥ 7.2 %		p-Wert
	N	Prozent	N	Prozent	
SD-AK positiv	51/153	33.3	57/173	32.9	0.941
AIT	17/155	11.0	13/176	7.4	0.257

Die Stoffwechseleinstellung hatte ebenfalls keinen Einfluss auf die kumulative Inzidenz der AIT. Die 10-Jahres KI der AIT bei Kindern mit HbA1c-Werten unter 7.2% betrug 0.22 ± 0.06 und 0.21 ± 0.08 bei Kindern mit HbA1c-Werten $\geq 7.2\%$.

Es bestanden keine signifikanten Zusammenhänge zwischen der Länge der Remission und dem Auftreten von SD-Antikörpern bzw. einer AIT, Tabelle 25. Die entsprechend der Kaplan-Meier Analyse berechnete kumulative Inzidenz der AIT war ebenfalls nicht signifikant unterschiedlich bei Kindern mit verschieden langer Remissionsdauer. Die 10-Jahres KI der AIT bei Kindern ohne Remission betrug 0.15 ± 0.05 im Vergleich zu 0.26 ± 0.12 bei Kindern mit kurzer Remission und 0.28 ± 0.09 bei Kindern mit langer Remission ($p=0.867$).

Tabelle 25: Auftreten von SD-AK und AIT bei unterschiedlich langer Remissionsdauer.

	Keine Remission		Kurze Remission (>0.0-0.5 Jahre)		Lange Remission (>0.5-4.7 Jahre)		p-Wert*
	N	Prozent	N	Prozent	N	Prozent	
SD-AK positiv	20/107	18.7	28/123	22.8	22/105	21.0	0.683
AIT	9/108	8.3	10/126	7.9	11/107	10.3	0.637

* p-Wert für lineare Zusammenhänge

4.3.1.5 Bedeutung von T1D-AAK für das Auftreten einer AIT

Es wurde untersucht, ob das Vorhandensein verschiedener T1D-AAK bei Diabetesmanifestation einen Einfluss auf das Risiko hat, an einer AIT zu erkranken. Die bei Diabetesmanifestation ermittelten T1D-AAK-Prävalenzen bei Patienten mit AIT unterschieden sich nicht signifikant von den T1D-AAK-Prävalenzen des Gesamtkollektivs, Abb. 3 und Abb. 14. 83.3% der Patienten mit AIT hatten erhöhte GADA-Werte (25/30), während nur 70.7% der Patienten erhöhte GADA-Werte hatten (220/311, $p=0.134$). 66.7% der Patienten mit AIT (20/30) und 73.6% der Patienten ohne AIT (229/311) hatten erhöhte IA2A-Werte ($p=0.412$). IAA waren bei 44.8% der Patienten mit AIT (13/29) und bei 45.6% der Patienten ohne AIT (140/307, $p=0.936$) erhöht.

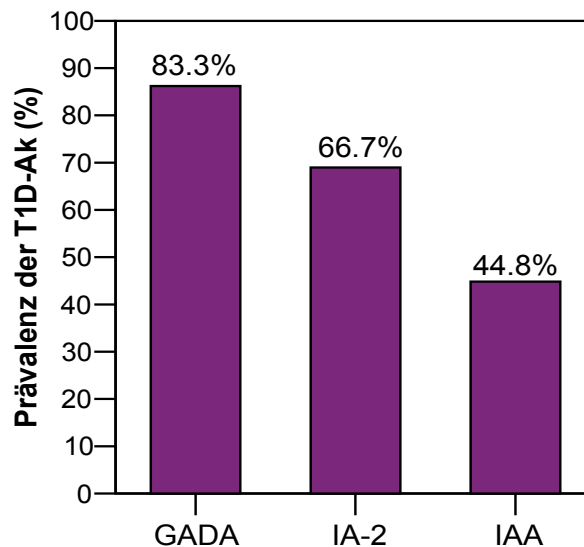


Abb. 14: Prävalenz der T1D-spezifischen-AAK zum Zeitpunkt der Diabetesmanifestation in der Gruppe der Patienten mit AIT (N=30).

Die Häufigkeit, mit der 0, 1, 2 oder 3 erhöhte T1D-AAK bei Diabetesmanifestation vorlagen, unterschied sich ebenfalls nicht signifikant zwischen Patienten mit oder ohne AIT. 6.9% der Patienten mit AIT hatten keinen T1D-AAK erhöht (2/30), 20.7% hatten einen T1D-AAK erhöht (6/30), 43.3% hatten zwei T1D-AAK erhöht (13/30) und 31.0% der Patienten hatten drei T1D-AAK erhöht (9/30) im Vergleich zu jeweils 7.7%, 22.2%, 41.2% und 25.7% bei Patienten ohne AIT ($p=0.985$).

Die Anzahl der erhöhten T1D-AAK bei Manifestation hatte keinen Einfluss auf die kumulative Inzidenz der AIT. Die kumulative Inzidenz der AIT für Patienten mit 0, 1, 2 bzw. 3 T1D-AAK betrug jeweils 0.20 ± 0.15 , 0.16 ± 0.09 , 0.28 ± 0.11 bzw. 0.14 ± 0.05 nach 10 Jahren Diabetesdauer ($p=0.450$), Abb. 15.

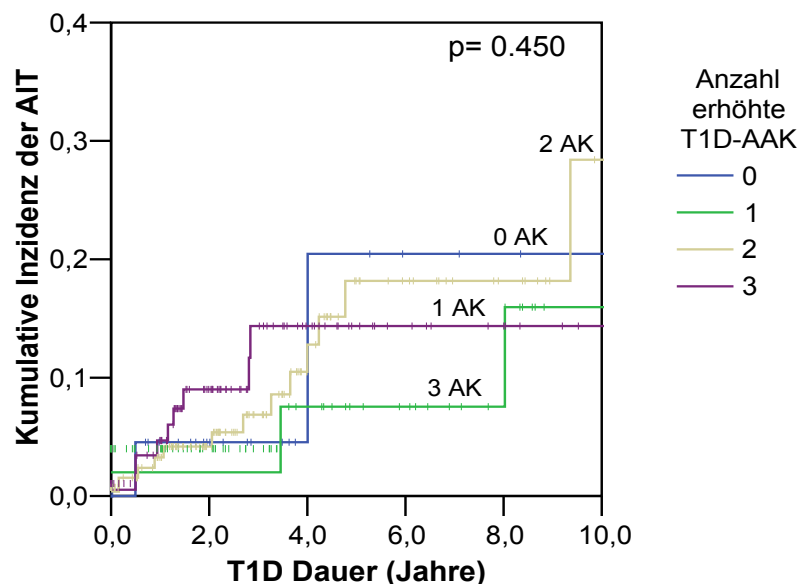


Abb. 15: Kumulative Inzidenz der AIT bei 341 Kindern, die bei T1D-Manifestation 0, 1, 2 oder 3 erhöhte T1D-AAK hatten.

Weiterhin wurde untersucht, ob die Positivität einzelner Diabetes-spezifischer Autoantikörper bei Manifestation einen Einfluss auf das Auftreten einer AIT im Verlauf des Diabetes haben könnte. GADA waren die einzigen T1D-Autoantikörper, bei denen ein signifikanter Einfluss auf die kumulative Inzidenz der AIT im Log-Rank Test nachweisbar war. Für GADA-negative Patienten lag die 10-Jahres kumulative Inzidenz der AIT bei 0.15 ± 0.08 und für GADA-positive Patienten bei 0.31 ± 0.11 ($p=0.042$). Somit lag die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten einer AIT nach 10 Jahren Diabetesdauer bei GADA-positiven Patienten annähernd doppelt so hoch wie bei GADA-negativen Patienten, Abb. 16.

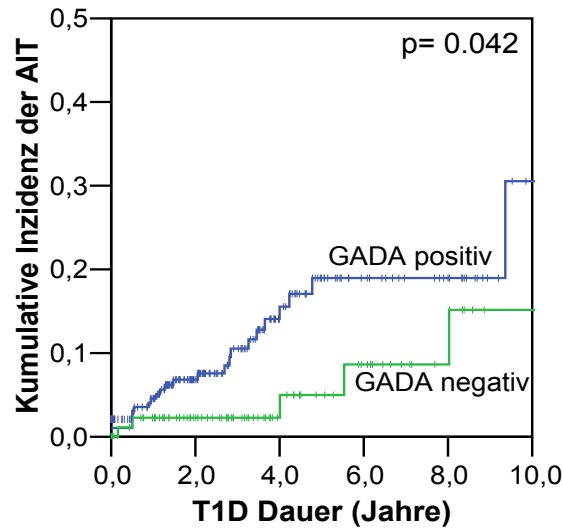


Abb. 16: Kumulative Inzidenz der AIT bei 341 Kindern, die bei T1D-Manifestation GADA-positiv bzw. -negativ waren.

IA2A oder IAA bei Diabetesmanifestation hatten keinen Einfluss auf die kumulative Inzidenz der AIT. Die kumulative Inzidenz der AIT nach 10 Jahren Diabetesdauer betrug 0.28 ± 0.10 für IA2A-negative Patienten und 0.23 ± 0.07 für IA2A-positive Patienten ($p=0.154$), Abb. 17. Für IAA-negative Patienten betrug die kumulative Inzidenz nach 10 Jahren Diabetesdauer 0.29 ± 0.10 und für IAA-positive Patienten 0.12 ± 0.03 ($p=0.909$), Abb. 18.

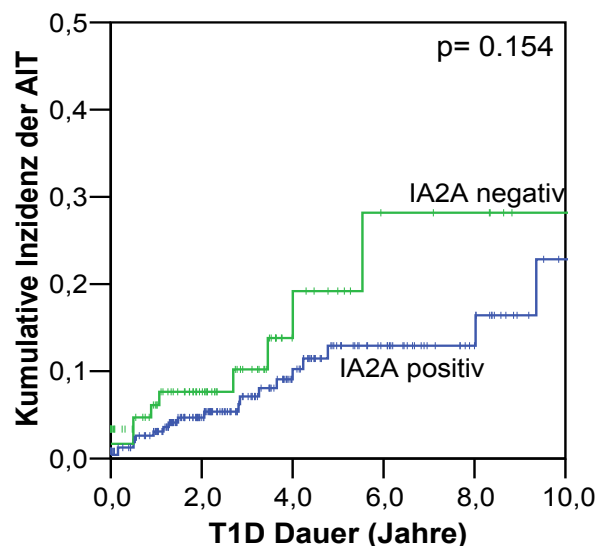


Abb. 17: Kumulative Inzidenz der AIT bei 341 Kindern, die bei T1D-Manifestation IA2A-positiv bzw. -negativ waren.

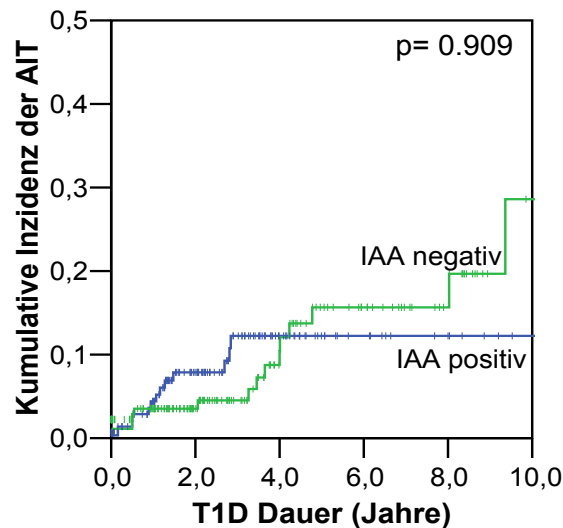


Abb. 18: Kumulative Inzidenz der AIT bei 336 Kindern, die bei T1D-Manifestation IAA-positiv bzw. negativ waren.

In der multivariaten Cox-Regressionsanalyse wurde untersucht, ob neben GADA die zusätzlich bisher untersuchten Faktoren wie Geschlecht und Herkunft der Patienten oder die beiden anderen T1D-AAK einen zusätzlichen unabhängigen Einfluss auf das Auftreten einer AIT im Verlauf des Diabetes haben. Die Ergebnisse der Analyse sind in Tabelle 26 dargestellt. Ein signifikanter Einfluss auf die Wahrscheinlichkeit des Auftretens einer AIT ließ sich nur für den T1D-AAK GADA nachweisen ($p=0.031$). Für GADA-positive Patienten ergab sich ein adjustiertes 3.3-fach erhöhtes Risiko für das Auftreten einer AIT (95%-CI, 1.1-9.7) gegenüber Patienten, die bei Diabetesmanifestation GADA-negativ waren. Die Autoantikörper IA2A und IAA zeigten keinen zusätzlichen unabhängigen Einfluss auf das Auftreten einer AIT, ebenso wenig wie Geschlecht, Herkunft, Stoffwechsellage und Remissionsdauer der Patienten.

Tabelle 26: Ergebnisse der multivariaten Cox-Regressionsanalyse zur Untersuchung von Risikofaktoren für das Auftreten einer AIT.

Untersuchter Risikofaktor	Standardisierter Regressions-Koeffizient Exp(Beta)	95% - CI	p-Wert
Geschlecht weiblich	1.136	0.524-2.463	0.746
Ausländische Herkunft	1.378	0.548-3.464	0.495
GADA-positiv	3.284	1.114-9.685	0.031
IA2A-positiv	0.561	0.249-1.264	0.163
IAA-positiv	1.114	0.516-2.404	0.783
HbA1c $\geq 7.2\%$	0.920	0.658-1.285	0.625
Remissionsdauer	1.030	0.454-2.333	0.944

4.3.2 Zöliakie

4.3.2.1 Zöliakie-assoziierte Autoimmunität bei T1D-Manifestation

Bei 3 von 341 Patienten (0.9%) waren zum Zeitpunkt der Diabetesmanifestation bereits CD-spezifische Antikörper (Gliadin-IgA und endomysiale IgA) nachweisbar, Tabelle 27. Alle drei Patienten mit früh positiven CD-Antikörpern waren männlich. Das mittlere Manifestationsalter und die Herkunft der drei Patienten unterschieden sich nicht von dem Alter und der Herkunft der Patienten, die bei T1D-Manifestation keine CD-AK hatten.

Tabelle 27: Zöliakie Antikörper bei T1D-Manifestation.

	Glia-AK positiv		EmA positiv		Glia oder EmA positiv		beide AK positiv	
	N	Prozent	N	Prozent	N	Prozent	N	Prozent
Häufigkeit	3/321	0.9	1/320	0.3	3/320	0.9	7/320	0.3
Weiblich (%)	0 [0.214]		0 [0.521]		0 [0.248]		0 [0.461]	
Mittleres T1D Manifestationsalter (Jahre)	6.9 ± 5.4 [0.814]		10.3 ± 0.0 [0.516]		6.9 ± 5.4 [0.575]		10.3 ± 0.0 [0.862]	
Ausländische Herkunft	2/3	66.7	1/1	100.0	2/3	66.7	1/1	100.0

4.3.2.2 Inzidenz der Zöliakie-spezifischen Antikörper im Verlauf

Insgesamt wurde bei 27 der 320 der Patienten (8.4%) mindestens ein CD-spezifischer Autoantikörper innerhalb des Beobachtungszeitraumes gemessen. 21 Patienten (6.5%) waren Gliadin-AK-positiv und 13 (4.1%) waren EmA-positiv. Eine einmalige positive Testung lag bei 18 Patienten für Gliadin-AK und bei 8 Patienten für EmA vor, während 3 bzw. 5 Patienten mehrfach positive Messungen für Glia-AK bzw. EmA aufwiesen. Von den 27 CD-Antikörper-positiven Patienten wurde bei 8 Patienten (29.6%) eine klinische CD diagnostiziert. Patienten mit erhöhten EmA waren bei T1D-Manifestation jünger als Kinder ohne EmA ($p=0.006$). Der Anteil von ausländischen Patienten war höher bei EmA-positiven Patienten und bei Patienten mit mindestens einem CD-spezifischen Antikörper als bei Patienten ohne CD-Antikörper ($p=0.006$ und $p=0.004$), Tabelle 28. Die mit der Kaplan-Meier Analyse ermittelte kumulative Inzidenz für das Auftreten von CD-spezifischen Antikörpern betrug bei einer medianen Beobachtungsdauer von 1.8 Jahren (Bereich 0-13.8 Jahre) 0.21 ± 0.05 nach 10 Jahren Diabetesdauer, Abb. 19.

Tabelle 28: Zöliakie-Antikörper Verlaufsdaten von Patienten mit T1D.

	Glia-AK positiv		EmA positiv		Glia oder EmA positiv		beide AK positiv	
	N	Prozent	N	Prozent	N	Prozent	N	Prozent
Häufigkeit	21/321	6.5	13/320	4.1	27/320	8.4	7/320	2.2
AK einmal positiv	18/321	5.6	8/320	2.5				
AK mehrmals positiv	3/321	0.93	5/320	1.6				
Anteil weiblich (%)	47.6%		69.2%		51.9%		71.4%	
Auftreten einer Zöliakie	5/21	23.8	8/13	61.5	8/27	29.6	5/7	71.4
Ausländische Herkunft	6/21	28.6	6/13	46.3	10/27	37.0	2/7	28.6
Mittleres T1D-Manifestationsalter (Jahre)	8.5 ± 3.8		6.3 ± 5.1		7.3 ± 4.3		9.0 ± 5.0	

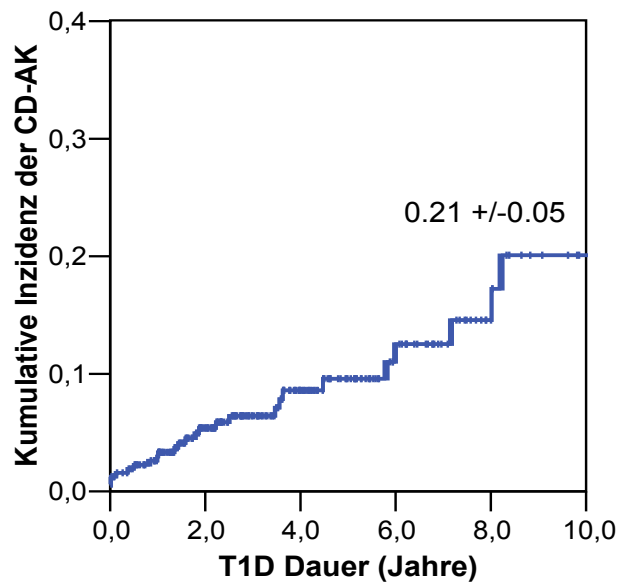


Abb. 19: Kumulative Inzidenz der CD-AK bei 320 Kindern mit T1D.

4.3.2.3 Prävalenz einer Zöliakie bei T1D-Manifestation

Die Diagnose CD wurde nach positivem CD-AK-Screening und Dünndarmzottenbiopsie gestellt. Zum Zeitpunkt der Diabetesmanifestation lag bei 2 der 341 Patienten (0.6%) bereits eine CD vor. Beide Patienten mit einer CD bei Diabetesmanifestation waren männlich. Ein Patient war ausländischer Herkunft. Das Alter der Patienten bei T1D-Manifestation betrug 4.6 und 10.3 Jahre. Beide Patienten, die bei Manifestation eine CD hatten, entwickelten im Verlauf der Diabeteserkrankung zusätzlich eine klinische AIT.

4.3.2.4 Inzidenz einer Zöliakie im Verlauf

Bei insgesamt 11 von 341 Patienten (3.2%) trat eine CD im Median 1.0 Jahr nach Diabetesmanifestation auf (Bereich 0.0 bis 13.8 Jahre) einschließlich der 3 Patienten, die schon bei Diabetesmanifestation eine CD hatten. 5 von 11 Patienten (45.5%) hatten erhöhte Gliadin-AK, 8 von 11 Patienten (72.7%) hatten erhöhte EmA und bei 5 von 11 Patienten (45.5%) waren beide CD-AK erhöht. Das mittlere Manifestationsalter bei Patienten mit CD betrug 5.6 ± 4.8 Jahre und war signifikant niedriger als bei den Patienten ohne CD, deren mittleres Manifestationsalter bei 9.0 ± 4.1 Jahren lag ($p=0.019$). Die Mehrzahl der Patienten mit CD fiel in die jüngste Altersgruppe (< 6 Jahre), Abb. 20. Diese Altersverteilung der Patienten mit CD unterscheidet sich von der Altersverteilung des Gesamtkollektivs (Abb. 5) und von der Altersverteilung bei Patienten mit AIT (Abb. 12).

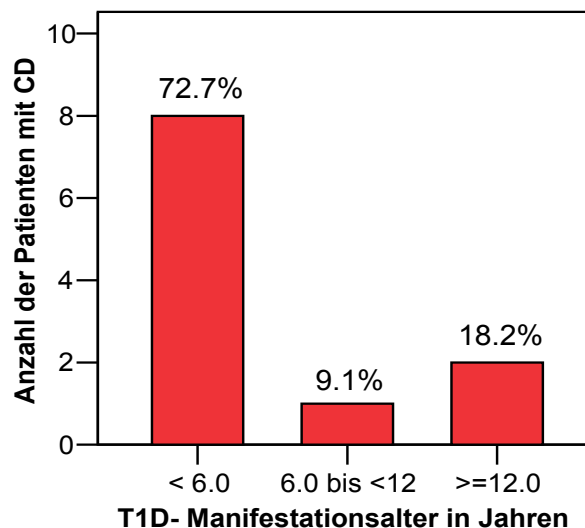


Abb. 20: Altersverteilung zum Zeitpunkt der T1D-Manifestation bei 11 Kindern mit CD.

Die entsprechend der Kaplan-Meier Analyse berechnete kumulative Inzidenz der CD nach zehn Jahren betrug 0.06 ± 0.03 . Der späteste Zeitpunkt der Diagnose einer CD lag bei 8.0 Jahren nach T1D-Manifestation, Abb. 21.

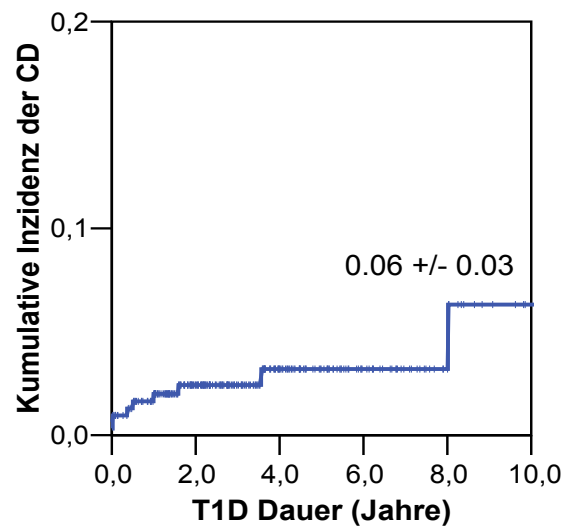


Abb. 21: Kumulative Inzidenz der Zöliakie bei 341 Kindern mit T1D.

Patienten mit CD gehörten häufiger einer anderen Nationalität an (7/11, 63.3%) als Patienten, die keine CD entwickelten (44/330, 13.3%). Eine CD trat bei 1.4% der deutschen Patienten und bei 13.7% der Patienten mit anderen Nationalitäten auf ($p < 0.001$).

Eine CD trat im Verlauf der Diabeteserkrankung bei beiden Geschlechtern ähnlich häufig auf; 45.5% der Patienten mit CD waren Mädchen. Die kumulative Inzidenz der CD unterschied sich ebenfalls nicht zwischen Mädchen und Knaben. Die 10-jahres Inzidenz der CD lag für Mädchen bei 0.02 ± 0.01 und für Knaben bei 0.13 ± 0.09 ($p = 0.400$).

Um die Frage zu klären, ob die metabolische Stoffwechsellage der Patienten mit T1D einen Einfluss auf das Auftreten einer CD hat, wurde untersucht, wie häufig CD-spezifische Antikörper bzw. eine CD bei Patienten mit niedrigen HbA1c-Werten im Vergleich zu Patienten mit hohen HbA1c-Werten auftreten, Tabelle 29. Die Inzidenzen der CD-AK bzw. der CD waren in beiden Stoffwechselgruppen nicht signifikant unterschiedlich.

Tabelle 29: Auftreten von CD-AK und CD bei unterschiedlichen Hb1Ac-Werten.

	HbA1c < 7.2%		HbA1c ≥ 7.2%		p-Wert
	N	Prozent	N	Prozent	
CD-AK positiv	11/151	7.3	16/163	9.8	0.424
CD	4/155	2.6	7/176	4.0	0.479

Mittels Kaplan-Meier Analyse wurde die kumulative Inzidenz der CD von Patienten mit unterschiedlich langen Remissionsdauern berechnet. Patienten ohne Remission hatten eine höhere kumulative Inzidenz der CD als Patienten mit Remission. Die 10-Jahres KI der CD bei Kindern ohne Remission betrug 0.14 ± 0.08 im Vergleich zu 0.04 ± 0.03 bei Patienten mit Remissionsdauer ($p=0.089$). Von den 126 Patienten mit kurzer Remissionsdauer (< 0,5 Jahre) erkrankte nur ein Patient an CD. Es bestanden keine signifikanten Zusammenhänge zwischen der Länge der Remission und dem Auftreten von CD-Antikörpern bzw. CD, Tabelle 30.

Tabelle 30: Auftreten von CD-AK und CD bei unterschiedlich langer Remissionsdauer.

	Keine Remission		Kurze Remission (>0.0-0.5 Jahre)		Lange Remission (>0.5-4.7 Jahre)		p-Wert
	N	Prozent	N	Prozent	N	Prozent	
CD-AK positiv	7/98	7.1	9/119	7.6	11/103	10.7	0.365
CD	6/108	5.6	1/126	0.79	4/107	3.7	0.448

* p-Wert für lineare Zusammenhänge

4.3.2.5 Bedeutung von T1D-AAK für das Auftreten einer Zöliakie

Das Vorhandensein verschiedener T1D-spezifischer Autoantikörper bei Diabetesmanifestation hatte einen Einfluss auf die Wahrscheinlichkeit an einer Zöliakie zu erkranken. Patienten mit CD waren bei Diabetesmanifestation seltener IA2A-positiv als Patienten ohne CD. 45.5% der Patienten mit CD (5/11) und 73.9% der Patienten ohne CD (244/330) hatten erhöhte IA2A-Werte ($p=0.036$). Das Vorhandensein von GADA oder IAA hatte keinen Einfluss auf das Risiko an einer CD zu erkranken. 72.7% der Patienten mit CD (8/11) und 71.5% ohne CD (236/330) hatten erhöhte GADA-Werte ($p=0.930$). Erhöhte IAA-Werte hatten 36.4% der Patienten mit CD (4/11) und 45.8% der Patienten ohne CD (149/325, $p=0.535$), Abb. 22.

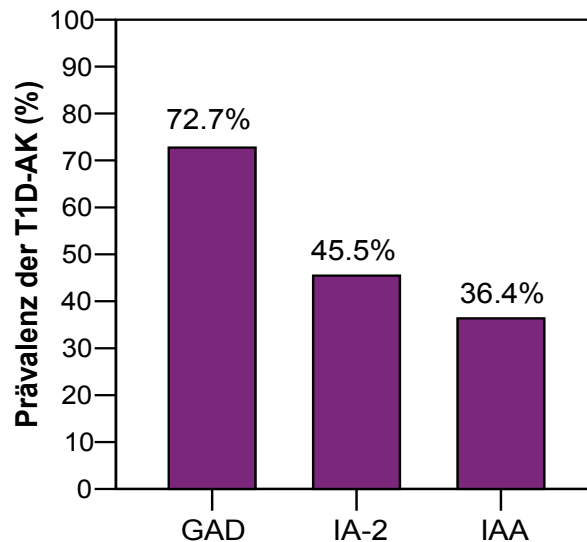


Abb. 22: Prävalenz der T1D-spezifischen-AAK zum Zeitpunkt der Diabetesmanifestation in der Gruppe der Patienten mit CD (N=11).

Die Häufigkeit mit der 0, 1, 2 oder 3 erhöhte T1D-AAK bei Diabetesmanifestation vorlagen, unterschied sich grenzgeradig signifikant zwischen Patienten mit oder ohne CD. 27.3% der Patienten mit CD hatten keinen T1D-AAK erhöht (3/11), 9.1% hatten einen T1D-AAK erhöht (1/11), 45.5% hatten zwei T1D-AAK erhöht (5/11) und 18.2% hatten drei T1D-AAK erhöht (2/11) im Vergleich zu jeweils 7.1%, 22.8%, 41.5% und 28.6% bei Patienten ohne CD ($p=0.082$). Patienten mit CD hatten bei Diabetesmanifestation grenzgeradig signifikant häufiger keine erhöhten T1D-spezifischen Autoantikörper als Patienten ohne CD ($p=0.074$).

Der Einfluss von der Anzahl der erhöhten T1D-spezifischen Autoantikörper bei Manifestation auf die kumulative Inzidenz der CD wurde ermittelt. Die kumulative Inzidenz der CD für Patienten mit 0, 1, 2 bzw. 3 T1D-AAK betrug jeweils 0.14 ± 0.07 , 0.01 ± 0.01 , 0.09 ± 0.07 bzw. 0.02 ± 0.01 nach zehn Jahren Diabetesdauer ($p=0.024$). Die kumulative Inzidenz der CD war bei Patienten ohne T1D-AAK höher als bei Patienten mit 1, 2 oder 3 erhöhten T1D-AAK. Bei Patienten mit zwei Antikörpern war die 10-Jahres kumulative Inzidenz der CD höher als die kumulative Inzidenz von Patienten mit einem oder drei positiven T1D-AAK. Somit bestand kein linearer Zusammenhang zwischen dem Auftreten einer CD und der Anzahl der T1D-AAK, Abb. 23.

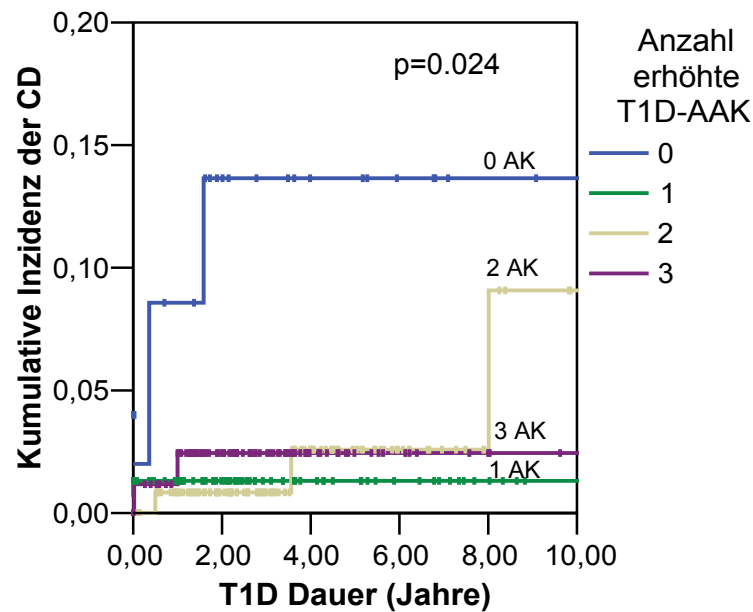


Abb. 23: Kumulative Inzidenz der CD bei 341 Kindern, die bei T1D-Manifestation 0, 1, 2 oder 3 erhöhte T1D-AAK hatten.

Weiterhin wurde untersucht, ob die Positivität einzelner Diabetes-spezifischer Autoantikörper bei Manifestation einen Einfluss auf das Auftreten einer CD im Verlauf des Diabetes haben könnte. Für keinen der einzelnen drei T1D-spezifischen Autoantikörper war eine erhöhte Inzidenz der CD nachweisbar. Für GADA-negative Patienten lag die 10-Jahres kumulative Inzidenz der CD bei 0.04 ± 0.02 und bei 0.08 ± 0.05 für GADA-positive Patienten ($p=0.703$), Abb. 24. IA2A-Positivität bei Diabetesmanifestation war jedoch mit einer niedrigeren CD-Inzidenz verbunden. Die 10-Jahres kumulative Inzidenz der CD für IA2A-negative Patienten betrug 0.20 ± 0.11 und 0.02 ± 0.07 für IA2A-positive Patienten ($p=0.013$), Abb. 25. IAA hatten keinen Einfluss auf das Auftreten einer CD. Die kumulative Inzidenz der CD für IAA-negative Patienten betrug 0.03 ± 0.02 und 0.12 ± 0.09 für IAA-positive Patienten nach zehn Jahren Diabetesdauer ($p=0.401$), Abb. 26.

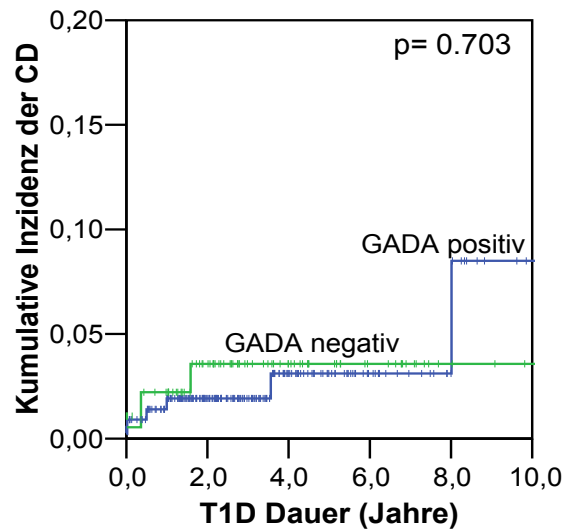


Abb. 24: Kumulative Inzidenz der CD bei 341 Kindern, die bei T1D-Manifestation GADA-positiv bzw. -negativ waren.

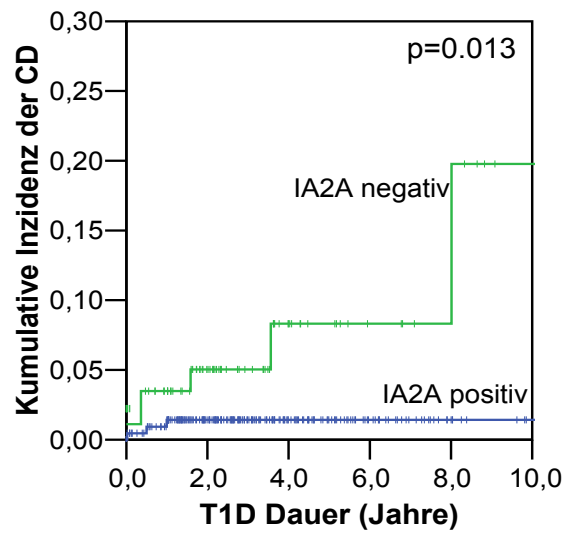


Abb. 25: Kumulative Inzidenz der CD bei 341 Kindern, die bei T1D-Manifestation IA2A-positiv bzw. -negativ waren.

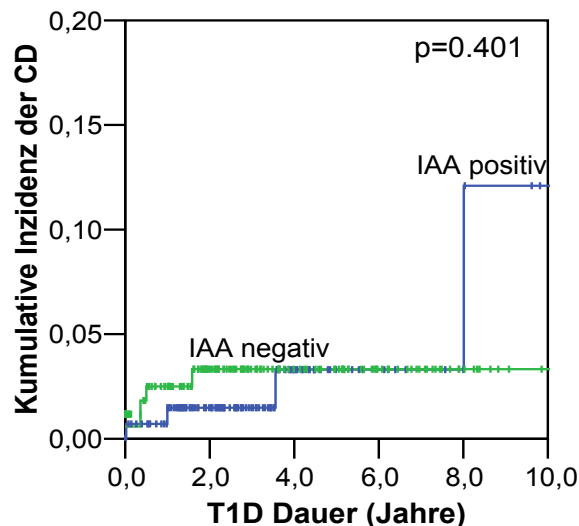


Abb. 26: Kumulative Inzidenz von CD bei 341 Kindern, die bei T1D-Manifestation IAA-positiv bzw. -negativ waren.

In Tabelle 31 ist der Einfluss der T1D-spezifischen Autoantikörper bei Manifestation auf das Auftreten einer Zweitautoimmunerkrankung und das Auftreten von Autoimmunantikörpern dargestellt. Ein signifikanter Zusammenhang ließ sich nur zwischen dem Auftreten einer CD und dem Vorliegen von mindestens einem erhöhten T1D-AAK nachweisen ($p=0.016$). Kein signifikanter Zusammenhang bestand zwischen dem Vorliegen von mindestens einem erhöhten T1D-AAK und dem Auftreten einer AIT oder der Inzidenz von SD-AK oder CD-AK.

Tabelle 31: Auftreten von Zweiterkrankungen bei Patienten die keine AK bei Manifestation hatten und bei Patienten die mindestens 1 AK erhöht hatten.

	keine T1D-AAK erhöht (N=27)		mindestens 1 T1D-AAK erhöht (N=314)		p-Wert
	N	Prozent	N	Prozent	
AIT (N=341)	3	11.1	17	8.6	0.658
SD-AK (N=335)	5	20.0	65	21.0	0.909
CD (N=341)	3	11.1	8	2.5	0.016
CD-AK (N=320)	4	16.0	23	7.8	0.157

5 Diskussion

5.1 Bedeutung der T1D-spezifischen Autoantikörper

Schon seit 1976 werden Untersuchungen über die Rolle der Diabetes-spezifischen Autoantikörper während der prädiabetischen Phase für die Früherkennung und eventuellen Prävention des Typ-1-Diabetes durchgeführt (Irvine 1976). Eines der Haupteinsatzgebiete der T1D-Autoantikörper-Bestimmung liegt zur Zeit in der T1D-Frühdagnostik, bei der Personen mit erhöhtem Diabetesrisiko, wie z.B. erstgradige Verwandte von Typ 1 Diabetikern, zu einem Zeitpunkt erfasst werden, bei dem die übrigen metabolischen Tests noch einen Normalbefund anzeigen. Des Weiteren erhofft man sich bei den Diabetes-spezifischen Autoantikörpern eine wichtige Funktion als prognostische Marker für den klinischen Verlauf des Typ 1 Diabetes und für die Progression der β -Zell-Zerstörung in der präklinischen Phase. Es wurde als sinnvoll erwiesen, mindestens zwei Autoantikörper zu bestimmen, um die diagnostische Sensitivität und Spezifität für die Prädiktion des Typ 1 Diabetes bei Personen mit erhöhtem Diabetesrisiko zu verbessern. Studien zeigten, dass Personen mit zwei oder drei positiven T1D-AAK ein höheres T1D-Risiko als die Normalbevölkerung haben, da 50% von ihnen innerhalb von 5 Jahren einen T1D entwickelten (Bingley 1997). Da die Mehrzahl der Patienten mit T1D eine unauffällige Familienanamnese hat, spielen die Diabetes-spezifischen Autoantikörper eine große Rolle als prädiktive Marker zum Screening von großen Populationen. Die AAK-Testung erlaubt nicht nur die Risikoeinschätzung, sondern auch eine sichere Diagnosestellung des Typ 1 Diabetes (Bingley 1997, Leslie 1999). Da der prädiktive Wert von multiplen positiven T1D-AAK fast so hoch ist wie der für erstgradige Verwandte, um an einem Diabetes Typ 1 zu erkranken, erhofft man sich für die Zukunft eine effiziente Früherkennung der Patienten mit erhöhtem T1D-Risiko und somit die Möglichkeit einer frühzeitigen therapeutischen Intervention, die den Krankheitsausbruch verzögern oder gar verhindern könnte (La Gasse 2002).

Die Kombination von GADA und IA2A zeigte bisher die beste Sensivität und Spezifität und ersetzt die früher durchgeführte Bestimmung von Inselzellantikörper. IA2A haben zusätzlich eine hohe diagnostische Sensitivität, um bei Gesunden und bei erstgradigen Verwandten ein hohes T1D-Risiko und eine rasche Progression zum manifesten Diabetes vorauszusagen (Achenbach 2004, Decochez 2005, Decochez 2002). Bisher gab es viele Studien, die die Bedeutung der T1D-AAK für die präklinische Phase diskutierten, jedoch wenige, die die Bedeutung für den klinischen Verlauf nach T1D-Manifestation untersuchten.

Der Schwerpunkt dieser Arbeit lag hingegen bei der Untersuchung der Diabetes-spezifischen Autoantikörper zur Charakterisierung eines großen Patientenkollektivs bei T1D-Manifestation. Diese Arbeit sollte darüber hinaus prüfen, ob T1D-Autoantikörper auch einen prädiktiven Wert

für den Schweregrad des Typ-1-Diabetes und für das Auftreten von weiteren Autoimmunerkrankungen bei Kindern und Jugendlichen haben. Diesbezüglich existieren wenig Informationen bzw. Studien, da der primäre Einsatzbereich der Autoantikörperdiagnostik, wie bereits erwähnt, in der Früherkennung der Prädiabetes-Phase liegt (Decochez 2002, Kulmala 1998, Emery 2005).

5.2 Charakterisierung der Patienten durch T1D-AAK

Die drei Diabetes-spezifischen Autoantikörper, die bisher am weitesten wegen ihrer hohen Sensivität und Spezifität eingesetzt werden, sind GADA, IA2A und IAA, wobei IAA die einzigen β -Zell-spezifischen Antikörper sind (Verge 1998). Ein Großteil der Patienten mit Typ 1 Diabetes ist bei Manifestation positiv für mindestens einen der oben genannten T1D-spezifischen Autoantikörper, da die autoimmune β -Zell-Zerstörung schon Monate bis Jahre vor Manifestation des T1D beginnt und sich im Serum widerspiegelt (Atkinson 2001, Ludvigsson 1997, Gorus 1997, Batstra 2001). Von den 341 Kindern und Jugendlichen in dieser Studie wiesen bei T1D-Manifestation mehr als 90% Diabetes-spezifische Autoantikörper auf. Die Prävalenzen der einzelnen Autoantikörper bei T1D-Manifestation variieren zum Teil in Abhängigkeit von Manifestationsalter, Geschlecht und von der Herkunft der Patienten. Sie sind jedoch deutlich höher als in der Allgemeinbevölkerung, wo einzelne T1D-AAK-Prävalenzen zwischen 0-4% liegen (Lühder 1994). Die AAK-Prävalenzangaben in der Literatur liegen für Patienten mit Typ 1 Diabetes zwischen 62-80% für GADA, 55-75% für IA2A und zwischen 45-70% für IAA (Kordonouri 2004a, Seissler 1993, Seissler 1998, Verge 1994, Ludvigsson 1997, Winter 2002). In unserem Berliner Patientenkollektiv lagen die Prävalenzen in den gleichen Prozentbereichen und waren somit vergleichbar mit bisherigen Studienergebnissen. Demnach kann das untersuchte Patientenkollektiv demnach als repräsentativ eingestuft werden.

Unterschiede in Prävalenzen der einzelnen Autoantikörper wurden genutzt, um die Patienten weiter zu charakterisieren. Bei über der Hälfte der Patienten trat die Kombination GADA und IA2A auf, während die Kombination von GADA/IAA und IA2A/IAA jeweils bei circa 35% der Patienten auftrat. Insgesamt waren fast 1/3 der Patienten bei Manifestation positiv für alle drei T1D-AAK, was mit anderen Studienergebnissen korreliert (Sabbah 2000). Die Prävalenzen der T1D-AAK-Kombinationen variieren zwischen verschiedenen Patientenkollektiven, abhängig von der Altersverteilung und der geographischen Herkunft. Da GADA, IA2A und IAA gemeinsam die größte Sensivität und Spezifität erreichen, werden diese heutzutage am weitesten verbreitet in der Diabetes Diagnostik, Klassifikation, und Prävention angewendet (Sabbah 1999, Verge 1998). Als einzelner Antikörper wird bisher GADA wegen der hohen Spezifität, Sensivität und dem hohen prädiktiven Wert eingesetzt, um Fälle mit zukünftigem Diabetes zu identifizieren und zu klassifizieren (Mandrup-Poulsen 2007). Da IAA besonders früh nachweisbar sind, wird bei

Kindern unter zehn Jahren ein Screening mit der Bestimmung der Kombination von GADA und IAA empfohlen (Ziegler 1999). Mit der Kombination von GADA und IAA oder IA2A können circa 85% der Fälle mit zukünftigem Typ 1 Diabetes frühzeitig erkannt werden (Bingley 1997).

Zur weiteren Charakterisierung der Patienten wurde der Einfluss von Geschlecht, Alter und Herkunft auf die Prävalenz positiver T1D-AAK untersucht. In der vorgestellten Arbeit waren Knaben signifikant häufiger IAA-positiv bei Manifestation als Mädchen, während die Geschlechtsverteilung für IA2A und GADA gleich verteilt war. In der Literatur werden meist keine Unterschiede in der Geschlechtsverteilung für die verschiedenen T1D-AAK angegeben (Chang 2004, Ludvigsson 1997). Allerdings fanden Bilbao et al. und Zimmet et al. GADA signifikant öfter bei weiblichen Patienten, während IAA bei Knaben und Mädchen gleich oft erhöht waren (Bilbao 2000, Zimmet 1994). Demnach gibt es für GADA, IA2A und IAA keine einheitlichen Unterschiede in der Geschlechtsverteilung.

Wie schon von anderen Autoren beschrieben, gab es auch Unterschiede der Autoantikörper-Prävalenzen in den verschiedenen Altersgruppen. In unserem Kollektiv waren jüngere Patienten signifikant häufiger IAA-positiv als Patienten mit höherem Manifestationsalter. Dass IAA-positive Patienten generell jünger sind, wird in der Literatur oft beschrieben (Atkinson 1994, Komulainen 1999, Sabbah 1999, Ziegler 1991). Dies spricht dafür, dass Autoantikörper gegen Insulin besonders in der Frühphase der Autoimmunreaktion eine große Rolle spielen und somit beitragen könnten, Kinder mit sehr jungem Manifestationsalter frühzeitig zu identifizieren. Im Gegensatz dazu waren GADA signifikant häufiger in der ältesten Patientengruppe erhöht. Auch Studien aus Taiwan, Belgien und England beschrieben höhere GADA-Prävalenzen mit steigendem Alter der Patienten (Chang 2004, Vandewelle 1997, Leslie 1999, Sabbah 2000, Zimmet 1994). Somit bestehen GADA von der T1D-Manifestation bis lange in den Krankheitsverlauf hinein und werden noch im Erwachsenenalter gesehen. Für IA2A fanden wir keine signifikanten Altersunterschiede, in Übereinstimmung mit bisherigen Studienergebnissen (Sabbah 1999).

Bei der Frage, ob die Nationalität einen Einfluss auf das Auftreten von T1D-AAK bei Manifestation hat, fanden sich keine signifikanten Differenzen. Interessanterweise ähneln sich international die Prävalenzen der T1D-AAK bei T1D-Manifestation, während die Inzidenz des Typ 1 Diabetes eine große geographische Variabilität aufweist (Karvonen 2000, Seissler 1998).

Ein Teil der autoimmunologischen Heterogenität beim Typ 1 Diabetes basiert sicherlich auf HLA-Klasse II Molekülen, welche das Ausmaß der β -Zell-Autoimmunität beeinflussen. Deswegen untersuchten wir, welche Zusammenhänge zwischen genetischen HLA-Markern und den verschiedenen T1D-Autoantikörpern bestehen. Für die vorliegende Arbeit konnte allerdings eine HLA-Typisierung nur bei circa $\frac{1}{4}$ der Patienten durchgeführt werden. Es konnte somit nur

begrenzt untersucht werden, ob Patienten mit einzelnen oder multiplen T1D-AAK besondere genetische Merkmale aufweisen. Allerdings wurde das DNA-Teilkollektiv mit dem Komplementärkollektiv verglichen, um die Repräsentativität zu überprüfen. Das DNA-Teilkollektiv war repräsentativ hinsichtlich Geschlecht, Alter und Herkunft. Da die Mehrzahl der Patienten mit T1D die Genotypen HLA-DR3/4 oder HLA-DR4/4 aufwies, wurden diese, sowie die Haplotypen HLA-DR3 und DR4 genauer analysiert. In der Literatur werden besonders die Haplotypen HLA-DR3DQ2 und HLA-DR4DQ8 als genetische Hochrisiko-Marker für den Typ 1 Diabetes bezeichnet (Devendra 2003, Caillat-Zucman 1992). In dieser Arbeit bestand keine Assoziation zwischen GADA, IA2A oder IAA und dem Haplotyp HLA-DR3. Patienten mit dem Haplotyp HLA-DR4 hatten ein grenzgeradig signifikant erhöhtes relatives Risiko für das Auftreten von IA2A bei T1D-Manifestation ($p=0.086$), während es für GADA und IA2A keine auffälligen Unterschiede bezüglich HLA-DR4 gab. Eine asiatische Studie berichtete auch über erhöhte IA2A-Prävalenzen sowie gleich hohe GADA-Prävalenzen bei Patienten mit den Haplotypen DR3 und DR4 (Park 2004). Andererseits sahen Mimura et al. eine niedrigere GADA-Prävalenz bei HLA-DR4-positiven als bei HLA-DR4-negativen Patienten (Mimura 2005).

Für die untersuchten Genotypen (HLA-DR1/3, DR1/4, DR4/4, DR3/3, DR3/4) gab es keine Unterschiede bezüglich T1D-AAK-Prävalenzen, außer dass Patienten mit dem Genotyp HLA-DR1/4 signifikant seltener GADA-positiv als negativ waren. Auch Patienten mit multiplen positiven T1D-AAK bei Manifestation waren nicht häufiger DR3- oder DR4-positiv. Im Gegensatz dazu fanden Schlosser et al. in einem Kollektiv gesunder Schulkinder öfter die diabetes-assoziierten Allele (HLA-DQB1*0302 und *02) bei T1D-AAK positiven als bei negativen Kindern (Schlosser 2002). Auch Kukko et al. beschrieben ein häufigeres Auftreten von Autoantikörpern bei Kindern mit hohem genetischen Diabetesrisiko, welches durch die Hochrisiko-Genotypen gekennzeichnet wurde, als bei Kindern mit moderatem Risiko (Kukko 2005).

Da im vorliegenden Kollektiv die Fallzahlen der einzelnen Genotypen teilweise unter 10 fielen, müssen unsere Ergebnisse mit Vorsicht interpretiert werden. Ziel ist es deshalb, die restlichen Patienten zu typisieren, um konkretere Schlussfolgerungen über Zusammenhänge von HLA-Typen und T1D-AAK treffen zu können. Heutzutage erlauben modernere Labormethoden die genauere Bestimmung von Genotypen, so dass HLA-DR-Merkmale weiter definiert werden können, wie zum Beispiel durch HLA-DR DQ Allele. Diese Methoden wurden für diese Arbeit jedoch nicht angewendet, so dass keine genaueren Allelangaben gemacht werden konnten. Somit wäre es notwendig, die genetischen Untersuchungen des Kollektivs zu erweitern, um die verschiedenen Allele wie DQB1*0302 und DQB1*0201 zu identifizieren und somit Ergebnisse zu erreichen, die mit der aktuellen Literatur vergleichbar sind (Park 2004, Sabbah 2000). Die komplette Assoziation zwischen HLA Klasse II Molekülen und dem Typ 1 Diabetes ist noch

lange nicht entschlüsselt, aber da sie für circa 50% des genetischen Risikos der Erkrankung aufkommen, ist es wichtig das Thema weiter zu erforschen (Todd 1987).

5.3 T1D-AAK als Marker des klinischen Verlaufs des T1D

In dieser Arbeit wurde untersucht, ob ein T1D-Autoantikörper Screening auch frühzeitig Patienten erkennen lässt, deren Krankheit schwerer verlaufen wird. Dafür wurde der klinische Verlauf der Erkrankung im ersten Jahr in Betracht gezogen. Als Marker der glykämischen Stoffwechsellage wurde der HbA1c-Wert und als Marker der noch vorhandenen endogenen Insulinsekretion die Remissionsdauer benutzt. Da der HbA1c-Wert mit in die Definition der Remissionsphase fließt, nämlich täglicher Insulinbedarf weniger als 0.5 IE pro Kg Körpergewicht bei guter Stoffwechsellage (HbA1c unter 7.5%) und beide Variablen zur Einschätzung der Stoffwechsellage benutzt werden, war eine Korrelation zwischen dem HbA1c-Wert und der Remissionsdauer zu erwarten. Zuerst wurde jedoch der HbA1c-Wert einzeln in Betracht genommen, um zu sehen, ob T1D-AAK bei Manifestation die glykämische Stoffwechsellage im ersten Jahr beeinflussen.

Bei der Aufteilung der Patienten in eine Gruppe mit optimaler Stoffwechseleinstellung, das heißt HbA1c-Werte unter 7.2%, und einer weiteren Gruppe mit höheren HbA1c-Werten fiel auf, dass Patienten mit höheren HbA1c-Werten durchschnittlich ein jüngeres Manifestationsalter hatten als Patienten mit niedrigen HbA1c-Werten. Weitere Studien beobachteten ebenfalls eine schlechtere Stoffwechsellage bei Patienten mit jungem Manifestationsalter (Chang 2004, Decochez 2000). Eine jüngste deutsche Studie berichtete über kürzere Remissionen bei Kindern mit einem Manifestationsalter unter 10 Jahren (Dost 2007). Knip et al. berichteten, dass junges Alter und definitive Zeichen von Inselzellautoimmunität (ICA und IAA), die Geschwindigkeit und das Ausmaß der β -Zell-Zerstörung beeinflussen (Knip 1994). Andere Autoren untersuchten, ob die Diabetesmanifestation vor oder nach Pubertät einen Einfluss auf den Krankheitsverlauf haben könnte. Patienten mit T1D-Manifestation während der Pubertät hatten eine bessere glykämische Stoffwechsellage als Patienten mit Manifestation vor Pubertätsbeginn (Dost 2007, Kordonouri 1998). Dies belegt wiederum auch unser Ergebnis, dass Patienten mit früher Diabetesmanifestation schlechtere HbA1c-Werte und somit eine schlechtere glykämische Stoffwechsellage aufweisen. Dies könnte einerseits durch die Schwierigkeiten der Diabetestherapie im jungen Alter (unberechenbare Bewegung, hohe Infektanfälligkeit, Gewichtsschwankungen, etc.) oder andererseits durch den aggressiveren β -Zellabbau im Rahmen der Insulitis und die geringere endogene Insulinproduktion erklärt werden.

Bei der Fragestellung, ob das Geschlecht einen Einfluss auf die Güte der Stoffwechsellage

haben könnte, stellten wir fest, dass sich die mittleren HbA1c-Werte zwischen Knaben und Mädchen nicht signifikant unterschieden. Beim Blick auf die Remissionsdauer fiel allerdings auf, dass Knaben signifikant häufiger eine Remission erreichten als Mädchen. Zudem war die Remissionsdauer bei Knaben signifikant länger als bei Mädchen. Somit hatten die Mädchen in unserem Patientenkollektiv schneller einen erhöhten täglichen Insulinbedarf. Zwei weitere große deutsche Studien beschrieben in ihren Ergebnissen ebenfalls eine längere Remissionsdauer bei Knaben als bei Mädchen (Dost 2007, Kordonouri 1998). Bober et al. berichteten über signifikant längere Remissionsphasen bei Knaben in einem türkischen Kollektiv (Bober 2001). Mädchen haben in den ersten Jahren der Erkrankung offensichtlich einen ungünstigeren Diabetesverlauf als Knaben.

Im Vergleich der Patienten, die bei Manifestation mindestens einen erhöhten T1D-AAK hatten mit denen ohne T1D-AAK, fiel auf, dass nicht nur die HbA1c-Werte im ersten Jahr höher waren, sondern auch die Remissionsdauer kürzer war. Patienten ohne Autoantikörper hatten signifikant häufiger HbA1c-Werte unter 7.2% und häufiger eine lange Remissionsdauer. Auch Sabbah et al. sahen Typ 1 Diabetes-spezifische Autoantikörper als Marker für eine schlechtere glykämische Stoffwechsellage, denn in ihrer Studie hatten Patienten mit multiplen T1D-AAK erniedrigte Serum C-Peptid-Werte, einen höheren täglichen Insulinbedarf und sie erreichten seltener eine Remission als Patienten ohne T1D-AAK (Sabbah 1999). Multiple erhöhte Diabetes-spezifische Autoantikörper könnten somit ein Zeichen für eine beschleunigte β -Zell-Zerstörung sein, während Patienten ohne T1D-AAK eine mildere Form der β -Zell-Zerstörung repräsentieren, die zu Beginn durch einen benigneren Diabetesverlauf gekennzeichnet sind.

Auch bei Kombinationen von verschiedenen Diabetes-spezifischen Antikörpern gab es signifikante Unterschiede bezüglich der glykämischen Stoffwechsellage. Patienten, die bei Manifestation die Kombination der Autoantikörper GADA und IAA aufwiesen, hatten signifikant öfter keine Remission oder eine kurze Remission und nur selten eine lange Remission. Noch auffälliger war das Ergebnis für Patienten mit den T1D-Autoantikörpern IAA und IA2A bei Manifestation, die auch signifikant seltener eine lange Remissionsdauer erreichten. Möglicherweise hat Positivität für zwei oder mehr T1D-AAK einen besseren prädiktiven Wert für den Krankheitsverlauf als Positivität für einen einzelnen, spezifischen T1D-AAK. Kulmala et al. fanden zum Beispiel für die Kombination von IA2A und GADA den höchsten positiv prädiktiven Wert, um einen T1D bei gesunden Geschwistern von erkrankten Kindern vorauszusagen (Kulmala 1998). Bingley et al. beschrieb, dass die beste Risikoeinschätzung für die Entwicklung eines T1D bei Geschwistern mit der Kombination von drei oder mehr T1D-spezifischen AAK möglich sei (Bingley 1994). Diese Studien machten jedoch keine Aussagen bezüglich der Bedeutung von gewissen Antikörperkombinationen bei Manifestation für den klinischen Verlauf. Sabbah et al. beschrieben zwar eine kürzere Remissionsphase bei Patienten mit multiplen

positiven T1D-AAK bei Manifestation, spezifizierten aber keine Kombination von T1D-AAK (Sabbah 1999). Somit sind unsere Ergebnisse, welche die Kombinationen von GADA und IAA, und IAA und IA2A für kürzere Remissionsphasen hervorheben, neuartig.

Beim Blick auf die einzelnen T1D-AAK fiel auf, dass besonders IA2A und IAA prädisponierend für eine schlechtere Stoffwechsellage zu Beginn der Diabeteserkrankung sind. IA2A-positive Patienten hatten in der vorliegenden Arbeit eine signifikant kürzere Remissionsdauer als IA2A-negative Patienten. In einer anderen Studie waren IA2A-Positive durch niedrigere C-Peptid-Werte im Serum und höheren Insulinbedarf gekennzeichnet, was andeuten könnte, dass IA2A-Antikörper für eine aggressivere β -Zell Destruktion und schlechtere glykämische Stoffwechsellage sprechen (Sabbah 1999). Zanone et al. beschrieben jedoch bessere HbA1c-Werte und niedrigeren Insulinbedarf bei IA2A-positiven Patienten im Vergleich zu IA2A-negativen Patienten und ernannten IA2A als einen Marker für bessere glykämische Kontrolle (Zanone 2003). Allerdings handelte es sich bei Zanone et al. nicht um IA2A-Positive bei Manifestation, sondern Patienten, die im Verlauf des Diabetes IA2A-positiv blieben. Somit haben IA2A bei Manifestation wahrscheinlich eine andere Bedeutung als IA2A, die im Krankheitsverlauf persistieren.

Für IAA galt in unserem Kollektiv, dass IAA-positive Patienten signifikant kürzere Remissionsphasen hatten als IAA-negative Patienten. Mit anderen Worten hatten Patienten mit langer Remission eine signifikant niedrigere Prävalenz von IAA bei Manifestation. Sabbah et al. beschrieben auch kürzere Remissionen sowie niedrigere C-Peptid-Werte und höheren Insulinbedarf bei IAA-positiven als bei IAA-negativen Patienten (Sabbah 1999). Da die Remissionsdauer, ähnlich wie C-Peptid Serumwerte, eine Beurteilung der β -Zell-Restfunktion erlauben, sind unsere Ergebnisse zum größten Teil vergleichbar mit den bisher genannten.

Weiterhin wurden niedrigere C-Peptid Serumwerte bei ICA- (islet cell cytoplasmic antibodies) und GADA-positiven Patienten im Vergleich zu ICA- und GADA-negativen Patienten in der Literatur beschrieben (Decochez 2000, Torn 2001). Die Ergebnisse dieser Arbeit suggerieren, übereinstimmend mit weiteren Arbeiten, dass GADA keinen Einfluss auf die metabolische Stoffwechsellage im ersten Diabetesjahr haben, da sich HbA1c-Werte und Remissionsdauer zwischen GADA-positiven und -negativen Patienten nicht unterschieden (Sabbah 1999, Örtquist 1997).

Allerdings gibt es auch verschiedene Autoren, die den Einfluss von Diabetes-spezifischen Autoantikörpern auf die diabetische Stoffwechsellage negieren. Ludvigsson et al. verglichen die Stoffwechsellage anhand von C-Peptid Serumwerten bei Kindern mit und ohne T1D-AAK. Sie fanden keine Unterschiede und verneinten die Möglichkeit, anhand der T1D-AAK-Prävalenz den Diabetesverlauf beurteilen zu können (Ludvigsson 1997). Auch Östman et al. untersuchten,

ob T1D-AAK eine schlechtere β -Zell Funktion voraussagen können, in dem sie die Prävalenzen von GADA, IA2A und IAA von ketoazidotischen Patienten mit nicht-ketoazidotischen Patienten bei Diabetesmanifestation verglichen. Da keine Unterschiede zwischen den Gruppen gefunden wurden, wurde ein Zusammenhang zwischen Antigenität und β -Zell-Funktion ausgeschlossen (Östmann 2000). Die Ursache für den Grad der metabolischen Entgleisung bei T1D-Manifestation ist jedoch multifaktoriell und Faktoren wie z.B. Alter der Patienten oder Aufmerksamkeit der Familie und des Umfeldes spielen eine wichtige Rolle, so dass es nicht überrascht, dass ein einziger Parameter wie Antikörper-Positivität die Ursache nicht allein erklären kann (Dost 2007).

Die Aussagen über die Bedeutung verschiedener T1D-AAK für die glykämische Stoffwechsellage variieren recht stark. Es bleibt somit zu klären, mit welchen AAK die genauesten Vorhersagen getroffen werden können, und ob diese universell genug sind, um bei Patienten mit einem bestimmten Autoimmunitätsmuster bei Manifestation den Bedarf für eine intensivere Betreuung und Intervention zu erkennen. Die große Variabilität suggeriert, dass weitere Faktoren neben der serologischen Autoimmunität die Güte der Stoffwechsellage beeinflussen. Sicherlich spielen eine genetische Vorbelastung sowie gewisse Umweltfaktoren auch eine große Rolle. Bober et al. fanden zum Beispiel, dass eine Infektion vor Manifestation und eine diabetische Ketoazidose zum Zeitpunkt der Manifestation bei jungen Patienten einen negativen Einfluss auf die Stoffwechsellage hatten, da diese Patienten seltener eine Remission erreichten (Bober 2001). In der Diabetes Autoimmunity Study in the Young (DAISY)-Studie wurden genetisch prädisponierte, gesunde Kinder regelmäßig auf das Auftreten von Diabetes-spezifischen Antikörpern untersucht und engmaschig beobachtet. Es zeigte sich, dass Kinder mit einer guten Betreuung und frühzeitigen Diabeteserkennung bei Manifestation weniger ernste klinische Symptome hatten und bis zu einem Monat nach Diagnose signifikant niedrigere HbA1c-Werte aufwiesen (Barker 2004). Dies deutet daraufhin, dass prädisponierte Kinder von Autoantikörperscreenings, engmaschigen Kontrollen und Blutzuckermessungen innerhalb einer prospektiven Studie stark profitieren und bei Manifestation metabolisch stabiler sind (Barker 2004). Wegen der zeitlichen Variabilität des Auftretens der T1D-AAK und der fehlenden Therapiemöglichkeiten, bleibt ungeklärt bei welchen Kindern und zu welchem Zeitpunkt ein Antikörperscreening stattfinden sollte. Ein besseres Verständnis über die Pathogenese des Typ 1 Diabetes und die einzelnen Faktoren, welche den Krankheitsverlauf beeinflussen ist notwendig, um Fortschritte in der Therapie und der möglichen Prävention der Erkrankung zu machen. Untersuchungen über die Remissionsdauer, welche die residuale Funktion der β -Zelle widerspiegelt, tragen zum Beispiel dazu bei, pharmakologische Interventionen zu entwickeln, welche die residuale Funktion der β -Zelle konservieren könnten.

Zusammenfassend haben folgende Faktoren in der vorliegenden Arbeit einen negativen

Einfluss auf die Stoffwechsellage der jungen, diabetischen Patienten im ersten Jahr der Erkrankung: das weibliche Geschlecht, junges Manifestationsalter, IAA- oder IA2A-Positivität bei Manifestation, die Kombinationen GADA/IAA und IAA/IA2A bei Manifestation oder allgemein mindestens ein positiver Autoantikörper bei Manifestation.

5.4 T1D-AAK als prädiktive Marker für die Entwicklung einer zweiten Autoimmunerkrankung

Es ist bekannt, dass Kinder und Jugendliche mit Typ 1 Diabetes eine gesteigerte Autoimmunität aufweisen, welche sie dafür prädisponiert, an weiteren Autoimmunerkrankungen wie AIT oder CD zu erkranken (Lorini 1996, Holmes 2002, Radetti 1995). Bei Kindern mit Typ 1 Diabetes können nicht nur gegen β -Zellen gerichtete Autoantikörper gefunden werden, sondern auch solche gegen Zellen der Schilddrüse, gegen Gliadin und gegen Zellen der Nebennierenrinde. Es ist sehr wahrscheinlich, dass T1D-Autoantikörper ein erhöhtes Risiko für das Auftreten von weiteren Autoimmunerkrankungen bei Kindern mit Typ 1 Diabetes voraussagen können (Kordonouri 2004a, Kordonouri 2004b, Levin 2003). Ein Ziel dieser Arbeit war es, weitere Zusammenhänge zwischen T1D-AAK-Positivität bei Diabetes-Manifestation und den Autoimmunerkrankungen AIT und CD im Verlauf zu untersuchen.

In der vorliegenden Arbeit hatten bereits bei T1D-Manifestation 4.5% der Patienten erhöhte Schilddrüsen-spezifische Antikörper. Diese Patienten, die schon früh Anzeichen einer zweiten Autoimmunität aufwiesen, waren überwiegend weiblich und hatten ein höheres T1D-Manifestationsalter als Patienten ohne SD-AK. Eine Erklärung hierfür ist nicht bekannt. Es ist jedoch denkbar, dass bei Patienten mit höherem Manifestationsalter eine längere diabetische Prodromalphase mit entsprechender Autoimmunitätslage existiert, in der sich nicht nur Diabetes-spezifische Antikörper, sondern bereits auch Antikörper gegen andere körpereigene Strukturen bilden können.

Allgemein treten autoimmune Schilddrüsenerkrankungen häufiger bei Frauen als bei Männern auf. SD-AK und klinische Autoimmunthyreositiden werden in der Literatur häufiger bei Mädchen als bei Knaben mit T1D beschrieben (Kordonouri 2005, Vondra 2004). Zum Zeitpunkt der Diabetesmanifestation hatten schon 5 Patienten eine klinische AIT. Alle fünf Patienten waren Mädchen, die etwas älter waren als Patienten ohne AIT. Dies bestätigt die hohe Prävalenz von Schilddrüsenautoimmunerkrankungen bei weiblichen Patienten, die im Zusammenhang mit Diabetes beobachtet wird. Obwohl in dieser Studie SD-spezifische Antikörper und eine AIT zum Zeitpunkt der Diabetesmanifestation signifikant häufiger bei Mädchen als bei Knaben auftraten, balancierte sich die Geschlechtsverteilung im Verlauf des Diabetes aus, so dass im Verlauf keine signifikante Dominanz der Schilddrüsenautoimmunität mehr für Mädchen beobachtet

werden konnte. Insgesamt traten im weiteren Diabetesverlauf bei 20.9% der Patienten SD-AK auf, während die Angaben weltweit für das Auftreten von Anti-TPO und Anti-TG in der Literatur zwischen 3 und 50% schwanken (Radetti 1995, Holl 1999, Barker 2005).

Eine klinische AIT trat in unserem Kollektiv bei insgesamt 9.0% der Patienten auf. Diese Prävalenz ist vergleichbar mit anderen Studien, in denen eine AIT bei bis zu 10% der pädiatrischen Patienten mit T1D diagnostiziert wurde (Lorini 1996, Maclaren 1985). Die klinische AIT trat in unserer Arbeit bei Mädchen und Knaben mit ähnlicher Häufigkeit auf. Dieses Ergebnis steht nicht im Einklang mit bisherigen Untersuchungen, bei denen über eine höhere Prävalenz bei Mädchen berichtet wurde (Kordonouri 2005, Lorini 1996, Maclaren 1985). Inwieweit dieser Unterschied auf die kleinere Fallzahl oder auf den Einschluss von Patienten mit vorhandener T1D-AAK-Bestimmung in unserem Kollektiv zurückgeführt werden kann, lässt sich abschließend nicht beurteilen.

In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, ob die Bestimmung von T1D-Autoantikörpern dazu beitragen könnte, frühzeitig Patienten zu identifizieren, die ein höheres Risiko haben, an einer zweiten Autoimmunerkrankung zu erkranken. Unsere Ergebnisse zeigten, dass bei GADA-positiven Patienten ein deutlich erhöhtes Risiko für das spätere Auftreten einer AIT besteht. Die kumulative Inzidenz der AIT nach 10-jähriger T1D-Dauer war in dieser Studie fast doppelt so hoch und somit signifikant höher für GADA-positive als für GADA-negative Patienten. Schon frühere Studien zeigten eine positive Korrelation zwischen GADA und der Entwicklung von SD-Antikörpern oder einer AIT (Vondra 2004, Bárova 2004, Barker 2005). Maugendre et al. fanden höhere GADA-Prävalenzen bei Patienten mit Typ 1 Diabetes und AIT als bei Patienten ohne AIT (Maugendre 1999). In bisherigen Studien konnte jedoch noch keine gesteigerte Inzidenz einer klinischen AIT in Abhängigkeit von GADA nachgewiesen werden. Somit zeigt diese Arbeit erstmalig, dass GADA nicht nur für die Entwicklung von Schilddrüsenantikörper prädisponierend ist, sondern auch für die Entwicklung einer klinischen Schilddrüsenautoimmunkrankung. Mittels Cox-Regressionsanalyse konnten wir ausschließen, dass unabhängige Faktoren wie Geschlecht, Herkunft, HbA1c-Wert oder Remissionsdauer zusätzlich zu GADA einen Einfluss auf das Auftreten einer AIT haben könnten.

Für die Autoantikörper IAA und IA2A gab es in dieser Arbeit keine signifikanten Zusammenhänge mit dem Auftreten einer Schilddrüsen-Autoimmunität. Während in der Literatur auch überwiegend über GADA berichtet wird, sahen Barker et al. auch eine gesteigerte Schilddrüsen-Autoimmunität bei ICA-positiven Patienten im Vergleich zu ICA - negativen Patienten (Barker 2005). Die aktuellen Ergebnisse bestätigen die Notwendigkeit eines SD-Antikörper-Screenings, welches nach ISPAD Richtlinien bei Diabetesmanifestation und in jährlichen Abständen danach bei Patienten, besonders bei denjenigen mit erhöhten

GADA, durchgeführt werden sollte (ISPAD 2000, Meyer 2007).

Eine schlechtere diabetische Stoffwechsellage oder Unterschiede bezüglich des T1D-Manifestationsalters schienen das Auftreten von SD-AK oder einer AIT nicht zu begünstigen. Im umgekehrten Sinne hatte auch das Auftreten von SD-AK oder einer AIT keinen ungünstigen Einfluss auf den klinischen Verlauf des Diabetes. Patienten mit oder ohne SD-AK/AIT zeigten keine signifikanten Unterschiede bezüglich HbA1c-Werte oder Remissionsdauer. Auch Bárava et al. und Vondra et al. fanden im Vergleich von Patienten mit oder ohne SD-Antikörper keine Unterschiede bezüglich Manifestationsalter, HbA1c, Diabetesdauer; Insulinbedarf oder C-Peptid-Werten (Bárava 2004, Vondra 2004). Einige Studien berichteten jedoch über einen negativen Einfluss von SD-Antikörpern auf den T1D-Verlauf, gekennzeichnet durch häufigere Hypoglykämien, Ketoazidosen und reduzierte Wachstumsgeschwindigkeit bei Patienten mit simultanen T1D- und SD-spezifischen AAK (Franzese 2000, Chase 1990, Mohn 2002). Diese Zusammenhänge sollten weiter untersucht werden.

Da CD generell seltener bei Patienten mit T1D auftritt als eine AIT, fielen auch die Fallzahlen in der hiesigen Arbeit für viele Untersuchungen recht klein aus, so dass ein Teil der Ergebnisse nur begrenzt aussagekräftig ist. Eine CD ist jedoch die zweithäufigste Autoimmunerkrankung bei Patienten mit Typ 1 Diabetes, welche den diabetischen Krankheitsverlauf erschweren kann. Demnach wird, wie auch für die AIT, ein jährliches Screening mit der Bestimmung von CD-spezifischen Antikörpern empfohlen, um eine CD frühzeitig zu erkennen und Komplikationen wie Hypoglykämien, reduziertes Körperwachstum, Osteoporose und maligne Erkrankungen zu verhindern (Amin 2002, Mohn 2001, Barera 2002, Kaspers 2004, Kordonouri 2001, Swinson 1983). Ein CD-Antikörper-Screening ist weiterhin wichtig, da eine CD bei Patienten mit T1D durch ihren atypischen und oft asymptomatischen Verlauf klinisch schwer zu diagnostizieren ist (Lorini 1996b).

In dieser Arbeit wurden die CD-spezifischen Antikörper erstmalig zum Zeitpunkt der T1D-Manifestation bestimmt, wo nur 0.9% der Patienten Zeichen einer CD-spezifischen Autoimmunität aufwiesen. Im Verlauf des T1D entwickeln, je nach Literaturangabe, zwischen 2 und 7% der Diabetespatienten CD-spezifische Antikörper (Kaspers 2004, Lorini 1996b, Goh 2007). In unserem Kollektiv entwickelten 8.4% der Patienten mindestens einen CD-spezifischen Antikörper innerhalb der ersten Jahre der Diabeteserkrankung, so dass die Prävalenz der CD-AK etwas höher lag als in den bisherigen Studien. Die Prävalenz einer klinischen CD liegt bei Patienten mit Typ 1 Diabetes zwischen 1 und 8% und ist somit 10-20-mal so hoch wie in der Normalbevölkerung (Amin 2002, Holmes 2002, Barera 2002, Cronin 1997). Die CD-Prävalenz von 3.2% bei den Berliner Patienten korrelierte mit den bisher erhobenen, internationalen Daten aus der Literatur. Bei zwei der 11 Patienten mit CD stand schon zum Zeitpunkt der T1D-

Manifestation die Diagnose fest. Die Mehrzahl der Zöliakiefälle trat jedoch erst nach Diabetesmanifestation auf. Die zwei Patienten, die schon bei Diabetesmanifestation eine CD hatten, waren beide männlich und bei beiden wurde interessanterweise im Verlauf des Diabetes zusätzlich eine AIT diagnostiziert. 0.6% der Patienten erkrankten dementsprechend an drei Autoimmunerkrankungen, was die Frage aufwirft, ob diese Patienten eventuell an einer Art von polyendokrinem Autoimmunsyndrom leiden.

Da die CD selten einem Typ 1 Diabetes vorausgeht, nimmt man an, dass der Typ 1 Diabetes eine Triggerfunktion für die CD hat (Pocecco 1995, Saukkonen 1996). Andere Autoren behaupten jedoch, dass eine unbehandelte CD der Trigger für einen Typ 1 Diabetes sein könnte (Carlsson 1999, Dahlquist 1995, Schober 2000). Um der Antwort dieses Problems näher zu kommen, wurde untersucht, ob das Vorkommen von T1D-AAK bei Manifestation prädisponierend für das Auftreten von CD-Autoimmunität bzw. CD ist. Für keinen der T1D-AAK konnte jedoch eine gesteigerte kumulative Inzidenz von CD-AK oder CD nachgewiesen werden. Im Gegenteil entwickelten IA2A-positive Patienten weniger häufig eine CD als IA2A negative Patienten. Auch die kumulative Inzidenz der CD nach 10 Jahren bei IA2A-Positiven war signifikant niedriger als bei IA2A-Negativen. Ob IA2A wirklich eine protektive Funktion für die Entstehung einer CD bei Patienten mit T1D hat, müsste in einer größeren Studie mit größeren Fallzahlen untersucht werden, da man bei nur 11 Patienten mit CD nur limitierte Aussagen machen kann. Bisher wurden in der Literatur keine ähnlichen Ergebnisse erwähnt. Weiterhin hatten Patienten mit CD bei Manifestation häufiger keine erhöhten T1D-AAK als Patienten ohne CD. Mit anderen Worten, entwickelten T1D-AAK negative Patienten häufiger eine CD als T1D-AAK-positive Patienten. In der Literatur wird zwar angegeben, dass T1D-AAK häufiger bei Patienten mit CD gefunden werden als in der Allgemeinbevölkerung (Carlsson 1999, Rapoport 1996, Schober 2000), aber es gibt nur wenige Studien, die die Korrelation zwischen der Prävalenz einzelner T1D-AAK und einer Zöliakie untersuchten.

In unserem Kollektiv war die kumulative Inzidenz einer Zöliakie nach 10-jähriger Diabetesdauer signifikant höher für Patienten ohne T1D-AAK als für Patienten mit mindestens einem T1D-AAK bei Manifestation. Bei Patienten mit zwei Antikörpern war die 10-Jahres kumulative Inzidenz der CD jedoch höher als die kumulative Inzidenz bei Patienten mit einem oder drei Antikörper, so dass keine linear negative Korrelation bestand zwischen der Anzahl der T1D-AAK und der kumulativen Inzidenz der CD bestand.

Wie auch für die AIT schien die diabetische Stoffwechsellage keinen Einfluss auf das Auftreten einer CD zu haben, da sich HbA1c-Werte und Remissionszeiten nicht signifikant zwischen Patienten mit oder ohne CD als Zweiterkrankung unterschieden. Einige Autoren fanden ebenso wenige Unterschiede in den klinischen Verlaufparametern zwischen Kindern mit und ohne CD

(Barera 2002, Barera 1991, Schober 2000). Umgekehrt schien auch die CD in unserer Arbeit keinen negativen Einfluss auf den diabetischen Krankheitsverlauf zu haben, wie teilweise gegenteilig in der Literatur erwähnt wurde (Amin 2002, Kaspers 2004, Mohn 2001). Allerdings sind weitere Studien mit größeren Fallzahlen und längeren Beobachtungszeiträumen erforderlich, um den Effekt der CD auf die diabetische Stoffwechsellage zu dokumentieren.

Weiterhin wurde untersucht, ob sich die deskriptiven Charakteristika der Patienten mit CD von den Patienten ohne CD unterscheiden. Es fiel auf, dass EmA-positive bei Diabetesmanifestation jünger als EmA-negative Kinder waren, wie auch in der Literatur beschrieben (Koletzko 1988, Schober 2000). Auch Kinder mit einer manifesten CD waren signifikant jünger als Kinder ohne CD bei T1D-Manifestation. In der Literatur gibt es verschiedene Angaben zum Manifestationsalter von Kindern mit oder ohne CD. Barera et al. sahen keinen Unterschied im Manifestationsalter zwischen Kindern mit oder ohne CD (Barera 2002), während sie in einer früheren Studie, wie auch mehrere weitere Autoren, auch ein jüngeres Manifestationsalter bei Patienten mit CD als Zweiterkrankung beschrieben (Barera 1991, Carlsson 1999, Kaspers 2004, Schober 2000). Dies lässt vermuten, dass ein junges T1D-Manifestationsalter einen positiven prädiktiven Wert für die Entwicklung einer CD haben könnte.

Patienten mit Zöliakie unterschieden sich weiterhin von denen ohne Zöliakie durch einen signifikant höheren Ausländeranteil. Auch die Kinder, die jeglich positiv für einen CD-Antikörper getestet wurden, waren hauptsächlich ausländischer Herkunft. Dies könnte durch genetische Unterschiede erklärt werden. Es müsste nachgewiesen werden, dass die Hochrisiko-Zöliakie-Genotypen HLA-DR4-DQ8 und DR3-DQ2 häufiger bei ausländischen Patienten als bei deutschen Patienten vorhanden sind (Ronningen 2001). In dieser Arbeit reichte die Patientenanzahl, bei denen eine HLA-Typisierung durchgeführt wurde, nicht aus, um Aussagen über Hochrisiko-Genotypen bei Patienten mit Zöliakie zu machen. Generell gibt es eine große geographische Variabilität in der Zöliakie-Prävalenz, die bei diabetischen Patienten zwischen 0.6% in Deutschland und 16.4% in Algerien liegt (Kaspers 2004, Boudraa 1996). Somit könnte der hohe Anteil von türkischen und arabischen Patienten (10.2%) in unserem Patientenkollektiv den großen Ausländeranteil der Patienten mit CD erklären, da in der Literatur ebenfalls hohe Zöliakie-Prävalenzen für türkische Patienten angegeben werden (Aygun 2005, Elsurur 2005). Zusammenfassend kann die hohe Prävalenz der CD bei Patienten mit T1D auf gemeinsame autoimmunologische und genetische Faktoren zurückgeführt werden.

5.5 Evaluation der Arbeit und Ausblick

Während unsere umfangreichen Untersuchungen zur Bedeutung von T1D-AAK an einem großen, homogenen Patientenkollektiv durchgeführt wurden, gab es jedoch auch Faktoren, die die Repräsentativität der Ergebnisse einschränken. Einige Beschränkungen dieser Arbeit wurden schon diskutiert, wie zum Beispiel die geringe Fallzahl der Patienten, die eine CD entwickelten, die Anzahl der HLA-Bestimmungen, die bisher nur bei 24.3% der Patienten durchgeführt wurden, sowie eine mögliche Selektion aufgrund der Auswahl der Patienten mit vorliegenden T1D-AAK-Untersuchungen zum Zeitpunkt der Diabetesmanifestation. Beim Patientenkollektiv fiel auf, dass durch den Einsatz des Antikörper-Screenings ab 1996 zunehmend mehr Patienten in die Studie aufgenommen wurden. 1998 fiel die Zahl der aufgenommenen Patienten ab. Gründe für die kleine Anzahl von Patienten, die 1998 aufgenommen wurden, lassen sich rückblickend schwer nachvollziehen, jedoch wurden alle Patienten ohne einen bekannten Selektionsbias eingeschlossen. Eventuell handelte es sich um unvollkommene Aufbewahrung von Patientenseren, die 1998 untersucht wurden und deshalb nicht alle auf T1D-AAK getestet werden konnten. Für eine weitere Untersuchung wäre es wünschenswert, die HLA-Daten zu vervollständigen, damit Aussagen über die Genetik des gesamten Berliner Patientenkollektivs gemacht werden könnten.

Unsere Arbeit hat gezeigt, dass die T1D-AAK weiterhin ein wichtiges diagnostisches Werkzeug sind, um den Typ 1 Diabetes von anderen Diabetesformen im Kindes- und Jugendalter abzugrenzen, ihn frühzeitig zu erkennen und eventuell, um Patienten zu identifizieren, die ein hohes Risiko für einen schwereren Diabetesverlauf haben. Ziel bleibt es weiterhin, Autoimmunerkrankungen wie Typ 1 Diabetes, AIT und CD möglichst früh zu erkennen, um Therapien einzuleiten und Folgeschäden zu minimieren mit der Hoffnung, dass es in der Zukunft möglich ist, den Ausbruch der Erkrankungen sogar zu verhindern (Gillespie 2006). Die T1D-Früherkennung und Prävention könnte durch die Kombination von AAK und HLA-Marker Screeningstrategien optimiert werden, welche jedoch bisher noch nicht standardisiert durchgeführt werden, da es noch keine effektiven therapeutischen Interventionsmethoden gibt (Kulmala 1998, Decochez 2000, Gillespie 2006).

Seit langem untersuchen Forscher verschiedene Interventionsmöglichkeiten, um die Progression des Typ 1 Diabetes zu arretieren oder nach der klinischen Manifestation den Krankheitsverlauf zu verbessern. Beim Einsatz von Immunsuppressiva wie z.B. Cyclosporin kurz nach Diabetesmanifestation beobachteten einige Autoren eine verlängerte Remissionsdauer und verbesserte β -Zell-Restfunktion (Bougneres 1988, CERCT 1988). Da solche Medikamente ein breites Spektrum von toxischen Nebenwirkungen haben, können sie nicht in der Diabetestherapie angewendet werden. Heutzutage wird eine immunologische

Intervention mit Hilfe von OKT3- oder GADA-Impfungen, um den Erhalt einer Remissionsphase zu begünstigen, in zahlreichen Studien untersucht (Serreze 2005). Die Identifikation der Patientencharakteristika und Parameter, die für eine rasche β -Zell-Zerstörung prädisponieren, kann dabei hilfreich sein, Stratifizierungsmaßnahmen zu ergreifen, die eine Optimierung der Intervention und ihrer Effektivität erlauben.

6 Zusammenfassung

Die Mehrheit der Patienten mit Typ 1 Diabetes weist erkrankungsspezifische Antikörper (T1D-AAK) zum Zeitpunkt der Manifestation der Erkrankung auf. Die Bedeutung dieser Antikörper (GADA, IA2A und IAA) für den weiteren Verlauf des Diabetes ist weitgehend ungeklärt.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Prävalenz der Diabetes-spezifischen Antikörper GADA, IA2A und IAA zum Zeitpunkt der Manifestation des T1D bei Kindern und Jugendlichen untersucht, sowie ihre Bedeutung für den klinischen Verlauf des Diabetes im ersten Erkrankungsjahr und das Auftreten einer zweiten Autoimmunerkrankung (AIT oder CD) evaluiert.

Die Untersuchungen erfolgten retrospektiv in einem repräsentativen Kollektiv von 341 Kindern und Jugendlichen mit Manifestation eines T1D im Zeitraum zwischen 1989 und 2004. Insgesamt wurden 181 Knaben und 160 Mädchen im Alter von 8.9 ± 4.2 Jahren (Bereich 0-17 Jahre) zum Zeitpunkt der Diabetesmanifestation für das Auftreten von Autoantikörpern untersucht und in einem Nachbeobachtungszeitraum von 3.3 ± 3.0 Jahren (Bereich 0-15 Jahre) für das Auftreten einer AIT oder einer CD untersucht. In einem Teilkollektiv von 83 Patienten konnte die genetische Typisierung für die Bestimmung der HLA-DR Merkmale erfolgen.

Bei T1D-Manifestation waren 73% der Patienten positiv für IA2A, 72% für GADA und 46% für IAA. Die Mehrheit der Patienten (92%) hatte mindestens einen T1D-spezifischen Autoantikörper erhöht, während nur 8% keine Diabetes-spezifischen Antikörper aufwiesen.

Knaben bzw. jüngere Kinder waren signifikant häufiger positiv für IAA als Mädchen ($p < 0.01$) bzw. ältere Patienten ($p < 0.05$). GADA-positive Patienten waren bei T1D-Manifestation älter als GADA-negative Patienten ($p < 0.001$). Somit waren 80% der über 12-Jährigen positiv für GADA, während dies nur bei 57% der unter 6-Jährigen der Fall war ($p < 0.001$).

Die HLA-Marker DR3 und DR4 waren mit jeweils 27% und 40% am häufigsten im untersuchten Teilkollektiv vertreten. Es fanden sich keine signifikanten Zusammenhänge zwischen bestimmten HLA Genotypen oder Haplotypen und den verschiedenen T1D-AAK bei Manifestation.

Eine gute Stoffwechsellage ($HbA1c < 7.2\%$) im ersten Diabetesjahr wurde gleichmäßig und unabhängig von Antikörperstatus bei T1D-Manifestation erreicht. Allerdings wiesen Patienten, die bei Manifestation keine erhöhten T1D-AAK hatten, im ersten Diabetesjahr bessere HbA1c-Werte als Patienten mit mindestens einem positiven Antikörper auf ($p < 0.05$). Somit erreichten diese Patienten häufiger mittlere HbA1c-Werte unter 7.2% im ersten Jahr der Erkrankung als die T1D-AAK-positiven Patienten ($p < 0.05$).

Die durchschnittliche Remissionsdauer, definiert als täglicher Insulinbedarf unter 0.5 E/Kg und

HbA1c < 7.5%, betrug 0.47 Jahre (Bereich 0.0-4.7 Jahre), wobei 32% der Patienten keine Remission erreichten. Knaben hatten häufiger und dazu noch eine längere Remission als Mädchen ($p < 0.001$). Die Remissionsphase war signifikant kürzer bei IA2A-positiven als bei IA2A-negativen Patienten ($p < 0.001$). Ebenso hatten IAA-positive eine kürzere mediane Remissionsdauer als IAA-negative Patienten ($p < 0.01$). Es bestand sogar ein linearer Trend, da der Anteil der IAA-Positiven mit der Länge der Remissionsdauer abnahm ($p < 0.01$). Patienten ohne T1D-spezifische Antikörper hatten häufiger eine lange Remission, während Patienten mit mindestens einem positiven Antikörper seltener eine lange Remission erreichten ($p < 0.05$).

Bei 30 Patienten (9%) wurde eine therapiebedürftige AIT 0 - 9.4 Jahre nach Diabetesbeginn diagnostiziert. Somit betrug die kumulative Inzidenz der AIT nach 10 Jahren Diabetesdauer im Gesamtkollektiv 0.24 ± 0.06 . Bei GADA-positiven Patienten war die kumulative Inzidenz jedoch circa doppelt so hoch wie Patienten ohne GADA (0.31 ± 0.11 vs. 0.15 ± 0.08 , $p < 0.05$).

Elf Patienten (3%) entwickelten eine CD 0-11.7 Jahre nach T1D-Beginn. Diese Patienten hatten ein signifikant niedrigeres mittleres Manifestationsalter als Patienten ohne CD ($p < 0.05$). Patienten ausländischer Herkunft entwickelten häufiger eine CD als deutsche Patienten: Circa 14% der ausländischen Patienten entwickelten eine CD, während dies nur bei 1.4% der deutschen Patienten der Fall war ($p < 0.001$). Die kumulative Inzidenz der CD nach 10 Jahren betrug im Gesamtkollektiv 0.06 ± 0.03 . Für keinen der T1D-AAK war eine erhöhte CD-Inzidenz nachweisbar. IA2A-Positive wiesen eine signifikant niedrigere kumulative Inzidenz als IA2A-negative Patienten auf (0.02 ± 0.07 vs. 0.20 ± 0.11 , $p < 0.05$). Patienten ohne T1D-spezifische Antikörper hatten eine höhere kumulative Inzidenz als Patienten mit 1, 2 oder 3 positiven T1D-AAK ($p < 0.05$).

Die vorliegende Arbeit diene dazu, bisherige Kenntnisse über die Rolle der Diabetes-spezifischen Autoimmunität zu bestärken. Neben der Bestätigung bisheriger Befunde in kleineren Kohorten zur Prävalenz und Verteilung der T1D-Autoantikörper ergaben die Untersuchungen neuartige Ergebnisse für die Bedeutung dieser Autoantikörper für den klinischen Verlauf der Erkrankung und die Risikoeinschätzung zur Entwicklung einer weiteren Autoimmunerkrankung. Dass mehr als 90% der Patienten im Kindes- und Jugendalter bei T1D-Manifestation Diabetes-spezifische Antikörper aufweisen, bestätigt die Wichtigkeit der Bestimmung von GADA, IA2A und IAA als diagnostische Immunmarker für die Klassifizierung des Diabetes im Kindes- und Jugendalter. Die T1D-AAK scheinen auch die Güte des diabetischen Krankheitsverlaufs im ersten Jahr voraussagen zu können, da die Anwesenheit von IAA und IA2A zu einer kürzeren Remissionsdauer führten und Patienten mit mindestens einem T1D-AAK höhere HbA1c-Werte und eine kürzere Remissionsphase hatten als Patienten ohne T1D-AAK. Dies bestätigt die Hypothese, dass IA2A und IAA Autoimmunmarker einer

aggressiveren und schnelleren β -Zell-Zerstörung sind.

Weiterhin verdeutlichte die Arbeit die Rolle von T1D-AAK für das Auftreten von zweiten Autoimmunerkrankungen. Während Patienten mit GADA ein höheres Risiko für das Auftreten einer AIT hatten, zeigte eine IA2A-Positivität eine eventuell protektive Wirkung für die Entwicklung einer CD. Die negative Beziehung zwischen IA2A-Positivität und CD könnte durch Kopplung mit gewissen genetischen Faktoren erklärt werden. Zum besseren Verständnis der Bedeutung der T1D-AAK bei Manifestation wäre es deshalb wünschenswert, die genetischen Untersuchungen dieser Arbeit zu erweitern, um Zusammenhänge zwischen HLA-Markern, Autoimmunität und Krankheitsverlauf zu erfassen.

Durch aktuelle Fortschritte in Diabetesinterventions- und Präventionsstudien bieten T1D-AAK in der Zukunft die Möglichkeit, gefährdete oder gerade erkrankte Kinder frühzeitig zu erkennen, um bei Ihnen die Diabetesmanifestation zu verhindern oder die Schwere der Krankheit zu lindern.

7 Literaturverzeichnis

- 1 Abdul-Rasoul M, Habib H, Al-Khouly M. 'The honeymoon phase' in children with type 1 diabetes mellitus: frequency, duration, and influential factors. *Pediatr Diabetes* 2006; 7: 101-108.
- 2 Achenbach P, Warncke K, Reiter J, et al. Stratification of type 1 diabetes risk on the basis of islet autoantibody characteristics. *Diabetes* 2004; 53:384-389.
- 3 Akerblom HK, Virtanen SM, Ilonen J, et al. Dietary manipulation of beta cell autoimmunity in infants at increased risk of type 1 diabetes: a pilot study. *Diabetologia* 2005; 48:829-837.
- 4 Albert LJ, Inman RD. Molecular Mimicry and Autoimmunity. *N Engl J Med* 1999; 341:2068-2074.
- 5 American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2007; 30:42-47.
- 6 Amin R, Murphy N, Edge J, et al. A longitudinal study of the effect of a gluten-free diet on glycemic control and weight gain in subjects with type 1 diabetes and coeliac disease. *Diabetes Care* 2002; 25:1117-1122.
- 7 Arbeitsanleitung- Radioliganden Assay zur Bestimmung der Autoantikörper gegen Glutamat Decarboxylase in Humanserum Cent AK® anti-GADA₆₅. Berlin: Medipan GmbH. (Zugriff am 21. Juli, 2005a auf <http://www.medipan.de/german/products/ifu/1700.pdf>).
- 8 Arbeitsanleitung- Radioliganden Assay zur Bestimmung der Autoantikörper gegen Insulin in Humanserum Cent AK® IAA. Berlin: Medipan GmbH. (Zugriff am 21. Juli, 2005c auf <http://www.medipan.de/german/products/ifu/1730.pdf>).
- 9 Arbeitsanleitung- Radioliganden Assay zur Bestimmung der Autoantikörper gegen Protein Tyrosin Phosphatase IA₂ in Humanserum Cent AK® anti-IA₂. Berlin: Medipan GmbH. (Zugriff am 21. Juli, 2005b auf <http://www.medipan.de/german/products/ifu/1750.pdf>).
- 10 Asher H. Coeliac disease and type 1 diabetes: an affair still much hidden behind the veil. *Acta Paediatr* 2001; 90:1217-1225.
- 11 Atkinson MA, Eisenbarth GS. Type 1 diabetes: new perspectives on disease pathogenesis and treatment. *Lancet* 2001; 358:221-229.
- 12 Atkinson MA, Kaufman DL, Newman D, et al. Islet cell cytoplasmatic autoantibody reactivity to glutamate decarboxylase in insulin-dependent diabetes. *J Clin Invest* 1993; 91:350-356.
- 13 Atkinson MA, Maclaren N. Mechanisms of disease. The pathogenesis of insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1994; 331:1428-1436.
- 14 Aygun C, Uraz S, Damci T, et al. Celiac disease in an adult Turkish population with type 1 diabetes mellitus. *Dig Dis Sci* 2005, 50:1462-1466.
- 15 Backhaus K, Erichson B, Plinke W, et al. *Multivariate Analysemethoden. Eine anwendungsorientierte Einführung*. 9. Aufl. Berlin: Springer-Verlag, 2000:229-241.
- 16 Baekkeskov S, Warnock G, Christie M, et al. Revelation of specificity of 64K autoantibodies in IDDM serums by high-resolution 2-D gel electrophoresis. Unambiguous identification of 64K target antigen. *Diabetes* 1989; 38:1133-41.

- 17 Bao F, Yu L, Babu S, et al. One third of HLA DQ2 homozygous patients with type 1 diabetes express celiac disease-associated transglutaminase antibodies. *J Autoimmun* 1999; 12:143-148.
- 18 Barera G, Bianchi C, Calisti L, et al. Screening of diabetic children for celiac disease with antigliadin antibodies and HLA typing. *Arch Dis Child* 1991; 66:491-494.
- 19 Barera G, Bonfanti R, Viscardi M, et al. Occurrence of celiac disease after onset of type 1 diabetes: a six-year prospective longitudinal study. *Pediatrics* 2002; 109:833-838.
- 20 Barker JM, Eisenbarth GS, Goehrig SH, et al. Clinical Characteristics of Children diagnosed with type 1-diabetes through intensive screening and follow-up. *Diabetes Care* 2004; 27:1399-1404.
- 21 Barker JM, Hoffenberg E, Yu J. Autoantibody subspecificity in type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2005; 28:850-855.
- 22 Bárova H, Perusicova J, Hill M, et al. Anti- GADA positive Patients with type 1 diabetes mellitus have higher prevalence of autoimmune thyroiditis than anti-GADA-negative patients with type 1 and type 2 diabetes. *Physiol Res* 2004; 53:279-286.
- 23 Batstra MR, Aanstoot HJ, Herbrink P. Prediction and diagnosis of type 1 diabetes using beta-cell autoantibodies. *Clin Lab* 2001; 47:497-507.
- 24 Becker KG. Comparative genetics of type 1 diabetes and autoimmune disease: Common loci, common pathways? *Diabetes* 1999; 48:1353-8.
- 25 Bell GI, Horita S, Karam JH. A polymorphic locus near the insulin gene is associated with insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes* 1984; 33:176-183.
- 26 Bertrams J, Baur MP. Insulin-dependent diabetes. Histochemistry testing. Albert ED. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag, 1994; 348-358.
- 27 Bilbao JR, Rica I, Vasquez JA, et al. Influence of sex and age at onset on autoantibodies against insulin, GADA65, IA2 in recent onset type 1 diabetic patients. *Hormone Research* 2000; 54:181-185.
- 28 Bingley PJ, Christie MR, Bonifacio E, et al. Combined analysis of autoantibodies improves prediction of IDDM in islet cell antibody-positive relatives. *Diabetes* 1994; 43:1304-1310.
- 29 Bingley PJ, Bonifacio E, Williams AJ, et al. Prediction of IDDM in the general population: strategies based on combinations of autoantibody marker. *Diabetes* 1997; 46:1701-1710.
- 30 Bingley PJ, Gale EAM. Progression to type 1-diabetes in islet cell antibody-positive relatives in the European Nicotinamide Diabetes Intervention Trial: the role of additional immune, genetic and metabolic markers of risk. The European Nicotinamide Diabetes Intervention Trial (ENDIT) Group. *Diabetologia* 2006; 49:881-90.
- 31 Blu D-F, Erlander MG, Hitz BC, et al. Two human glutamate decarboxylases, 65-kD GADA and 67-kD GADA, are each encoded by a single gene. *Proc Natl Acad Sci* 1992; 89:2115-2119.
- 32 Bober E, Dundar B, Buyukgebiz A. Partial remission and metabolic control in type 1 diabetes mellitus in children and adolescents. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2001; 14:435-441.

- 33 Bottazzo GF, Florin-Christensen A., Doniach D. Islet-cell antibodies in diabetes mellitus with autoimmune polyendocrine deficiencies. *Lancet* 1974; 30:1279-83.
- 34 Boudraa G, Hachelaf W, Benbouabdellah M, et al. Prevalence of celiac disease in diabetic children and their first-degree relatives in west Algeria: screening with serological markers. *Acta Paediatr* 1996; 412:58-60.
- 35 Bougneres PF, Carel JC, Castano L, et al. Factors associated with early remission of type 1 diabetes in children treated with cyclosporine. *N Engl J Med* 1988; 318:663-670.
- 36 Brahms anti-TGn Dynotest®. Radioimmunoassay for the quantitative determination of autoantibodies to thyroglobulin (Tg) in human serum. Hennigsdorf: Brahms AG. (Zugriff am 28.07.2003 auf <http://www.idsltd.com/downloads/DB-27.pdf>).
- 37 Brahms anti-TPOn Dynotest®. Radioimmunoassay for the quantitative determination of autoantibodies to thyroid peroxidase (TPO microsomal antigen) in human serum. Hennigsdorf: Brahms AG. (Zugriff am 28.07.2003 auf <http://www.ids-de.com/downloads/DB-90.pdf>).
- 38 Brown M, Ahmed ML, Clayton KL, Dunger DB. Growth during childhood and final height in type 1 diabetes. *Diabet Med* 1994; 11:182-187.
- 39 Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 2001; 414:813-820.
- 40 Burger W, Hövener G, Düsterhus R, et al. Prevalence and development of retinopathy in children and adolescents with Type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. A longitudinal study. *Diabetologia* 1986; 29:17-22.
- 41 Caillat-Zucman S, Garchon HJ, et al. Age-dependent HLA genetic heterogeneity of type 1 insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1992; 90:2242-50.
- 42 Carlsson Ak, Axelsson IE, Borulf SK, et al. Prevalence of IgA-antiendomysium and IgA-antigliadin autoantibodies at diagnosis of insulin –dependent diabetes mellitus in Swedish children and adolescents. *Pediatrics* 1999; 103:1248-1252.
- 43 Chang YH, Shiau MY, Tsai ST, et al. Autoantibodies against IA2A, GADA, and topoisomerase II in type 1 diabetic patients. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 320(3):802-809.
- 44 Chase HP, Garg SK, Cockerham RS et al. Thyroid hormone replacement and growth in children with subclinical hypothyroidism and diabetes. *Diabet Med* 1990; 7:299-303.
- 45 Chase HP, MacKenzie TA, Burdick J, et al. Redefining the clinical remission period in children with type 1 diabetes. *Pediatr Diabetes* 2004; 5:16-22.
- 46 Collin P, Kaukinen K, Valimaki M, et al. Endocrinological disorders and celiac disease. *Endocr Rev* 2002; 23:464-483.
- 47 Cronin CC, Shanahan F. Insulin-dependent diabetes mellitus and celiac disease. *Lancet* 1997; 349:1096-1097.
- 48 Dahlquist G. Celiac disease and insulin-dependent diabetes mellitus-no proof for a causal association. *Acta paediatr* 1995; 84:1337-1338.

- 49 Dahlquist G. Can we slow the rising incidence of childhood-onset autoimmune diabetes? The overload hypothesis. *Diabetologia* 2006; 49:20-24.
- 50 Danne T, Kordonouri O, Enders I, et al. Factors modifying the effect of hyperglycemia on the development of retinopathy in adolescents with diabetes. Results of the Berlin Retinopathy Study. *Horm Res.* 1998; 50:28-32.
- 51 Davies JL, Kawaguchi Y, Bennett ST, et al. A genome wide search for human type 1 diabetes susceptibility genes. *Nature* 1994; 371:130-136.
- 52 Dayan CM, Daniels GH. Chronic autoimmune thyroiditis. *N Engl J Med* 1996; 335:99-107.
- 53 DCCT-Research-Group: Diabetes Control and Complication Trial: results of feasibility study. *Diab Care* 1987; 10:1-19.
- 54 DCCT-Research-Group: Diabetes Control and Complication Trial: The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *NEJM* 1993; 329:977-86.
- 55 Deckert T, Feldt-Rasmussen B, Borch-Johnsen K, et al. Natural history of diabetic complications: early detection and progression. *Diabet Med* 1991; 8:33-37.
- 56 Decochez K, Tits J, Coolens JL. High frequency of persisting or increasing islet-specific autoantibody levels after diagnosis of type 1 diabetes presenting before 40 yrs of age. The Belgian Diabetes Registry. *Diabetes Care* 2000; 23:838-44.
- 57 Decochez K, Keymeulen B, Somers G, et al. The use of islet cell antibody assay to identify type 1 diabetic patients with rapid decrease in C-peptide levels after clinical onset. Belgian Diabetes Registry. *Diabetes Care* 2000; 23:1072-1078.
- 58 Decochez K, DeLeeuw IC, Keymeulen B, et al. IA2A autoantibodies predict impending type I diabetes in siblings of patients. Belgian Diabetes Registry. *Diabetologia* 2002; 45:1658-1666.
- 59 Decochez K, Truyen I, van der Auwera B, et al. Combined positivity for HLA DQ2/DQ8 and IA2A antibodies defines populations at high-risk of developing type I diabetes. *Diabetologia* 2005; 48:687-94.
- 60 Devendra D, Eisenbarth GS. Immunologic endocrine disorders. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111:624-636.
- 61 Diabetes Fact Sheet N°312. Geneva: WHO media center, 2006. (Zugriff am 2. März, 2008 auf <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/en/index.html>).
- 62 Diliberti JH, Lorenz RA. Long-term trends in childhood diabetes mortality: 1968-1998. *Diabetes Care* 2001; 4:1348-1352.
- 63 Dittmar M, Kahaly GJ. Polyglandular autoimmune syndromes: immunogenetics and long-term follow-up. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88:2983-92.
- 64 Dost A, Herbst A, Kintzel K, et al. Shorter remission period in young versus older children with diabetes mellitus type 1. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2007; 115:33-37.
- 65 Ellis RJ, Varela-Calvino R, Tree TI, et al. HLA class II molecules on haplotypes associated with type 1 diabetes exhibit similar patterns of binding affinities for coxsackievirus P2C peptides. *Immunology* 2005; 116:337-46.

- 66 Elsurer R, Tatar G, Simsek H, et al. Celiac disease in the Turkish population. *Dig Dis Sci* 2005; 50:136-142.
- 67 Emery LM, Babu S, Eisenbarth GS, et al. Newborn HLA-DR, DQ genotype screening: age- and ethnicity-specific type 1 diabetes risk estimates. *Pediatr Diabetes* 2005; 6:136-144.
- 68 EURODIAB ACE Study Group. Variation and trends in incidence of childhood diabetes in Europe. *Lancet* 2000; 356:1690.
- 69 Ferreira M, Davies SL, Butler M, et al. Endomysial antibody: is it the best screening test for celiac disease? *Gut* 1992; 32:1633-1637.
- 70 Franzese A, Buono P, Mascolo M. Thyroid autoimmunity starting during the course of type 1 diabetes denotes a subgroup of children with more severe diabetes. *Diabetes Care* 2000; 23:1201-2.
- 71 Gardner SG, Bingley PJ, Sawtell PA, et al. Rising incidence of insulin dependent diabetes in children aged under 5 years in the Oxford region: time trend analysis. The Bart's-Oxford Study Group. *BMJ* 1996; 315:713-717.
- 72 Gerstein, H. Cow's milk exposure and type 1 diabetes. *Diabetes Care* 1994; 17:13-19.
- 73 Gillespie KM. Type 1 diabetes: pathogenesis and prevention. *CMAJ* 2006; 175:165-170.
- 74 Goh C, Banerjee K. Prevalence of celiac disease in children and adolescents with type 1 diabetes in a clinic based population. *Postgrad Med J* 2007; 83:132-136.
- 75 Gorus FK, Goubert P, Semakula C, et al. IA2A-autoantibodies complement GADA65-autoantibodies in new-onset IDDM patients and help predict impending diabetes in their siblings. The Belgian Diabetes Registry. *Diabetologia* 1997; 40:95-99.
- 76 Grabert M, Schweiggert F, Holl RW. A framework for diabetes documentation and quality management in Germany: 10 years of experience with DPV. *Comput Methods Programs Biomed* 2002; 69:115-121.
- 77 Green A, Borch-Johnsen K, Andersen PK, et al. Relative mortality of type 1 (insulin-dependent) diabetes in Denmark: 1933-1981. *Diabetologia* 1985; 28:339-342.
- 78 Gregersen PK. Gaining insight into PTPN22 and autoimmunity. *Nat Genet* 2005; 37:1300-2.
- 79 Hak AE, Pols HA, Visser TJ, et al. Subclinical hypothyroidism is an independent risk factor for atherosclerosis and myocardial infarction in elderly women: the Rotterdam Study. *Ann Intern Med* 2000; 132:270-278.
- 80 Hauner H. Occurrence of diabetes mellitus in Germany. *Dtsch Med Wochenschr* 1998;123:777-82.
- 81 Hermann R, Turpeinen H, Laine AP, et al. HLA DR-DQ-encoded genetic determinants of childhood-onset type 1 diabetes in Finland: An analysis of 622 nuclear families. *Tissue Antigens* 2003; 62:162-169.
- 82 Holl RW, Grabert M, Sorgo W, et al. Contributions of age, gender and insulin administration to weight gain in subjects with IDDM. *Diabetologia* 1998; 41:542-547.
- 83 Holl RW, Böhm B, Loos U, et al. Thyroid autoimmunity in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus: effect of age, gender and HLA type. *Horm Res* 1999; 52:113-118.

- 84 Holmes GT. Screening for Coeliac disease in type 1 diabetes. *Arch Dis Child* 2002; 87:495-499.
- 85 Honeyman MC, Coulson BS, Stone NL, et al. Association between rotavirus infection and pancreatic islet autoimmunity in children at risk of developing type I diabetes. *Diabetes* 2000; 49:1319-24.
- 86 Huang SA, Tu HM, Harney JW, et al. Severe hypothyroidism caused by type 3 iodothyronine deiodinase in infantile hemangiomas. *N Engl J Med* 2000; 343:185-189.
- 87 Hyoty H. Enterovirus infections and type 1 diabetes. *Ann Med* 2002; 34:138-47.
- 88 Irvine WJ, Gray RS, McCallum CJ. Pancreatic islet-cell antibody as a marker for asymptomatic and latent diabetes and prediabetes. *Lancet* 1976, 2:1097-102.
- 89 ISPAD. Consensus guidelines for the management of type 1 diabetes mellitus in children and adolescents. Zeist, Netherlands: Medforum, 2000.
- 90 Janka, HU, Michaelis D. Epidemiologie des Diabetes mellitus: Häufigkeit, Pathogenese, Prognose. *ZaeFQ* 2002; 96:159-165.
- 91 Karvonen M, LaPorte R, Viik-Kajander M, et al. Incidence of Childhood Type 1 diabetes worldwide. *Diabetes care* 2000; 23:1516-1526.
- 92 Kaspers S, Kordonouri O, Schober E, et al. Anthropometry, metabolic control, and thyroid autoimmunity in type 1 diabetes with celiac disease: a multicenter survey. *J Pediatr* 2004; 145:790-5.
- 93 Knip M, Vähäsalo P, Karjalainen J, et al. Natural history of preclinical IDDM in high-risk siblings. The Childhood Diabetes in Finland Study Group. *Diabetologia* 1994; 37:388-393.
- 94 Knip M, Veijola R, Virtanen S, et al. Environmental triggers and determinants of type 1 diabetes. *Diabetes* 2005; 54:125-136.
- 95 Kobayashi T, Tanaka S, Okubo M, et al. Unique epitopes of glutamic acid decarboxylase autoantibodies in slowly progressive type 1 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88:4768-75.
- 96 Koletzko S, Bürgin-Wolff A, Koletzko B, et al. Prevalence of coeliac disease in diabetic children and adolescents. A multicenter study. *Eur J Pediatr* 1988; 148:113-117.
- 97 Komulainen J, Kulmala P, Savola K, et al. Clinical, autoimmune, and genetic characteristics of very young children with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 1999; 22:1950-55.
- 98 Kontiainen S, Schlenzka A, Koskimies S, et al. Autoantibodies and autoimmune diseases in young diabetics. *Diabetes Res* 1990; 13:151-156.
- 99 Kordonouri O, Danne T, Weber B. Do GADA antibodies at IDDM onset predict the clinical course of diabetes in children? *Diabetes Care* 1996; 19:901-902.
- 100 Kordonouri O, Danne T, Enders I, et al. Does the long-term clinical course of type 1 diabetes mellitus differ in patients with prepubertal and pubertal onset? Results of the Berlin Retinopathy study. *Eur J Pediatr* 1998; 157:202-207.
- 101 Kordonouri O, Kahl A, Jörres A, et al. The prevalence of incipient tubular dysfunction, but not of glomerular dysfunction, is increased in patients with diabetes onset in childhood. *J Diabetes Complications* 1999; 13:320-324

- 102 Kordonouri O, Dieterich W, Schuppan D, et al. Autoantibodies to tissue transglutaminase are sensitive serological parameters for detecting silent celiac disease in patients with type 1 diabetes mellitus. *Diabet Med* 2000; 17:441-444.
- 103 Kordonouri O, Deiss D, Danne T. Wesentliche assoziierte Erkrankungen beim Typ 1 Diabetes mellitus im Kindes- und Jugendalter. Diagnostik und Therapie der Zöliakie sowie weiterer Autoimmunendokrinopathien (Thyreoiditis, M. Addison). *Kinder- und Jugendarzt* 2001; 6:498-502.
- 104 Kordonouri O, Feist E, Meyer K, et al. Erhöhtes Risiko für eine AIT bei Kindern und Jugendlichen mit Schilddrüsenantikörpern zum Zeitpunkt der Manifestation eines Typ 1 Diabetes mellitus. *Diabetes Stoffwechsel* 2002a;11:53-54.
- 105 Kordonouri O, Hartmann R, Deiss D. Natural course of autoimmune thyroiditis in type 1 diabetes: association with gender, age, diabetes duration, and puberty. *Arch Dis Child* 2005; 90:411-414.
- 106 Kordonouri O, Klinghammer A, Lang EB, et al. Thyroid autoimmunity in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus: a multicenter survey. *Diabetes Care* 2002b; 25:1346-1350.
- 107 Kordonouri O, Hartmann R, Grütters-Kieslich A, et al. Age-specific levels of diabetes-related GADA and IA2A antibodies in healthy children and adults. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2002c; 15:47-52.
- 108 Kordonouri O, Danne T. Diabetes-assoziierte Autoimmunerkrankungen bei Kindern und Jugendlichen: Wie sinnvoll ist eine Früherkennung? *Dtsch Med Wochenschr* 2004a; 129:1145-1148.
- 109 Kordonouri O, Meyer K, Egerer K, et al. Prevalence of 20S proteasome, anti-nuclear and thyroid antibodies in young Ppatients at onset of type 1 diabetes mellitus and the risk of autoimmune thyroiditis. *JPEM* 2004b; 17:975-981.
- 110 Krolewski AS, Warram JH, Rand LI. Epidemiologic approach to the etiology of type 1 diabetes mellitus and its complications. *N Engl J Med* 1987;317:1390-1398
- 111 Kukko M, Kimpimäki T, Korhonen S, et al. Dynamics of diabetes-associated autoantibodies in young children with human leukocyte antigen-conferred risk of type 1 diabetes recruited from the general population. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90:2712-2717.
- 112 Kulmala P, Savola K, Petersen JS, et al. Prediction of insulin-dependent diabetes mellitus in siblings of children with diabetes; a population based study. *J Clin Invest* 1998; 101:327-36.
- 113 LaGasse JM, Brantlez MS, Leech NJ, et al: Successful prospective prediction of type 1 diabetes in schoolchildren by multiple defined autoantibodies: eight year follow-up of the Washington State Diabetes Prediction Study. *Diabetes Care* 2002; 25:505-511.
- 114 Lan MS, Wasserfall C, Maclaren NK, et al. IA2A, a transmembrane protein of the protein tyrosine phosphatase family, is a major autoantigen in insulin-dependent diabetes mellitus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93:6367-70.
- 115 Leslie RD, Atkinson MA, Notkins AL. Autoantigens IA2A and GADA in type 1 (insulin-dependent) diabetes. *Diabetologia* 1999; 42:3-14.

- 116 Levin L, Tomer Y. The etiology of autoimmune diabetes and thyroiditis: evidence for common genetic susceptibility. *Autoimmun Reviews* 2003; 2:377-386.
- 117 Liesenkötter KP, Kiebler A, Stach B, et al. Small thyroid volumes and normal iodine excretion in Berlin schoolchildren indicate full normalization of iodine supply. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 1997; 105:46-50.
- 118 Lipman TH. The Epidemiology of type 1 diabetes in children in Philadelphia 1990-1994: Evidence of an epidemic. *Diabetes Care* 2002; 25:1969-75.
- 119 Lohmann T, Hawa M, Leslie RD, et al. Immune reactivity to glutamic acid decarboxylase 65 in Stiff-Man Syndrome and Type 1 diabetes. *Lancet* 2000; 356:31-35.
- 120 Lombardo F, Valenzise M, Wasniewska M, et al. Two-year prospective evaluation of the factors affecting honeymoon frequency and duration in children with insulindependent diabetes mellitus: the key-role of age at diagnosis. *Diabetes Nutr Metab* 2002; 15:246-251.
- 121 Lorini R, d'Annunzio G, Vitali L, et al. IDDM and autoimmune thyroid disease in pediatric age group. *J Pediatr. Endocrinol Metab* 1996; 9:89-94.
- 122 Lorini R, Scaramuzza A, Vitali L, et al. Clinical aspects of celiac disease in children with insulin-dependent diabetes mellitus. *J pediatr Endocrinol Metab* 1996b; 9:101-111.
- 123 Lühder F, Woltanski KP, Mauch L, et al. Detection of autoantibodies to the 65-kD isoform of glutamate decarboxylase by radioimmunoassay. *Eur J Endocrinol* 1994; 130:575-580.
- 124 Ludvigsson J, Hellström S. Autoantibodies in relation to residual insulin secretion in children with IDDM. *Diabetes Research and Clinical Practice* 1997, 35:81-89.
- 125 Maclaren N, Riley W. Thyroid, gastric, and adrenal autoimmunities associated with insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1985; 8:34-39.
- 126 Mandrup-Poulsen TR. Auto-antibodies against glutamic acid decarboxylase and diabetes. *Ugeskr Laeger* 2007; 169:300-4.
- 127 Marsh MN, Crowe PT. Morphology of the mucosal lesion in gluten sensitivity. In Howdle PD.ed. *Coeliac Disease. Bailliere's Clinical Gastroenterology* 1995; 9:273-293.
- 128 Maugendre D, Sonnet E, Derrien C, et al. Combined analysis of long-term anti-beta-cell humoral reactivity in type 1 diabetes with and without thyroid disease. *Diabetes Metab* 1999, 25:28-33.
- 129 Meyer N, Kordonouri O, Hartmann R. GADA positive children and adolescents with type 1 diabetes have an increased risk of autoimmune thyroiditis. *Pediatr Diabetes* 2007; 8 (Supp.7):16.
- 130 Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. Simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucl Acids Res* 1988; 16:1215.
- 131 Mimura T, Funatsu H, Yasuko U, et al. Glutamic acid decarboxylase autoantibody prevalence and association with HLA genotype in patients with younger-onset type 1 diabetes and proliferative diabetic retinopathy. *Ophthalmology* 2005; 112:1904-1909.
- 132 Mohn A, Cerruto M, Lafusco D, et al. Celiac disease in children and adolescents with type 1 diabetes: importance of hypoglycaemia. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2001; 32:37-40.

- 133 Mohn A, Di Michele S, Di Luzio R, et al. The effect of subclinical hypothyroidism on metabolic control in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. *Diabet Med* 2002; 9:70-73.
- 134 Murray JA. The widening spectrum of celiac disease. *Am J Clin Nutr* 1999; 69:354-365.
- 135 Nejentsev S, Sjoroos M, Soukka T, et al. Population-based genetic screening for the estimation of Type 1 diabetes mellitus risk in Finland: selective genotyping of markers in the HLA-DQB1, HLA-DQA1 and HLA-DRB1 loci. *Diabet Med* 1999; 16:985-92.
- 136 Neu A, Eehalt S, Willasch A, et al. Rising incidence of type 1 diabetes in germany. 12-year trend analysis in children 0-14 years of age. *Diabetes Care* 2001; 24:785-786.
- 137 Örtquist E, Falorni A, Scheynius A, et al. Age governs gender-dependent islet cell autoreactivity and predicts the clinical course in childhood IDDM. *Acta Paediatr* 1997; 86:1166-1171.
- 138 Östman J, Landin-Olsson M, Törn C. Ketoacidosis in young adults is not related to the islet antibodies at the diagnosis of type 1 diabetes mellitus- a nationwide study. *Diabet Med* 2000; 17:269-274.
- 139 Onkamo P, Vaananen S, Karvonen M, et al. Worldwide increase in incidence of type I diabetes – the analysis of the data on published incidence trends. *Diabetologia* 1999; 42:1395-1403.
- 140 Palmer JP. Insulin autoantibodies: their role in the pathogenesis of IDDM. *Diabetes Metab Rev* 1987; 3:1005-15.
- 141 Park Y, Tait B, Kawasaki E. Closer association of IA2A humoral autoreactivity with HLA DR3/4 than DQB1*0201/*0302 in Korean T1D patients. *Ann NY Acad Sci* 2004; 1037:104-109.
- 142 Pocecco M, Ventura A. Coeliac disease and insulin-dependent diabetes mellitus-a causal association? *Acta Pediatr* 1995; 84:1432-1433.
- 143 QIAamp DNA Blood Mini Kit. Germany: Qiagen Sample and Assay Technologies, 2006. (Zugriff am 22.Februar, 2007 auf <http://www1.qiagen.com/Products/GenomicDnaStabilizationPurification/QIAampSystem/QIAampDNABloodMiniKit.aspx?ShowInfo=1>).
- 144 Radetti G, Paganini C, Gentili L, et al. Frequency of Hashimoto's thyroiditis in children with type 1 diabetes mellitus. *Acta Diabetol* 1995; 32:121-124.
- 145 Rapoport MJ, Bistrizter T, Vardi O, et al. Increased prevalence of diabetes: related autoantibodies in celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1996; 23:524-527.
- 146 Riley WJ, Maclaren NK, Lezotta DC, et al. Thyroid autoimmunity in insulin-dependent diabetes mellitus: the case for routine screening. *J Pediatr* 1981; 98:350-354.
- 147 Robles DT, Eisenbarth GS. Type 1A diabetes induced by infection and immunization. *J Autoimmun* 2001; 16:355-362
- 148 Ronningen KS, Keiding N, Green A, et al. Correlations between the incidence of childhood onset type 1 diabetes in Europe and HLA genotypes. Europe and Diabetes. Eurodiab Ace Study Group. *Diabetologia* 2001; 44:B51-B59.

- 149 Rosenbauer J, Icks A, Giani G. Clinical characteristics and predictors of severe ketoacidosis at onset of type 1 diabetes mellitus in children in a North Rhine-Westphalian region, Germany. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2002a; 15(8):1137-45.
- 150 Rosenbauer J, Icks A, Schmitter D, et al. Incidence of childhood Type 1 diabetes mellitus is increasing at all ages in Germany. *Diabetologia* 2002b; 45(3):457-458.
- 151 Sabbah E, Savola K, Kulmala P, et al. Diabetes-associated autoantibodies in relation to clinical characteristics and natural course in children with newly diagnosed type 1 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84:1534-1539.
- 152 Sabbah E, Savola K, Ebeling T, et al. Genetic, autoimmune, and clinical characteristics of childhood and adult-onset type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2000; 23:1326-1332.
- 153 Saukkonen T, Salivahti E, Reijonen H, et al. Coeliac disease. Frequent occurrence after clinical onset of IDDM. Childhood diabetes in Finland study Group. *Diabet Med* 1996; 13:464-469.
- 154 Sawin CT, Castelli WP, Hershman JM, et al. The aging thyroid, thyroid deficiency in the Framingham study. *Arch Intern Med* 1985; 145:1386-1388.
- 155 Schlosser M, Strebelow M, Wassmuth R, et al. The Karlsburg type 1 diabetes risk study of a normal schoolchild population: association of β -cell autoantibodies and human leukocyte antigen-DQB1 alleles in antibody-positive individuals. *J Endocrinol Metab* 2002; 86:2254-2261.
- 156 Schmidt, KD, Valer, C, Leslie RD. Autoantibodies in type 1 diabetes. *Clinica Chimica Acta* 2005; 354:35-40.
- 157 Schober E, Bittmann B, Granditsch G, et al. Screening by anti-endomysium antibodies for celiac disease in diabetic children and adolescents in Austria. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000; 30:391-396.
- 158 Schwab KO, Doerfer J, Hecker W, et al. Spectrum and prevalence of atherogenic risk factors in 27,358 children, adolescents, and young adults with type 1 diabetes: cross-sectional data from the German diabetes documentation and quality management system (DPV). *Diabetes Care* 2006; 29:218-225.
- 159 Schwarzer G, Türp JC, Antes G. Die Vierfeldertafel (in Interventionsstudien): Risiko-Risikodifferenz-Relatives Risiko. *Deutsche Zahnärztliche Zeitschrift* 2004; 59:421-422.
- 160 Seissler J, Amann J, Mauch L, et al. Prevalence of autoantibodies to the 65- and 67- kDa isoforms of glutamate decarboxylase in insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1993; 92:1394-9.
- 161 Seissler J, de Sonnaville JJ, Morgenthaler NG, et al. Immunological heterogeneity in type 1 diabetes: presence of distinct autoantibody patterns in patients with acute onset and slowly progressive disease. *Diabetologia* 1998; 41:891-897.
- 162 Serreze DV, Chen YG. Of mice and men: use of animal models to identify possible interventions for the prevention of autoimmune type 1 diabetes in humans. *Trends in Immunology* 2005; 26:603-607.

- 163 Stratton IM, et al: Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *BMJ* 2000; 321:405-12.
- 164 Sumnik Z, Cinek O, Bratanic N, et al. Risk of celiac disease in children with type 1 diabetes is modified by positivity for HLA-DQB1*02-DQA1*05 and TNF-308A. *Diabetes Care* 2006; 29:858-863.
- 165 Svensson J, et al. Increased risk of childhood type 1 diabetes in children born after 1985. *Diabetes Care* 2002; 25:2197-2201.
- 166 Swinson CM, Slavin G, Coles EC, et al. Coeliac disease and malignancy. *Lancet* 1983; 1:111-115.
- 167 The Canadian-European Randomised Control Trial Group: Cyclosporin-induced remission of IDDM after early intervention: association of 1 yr of cyclosporine treatment with enhanced insulin secretion. *Diabetes* 1988; 37:1574-1582.
- 168 Tisch R, McDevitt H. Insulin-dependent diabetes mellitus. *Cell* 1996; 85:291-297.
- 169 Todd JA, Bell JI, McDevitt HO. HLA DQ β -gene contributes to susceptibility and resistance to insulin-dependent diabetic individuals. *Nature* 1987; 329:599-604.
- 170 Torn C, Landin-Olsson M, Lernmark A, et al. Combinations of beta cell specific autoantibodies at diagnosis of diabetes in young adults reflect different courses of beta cell damage. *Autoimmunity* 2001; 33:115-120.
- 171 Trautner C, Icks A, Haastert B. Incidence of blindness in relation to diabetes. A population-based study. *Diabetes Care* 1997; 20:1147-1153.
- 172 Ueda H, Howson JM, Esposito L, et al. Association of the T-cell regulatory gene CTLA4 with susceptibility to autoimmune disease. *Nature* 2003; 423:506-11.
- 173 UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group: Intensive blood-glucose control with sulfonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet* 1998; 352:837-53.
- 174 Vandewalle CL, Decraene T, Schuit FC, et al. Insulin autoantibodies and high titre islet cell antibodies are preferentially associated with the HLA DQA1*0301-DQB1*0302 haplotype at clinical type 1 diabetes mellitus before age 10 years, but not at onset between age 10 and 40 years. The Belgian Diabetes Registry. *Diabetologia* 1993; 36:1155-62.
- 175 Vandewalle CL, Coeckelberghs MI, De Leeuw IH, et al. Epidemiology, clinical aspects, and biology of IDDM patients under age 40 years. Comparison of data from Antwerp with complete ascertainment with data from Belgium with 40% ascertainment. The Belgian Diabetes Registry. *Diabetes Care* 1997; 20:1556-1561.
- 176 Vardi P, Ziegler AG, Mathews JH, et al. Concentration of insulin autoantibodies at onset of type 1 diabetes. Inverse log-linear correlation with age. *Diabetes Care* 1988; 11:736-739.
- 177 Verge CF, Howard NJ, Rowley MJ, et al. Anti-glutamate decarboxylase and other antibodies at the onset of childhood IDDM: a population-based study. *Diabetologia* 1994; 37:1113-20.

- 178 Verge CF, Stenger D, Bonifacio E, et al. Combined use of autoantibodies (IA2A autoantibody, GADA autoantibody, insulin autoantibody, cytoplasmatic islet cell antibodies) in type diabetes: Combinatorial Islet Autoantibody Workshop. *Diabetes* 1998; 47:1857-66.
- 179 Vondra K, Vrbíková J, Sterzl I, et al. Thyroid antibodies and their clinical relevance in young adults with type 1 diabetes during the first 12 yr after diabetes onset. *J Endocrinol Invest* 2004; 27:728-732.
- 180 Wahlberg J, Fredriksson J, Vaarala O, et al. Vaccinations may induce diabetes-related autoantibodies in one-year-old children. The ABIS-Study Group. *Ann N Y Acad Sci* 2003; 1005:404-408.
- 181 Wahlberg J, Fredriksson J, Nicolic E, et al. Environmental factors related to the induction of beta-cell autoantibodies in 1-yr-old healthy children. The ABIS-Study Group. *Pediatr Diabetes* 2005; 4:199-205.
- 182 Wie M, Gaskill SP, Haffner SM, et al. Effects of diabetes and level of glycemia on all-cause and cardiovascular mortality. The San Antonio Heart Study. *Diabetes Care* 1998; 21:1167-1172.
- 183 Winter WE, Harris N, Schatz D. Type 1 diabetes islet autoantibody markers. *Diabetes Technol Ther* 2002; 4:817-39.
- 184 Yu L, Robles DT, Abiru N, et al. Early expression of antiinsulin antibodies of humans and NOD mouse: evidence for early determination of subsequent diabetes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97:1701-1706.
- 185 Zanone MM, Catalfamo E, Peitropaolo SL, et al. Glutamic acid decarboxylase and ICA512/IA2A autoantibodies as disease markers and relationship to residual beta-cell function and glycemic control in young type 1 diabetic patients. *Metabolism* 2003; 52:25-29.
- 186 Ziegler AG, Rabl W, Albert E. Insulin autoantibodies and islet cell antibodies in recently appearing diabetes mellitus type 1. Association with age of manifestation and HLA phenotype. *Dtsch Med Wochenschr* 1991; 116:1737-1741.
- 187 Ziegler, AG, Hummel M, Schenker M, et al. Autoantibody appearance and risk for development of childhood diabetes in offspring of parents with type 1 diabetes: the 2-year analysis of the German BABYDIAB study. *Diabetes* 1999; 48:460-8.
- 188 Zimmet PZ, Elliott RB, Mackay IR, et al. Autoantibodies to glutamic acid decarboxylase and insulin in islet cell antibody positive presymptomatic type 1 diabetes mellitus: frequency and segregation by age and gender. *Diabet Med* 1994; 11:866-871.

8 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen danken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Mein besonders herzlicher Dank gilt Frau Privat Dozentin Dr. Olga Kordonouri für die ausgezeichnete Betreuung und die fachliche und persönliche Unterstützung. Frau Dr. Kordonouri hat durch ihre Hilfs- und Diskussionsbereitschaft, ihre konstruktive Kritik und ihre fachliche Kompetenz wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen. Ich bedanke mich für die Möglichkeit, die sie mir gegeben hat, bei Publikationen und Kongressen mitzuwirken. Die Zusammenarbeit mit Frau Dr. Kordonouri hat auf einer professionellen und persönlichen Ebene sehr viel Spaß gemacht.

Herrn Reinhard Hartmann danke ich sehr herzlich für die intensive Betreuung vom ersten bis zum letzten Tag der Arbeit und für die hervorragende Unterstützung bei der statistischen Auswertung der Ergebnisse. Besonders hervorzuheben sind auch seine spontane Bereitschaft zu Gesprächen und Ratschlägen und die Energie für die vielen Stunden der Zusammenarbeit.

Frau Dr. Dorothee Deiss danke ich sehr für den Zugang zu den klinischen Daten und die Hilfe bei der Dokumentation und Auswertung.

Herrn Prof. Dr. Jorma Ilonen und Herrn Prof. Dr. Mikael Knip, Finland, danke ich für die Durchführung der HLA-Typisierung.

Mein Dank gilt allen Mitarbeitern der Diabetesambulanz des Interdisziplinären Sozialpädiatrischen Zentrums (SPZ) am Campus Virchow Klinikum der Charité für die Hilfe bei der Erhebung von Daten, sowie die Möglichkeit zur Akteneinsicht zu allen Zeiten.

Besonders möchte ich mich auch bei meiner Familie bedanken. Meinem Mann, für seine liebevolle Unterstützung, seinen Glauben an mich, seine Geduld und sein Verständnis für die zahlreichen Abende, die für diese Arbeit geopfert wurden. Meinem Sohn, für die Energie, Liebe und Freude, die er mir jeden Tag schenkt.

Meinen Geschwistern und Freunden danke ich für die vielen Gespräche und Ablenkungen. Besonders möchte ich mich bei Hanna Vierck für ihre liebevolle Hilfe und Unterstützung bedanken.

Nicht zuletzt möchte ich meinen Eltern danken, die mir meinen beruflichen Werdegang ermöglicht haben und mich immer mit Enthusiasmus, Liebe und Ermutigung unterstützt haben.

Eidstattliche Erklärung

„Ich, Nicola Charpentier, erkläre an Eides statt, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: Bedeutung von Typ-1-Diabetes-spezifischen Autoantikörpern zum Zeitpunkt der Diabetesmanifestation für den klinischen Verlauf der Erkrankung im Kindes- und Jugendalter unter besonderer Berücksichtigung der Entwicklung einer zweiten Autoimmunerkrankung, selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

13.05.2008

Datum

Unterschrift