

Aus dem medizinischen Zentrum für operative Medizin I
Philippsuniversität Marburg
Geschäftsf. Direktor: Prof. Dr. med. H.D. Röher

Messung von Schilddrüsenantikörpern

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin

Dem Fachbereich Humanmedizin der
Philippsuniversität Marburg
vorgelegt

von
Matthias Wjst
aus Karlsruhe

Marburg 1986

Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin

der Universität Marburg am 12.2.1988,
gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches.

Dekan: Prof. Dr. Dr. H.J. Hering

Referent: Prof. Dr. H.D. Röher

Correferenten: Prof.Dr. Gemsa, Prof.Dr. Hartmann

Für Katrin

Ich bedanke mich herzlich bei

Herrn Prof. Dr. H.D. Röher für die Überlassung des Themas

Herrn Prof. Dr. K. Joseph für Überlassung von Serien und klinischen Daten

Herrn Dr. P. Goretzki für die hervorragende klinische und experimentelle
Betreuung

Herrn Dr. R. Koob, dessen ständige, immer freundliche und qualifizierte
Hilfe unschätzbar war

Herrn Dr. Ohmann für die statistische Beratung

Frau C. Koller und Herrn M. Schmack für Hilfe bei der Zellkultivierung
und dem Ac-Assay

Herrn T. Kornmüller für die Zeichnungen mit dem CAD-System

Frau S. Finter für die Hilfe bei Erstellung des Manuskriptes

Gliederung	Seite
1. Einführung	1
1.1. Einleitung	1
1.2. Anatomie und Funktion der Schilddrüse	2
1.3. Regulation der Schilddrüsenfunktion	3
1.4. Pathologie der Schilddrüsenerkrankungen	6
1.5. Pathogenese der Schilddrüsenkrankheiten	8
1.5.1. Nicht immunologische Pathogenese	8
1.5.2. Immunologische Pathogenese	9
1.5.2.1. Theorien zur Autoimmunpathogenese	12
1.5.2.2. Antikörperbestimmungen	17
1.6. Aufgabenstellung der vorliegenden Arbeit	21
2. Patienten, Material und Methoden	22
2.1. Patienten	22
2.2. Routinelabor-Werte	24
2.3. Ig G-Reinigung	24
2.4. Gewebeaufarbeitung und Kultivierung	25
2.5. cAMP-Stimulation	26
2.6. Thymidineinbau	28
2.7. Adenylat-Cyclase-Assay	28
2.8. TSH-Rezeptor-Verdrängungs-Assay	30
2.9. Proteinbestimmung	31
2.10. Bezugsquellen	31
2.11. Auswertung, Statistik und Sonstiges	33
3. Ergebnisse	34
3.1. Thyreoglobulin- und mikrosomale Antikörper	34
3.2. TSI (cAMP-Stimulation)	34
3.2.1. Versuchscharakterisierung	34
3.2.2. Eichkurven	34
3.2.3. Wertetabelle	36
3.2.4. Graphische Ergebnisdarstellung	36

3.3.	TGI (Thymidineinbau)	36
3.3.1.	Versuchscharakterisierung	36
3.3.2.	Eichkurven	36
3.3.3.	Wertetabelle	37
3.3.4.	Graphische Ergebnisdarstellung	39
3.4.	TSI (Adenylatcyclase)	39
3.4.1.	Versuchscharakterisierung	39
3.4.2.	Eichkurve	40
3.4.3.	Wertetabelle	41
3.4.4.	Graphische Ergebnisdarstellung	41
3.5.	TBII (TSH-Rezeptor-Antikörper-Test)	41
3.5.1.	Versuchscharakterisierung	41
3.5.2.	Eichkurve	42
3.5.3.	Wertetabelle	43
3.5.4.	Graphische Ergebnisdarstellung	43
3.6.	Verteilung der Antikörper	44
3.6.1.	Antikörperhäufigkeiten	44
3.6.2.	<i>Antikörperübersicht</i>	44
3.7.	Statistik	48
3.7.1.	Korrelationen der Antikörper (Hormonwerte)	48
3.7.2.	Korrelation der Antikörper (Behandlungsv.)	49
3.7.3.	Graphische Darstellungen der Antikörperkorrelation	50
4.	Diskussion	51
4.1.	Methodikdiskussion	51
4.1.1.	Thyreoglobulin- und mikrosomale Antikörper	51
4.1.2.	Ig G-Reinigung	51
4.1.3.	Gewebeaufarbeitung	52
4.1.4.	cAMP-Messung	53
4.1.5.	Thymidineinbau	53
4.1.6.	Adenylatcyclase	55
4.1.7.	TRAK	55
4.2.	Diskussion der Ergebnisse	55
4.2.1.	Thyreoglobulin- und mikrosomale Antikörper	55
4.2.2.	Funktionsstimulierende Immunglobuline (TSI)	57
4.2.3.	Wachstumsstimulierende Immunglobuline (TGI)	59
4.2.4.	Rezeptorbindende Immunglobuline (TBII)	60
4.2.5.	Diskussion der statistischen Ergebnisse	61
4.3.	Allgemeine Diskussion	62
4.3.1.	Ergebniszusammenfassung und Interpretation	62
4.3.2.	Klinische Relevanz	63
5.	Anhang	

1. Einführung

1.1. Einleitung

Die endokrinologische Forschung beschäftigte sich in den letzten Jahren verstärkt mit der Immunpathogenese der Schilddrüsenerkrankheiten. Mit den neu entwickelten Nachweismethoden für Antikörper stieg allerdings auch die Zahl der unterschiedlichen Bezeichnungen. Tabelle 1 gibt einen Überblick (ergänzt nach /80/).

Tabelle 1 Nomenklatur der Schilddrüsenantikörper

ATMA-Index	= antithyroid plasmamembrane index /42/
FBI	= fat cell binding inhibiting immunoglobulin /119/
HTACS	= human thyroid adenylate cyclase stimulator
HTS	= human thyroid stimulator /36/
IC	= immune complexes
LATS	= long acting thyroid stimulator
LATS-P	= long acting thyroid stimulator Protector
LTS	= lymphocytic thyroid stimulator /7/
Oig	= ophthalmopatic immunoglobulin /4/
TBII	= thyroid binding inhibiting immunoglobulin
TDA	= thyroid displacing activity /121/
TGI	= thyroid growth stimulating immunoglobulin /31/
TSAb	= thyroid stimulating antibody
TSI	= thyroid stimulating immunoglobulin

Nicht immer war ganz klar, was eigentlich gemessen wurde und welche klinische Relevanz die Ergebnisse hatten /80/. In den folgenden Unterkapiteln sollen Funktion und Regulation der Schilddrüsenfunktion beschrieben, ein Abriß der Pathologie gegeben, die Stoffklasse der Immunglobuline vorgestellt und bisherige Meßmethoden dargestellt werden.

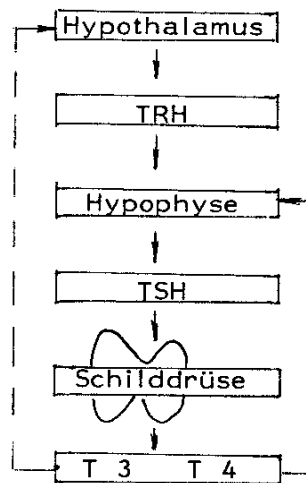
1.2. Anatomie und Funktion der Schilddrüse

Die Schilddrüse besteht aus zwei ovalen Lappen beiderseits der Trachea, die durch den Isthmus in Höhe des zweiten bis vierten Trachealknorpels miteinander verbunden sind. Die Drüse wiegt 30 bis 50 g und ist gefäß- und nervenreich. Histologisch charakteristisch sind die Follikel: kugelige und schlauchförmige Hohlräume, die mit einem geschlossenen einschichtigen Epithel beschichtet sind. Diese Epithelzellen synthetisieren das Kolloid, das in den zentralen Hohlräumen gespeichert wird. Die parafollikulären C-Zellen, die dritte Zellklasse neben Thyreocyten und Bindegewebszellen, produzieren Calcitonin, das als Antagonist des Parathormons den Calciumspiegel des Blutes senkt.

Zur Synthese der beiden Hormone Tetrajodthyronin (L-Thyroxin, T₄) und Trijodthyronin (T₃) wird eine tägliche Jodzufuhr von 100 bis 200 µg benötigt. Der Jodidtransport aus dem Blut in die Zelle erfolgt aktiv gegen ein Konzentrationsgefälle. Intrazellulär wird das Jodid in die Tyrosylseitenreste des Thyreoglobulin eingebaut. Thyreoglobulin ist ein Glykoprotein mit einem Molekulargewicht von 6×10^6 und macht die Hauptmasse des Kolloids aus. Zur Hormonausschüttung wird Jod und Thyreoglobulin aus dem Follikellumen rückresorbiert, mit einer Protease die biochemisch aktiven Hormone T₃ und T₄ herausgeschnitten und an das Blut abgegeben. Die physiologischen Sekretionsraten liegen für T₄ bei 80 µg/Tag und für T₃ bei 20-60 µg/Tag. Damit wird eine Plasmakonzentration für T₄ von 4-12 µg/dl und für T₃ von 90-250 ng/dl aufrecht erhalten. Da T₄ zu 99 % im Blut an thyroxinbindendes Globulin gebunden wird, liegt die Konzentration des freien T₄ (f T₄) nur bei 0,5-2,2 ng/dl. Die Stoffwechselwirkungen der Schilddrüsenhormone sind nur teilweise geklärt: Steigerung des Grundumsatzes, in niedriger Konzentration anabole, in höherer Konzentration katabole Wirkung, Förderung der Gluconeogenese und der Lipolyse, Beeinflussung der Zelldifferenzierung, Steigerung der Wärmeproduktion und weiteres /16, 17, 110/.

1.3. Regulation der Schilddrüsenfunktion

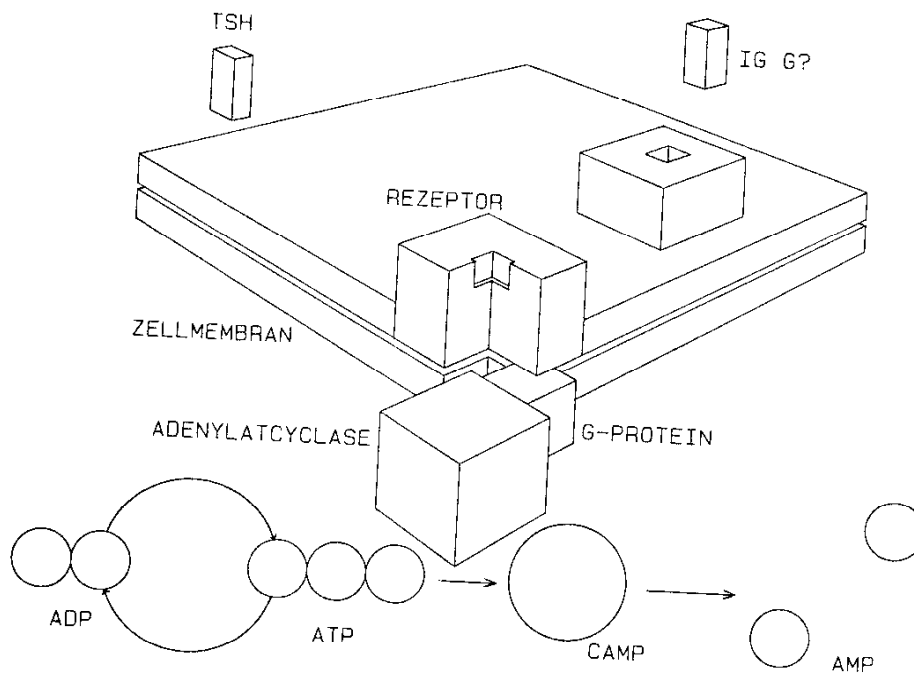
Die Schilddrüse dient als Relaisstation zwischen Hypophyse/ Hypothalamus und der Körper-Peripherie. Die Hormonkonzentration wird über einen Feed-back-Mechanismus eingestellt.



Zeichnung 1: Regelkreis der Schilddrüsenfunktion nach /16/

TSH (=thyroidea stimulierendes Hormon) wird in den basophilen Zellen des Hypophysenvorderlappens gebildet. Es besteht aus zwei Untereinheiten, beide mit einem Molekulargewicht von 28300, hat einen Kohlenhydratanteil von 8 % und ist über 8-11 Cysteinreste durch Disulfidbrücken verknüpft. Die menschliche Hypophyse enthält etwa 25 mg TSH /17/.

Der Rezeptor liegt an der äußeren Seite der Zellmembran. Über das G-Protein ist er an die katalytische Einheit an die Innenseite der Zellwand gekoppelt. Falls nun TSH an den Rezeptor bindet, wird über GTP das G-Protein aktiviert und die Adenylatzyklase als katalytische Einheit wandelt ATP in cAMP um.



Zeichnung 2: Hormon-Rezeptor-Interaktion

cAMP, der "second messenger", reguliert zahlreiche Funktionen der Zelle, indem er vermutlich an Kernrezeptoren steuernd eingreift, Proteinkinasen aktiviert oder Transportvorgänge an Membranen beeinflusst. Von weiteren möglichen Hormon-Rezeptor-Interaktionen, die in der folgenden Tabelle (nach /32/) gezeigt werden, ist bisher nur das Calcium-System für die Schilddrüse wahrscheinlich /33/.

Tabelle 2 Intrazelluläre Regulationsprinzipien

1.	Intrazelluläre Rezeptoren (Cortisol, Aldosteron)
2.	Membrangebundene Rezeptoren mit Effektorsystem
2.1	via Adenylatcyclase und cAMP
2.2	via Calcium als second messenger(H1,Angiotensin)
2.3	Phosphokinasesystem (Insulin, EGF)
2.4	hypothetische Faktoren (HGH, P2)
3.	Membrangebundene Rezeptoren ohne Effektorsystem "coated pits" (LDL, Transferrin)

In der letzten Zeit hat sich das Konzept: ein Hormon - eine Zelle - ein intrazellulärer messenger, in eine Vielzahl miteinander verknüpfter Regulationsmechanismen zwischen extra- und intrazellulären Signalmolekülen aufgelöst. Ein Überblick findet sich bei /33/.

Ein Großteil der spezifischen Schilddrüsenfunktionen ist von TSH abhängig. Die folgende Tabelle zeigt eine Auswahl neuerer Literatur.

Tabelle 3 TSH-abhängige Zellfunktionen

Thyreoglobulin-Synthese	van Heuwerswyn, 1984 /136/
Protein-Phosphorylierung	Cooper, 1984 /23/
Jodidaufnahme	Marcocci, 1983, 1984 /74,75/
Jodideinbau	Maayan, 1981 /68/
Jodidefflux	Weiss, 1984 /146/
Membrandepolarisierung	Bourke, 1981 /14/
T 4 - Freisetzung	Maayan, 1981 /68/
Protein-Glycosylierung	Eggo, 1982 /35/
Morphologische Veränderungen der Zelle	Nielsen, 1985 /86/
Peroxidase-Aktivität	Magnusson, 1985 /73/
Kern-ADP-Ribosylierung	Pisarev, 1983 /97/

mitogene Wirkung	Rotella, 1983 /105/
Zellkoppelung der Schild- drüsenzelle	van Uijen, 1985 /138/
Calmodulin-Aktivität	Yagura, 1985 /151/
Proteinkinase-Aktivität	Munari-Silem, 1984 /84/

Der TSH-Einfluß auf das Wachstum der Zellen ist umstritten /43, 132, 140, 148/. Nur ein Teil der aufgelisteten Effekte wurde bisher auch bei Antikörperstimulation der Zellen untersucht.

Die intrazelluläre Autoregulation der Schilddrüse ist bisher ungeklärt. Hypothetisch gefordert wird ein jodiniertes Protein mit niedrigem Molekulargewicht (Thyreoglobulinvorstufe?), das als Repressor fungieren soll /109, 118/.

1.4. Pathologie der Schilddrüsenerkrankungen

Nach der Einteilung der deutschen Gesellschaft für Endokrinologie sollen hier die einzelnen Krankheitsbilder kurz beschrieben werden /61, 110/.

A. Hypothyreose

Bei Aplasie der Schilddrüse, Jodfehlverwertung, Entzündungen, HVL-Insuffizienz kommt es zu einer ungenügenden Produktion von Schilddrüsenhormon. Die Patienten sind leicht ermüdbar, antriebsarm, kälteempfindlich, die Haut wird trocken, teigig und verfärbt sich gelblich-braun.

B. Hyperthyreose

Aufgrund eines Hypophysenadenoms, immunologischer Stimulation oder einer regionalen Autonomie wird der Körper mit Schilddrüsenhormon überschwemmt; die Patienten werden reizbar, euphorisch bis depressiv. Weitere Symptome sind Tremor, Wärmeintoleranz, Haarausfall, Gewichtsverlust, Diarrhoe, Ruhetachykardie und Myopathien.

C. Struma

Die nicht entzündliche Vergrößerung der Schilddrüse bei normaler Hormonproduktion ist die häufigste endokrine Erkrankung. Dabei führt der Jodmangel zur endemischen Struma. Man unterscheidet diffuse, knotige und je nach Lokalisation zervikale und mediastinale Strumen. Erst bei großer Ausdehnung finden sich Symptome wie Stridor, Recurrensparese und obere Einflußstauung.

D. Thyreoditis

Unterschieden werden akute und chronische Formen: Thyreoditis De Quervain, Hashimoto und Riedel. Die Patienten haben je nach Form lokalen Druckschmerz, Schwellung, Rötung, Schluckschmerzen, eine leicht hyperthyrenote Stoffwechsellage und allgemeines Krankheitsgefühl.

E. Carcinom

Histologisch lassen sich follikuläre, papilläre und anaplastische Formen differenzieren. Die Patienten zeigen allgemeine Tumorzeichen und im Spätstadium eine derbe, höckrig fixierte Struma, Lymphknotenvergrößerung, Heiserkeit, Schluckbeschwerden, Schmerzen, Einflußstauung und ein Horner-Syndrom.

F. Endokrine Orbitopathie

Der Exophthalmus wird als eigenständiges Krankheitsbild häufig in Kombination mit einer Hyperthyreose Typ Morbus Basedow gesehen. Es imponiert die Protrusio bulbi, Augenmuskelparesen, Hornhautaffektion bei Lagophthalmus, Sehfeldeineingung bei Opticusschäden, Chemosis und positive Graefe-, Möbius-, Stellwag-, Dalrymple-Zeichen.

1.5. Pathogenese der Schilddrüsenerkrankheiten

1.5.1. Nicht immunologische Pathogenese

Für die Entstehung der blassen Struma existiert die folgende Modellvorstellung /64/). Durch einen Proliferationsreiz sprossen neue Follikel aus.

Tabelle 4 Proliferationsreize für die Schilddrüse

Jodmangel
Jodüberschuß
Mikroorganismen
Pubertät
Gravidität
Thyreostatika
Medikamente: PAS, Hydantoin, Sulfonamide, Antidiabetika, Antirheumatika, Lithium, Aminogluthemid
Gemüsesorten
CaF, Ru, Nitrate

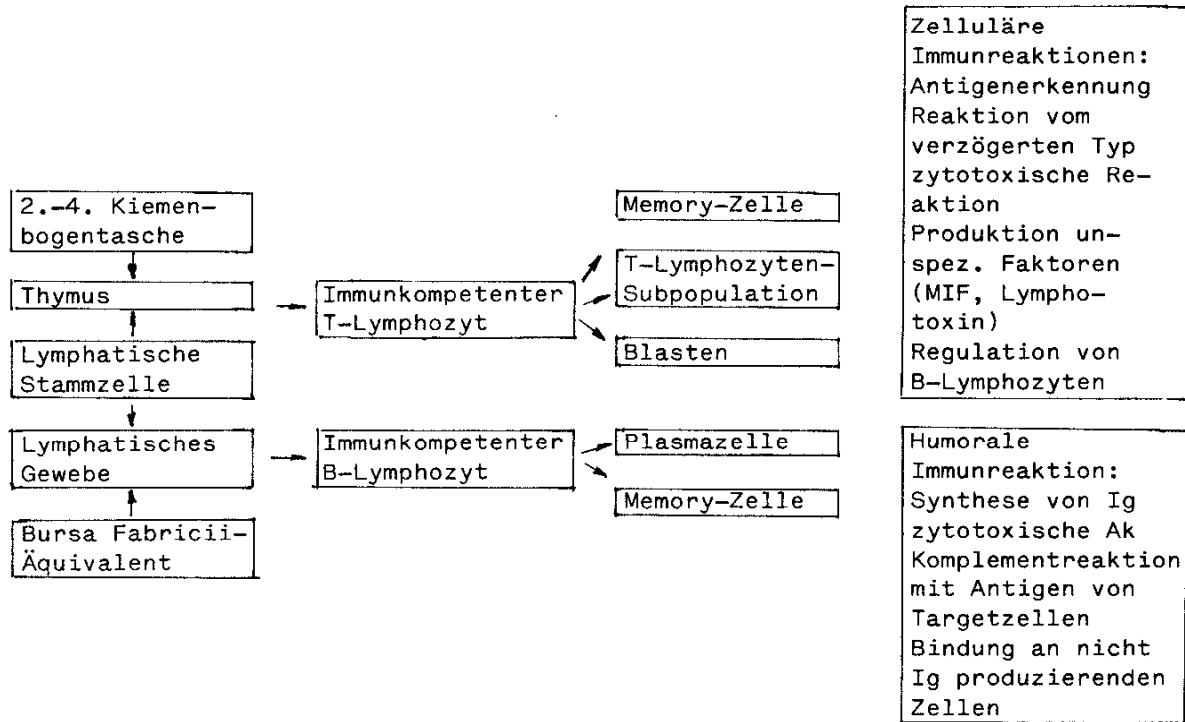
Das zelluläre Bindegewebe wächst mit und bildet vermehrt intersti-tielle Substanz /127/. Auch wenn nun zu einem gewissen Zeitpunkt der wachstumsstimulierende Reiz verschwunden ist, besteht schon eine große Zahl autochthoner Zellverbände, die sich weiter teilen können: die autonom wachsende Struma ist entstanden. Das Mißverhältnis zwi-

schen Gefäßversorgung und hohem Metabolismus des neu gebildeten Gewebes führt zu Nekrosen, die bindegewebig organisiert werden. Dieses Narbennetz behindert das weitere Wachstum der Struma, der Kropf wird knotig.

Je nach funktioneller Eigenart soll sich hochproduktives Gewebe entwickeln können (der "heiße Knoten"), normale Zellverbände oder minderwertiges Drüsengewebe, das nicht mehr hormonaktiv ist (der "kalte Knoten").

1.5.2. Immunologische Pathogenese

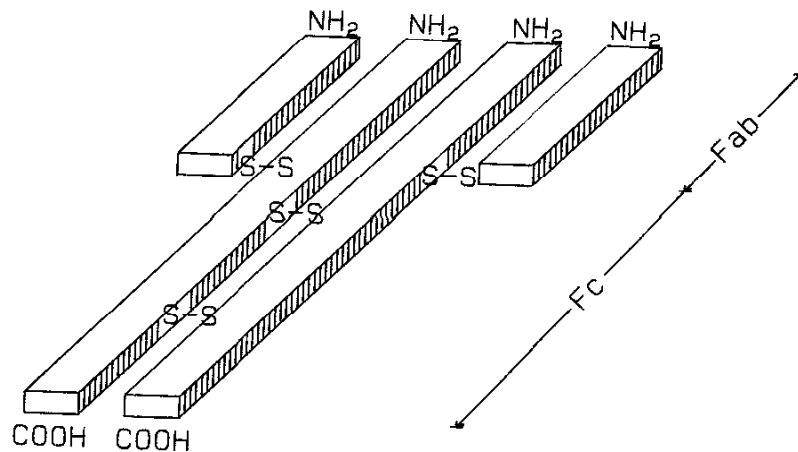
Antigene erreichen meist über afferente Lymphbahnen die biologischen Filter Lymphknoten oder Milz und kommen dort in Kontakt mit Lymphozyten. Diese erkennen das Antigen über Zellrezeptoren an der Oberfläche und beginnen sich zu teilen. Am Ende der Zellteilung steht ein Klon antigenreaktiver Zellen, die Antikörper produzieren (Plasmazellen), als Killerzelle zytotoxische Reaktionen starten können oder als Gedächtniszelle die Immunabwehr zu einem späteren Zeitpunkt wieder aktivieren /142/. Abbildung 3 fasst die Differenzierung des Immunsystems noch einmal zusammen /17/.



Zeichnung 3: Differenzierung des Immunsystems

Die von den Plasmazellen gebildeten Immunoglobuline sind eine heterogene Stoffklasse, die über eine Immunelektrophorese in fünf verschiedene Untergruppen aufgetrennt werden können.

Die folgende Abbildung zeigt die hier am meisten interessierenden Immunoglobuline der Klasse G, die folgende Tabelle listet die wichtigsten Eigenschaften auf.



Zeichnung 4: Struktur des Immunglobulin G

Tabelle 5: Eigenschaften des Immunglobulin G

Molekulargewicht	150000
H-Kette	γ
Serumkonzentration	12,5 g/l
Halbwertszeit	20-25 Tage
Komplementbindung	positiv
Funktion	antiviral, antibakteriell Antitoxinaktivität
Besonderheit	größte Gruppe der Ig, Placentapassage

Die Ig G bestehen aus zwei schweren (H-)Ketten und zwei leichten (L-)Ketten, die über Disulfidbrücken miteinander verknüpft sind. Innerhalb der variablen Abschnitte der H- und L-Kette gibt es sogenannte hypervariable Bezirke, von denen man annimmt, daß hier der Antigenkontakt stattfindet /17/. Über strukturelle Unterschiede der schweren Kette lassen sich nochmals vier Untergruppen der IgG

unterscheiden: IgG 1 (60%), IgG 2 (20-25%), IgG 3 (5-10%) und IgG 4 (5%), dabei ist die TSI-Aktivität hauptsächlich auf IgG 1 und IgG 4 verteilt /28/. Erste Untersuchungsbefunde deuten darauf hin, daß die TSI nur λ -Leichtketten enthalten /62/.

Möglichkeiten der Antigen/Antikörperreaktion sind Zytolyse und Zytotoxizität, Toxinneutralisation, Präzipitation und Agglutination. Biologische Wirkungen der Antikörper sind nicht nur die Bindung an Zellen (blockierende und stimulierende Antikörper, Wachstumsförderung = Enhancement), sondern auch die Zerstörung von Targetzellen.

Sowohl für zwei Krankheitsformen der Schilddrüse (M. Basedow und Autoimmunthyreoiditis) als auch für die Myasthenia gravis, hypergonadotrope Amenorrhoe, Typ B der Insulinresistenz, Asthma bronchiale, hyperchrome und perniziöse Anämie ließ sich eine Autoimmunpathogenese nachweisen /32/.

1.5.2.1. Theorien zur Autoimmunpathogenese

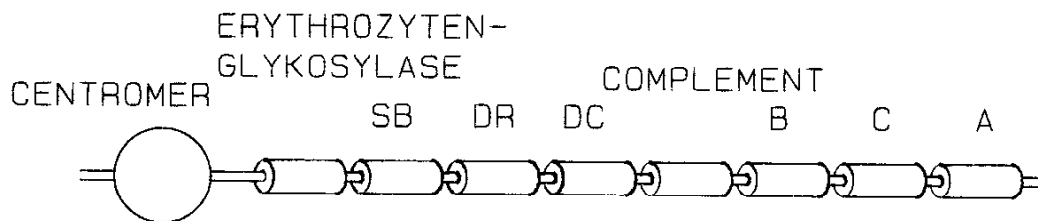
Die Ansichten befinden sich im Fluß und Änderungen der bestehenden Konzepte sind jederzeit möglich. Die TSI machen vermutlich eine ganze Familie heterogener Antikörper aus /127/. Die Tabelle zeigt eine Übersicht über die wichtigsten Theorien.

Tabelle 6 Theorien zur Autoimmunpathogenese

- | |
|---|
| A. genetische Ursachen (HLA-System)
Friedmann und Fialkow 1978 |
| B. Suppressor-T-Zell-Defekt-Theorie
Alison 1971, Kidd 1980 |
| C. V- und H-Gen-Theorie
Adams 1978 |
| D. virale Pathogenese
Friedmann und Fialkow 1978 |
| E. bakterielle Pathogenese
Weiss 1983 |
| F. Netzwerktheorie
Jerne 1972 |

A. Genetische Ursachen (HLA-System)

Die "human leukocyte antigens" (= Histokompatibilitätsantigene), zuerst auf Lymphozyten des peripheren Blutes entdeckt, liegen nahe beieinander auf dem kurzen Arm des 6. Chromosoms. Klasse 1 codiert für HLA-A, -B und -C-Histokompatibilität, Klasse 2 für -SB, -DR, -DC und Klasse 3 für einige Komplementproteine. Die Abbildung zeigt die Lage der Gene auf dem Chromosom /77, 137/.

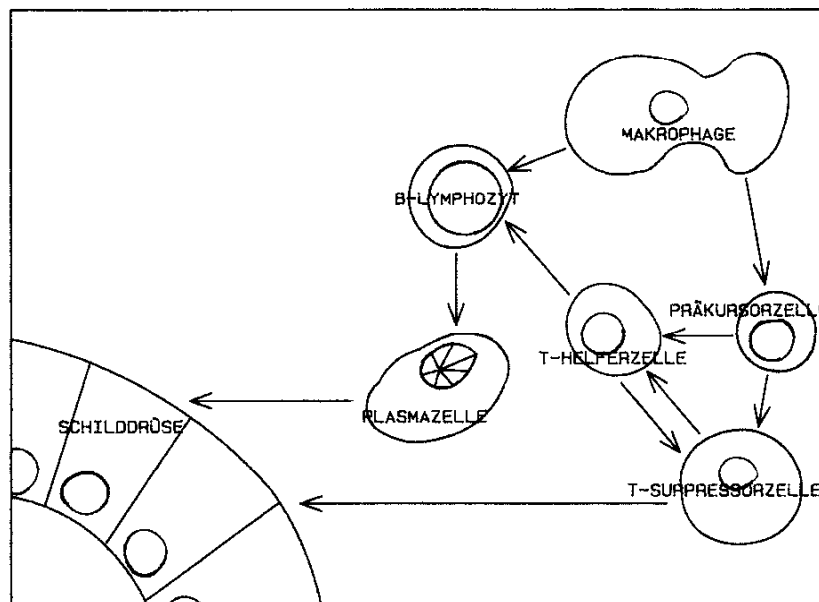


Zeichnung 5: DNA-Strangausschnitt von Chromosom 6

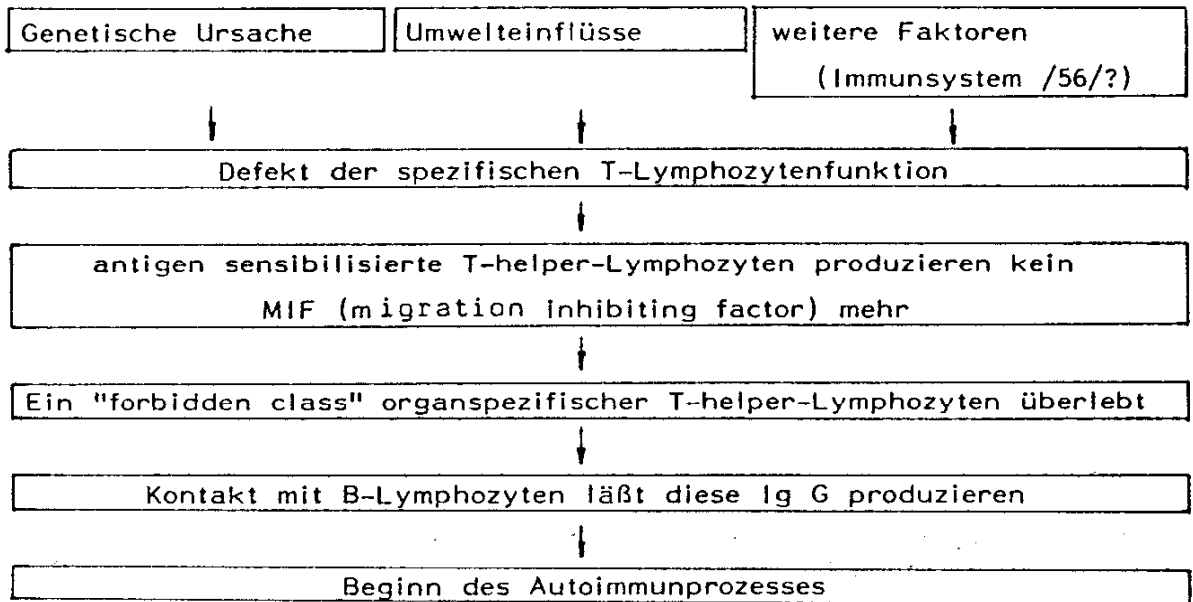
Bei M. Basedow wird ein Zusammenhang zwischen HLA-DR3 und HLA-B8 beschrieben. Als Mechanismus zwischen HLA-Expression und Morbidität wird diskutiert: 1. genetisch programmierter Rezeptordefekt, 2. unerlaubte Kreuztoleranz, 3. Komplementdefekt, 4. Hormondefekt, 5. Enzymdefekt und 6. Immunantwortdefekt. Möglicherweise liegt hier eine Verbindung zur Suppressor-T-Zell-Defekt-Theorie /60/. Argumente für eine genetische Determinierung des M. Basedow liefert das gehäufte Auftreten der Krankheit in einigen Familien. Rund 50 % von monozygoten Zwillingen entwickeln einen gemeinsamen M. Basedow während dies nur 5 % der heterozygoten tun. Außerdem ist das weibliche Geschlecht prädestiniert.

B. Suppressor-T-Zell-Defekt-Theorie

Die klinische Beobachtung von vergrößerter Milz, Lymphknoten, Lymphozytose im strömenden Blut, aber auch die lymphozytäre Durchsetzung der Schilddrüse im histologischen Schnitt haben schon vor dreißig Jahren das Interesse auf die Lymphozyten gelenkt /38, 88/. Zeichnung 6 gibt einen Ausschnitt aus Zeichnung 3 an, an der sich die Krankheitsentstehung abspielen könnte.



Zeichnung 6: Immunsystem und Schilddrüse



Zeichnung 7: Suppressor-T-Zell-Defekt

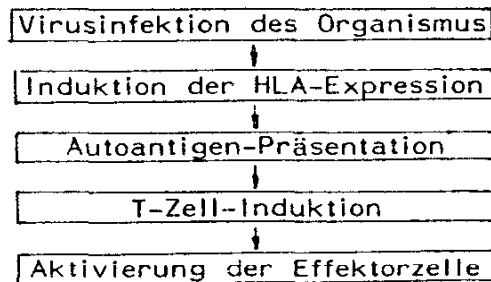
Normalerweise werden diese "verbotenen" T-Lymphozyten sofort wieder eliminiert. Ist das Kontrollsystem der Lymphozyten aber gestört, so können abnorme T-Lymphozyten mit ihrem komplementären Antigen an der der Schilddrüse reagieren. Im Fall der Hashimoto-Thyreoiditis ist dies eine ganze Serie von Antikörpern, welche die Drüse zerstört, beim M. Basedow wird die Drüse zu maximaler Hormonproduktion angeregt.

C. V- und H-Gen-Theorie

Genetisch variable Regionen lassen "forbidden clones" von Lymphozyten entstehen, die im postnatalen Leben in selbstreaktive Zellen durch somatische Mutation übergehen. Dabei sollen die V-Gene mit den Histokompatibilitätsantigenen in Verbindung stehen. Damit ließe sich das Ineinanderwirken von angeborenen und erworbenen Faktoren erklären /121/.

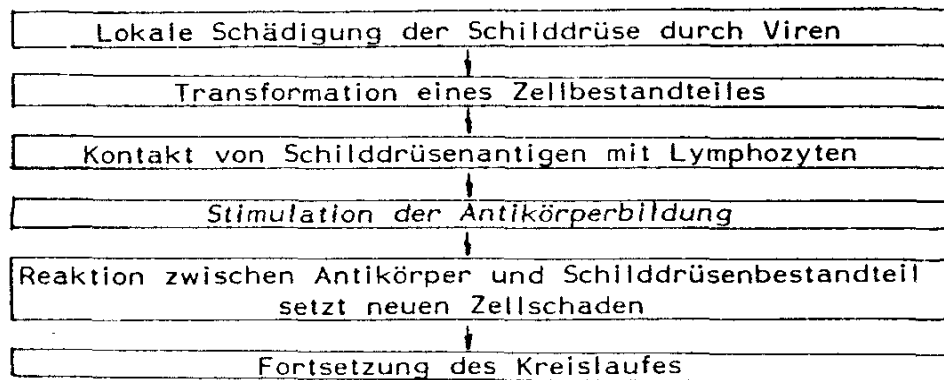
D. Virale Pathogenese

Die Induktion einer Schilddrüsenerkrankung durch virale Infektion des Organismus wird als gering angesehen. Denkbar wäre der folgende Mechanismus (nach /137/).



Zeichnung 8: Virale Pathogenese 1

Eine weitere Möglichkeit wäre der folgende Weg:



Zeichnung 9: Virale Pathogenese 2

Ein Beweis für dieses Konzept steht noch aus /127/.

E. Bakterielle Pathogenese

Von der klinischen Beobachtung ausgehend, daß sich manchmal *Yersinia enterocolitica*-Infektionen zusammen mit Hyperthyreosen finden, ließen sich experimentell Bindungsstellen für TSH an der Oberfläche dieser Bakterien nachweisen. Bisher handelt es sich dabei nur um eine Einzelbeobachtung /145/.

F. Netzwerktheorie

Antikörper, die gegen Epitope eines anderen Antikörpers gerichtet sind, inaktivieren sie, indem sie Immunkomplexe bilden. Durch Antigenpräsentation kommt es zur weiteren Antikörpersynthese. Falls nun die antiidiotypischen Antikörper aufgrund genetischer Ursachen nicht zur Inaktivierung ausreichen, wird das Gleichgewicht gestört und es kommt zur Autoaggression /116/.

1.5.2.2. Antikörperbestimmungen

A. Historischer Abriß

Die erste Beschreibung schilddrüsenstimulierender Antikörper stammt von Adams und Purves 1956. Sie entwickelten einen in-vivo-Nachweis für TSH, in dem Radiojod aus der zuvor markierten Schilddrüse freigesetzt wurde. Nach Injektion von TSH sahen sie bei den Mäusen eine maximale Jodfreisetzung nach drei Stunden, während das Serum von hyperthyreoten Patienten eigenartigerweise eine anhaltende Freisetzung bis zu 16 Stunden nach Injektion brachte. 1958 wurde die Versuchsanordnung von McKenzie vereinfacht, 1960 die abnorme Stimulation den LATS zugeschrieben, 1964 wurde die LATS-Aktivität von Kriss in der Serum Ig G-Fraktion lokalisiert. Da sich der LATS nicht wie zu erwarten, in den Seren aller Basedow-Patienten nachweisen ließ, wurde an dieser Fragestellung intensiv weitergearbeitet und 1967 konnte Adams die niedrige Frequenz an positiven Antikörpernachweisen erklären: LATS-negative Seren, gemischt mit LATS-positiven Seren zeigen keine Antwort, da sie sich kompetitiv an der Bindungsstelle behindern. Diese neu entdeckten Immunglobuline stimulierten die menschliche Schilddrüse, konnten aber nicht an Mäuseschilddrüsen binden. Es folgten weitere Antikörperassays: 1972 Kendall-Taylor mit der Adenylatcyclasestimulierung, dann 1973 Onaya und 1976 Orgiazzi.

Die Bindungsstelle der Immunoglobuline an dem TSH-Rezeptor wurde 1974 zum ersten Mal von Manley, Smith und Hall und 1975 von Mehdi und Nussey beschrieben. Über 200 Arbeiten etablierten die Methoden, aber brachten teilweise kontroverse Ergebnisse /26, 90, 121, 137/.

B. Methoden der Antikörperbestimmung

Die drei folgenden Tabellen zeigen bisher in der Forschung verwandte Methoden. Besondere Beachtung verdient die Unterscheidung von direkten Methoden, welche den gesteigerten Zellenmetabolismus messen und indirekten, die mit der Verdrängung des TSH von dem Rezeptor arbeiten.

Tabelle 7: Antikörpernachweise für Thyreoglobulin, mikrosomale Antikörper u.a. /96/

Thyreoglobulin-Antikörper	Präzipitation Passive Hämagglutination Immunfluoreszenz an fixierten Schilddrüsenschnitten Radioimmunoassay ELISA=enzyme linked immunsorbent assay
Mikrosomale Antikörper	Komplementfixation Immunfluoreszenz auf fixierten Schilddrüsenschnitten Zytotoxische Wirkung auf Schilddrüsenzellkulturen Passive Hämagglutination Radioimmunoassay ELISA
Zweites Kolloidantigen	Immunfluoreszenz auf fixierten Schilddrüsenschnitten

Zelloberflächenantigene	Immunfluoreszenz auf lebenden Schilddrüsenzellen Gemischte Hämabsorption
-------------------------	--

Tabelle 8: Antikörpernachweise für TSH-Rezeptor und TSH-Rezeptor bezogene Antikörper (ergänzt nach /80/, dort weitere Literaturangaben)

1. Direkte Nachweismethoden

Freisetzung von ^{125}J -markierten Schilddrüsenkomponenten in Mäuseblut in vivo

^{125}J - Freisetzung aus Mäuseschilddrüsen in vitro /130/

T 4 - Freisetzung aus Mäuseschilddrüsen in vitro

Kolloidtröpfchenformation in menschlichen Schilddrüsen-scheiben (slices)

cAMP-Anstieg in menschlichen Schilddrüsenzellen

cAMP-Anstieg bei der Rattenzelllinie FRTL 5

Stimulation der Adenylatcyclase in menschlichen Schilddrüsenzellmembranen

T 3 - Freisetzung aus menschlichen Schilddrüsen-gewebe-schnitten

T 3 - Freisetzung aus Schweine-Schilddrüsen-gewebe-schnitten

Cytochemische Veränderungen bei Meerschweinchen-Schilddrüsen-segmenten

Cytochemischer Bioassay (Feulgen), DNA-Zytophotometrie bei Meerschweinchen-Schilddrüsen-segmenten /134/

Metaphase-Index-Assay bei der Rattenzelllinie FRTL 5 /34/

^3H -Thymidineinbau bei Schilddrüsen-follikeln, qualitativ (autoradiographisch) /31/ oder quantitativ nachgewiesen/112/

NADPH-Generation als Wachstumsindikator bei Schweineschilddrüsen

in vivo Untersuchung der ^{125}J -Freisetzung nach Infu-

sion von Serum hyperthyreoter Patienten

Jodaufnahme bei der Rattenzelllinie FRTL /74/

T₃, T₄-Sekretion durch humane Schilddrüsensegmente in eine Dialysekammer /3, 123/

Transplantationsassay auf Nacktmäuse

2. Indirekte Nachweismethoden

Inhibition der Bindung von ¹²⁵J-TSH an Membranen oder Rezeptorpräparationen von menschlichen Schilddrüsen, Meerschweinchenfettzellen, Schweineschilddrüsen

Bindung von radiojodiniertem Ig G an menschliche Schilddrüsenmikrosomen /82/

Inhibition der Bindung von LATS an menschliche Schilddrüsenmembran^{en}

Immunpräzipitation von ³⁵S-markierten Schilddrüsenzellprotein durch Autoimmunserum /100/

Kreuzreaktivität mit TSH-Assays, radioimmunologisch, cytochemisch, immunochemilumminometrisch /144/

ELISA von TSH-bindenden Ig G-Antikörpern /81, 98/

Monoklonale Antikörper gegen den TSH-Rezeptor /132/

Immunpräzipitation /30/

Tabelle 9: Schilddrüsenhormon- oder Jodthyroninantikörper (nach /107/, dort weitere Literatur)

Papier- oder Agaroseelektrophorese

Immunelektrophorese

Säulenchromatographie

Radioimmunoassay

Einen methodischen Vergleich der einzelnen Assaymethoden zeigt die folgende Gegenüberstellung (erweitert nach /50/).

Tabelle 10 Methodischer Vergleich der Testverfahren

	Scheiben	Kultur	Membran	Tier- versuch
Spezifität	+	+	+	+
Sensitivität	+	+	-	-
Reproduzierb.	-	+	+	-
Aufwand	-	+	-	+

Allgemein sind Assays mit direkter Stimulation erheblich zeit- und materialaufwendiger und für die klinische Routine bisher nicht brauchbar.

1.6. Aufgabenstellung der vorliegenden Arbeit

Nachdem bisher nur wenig vergleichende Zahlen innerhalb der einzelnen Patientengruppen vorliegen und vor allem nur sehr wenige Autoren mehrere Assaymethoden vergleichen, ergibt sich die Aufgabenstellung der vorliegenden Arbeit. Das Serum von Patienten mit allen thyroidalen Erkrankungen wird in vier verschiedenen Versuchsanordnungen getestet und die Ergebnisse untereinander und mit der Klinik verglichen.

2. Patienten, Material und Methoden

2.1. Patienten

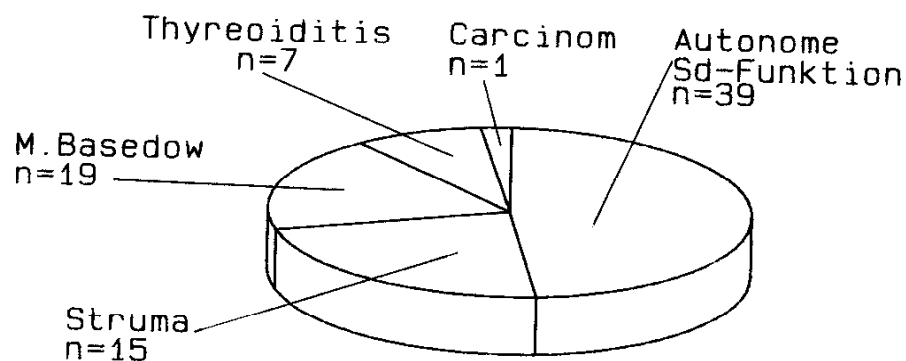
Der größte Teil der untersuchten Serumproben stammte von Patienten der Nuklearmedizinischen Poliklinik (Leiter: Prof. Dr. K. Joseph) und ein weiterer Teil aus der Chirurgischen Poliklinik (Leiter: Prof. Dr. H.D. Röher) der Philipps Universität Marburg. Als Kontrollen dienten Seren von Patienten, die wegen nicht thyroidaler Erkrankungen in der Chirurgie stationär lagen. Auswahlkriterien für Aufnahme der Patienten in die Studie waren: bekannte Anamnese, möglichst komplette Untersuchungsergebnisse zum Zeitpunkt der Blutabnahme und aktuelle Medikation. Außerdem sollten mindestens 2 ml Serum von jedem Patienten vorhanden sein. Zum Schluß der Sammelperiode wurden bevorzugt Patienten aufgenommen, deren Krankheitsgruppen bisher unterrepräsentiert waren. Die Diagnosestellung erfolgte nach den allgemein üblichen Kriterien. Nicht einfach ist die Abgrenzung immunogener Hyperthyreosen von der autonomen Schilddrüsenfunktion. Dabei haben wir soweit als möglich nach dem folgenden Schema differenziert /12, 19, 47, 67, 142/.

Tabelle 11: Differenzierung Morbus Basedow - Autonome Schilddrüsenfunktion

Hyperthyreose Typ M. Basedow	Hyperthyreose Typ autonome Schilddrüsen- funktion
weiche, eher leicht vergrößerte Schilddrüse	ein- oder mehrknotige große Struma,
diffuser ^{99m} Tc-uptake	szintigraphisch: warme und kalte Bezirke
sonographisch: echoarm	sonographisch: isodens

deutlich hyperthyreote Symptomatik	geringere hyperthyreote Stoffwechsellage
akute Krankheitsentstehung	langsame Entwicklung, langes Strumaleiden
weitere autoimmune Manifestationen (Opthalmopathie, prätibiales Myxödem, thyroideale Akropathie, Dermopathie)	
Alter: jünger als 50 Jahre	älter als 50 Jahre
HLA-B 8, -DR-3 positiv	
positiver Antikörpernachweis	
positive Familienanamnese	
	vorausgegangene Jodkontamination

Im Zweifelsfall, falls nicht alle Daten bekannt waren (etwa bei Überweisungen) wurden die Patienten der Gruppe autonome Schilddrüsenfunktion zugeordnet. Tabelle 16 im Anhang zeigt eine Übersicht über alle klinischen Daten der untersuchten Patienten. Die Schaubilder 10 und 11 zeigen die Verteilung der Patienten auf die Diagnosegruppen und die Altersverteilung.

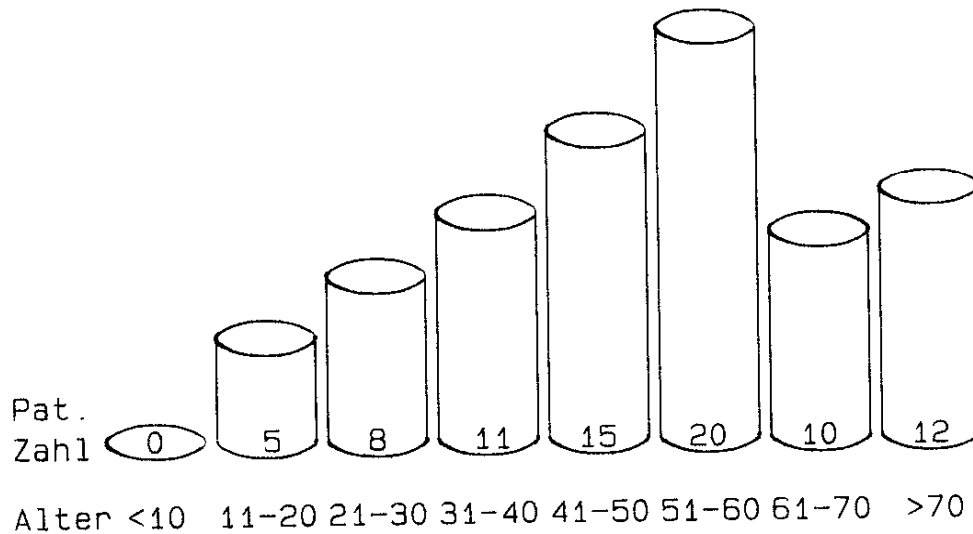


Zeichnung 10: Diagnosenverteilung

und der Pellet in 2 ml PBS resuspendiert. Die Ammoniumsulfatfällung wird wiederholt, der Bodensatz in 2 ml Phosphatpuffer (PBS) gelöst und über Nacht gegen PBS im Kühlraum bei 0°C dialysiert. 100 µl Dialysat werden in PBS 1:20 verdünnt und die Extinktion der Lösung bei 280 nm gemessen. Mit Hilfe des Extinktionskoeffizienten (13,5 bei 1%-iger Lösung) wird die Ausgangskonzentration berechnet und die Ig G-Lösung auf eine Konzentration von 3 mg/ml verdünnt. Die Proben werden gut gemischt, auf Aliquots von 250 µl verteilt und wieder bei -20°C eingefroren. Zur Versuchsreihe wird die benötigte Menge an Aliquots 1 Stunde bei Raumtemperatur aufgetaut. Für den Versuch werden 50 µl pro well eingesetzt, was einer Endkonzentration von 1 mg/ml in der Kulturflüssigkeit entspricht.

2.4. Gewebeaufarbeitung und Kultivierung

Schilddrüsengewebe wurde uns aus dem chirurgischen OP, Zentrum für Operative Medizin I und dem Tierversuchslabor der Abteilung für Theoretische Chirurgie (Leiter Prof. Dr. Lorenz) zur Verfügung gestellt. Das Gewebe wird auf Eis transportiert und innerhalb 30 Minuten aufgearbeitet (Vorschrift bei /94, 102/). Unter der sterilen Werkbank wird zunächst anhängendes Fett- und Bindegewebe entfernt und dann das Parenchym zwischen zwei Skalpellklingen zerschnitten. Die etwa 1 mm² großen Gewebstücke werden zweimal in HBSS (mit Zusatz von 1,25 mg Amphotericin B/50 ml und 2 x 10⁶U Penicillin/50 ml HBSS) gewaschen. Das Dispase-Collagenase-Gemisch (100 mg Dispase und 12,5 mg Collagenase/50 ml HBSS) wird zugegeben und die Lösung für 15 Minuten in ein 37°C warmes Schüttelbad gestellt. Wegen der starken Verunreinigung mit Erythrocyten wird diese Lösung abgekippt und frische Enzymlösung zugegeben. Nach 45 Minuten wird die nun trübe Enzymlösung abgenommen und 5 Minuten bei 500 g zentrifugiert. Das Enzymgemisch kommt wieder zurück auf die Gewebstücke, der Zellpellet wird zweimal in D-Valin-Medium gewaschen (5 g MEM-DULBECCO, 5,4 g HAMS F 12, 3,6 g NaHCO₃, 50 ml FKS, auf 1000 ml mit Aqua bidest. aufgefüllt, ph auf 7,4 eingestellt und sterilfil-



Zeichnung 11: Altersverteilung

2.2. Routinelabor-Werte

Die Bestimmung von T 3, T 4, fT 4, TSH, TgAk, MAk erfolgte im Zentrum für Radiologie, Klinische Nuklearmedizin. Das freie und gesamt-T4 wurde mit einem Radioimmunoassay der Firma Travenol-Genentech, Cambridge (Gammacoat TM) bestimmt, T 3 ebenfalls mit einem RIA der Firma Travenol, zur TSH-Messung ein RIA der Behringwerke, Marburg (RIA-gnost h-TSH) verwandt. Thyreoglobulin und mikrosomale Antikörper wurden in einem kombinierten quantitativen Enzymimmunoassay der Firma Elisa (Melisa TgAb/TMAb) nachgewiesen.

2.3. Ig G Reinigung

Das entnommene Citratblut wird sofort zentrifugiert und das Serum bei -20°C eingefroren. Die Ig G-Fraktion wird nach der von Rapoport /101/ angegebenen Präzipitationsmethode isoliert. Zu 2 ml Serum wird langsam 1 ml 100% gesättigte Ammoniumsulfatlösung zugegeben. Die Proben werden für 30 Minuten kühl gestellt und anschließend 30 Minuten lang bei 3000g zentrifugiert. Der Überstand wird dekantiert

und der Pellet in 2 ml PBS resuspendiert. Die Ammoniumsulfatfällung wird wiederholt, der Bodensatz in 2 ml Phosphatpuffer (PBS) gelöst und über Nacht gegen PBS im Kühlraum bei 0°C dialysiert. 100 µl Dialysat werden in PBS 1:20 verdünnt und die Extinktion der Lösung bei 280 nm gemessen. Mit Hilfe des Extinktionskoeffizienten (13,5 bei 1%-iger Lösung) wird die Ausgangskonzentration berechnet und die Ig G-Lösung auf eine Konzentration von 3 mg/ml verdünnt. Die Proben werden gut gemischt, auf Aliquots von 250 µl verteilt und wieder bei -20°C eingefroren. Zur Versuchsreihe wird die benötigte Menge an Aliquots 1 Stunde bei Raumtemperatur aufgetaut. Für den Versuch werden 50 µl pro well eingesetzt, was einer Endkonzentration von 1 mg/ml in der Kulturflüssigkeit entspricht.

2.4. Gewebeaufarbeitung und Kultivierung

Schilddrüsengewebe wurde uns aus dem chirurgischen OP, Zentrum für Operative Medizin I und dem Tierversuchslabor der Abteilung für Theoretische Chirurgie (Leiter Prof. Dr. Lorenz) zur Verfügung gestellt. Das Gewebe wird auf Eis transportiert und innerhalb 30 Minuten aufgearbeitet (Vorschrift bei /94, 102/). Unter der sterilen Werkbank wird zunächst anhängendes Fett- und Bindegewebe entfernt und dann das Parenchym zwischen zwei Skalpellklingen zerschnitten. Die etwa 1 mm² großen Gewebstücke werden zweimal in HBSS (mit Zusatz von 1,25 mg Amphotericin B/50 ml und 2 x 10⁶U Penicillin/50 ml HBSS) gewaschen. Das Dispase-Collagenase-Gemisch (100 mg Dispase und 12,5 mg Collagenase/50 ml HBSS) wird zugegeben und die Lösung für 15 Minuten in ein 37°C warmes Schüttelbad gestellt. Wegen der starken Verunreinigung mit Erythrocyten wird diese Lösung abgekippt und frische Enzymlösung zugegeben. Nach 45 Minuten wird die nun trübe Enzymlösung abgenommen und 5 Minuten bei 500 g zentrifugiert. Das Enzymgemisch kommt wieder zurück auf die Gewebstücke, der Zellpellet wird zweimal in D-Valin-Medium gewaschen (5 g MEM-DULBECCO, 5,4 g HAMS F 12, 3,6 g NaHCO₃, 50 ml FKS, auf 1000 ml mit Aqua bidest. aufgefüllt, ph auf 7,4 eingestellt und sterilfil-

triert), um noch vorhandenes Enzym zu inaktivieren. Dieser Vorgang wird nach 90 und 135 Minuten wiederholt. Die zentrifugierten Pellets werden zu einem Pool zusammengegeben. Die Zellen werden in 20 ml Medium aufgeschwemmt, gemischt und ein Tropfen entnommen, in dem die Zellzahl in einer Neubauer-Zählkammer bestimmt wird. Die Kulturplatten werden mit einer Poly-Lysin-Lösung (2 mg/ml in Aqua bidest.) gespült und die Zellen je nach Versuchsanordnung mit 10.000 oder 50.000/well ausgesät. Die Platten werden in einen 37°C warmen Brutschrank mit 5% CO₂:95% Raumluft-Mischung gebracht und je nach Versuchsanordnung weiter behandelt.

2.5. cAMP-Stimulation

Nach 120 Stunden Inkubation wird das Medium abgesaugt und 150 µl PBS mit Zusatz von IBMX (= 3-isobutyl-1-methyl-xanthin, 0,5 mmol/l) zusammen mit 50 µl der zu untersuchenden Ig G-Lösung in Kulturplatten mit 50.000 Zellen/well eingefüllt (Ig G Stammkonzentration 3 mg/ml). Nach 90 Minuten wird die Testlösung abgesaugt und die Zellen mit 250 µl Ethanol (96%) überschichtet und 12 Stunden bei 5°C kaltgestellt. Die gesamte Menge Ethanol wird abgenommen und 5 Minuten bei 12.000 g zentrifugiert. Der Überstand wird nochmals zentrifugiert und dieser Überstand im Exsikkator getrocknet. Zur cAMP-Bestimmung wird der Rückstand in 50 µl TRIS-HCl-Puffer gelöst.

Die cAMP-Bestimmung erfolgt nach der von Tovey /131/ beschriebenen Methode in einem kompetitiven Proteinbindungsassay. Reagentien: 1. Das Bindungsprotein wird aus Rindfleisch isoliert, indem 100 g Fleisch mit TRIS-EDTA-Puffer versetzt, 30 Sekunden im Blender homogenisiert und 30 Minuten bei 10.000 g zentrifugiert werden. Der Überstand wird mit 100%-iger Ammoniumsulfatlösung gefällt, 15 Minuten bei 1.200 g zentrifugiert, nochmals mit Ammoniumsulfat gefällt und 2 Tage bei 0°C gegen TRIS-EDTA-Puffer dialysiert. Das Dialysat wird durch kurze Zentrifugation bei 1.200 g geklärt, Volumen und Proteinkonzentration bestimmt und mit einer Konzentration von 8 mg/ml bei

-20° C aufbewahrt. Für die einzelne Bestimmung wird eine Portion in 10 ml TRIS-EDTA-Puffer gelöst und jeweils 100 µl pro Bestimmung pipetiert. 2. Der cAMP-Standard wird als 333 nmolare-Lösung hergestellt, von der erst kurz vor Versuchsbeginn eine Verdünnungsreihe mit 16, 8, 4, 2, 1, 0,5 pmol/50 µl angefertigt wird. 3. Für die ³H-cAMP-Lösung wird 20 µl des Stammkonzentrates (70 µCi) auf 5 ml Assaypuffer verdünnt, wobei die zur Bestimmung eingesetzten 50 µl ca. 10.000 cpm liefern. 4. Die Aktivkohlesuspension wird aus 520 mg NORIT GSX zusammen mit 20 ml Assaypuffer und 2% BSA gemischt. 100 µl werden zur Bestimmung eingesetzt.

Versuchsablauf: Auf Eis wird 50 µl der Probe (bzw. 50 µl Puffer für den Blank, bzw. 50 µl cAMP-Standard der einzelnen Verdünnungen für die Versuchseichung) zusammen mit 50 µl ³H-cAMP und 100 µl Bindungsprotein (= 120 µg) 2 Stunden inkubiert. Danach wird das nicht gebundene cAMP mit 100 µl Aktivkohle in 2 Minuten bei 12.000 g herunterzentrifugiert und vom Überstand 200 µl ohne Aufwirbeln in ein Szintillationsgläschen pipetiert, mit 5 ml Szintillationsflüssigkeit vermischt und die Radioaktivität über 5 Minuten in einem Betacounter gemessen. Der Gehalt der unbekanntenen Proben berechnet sich nach der Formel

$$x = \frac{A}{B - C}$$

A = Leerwert (cpm)

B = Probe (cpm)

C = Blank (cpm)

Der Quotient x wird an der Ordinate und der cAMP-Gehalt an der Abszisse abgetragen. Über die Eichkurve wird auf den jeweiligen cAMP-Gehalt der Probe extrapoliert.

2.6. Thymidineinbau

Die Bestimmung erfolgt in Anlehnung an Schatz /112/.

Nach 48 Stunden Inkubation wird das Nährmedium bei Platten mit 10.000 Zellen/well ersetzt durch 150 μ l PBS mit einer Konzentration von 1 μ Ci 3 H-Thymidin (2×10^6 dpm) und 50 μ l Ig G-Lösung (1 mg/ml). 24 Stunden später wird der Überstand abgesaugt, die Kulturen einmal mit 200 μ l eiskalter PBS gewaschen und 200 μ l TCA für 30 Minuten zugegeben. Danach wird das Präzipitat in 200 μ l 0,2-molare NaOH gelöst, mit 5 ml Szintillationsflüssigkeit gemischt und die Aktivität über 5 Minuten ausgezählt. Dazu parallel wird im gelösten Pellet der Eiweißgehalt als Maß für die Zellmenge bestimmt (Kap. 2.9).

2.7. Adenylat-Cyclase-Assay

Der Test wird nach der Methode von Salomon /108/ durchgeführt.

Innerhalb einer Stunde nach Gewebsentnahme wird die Schilddrüse ausgewogen und auf Eis zerkleinert. Pro Gramm Gewebe werden 4 ml TRIS-EDTA-Puffer zugefügt und dreimal 5 Sekunden in einem Ultra-Thorax homogenisiert. Das Gemisch wird filtriert und 10 Minuten bei 500 g zentrifugiert. Der Überstand wird nochmals 20 Minuten bei 8.000 g zentrifugiert. Dann wird der Bodensatz in einer geringen Menge Puffer gelöst, bis eine homogene Suspension entsteht; die Proteinkonzentration wird gemessen und die Membransuspension in 1 ml-Portionen bei -20°C eingefroren.

Für den Ac-Assay werden folgende Reagentien benötigt: 1. Cyclase-puffer: 62,5 mM TRIS-HCl-Puffer, 0,25% BSA, 5 mM MgCl₂, 2,5 mM IBMX, 2. ATP-Regenerationssystem: 3 mg/ml Kreatinkinase, 0,1 N Kreatinphosphat, 3. Stop-Lösung: 10 mM ATP, 2% SDS, 50mM TRIS-HCL-Puffer, 1 mM ³H-cAMP-Gemisch (3 µCi/ml) aus markiertem und nicht markiertem cAMP und 4. ³²P-Standard-Lösung, 0,667 mM ATP-Lösung (1 µCi/10µl).

30 µl Membranlösung (= 30 µg) und 30 µl Ig G-Lösung werden eine Stunde zur Äquilibration vorinkubiert. Dann wird 40 µl Puffer zugefügt, zusammen mit 10 µl Regenerationssystem und 10 µl ³²P-ATP. Nach 30 Minuten Reaktionszeit bei 30°C wird 100 µl Stoplösung pipettiert und 3 Minuten bei 100°C inkubiert. Zusammen mit 800 µl H₂O läuft das Gemisch über eine DOWEX-Chromatographiesäule (5x80 mm), die anschließend zweimal mit 1 ml H₂O gespült wird. Im nächsten Schritt wird die DOWEX-Säule über eine mit 8 ml Imidazol-Lösung (0,1 n) vorbehandelte Aluminiumoxidsäule (5x45 mm) gestellt und man läßt 3 ml H₂O über beide Säulen laufen. 4 ml Imidazol-Lösung werden nun über die Aluminiumsäule gegeben und die heraustropfende Flüssigkeit mit 12 ml Szintillationsflüssigkeit vermischt. Die Emmission des ³²P-ATP und ³H-cAMP wird über 5 Minuten im Counter gemessen. Das markierte cAMP dient dabei als Marker für die cAMP-Wiederfindungsrate der einzelnen Säulen und geht als Bewertungsfaktor bei der folgenden Formel zur Berechnung des tatsächlich gebildeten cAMP mit ein

$$K = \frac{3 \cdot A \cdot C \cdot D \cdot \left(\frac{J}{I} - \frac{H}{G} \right)}{10^{-9} \cdot B \cdot E \cdot F}$$

Dabei bedeuten:

- A= Mittelwert (cpm) des ^3H -cAMP-Standards
- B= Mittelwert (cpm) des ^{32}P -ATP-Standards
- C= ATP-Konzentration (molar)
- D= Assayvolumen (Liter)
- E= Membranmenge (mg)
- F= Inkubationszeit (Minuten)
- G= Mittelwert (cpm) der ^3H -cAMP-Kontrolle ohne Membran
- H= Mittelwert (cpm) der ^{32}P -ATP-Kontrolle ohne Membran
- I= Mittelwert (cpm) der ^3H -Probe
- J= Mittelwert (cpm) der ^{32}P -Probe
- K= gebildete Menge cAMP/30 Minuten/mg Membran

2.8. TSH-Rezeptor-Verdrängungs-Assay

Die Methode basiert auf der Beschreibung von Smith und Hall /120/.

Alle Reagentien inklusive Seren zur Eichung sind in einem kommerziellen Kit erhältlich. Eine Suspension von solubilisierten Rezeptoren aus menschlichen Schilddrüsenmembranen wird mit radiomarkiertem, hochgereinigtem TSH und der Ig G-Lösung inkubiert und nach 15 Minuten bei 2.500 g zentrifugiert. Die Menge der gebundenen Antikörper wird über die reduzierte Menge des bindenden radioaktiven TSH berechnet und nach Abzug der Background-Aktivität (= unspezifische Bindung) als Prozentzahl von gebundenem TSH in der Probe und gebundenem TSH im Leerwert angegeben.

$$X = \left(1 - \frac{A - B}{C} \right) \cdot 100$$

- A= cpm-Probe
- B= cpm-Background
- C= cpm-radioaktives TSH total
- X= von Ig G verdrängtes radioaktives TSH (in %) des gesamten zugegebenen TSH

Über die mitgelieferten Serum-Standards von Basedow-Patienten wird über eine Eichkurve die Einheit U TRAK/l abgelesen.

2.9. Proteinbestimmung

Der Eiweißgehalt wird nach dem von Bradford /15/ beschriebenen Verfahren mit vorgefertigten Reagentien bestimmt. Nach Bindung von Protein ändert sich das Absorptionsmaximum des Indikators Coomassie Blue g-250 von 450 nm nach 595 nm. Über Proteinstandards wird der Gehalt der unbekanntenen Probe ermittelt.

2.10. Bezugsquellen

A. Geräte, Verbrauchsmaterial

Cleanbench von INTER MED, M.D.H.GmbH, Rüsselsheim
Brutschrank von HERAEUS, Hanau
Dialyseschläuche (Ø 7 mm) von SERVAPOR
Beta-Counter, Tri-Carb von PACKARD
Gamma-Counter, Gamma 4000 von BECKMANN, München
Kulturschalen, 24 well von INTER MED, NUNC, Wiesbaden
96 well von FALCON
Sterilisationsfilter, 0,22 µm von MILLIPORE, Eschborn

B. Medien

MEM DULBECCO mit D-Valin, L-Glutamin von BIOCHROM, Berlin

HAM's F 12 von BIOCHROM, Berlin

FKS (= fötale Kälberserum) von GIBCO BRL, Karlsruhe

C. Chemikalien, Enzyme und Sonstiges

Collagenase/Dispase aus *I. ionophagus/B. polymyxa* von BOEHRINGER,
Mannheim

Bio-Rad Protein Assay von BIO-RAD, München

TRAK ° von HENNING, Berlin

Thyreostimulin (TSH) von ORGANON, Oberschleissheim

PBS, Rezept: 8 g NaCl, 0,2 g KCl, 0,2 g KH_2PO_4 , 1,5 g NaHPO_4 auf
1.000 ml Aqua bidest.

HBSS, Rezept: 8 g NaCl, 0,4 g KCl, 0,048 g Na_2HPO_4 , 0,35 g NaHCO_3 ,
0,06 g KH_2PO_4 und 1 g Glucose auf 1.000 ml Aqua bidest.

Amphotericin B aus *Streptomyces* isr. von SIGMA, St. Louis

Penicillin/Streptomycin von BIOCHROM, Berlin

Poly-Lysin-Hydrobromid, MG 30.000 - 70.000 von SIGMA, St. Louis

Isobutylmethylxanthin (IBMX), Kristallin von SIGMA, St. Louis

TRIS-EDTA-Puffer, Rezept: 6,057 g TRIS, 80 ml 100 mM EDTA auf 1.000
ml Aqua bidest., Reagentien von SIGMA, St. Louis

Norit GSX von SERVA, Heidelberg

BSA von SIGMA, St. Louis

Szintillationsflüssigkeit, Quickszinti 212 von ZINSSER ANALYTIK,
Frankfurt

^3H -Thymidin (40-60 Ci/mmol = 1.480 - 2.220 GBq/mmol) von AMERSHAM
BUCHLER, Braunschweig

^3H -cAMP (10 - 50 Ci/mmol = 370 - 1.850 GBq/mmol) von AMERSHAM
BUCHLER, Braunschweig

cAMP als Dinatriumsalz von BOEHRINGER, Mannheim

Kreatinkinase von SIGMA, St. Louis

^{32}P -ATP (20 - 30 Ci/mmol = 740 - 1.110 GBq/mmol) von AMERSHAM
BUCHLER, Braunschweig

2.11. Auswertung, Statistik und Sonstiges

Die Ergebnisse der einzelnen Versuchsreihen wurden auf einem Sharp PC 1247/CE 125 und die Statistik auf einem IBM AT, Programm ABSTAT von ANDERSON-BELL berechnet. Die mehrdimensionalen Graphiken sowie die Eichkurven wurden auf einem IBM AT mit Software COMPUDRAFT der Firma DEDATA, Karlsruhe gezeichnet und der Text auf einer OLIVETTI ETS 2010/HS geschrieben.

3. Ergebnisse

3.1. Thyreoglobulin- und mikrosomale Antikörper

Die Ergebnisse finden sich in Tabelle 17 im Anhang.

3.2. TSI (cAMP-Stimulation)

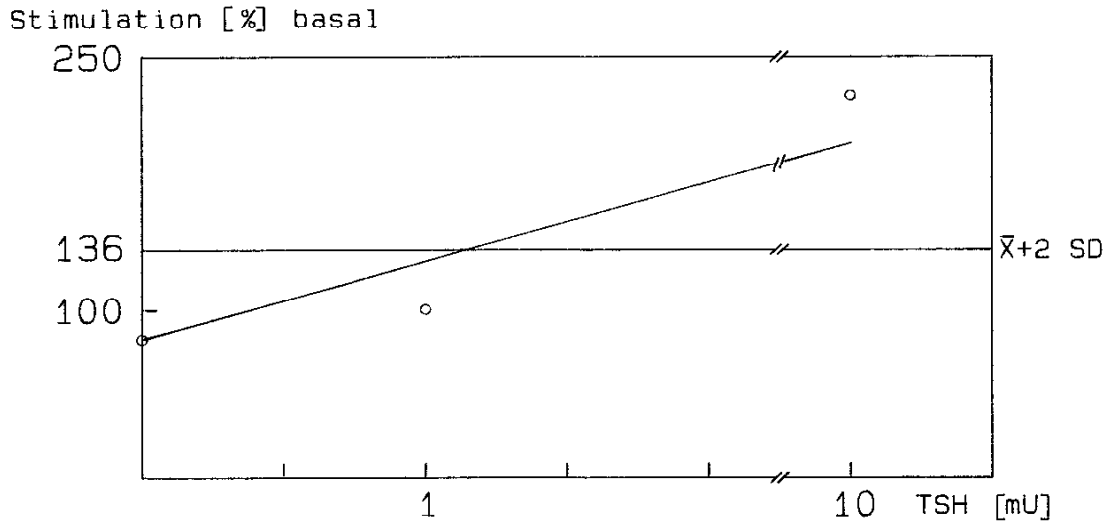
Gezeigt werden die Ergebnisse der dritten Versuchsreihe, nachdem in den ersten beiden Versuchsreihen die Zellen nicht auf die Stimulation reagierten, bzw. die cAMP-Messungen nach Stimulation durch unspezifische Background-Erhöhung mißlang.

3.2.1. Versuchscharakterisierung

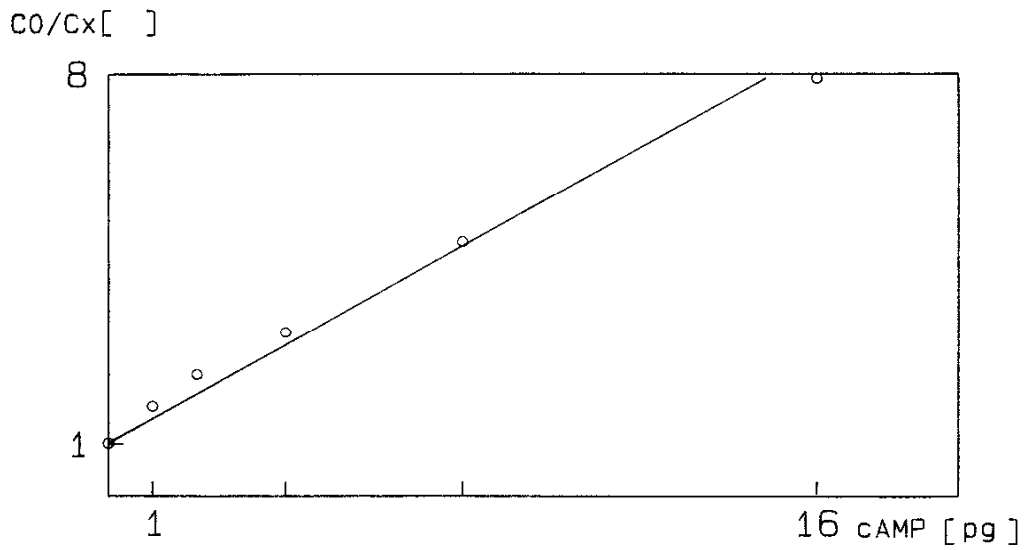
Die Zellen dieses Versuches stammen von einem 37-jährigen Patienten, der wegen einer Struma II operiert wurde.

Intraassayvarianz	18,5 ± 18,1 %
Interassayvarianz	entfällt
Modus	Dreifachbestimmung
Streuung der Ergebnisse min.	0 pg cAMP/90 Min./50.000 Zellen
max.	3,38 pg cAMP/90 Min./50.000 Zellen
Zahl der Kontrollen	n = 11
Mittelwert der Kontrollen(=100%)	1,1 pg cAMP/90 Min./50.000 Zellen
Varianz der Kontrollen (= 18%)	0,2 pg cAMP/90 Min./50.000 Zellen
Normgrenzen grenzwertig (± 2 SD)	136 %
hoch positiv (± 5 SD)	190 %
Eichung basal	82 %
1 mU TSH	100 %
10 mU TSH	227 %
Proteinbestimmung bei	n = 10
Proteinmenge (± SD)	176 µg/ml ± 62,5 µg/ml

3.2.2. Eichkurven



Zeichnung 12: Eichkurve: cAMP-Stimulation

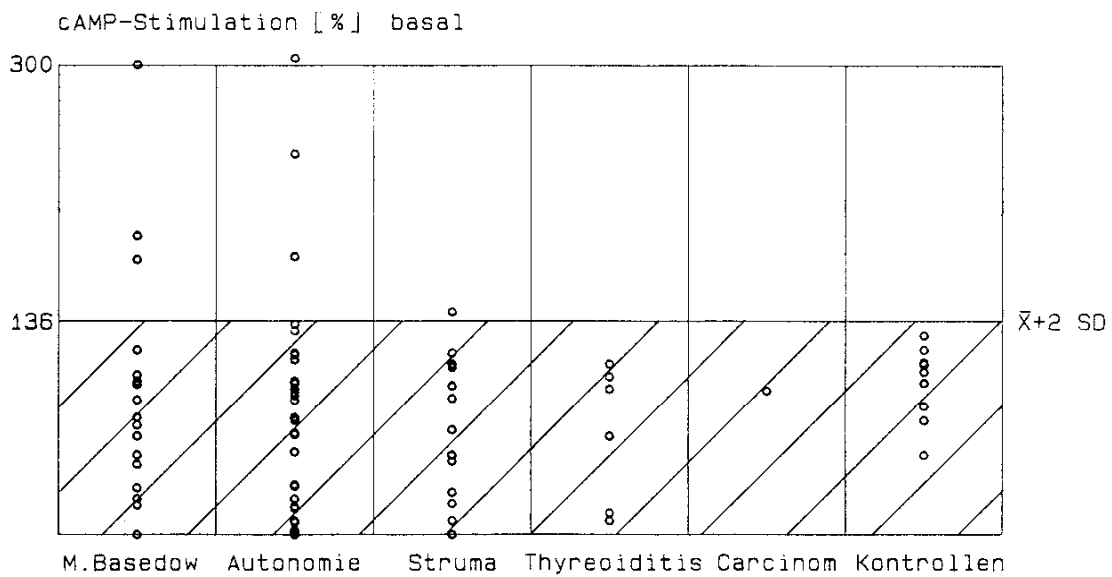


Zeichnung 13: Eichkurve: cAMP-RIA

3.2.3. Wertetabelle

Die einzelnen Werte finden sich in Tabelle 17 im Anhang.

3.2.4. Graphische Versuchsdarstellung



Zeichnung 14: Versuchsergebnisse nach Krankheitsgruppen geordnet

3.3. TGI (Thymidineinbau)

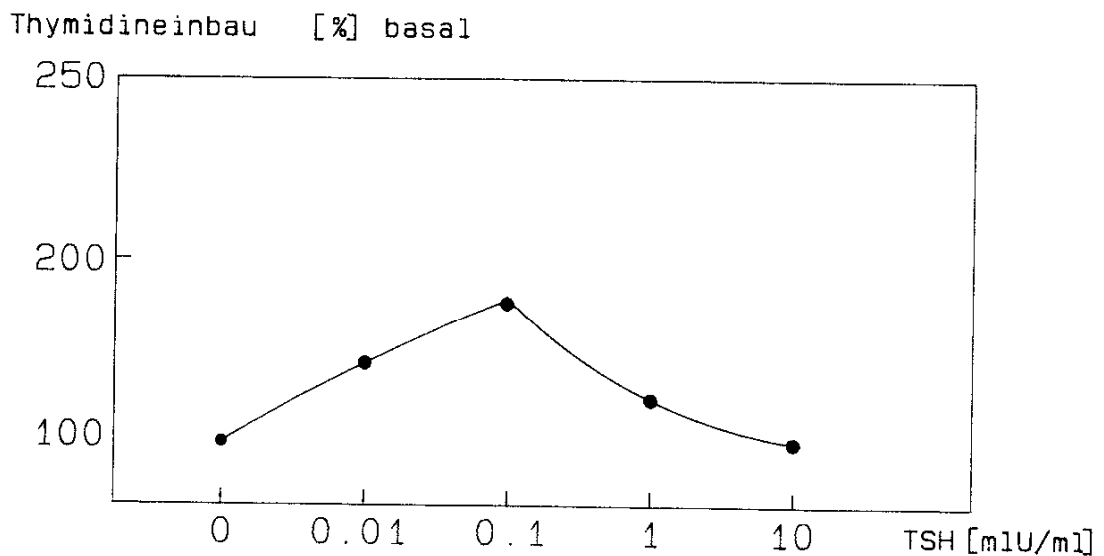
Gezeigt werden die Ergebnisse der zweiten Versuchsreihe, nachdem sich die Zellen im ersten Versuch beim Spülen mit PBS vom Boden gelöst haben.

3.3.1. Versuchscharakterisierung

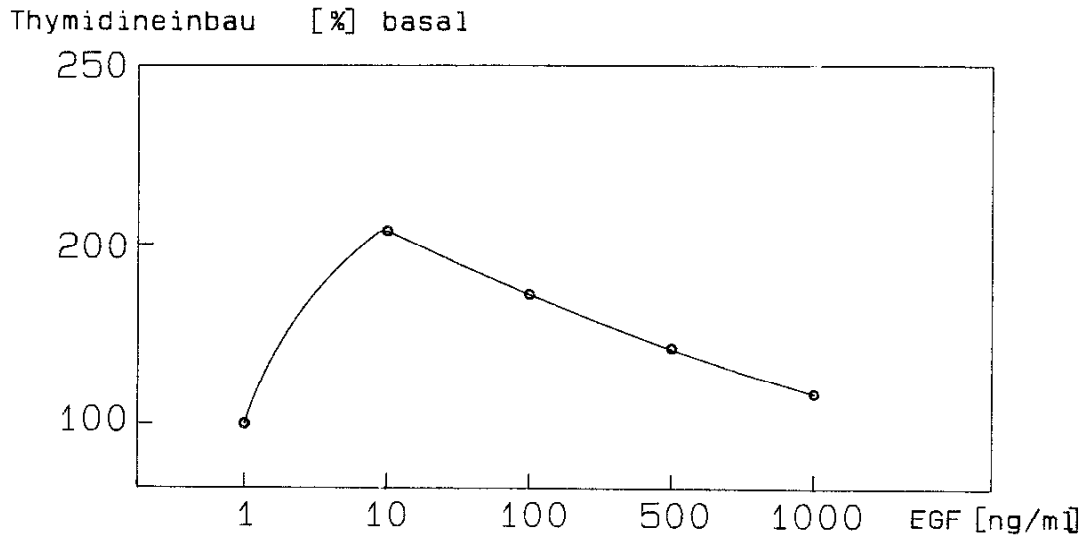
Die Zellen dieses Versuches stammen von einer 41-jährigen Patientin, die wegen einer großen multinodösen Struma operiert wurde.

Intraassayvarianz	33 \pm 18,9 %
Interassayvarianz	entfällt
Modus	Vierfachbestimmung
Streuung der Ergebnisse min.	58 cpm/24 Stunden/10.000 Zellen
max.	3.929 cpm/24 Stunden/10.000 Zellen
Zahl der Kontrollen	n = 27
Mittelwert der Kontrollen (=100%)	189 cpm/24 Stunden/10.000 Zellen
Varianz der Kontrollen (= 48%)	91 cpm/24 Stunden/10.000 Zellen
Normgrenzen grenzwertig (\pm 2 SD)	196 %
hoch positiv (\pm 5 SD)	340 %
Eichung	siehe Eichkurve
Proteinbestimmung bei	n = 96
Proteinmenge (\pm SD)	74 μ g/ml \pm 23,8 μ g/ml

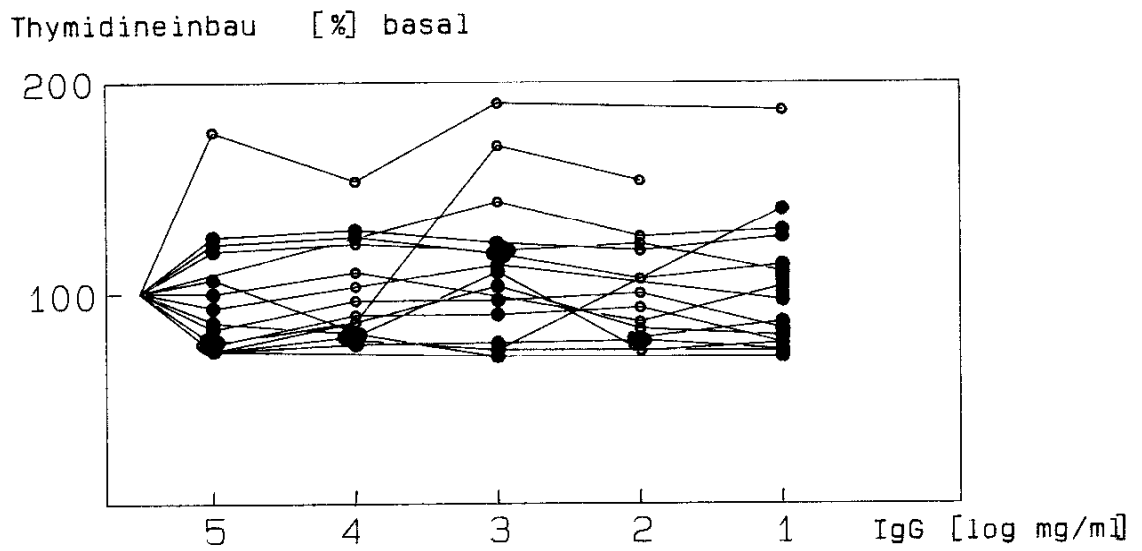
3.3.2. Eichkurven



Zeichnung 15: Stimulation des ³H-Thymidineinbaus mit TSH



Zeichnung 16: Stimulation des ^3H -Thymidineinbaus mit EGF

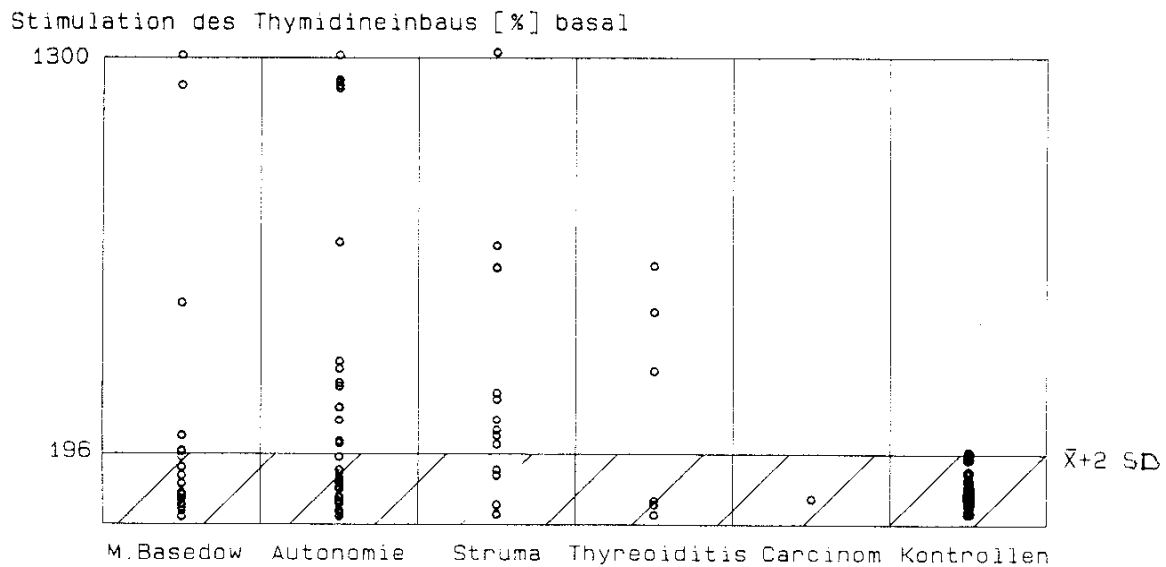


Zeichnung 17: Stimulation des ^3H -Thymidineinbaus mit unterschiedlichen Ig G-Konzentrationen

3.3.3. Wertetabelle

Die einzelnen Werte finden sich in Tabelle 17 im Anhang.

3.3.4. Graphische Ergebnisdarstellung



Zeichnung 18: Versuchsergebnisse nach Krankheitsgruppen geordnet

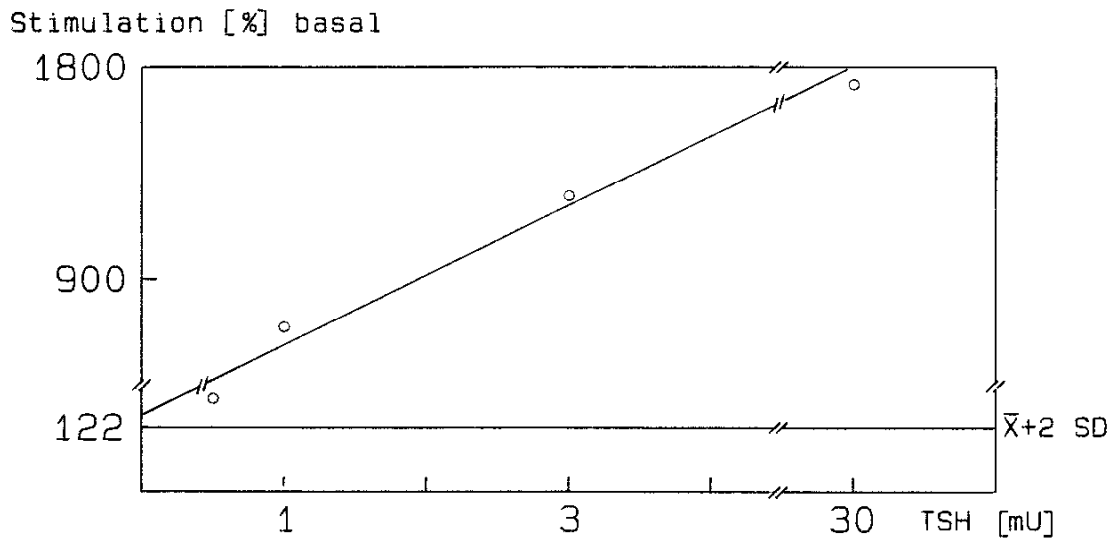
3.4. TSI (Adenylatcyclase)

3.4.1. Versuchscharakterisierung

Die Membranen zu diesem Versuch stammen von einem 35-jährigen Patienten, der wegen eines autonomen Adenoms strumektomiert wurde. Weitere Membranaufarbeitungen von einfachen Strumen zeigten nur eine maximal drei- bis vierfache Stimulation des Basalwertes.

Intraassayvarianz	12,4 ± 10,7 %
Interassayvarianz	20,0 ± 19,2 %
Modus	Doppelbestimmung
Streuung der Ergebnisse min.	13,48 pmol/30 Min./mg Membran
	max. 592,0 pmol/30 Min./mg Membran
Zahl der Kontrollen	n = 16
Mittelwert der Kontrollen (=100%)	34,5 pmol/30 Min./mg Membran
Varianz der Kontrollen (= 11%)	3,8 pmol/30 Min./mg Membran
Normgrenzen grenzwertig (± 2 SD)	122 %
	hoch positiv (± 5 SD) 155 %
Eichung 0,5 mU TSH	394 %
1 mU TSH	655 %
3 mU TSH	1.252 %
30 mU TSH	1.715 %

3.4.2. Eichkurve

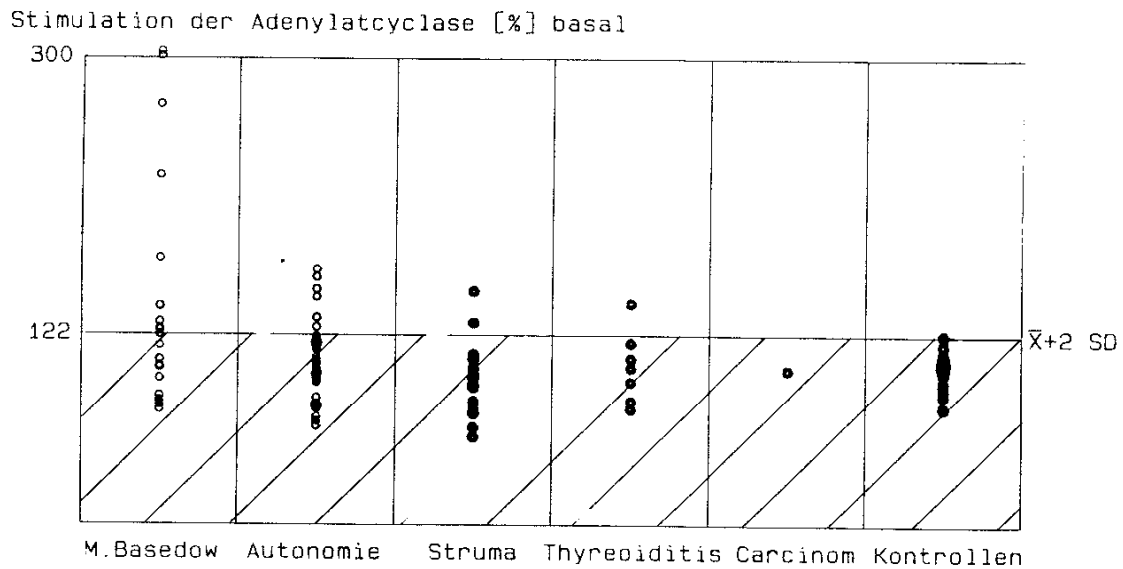


Zeichnung 19: Eichkurve

3.4.3. Wertetabelle

Die einzelnen Werte finden sich in Tabelle 17 im Anhang.

3.4.4. Graphische Ergebnisdarstellung



Zeichnung 20 Versuchsergebnisse nach Krankheitsgruppen geordnet

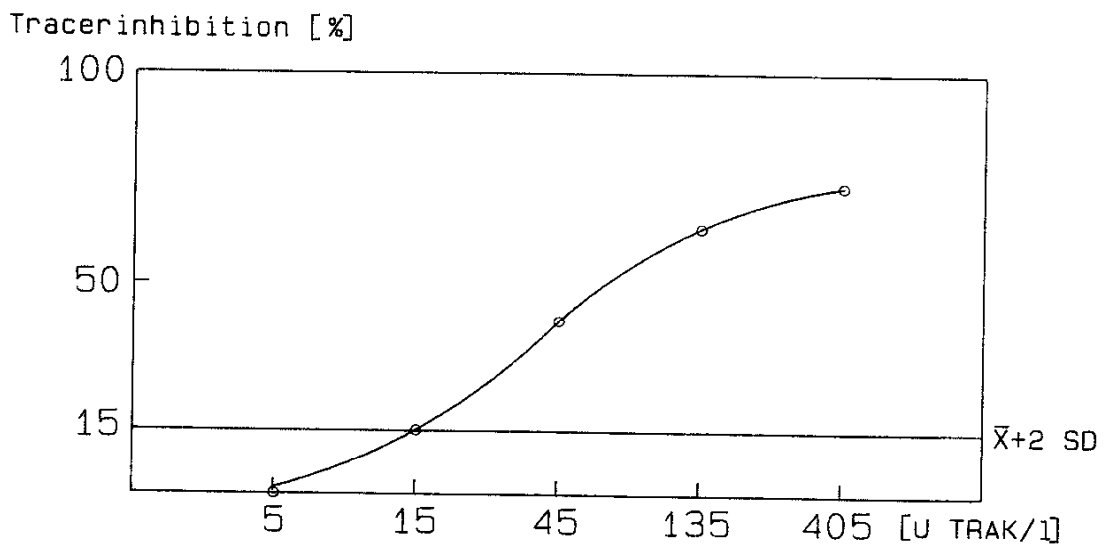
3.5. TBII (TSH-Rezeptor-Antikörper-Test)

3.5.1. Versuchscharakterisierung

Die Testdurchführung richtete sich nach der Arbeitsanleitung. Verarbeitet wurden zwei Testkits, für die letzten 20 Bestimmungen (Kontrollgruppe) handelt es sich nur um eine Einfachbestimmung.

Intraassayvarianz	7,0 ± 6,4 %
Interassayvarianz	8,1 ± 3,5 %
Modus	Doppelbestimmung
Streuung der Ergebnisse min.	0 % Inhibition
max.	80,1 % Inhibition
Zahl der Kontrollen	n = 20
Mittelwert der Kontrollen	7,5 %
Varianz der Kontrollen	3,9 %
Normgrenzen grenzwertig (± 2 SD)	15,3 %
hoch positiv (± 5 SD)	19,5 %
Eichung MRC-Standard B 65/122	
5 U TRAK/I	0 %
15 U TRAK/I	15 %
45 U TRAK/I	41 %
135 U TRAK/I	63 %
405 U TRAK/I	73 %

3.5.2. Eichkurve

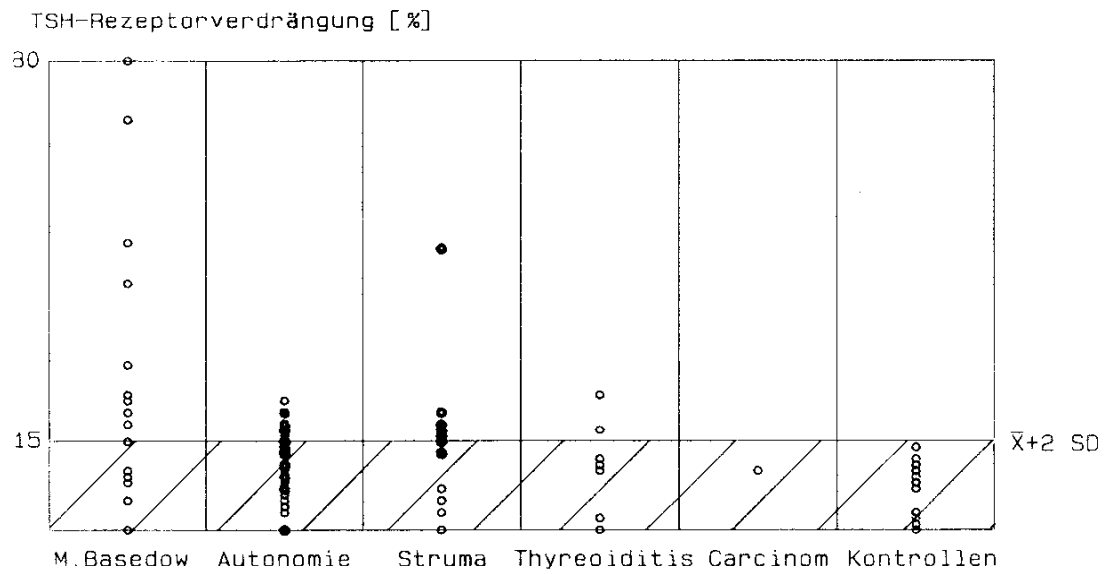


Zeichnung 21: Eichkurve

3.5.3. Wertetabelle

Die einzelnen Werte finden sich in Tabelle 17 im Anhang.

3.5.4. Graphische Ergebnisdarstellung



Zeichnung 22: Versuchsergebnisse nach Krankheitsgruppen geordnet

3.6. Verteilung der Antikörper

3.6.1. Antikörperhäufigkeiten

Tabelle 12 zeigt die Antikörperhäufigkeiten

	Tg	MAK	cAMP	Thy	TRAK	Ac
BASEDOW n=19	47%	63%	15%	36%	63%	52%
AUTONOMIE n=39	23%	35%	7%	37%	23%	15%
STRUMA n=15	13%	6%	6%	66%	33%	13%
THYREODITIS n=7	71%	0%	0%	42%	28%	14%
CARCINOM n=1	-	-	0%	0%	0%	0%
KONTROLLEN n=27	-	-	0%	3%	0%	0%

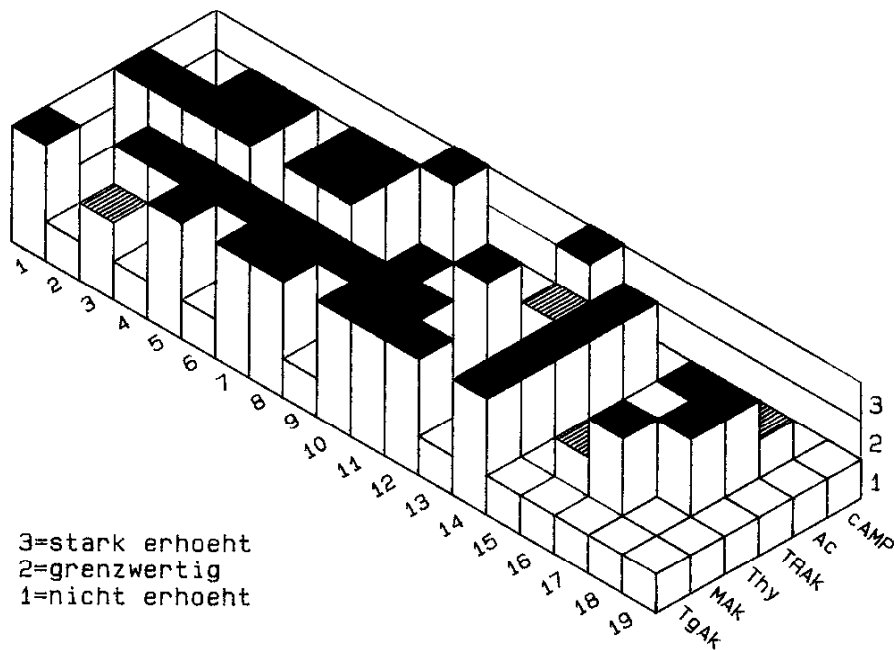
Dabei war die Kombination bei M. Basedow cAMP positiv/TRAK negativ in 3/19 Fällen (= 15%), cAMP negativ/TRAK positiv in 12/19 Fällen (= 63%), Ac positiv/TRAK negativ bei 2/19 Patienten (= 10%) und Ac negativ/TRAK positiv bei 4/19 Patienten (= 21%) gegeben, während cAMP positiv/TRAK positiv bei 2/62 Fällen (= 3%) und Ac positiv/TRAK positiv sich bei den anderen Patientengruppen nur bei 3/62 (= 4%) nachweisen ließ. Die Antikörperprofile zeigten sich bei Morbus Basedow in 16/19 Fällen (= 84%) in Übereinstimmung mit der Klinik (Ausnahme Pat. 1.2, 1.15 und 1.19) während man bei der Gruppe der autonomen Schilddrüsenfunktionen von der Antikörperverteilung bei 5/39 Patienten (= 12%) einen Morbus Basedow vermutet hätte.

3.6.2. Antikörperübersicht

Bei Vergleich der einzelnen Patientengruppen lassen sich einige besonders häufige Antikörperkonstellationen ausmachen.

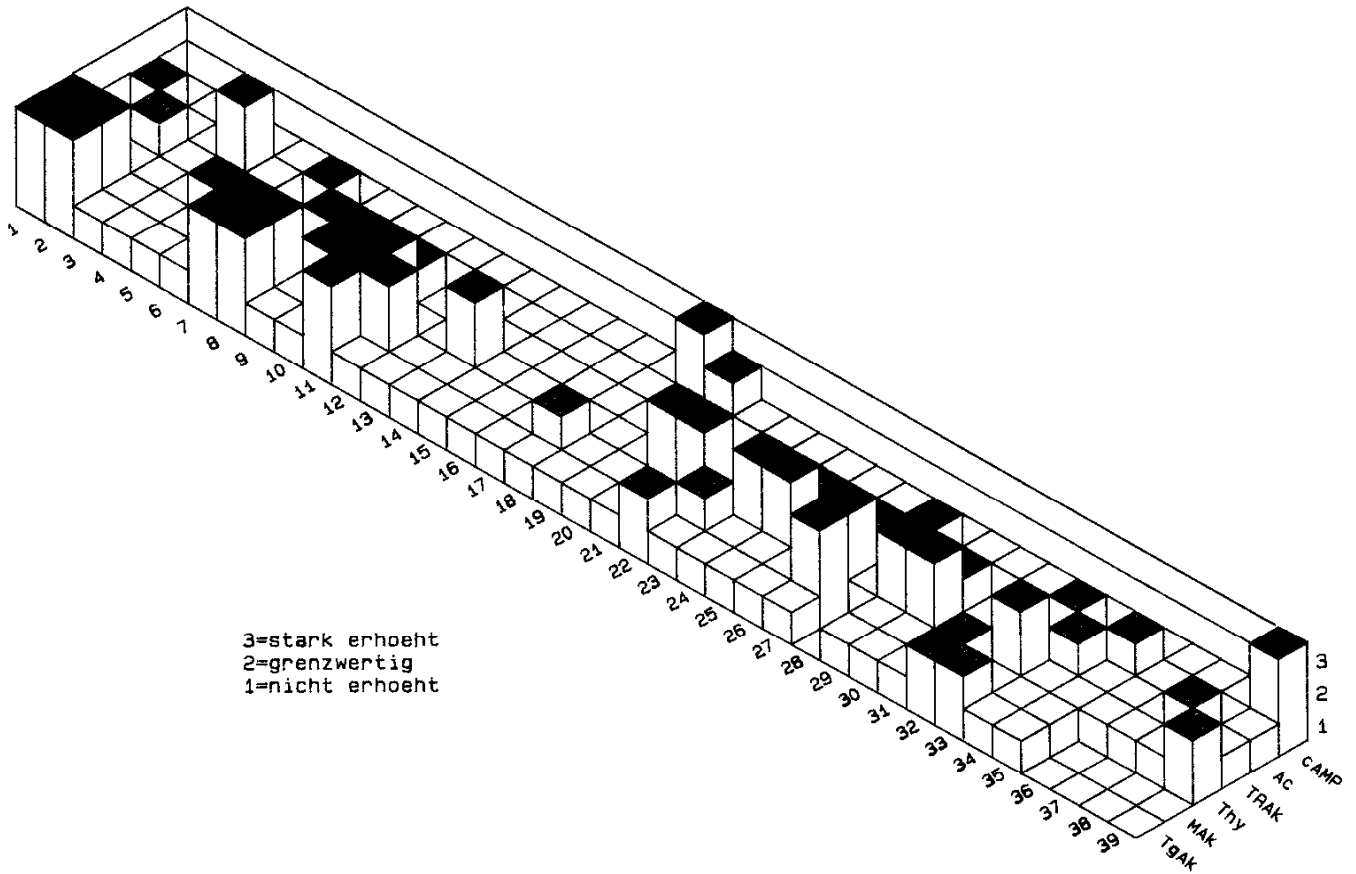
A. Morbus Basedow

Die Antikörperverteilung bei Morbus Basedow ist sehr heterogen und es lassen sich fast alle Kombinationen nachweisen.



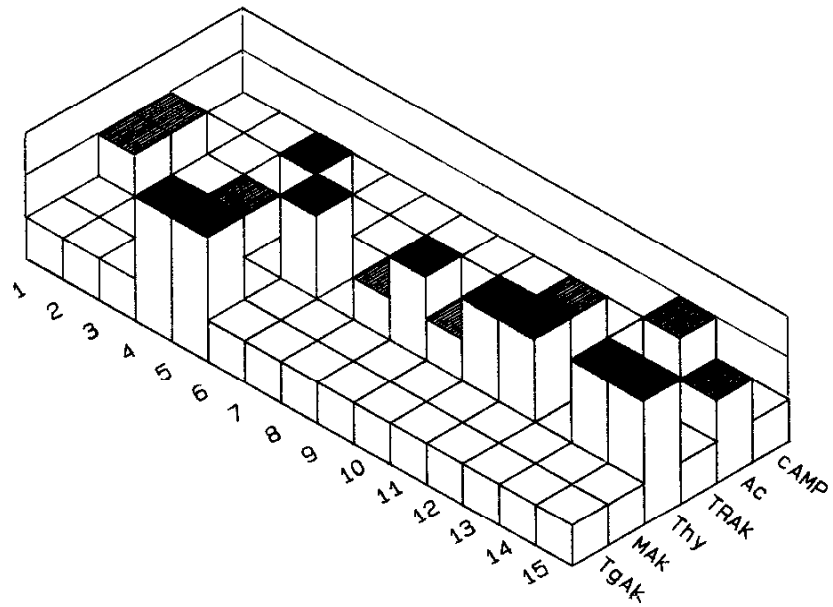
Zeichnung 23: Antikörperprofile bei Morbus Basedow

B. Autonome Schilddrüsenfunktion



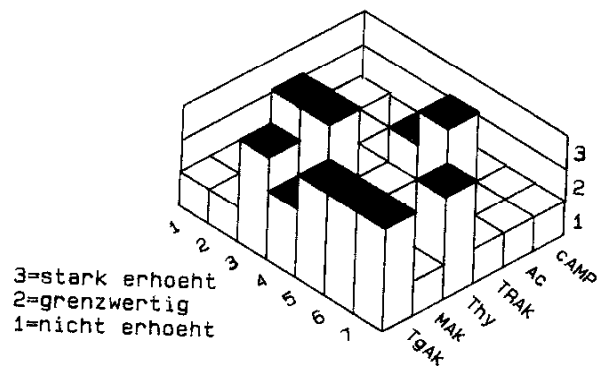
Zeichnung 24: Antikörperprofile bei autonomer Schilddrüsenfunktion

C. Struma



Zeichnung 25: Antikörperprofile bei blander Struma

D. Thyreoiditis



Zeichnung 26: Antikörperprofile bei Thyreoiditis

3.7. Statistik

3.7.1. Korrelationen der Antikörper (Hormonwerte)

Die Tabelle 15 zeigt die Korrelationsmatrix, wie sie mit dem einfachen Rangreihenkorrelationskoeffizienten berechnet wurde (n = 70).

Tabelle 15

TgAk	1.00*1 *2											
MAk	0.52 0.0001	1.00										
TSI (cAMP)	-0.14 ns	-0.08 ns	1.00									
TGI (Thy)	-0.02 ns	-0.12 ns	0.00 ns	1.00								
TBII (TRAK)	0.38 0.001	0.32 0.001	-0.01 ns	0.06 ns	1.00							
TSI (Ac)	0.21 0.01	0.38 0.001	0.02 ns	0.03 ns	0.70 0.0001	1.00						
Alter	0.18 ns	-0.13 ns	0.05 ns	-0.01 ns	-0.12 ns	-0.02 ns	1.00					
TSH	0.02 ns	0.10 ns	-0.23 0.01	0.08 ns	0.05 ns	0.00 ns	0.13 ns	1.00				
fT4	-0.03 ns	0.04 ns	-0.14 ns	-0.01 ns	-0.12 ns	-0.12 ns	-0.26 0.01	-0.09 ns	1.00			
T4	-0.08 ns	0.06 ns	-0.05 ns	0.15 ns	-0.06 ns	-0.17 ns	-0.35 0.001	-0.02 ns	0.41 0.001	1.00		
T3	0.17 ns	0.28 0.01	-0.13 ns	-0.15 ns	0.00 ns	0.15 ns	-0.16 ns	-0.17 ns	0.46 0.0001	0.05 ns	1.0	
	TgAk	MAk	cAMP	TGI (Thy)	TBII (TRAK)	TSI (Ac)	Alter	TSH	fT4	T4	T3	

*1 Korrelationskoeffizient $r =$
*2 Signifikanzniveau $p <$

Die Berechnung des Korrelationskoeffizienten in den einzelnen Krankheitsuntergruppen ergab keine Unterschiede zu den hier gezeigten Zahlen. Lediglich die Korrelation TSI/TBII bei M. Basedow lag mit $r = 0,82$ bei $p < 0,0001$ noch höher.

3.7.2. Korrelationen der Antikörper (Behandlungsverfahren)

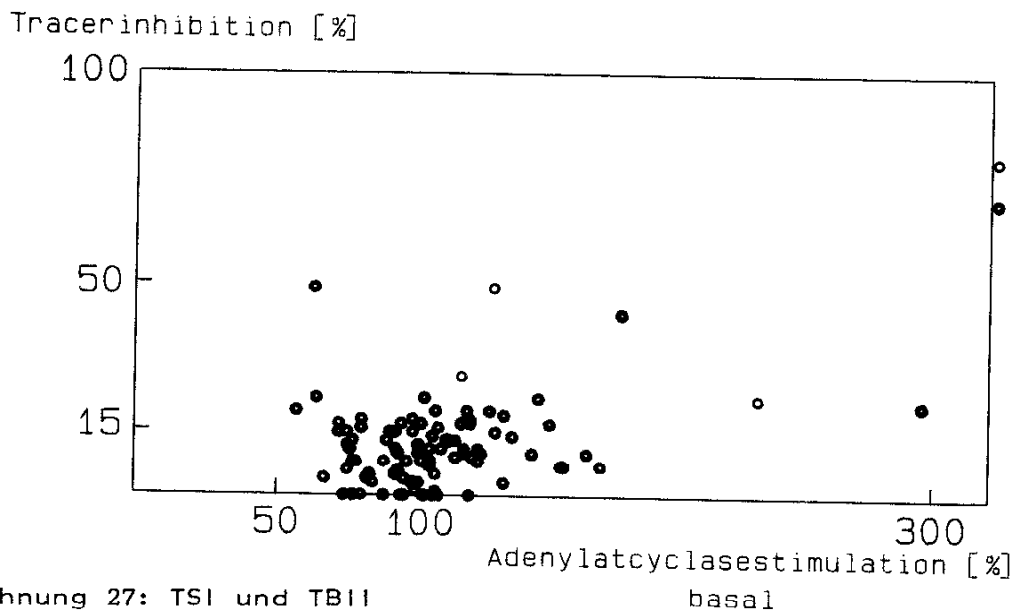
Die Abhängigkeit der sechs Antikörper von der bereits durchgeführten Behandlung (Tab. 16) wurde mit dem Chi-Quadrat-Test überprüft und ergab folgende positive Ergebnisse:

Tabelle 14: Chi-Quadrat-Test

Abhängigkeit zwischen	Chi-quadrat	Signifikanzniveau
Mak/Strumektomie	7,3	1 %
TgAk/unbehandelt	4,6	5 %
TBII/unbehandelt	4,3	5 %
TBII/Jodidprophylaxe	3,8	5 %

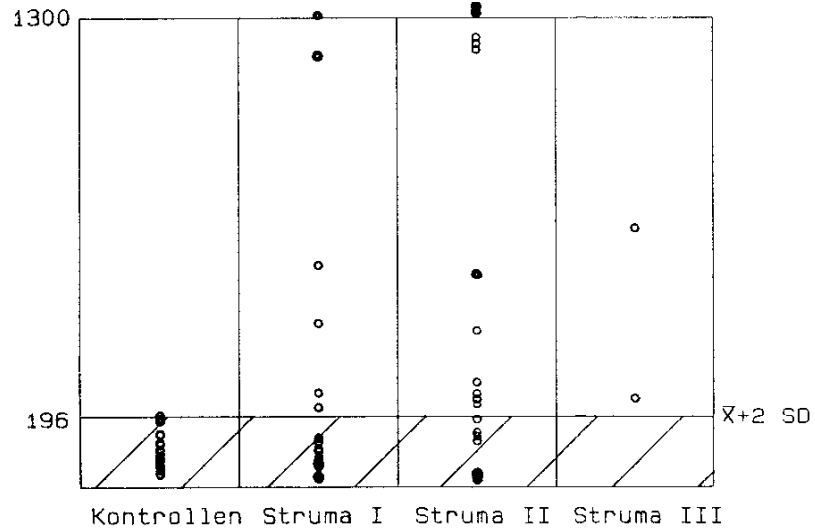
3.7.3. Graphische Darstellung der Antikörperkorrelationen

A. TSI und TBII



B. TGI und Strumagröße

Stimulation des Thymidineinbaus [%] basal



Zeichnung 28: TGI und Strumagröße

Von 26 Patienten mit Struma I zeigten 5 (= 19%), von 17 Patienten mit Struma II 8 (= 47%) und beide Patienten mit Struma III eine TGI-Aktivität.

4. Diskussion

4.1. Methodikdiskussion

4.1.1. Thyreoglobulin- und mikrosomale Antikörper

Der verwendete ELISA zeichnet sich aus durch einfache und standardisierte Handhabung, sowie hoher Sensitivität und Spezifität.

4.1.2. Ig G-Reinigung

Für die Routinetestung an einer größeren Fallzahl erscheint die Ammoniumsulfatpräzipitation ausreichend. Genauere Verfahren, wie die Hochdruckflüssigkeitchromatographie (HPLC) sind nach Rapoport /101/ zu kostspielig und arbeitsaufwendig, ohne daß sich der Aufwand in einer höheren Präzision niederschlagen würde. Der Reinheitsgrad der erhaltenen Fraktion ist sehr unterschiedlich, die Literaturangaben schwanken zwischen 50 % /122/ und 70 % /80/. Im Serum enthaltenes TSH wird nicht vollständig eliminiert, bei den Patienten 2.11 und 4.7 wurden 15 % der ursprünglichen Serummenge wiedergefunden; beide Patienten zeigten aber keine Ac-Stimulation und nur grenzwertige TRAK-Werte. Eine Interferenz mit Serum-TSH ist daher unwahrscheinlich.

Eine Verunreinigung mit weiteren Wachstumsfaktoren des Serums ist aber trotzdem noch möglich.

Ungeklärt ist der variable, aber signifikante Effekt von normalem Immunglobulin /80/.

Der Ig-Spiegel im peripheren Blut muß dabei nicht unbedingt der Absolutkonzentration in der Schilddrüse entsprechen, da peripher vermutlich nur der "overflow" der Schilddrüse gemessen wird /115/.

Die Ig G-Fraktion wurde maximal neun Monate bei -20°C gelagert, nach /122/ behalten die Immunglobuline auch noch nach vier Jahren ihre biologische Aktivität.

4.1.3. Gewebeaufarbeitung

Die Gewebeaufarbeitung mit Dispase/Collagenase bringt optimale Ergebnisse. Sowohl Zellausbeute (3×10^6 Zellen/g Frischgewebe) als auch Viabilität (größer als 90 % in der Trypanblaufärbung) sind befriedigend. Schwierigkeiten gibt es vor allem bei länger bestehenden Zellkulturen, Thyreozyten von Fibroblasten zu unterscheiden. Die Differenzierung der Zellen ist zumindest für die ersten zehn Tage der Primärkultur erhalten, was sich am TSH-abhängigen Jodeinbau nachweisen ließ (nicht gezeigte Daten).

Bisher ist unklar, inwieweit Faktoren der Zellkultur Epiphänomene produzieren können. Möglichkeiten bestehen in Jodmangel in der Kultur, unspezifischen Faktoren des fötalen Kälberserums, EGF (= epidermal growth factor)-Kontamination u.a.. Auch ist bisher noch nicht untersucht, wie sich die Vorbehandlung der Patienten (z.B. Plummerung) auf die Zellkulturen auswirkt. Denkbar erscheint auch, daß das Trauma der enzymatischen Zerkleinerung zu einer Downregulation oder Degradation der Rezeptoren führt.

4.1.4. cAMP-Messung

Obwohl diese Methode von vielen Arbeitsgruppen angewendet wird, ist sie störanfällig und schlecht reproduzierbar. Es ist nicht nur schwierig, die Zellen in Microtiterplatten mit exakt gleicher Zellzahl auszusäen, auch sind die Zellen je nach vorheriger Inkubationsdauer unterschiedlich reaktionsbereit. Bei Extraktion und Messung des gebildeten cAMP ergeben sich Schwierigkeiten mit Interferenz von mit-extrahiertem Zellprotein, das parallel zu dem Bindungsprotein Radioaktivität bindet und somit das Ergebnis verfälscht. Obwohl die maximal erzielten Mengen cAMP durchaus im Rahmen früherer Untersuchungen liegen /102/, erscheint die Zahl unserer antikörperpositiven Basedow-Patienten vor allem im Vergleich zum Ac-Assay zu gering. Daher soll im weiteren auf die TSI-Werte des Ac-Assay Bezug genommen werden.

4.1.5. Thymidineinbau

Die Stimulation des Thymidineinbaus wurde mit Patienten-Immunglobulinen bisher dreimal untersucht. Die folgende Tabelle zeigt einige der methodischen Probleme, warum sich die Thymidininkorporation nicht unbedingt mit DNA-Zunahme und damit der Zellproliferation gleichsetzen läßt /nach 76/.

Tabelle 15

Schwierigkeiten mit

1. Thymidinchemie: radiochemische Verunreinigung, Schwankung der spezifischen Aktivität, Strahlungseffekte der Tritiumzerfalls (DNA-Kettenabbruch, Wachstumsverzögerung, Zelltod)
2. Thymidinmetabolismus: Beeinflussung des Transports durch die Zellmembranen, der Phosphorylierung und der Polymerisierung, bei Thymidinzerfall wird nur Tritium eingebaut

3. Zellmetabolismus: Antreffen der Zellen in unterschiedlichen Zyklusphasen (S-Phase ist relevant!), Ablauf von Reparaturprozessen an der DNA, DNA-Umsatz in Mitochondrien und Centriolen
4. Experimentelle Faktoren: Einflüsse der Versuchsanordnung, Vorbehandlung der Zellen, Aufarbeitung, Medien, Ig G-Konzentration, in vitro Artefakte ?

Soweit möglich, wurden die Assaybedingungen nach Literaturangaben optimiert. Eine Eichung mit TSH ließ sich in 12 Vorversuchen nur dreimal durchführen. TSH und EGF zeigten im Thymidineinbau eine deutlich geringere Potenz als die Ig G-Präparationen. Die Zahl der positiven Ergebnisse liegt eindeutig höher als in den in Tabelle 18d (Anhang) vorgestellten Publikationen. Mögliche Ursache könnte die verminderte Kreuzreaktivität der Immunglobuline mit Schweinezellen oder FRTL 5-Zellen sein (Angaben zur Speziespezifität bei /153/). Dies erscheint ein generelles Problem bei der Testung von Antikörpern auf Zellkulturen. Während sich bei der autologen Inkubation eine hochspezifische Reaktion auslösen läßt, ist dies bei einer homologen Versuchsanordnung nur noch selten /47/ oder gar nicht mehr der Fall /152/. Bei dem vergleichbaren Stimulationsprotokoll von Schatz /112/ wurde die fünffache Menge an gespeicherter Radioaktivität in den Zellen erzielt. Möglicherweise wird aber durch alleinige TCA-Behandlung nicht nur die säurefällbare DNA, sondern der gesamte intrazelluläre Pool an radioaktivem Thymidin gemessen. Für in vitro Experimente an langfristig unter Wachstumsstimulation gehaltenen Zellkulturen wurde eine Desensibilisierung durch intrazelluläre Veränderung vorgeschlagen /126/, die durch (nicht gezeigte) Daten unserer Arbeitsgruppe bestätigt werden kann.

4.1.6. Adenylatcyclase

Die Testung der Adenylatcyclase an der isolierten Membran gehört zu den lange etablierten Methoden. Verwiesen sei hier auf frühere Veröffentlichungen /46/. Durch die niedrige Sensitivität des Assays bei "normalen" Schilddrüsenmembranen haben wir eine Membranaufarbeitung eines autonomen Adenoms gewählt. Falls die autonome Schilddrüse tatsächlich eine veränderte Zahl von Rezeptoren oder einen abnormalen Rezeptor aufweisen sollte /59/, wären bei unserer Versuchsbedingung zu viele Patienten mit falsch positiven Werten bestimmt; allerdings ist dies nicht unwidersprochen geblieben /21/.

4.1.7. TRAK

Vor- und Nachteile dieser Methode sind in der Vergangenheit schon ausführlich abgehandelt worden (Literaturübersicht in Tabelle 18e im Anhang). Seit zwei Jahren gibt es dieses Assay mit vorgefertigten Reagentien zu kaufen. Die Bereichsgrenze haben wir im Unterschied zu anderen Arbeitsgruppen etwas höher auf 15,2 % Tracerinhibition (Mittelwert der Kontrollen plus doppelte Standardabweichung) gelegt; das entspricht nach Literaturangaben einer Sensitivität und Spezifität von 87 % /54/. Die hohe Streuung innerhalb der Kontrollgruppe rechtfertigt diese Entscheidung.

4.2. Diskussion der Ergebnisse

4.2.1. Thyreoglobulin- und mikrosomale Antikörper

Kleine Mengen Thyreoglobulin, die der intrathyroidalen Proteolyse entkommen, sind auch bei gesunden Personen zu finden. Erhöhte Spiegel werden bei einer Reihe von physiologischen und pathologischen Bedingungen gefunden. Da Thyreoglobulin vorwiegend extra-

zellulär im Follikellumen gespeichert wird, könnte man den Thyreoglobulinspiegel als Maß für die follikuläre Destruktion nehmen. Da Thyreoglobulin auch im Blut von Gesunden nachgewiesen werden kann, ist anzunehmen, daß Thyreoglobulin selbst noch keine antigene Wirkung besitzt und es erst durch weitere Faktoren, wie Alteration der Molekülstruktur von Thyreoglobulin oder auch des Immunsystems, zur Antikörperbildung kommt. Bei Carcinom-Patienten wurde Thyreoglobulin mit einer veränderten Amminosäuresequenz beschrieben /93/.

Das mikrosomale Antigen der Schilddrüse wurde mit Immunfluoreszenz im apikalen Cytoplasma der Follikelzelle lokalisiert. Es ist wahrscheinlich, daß dieses Antigen inherenter Teil des glatten endoplasmatischen Reticulums ist. Die Mikrosomen bestehen aus einem Lipoprotein und Membranen, die neu synthetisiertes Thyreoglobulin vom Golgiapparat zum Kolloid befördern. Ob die Mikrosomen selbst als Antigene wirken, ist nicht sicher. Die Injektion von mikrosomalem Antigen kann beim Versuchstier zur Auslösung einer Thyreoiditis führen. Mikrosomale Antikörper sind somit am ehesten als Ausdruck der zellulären Vulnerabilität zu interpretieren (Literatur zu diesem Abschnitt bei /96/).

Auschnitt aus Tabelle 19: Literaturübersicht (im Anhang)

		Basedow		Autonomie		Thyreoiditis		Struma		Sonstiges	
		n=	pos.=	n=	pos.=	n=	pos.=	n=	pos.=	n=	pos.=
gesamt	MAk	210	45%	515	54%	146	76%	514	7%		
	TgAk	247	34%	547	39%	164	50%	580	20%		
eigene Zahlen	MAk	19	63%	34	35%	6	0%	15	6%	1	0%
	TgAk	19	46%	34	23%	7	71%	15	13%	1	0%

Erstaunlich ist die geringe Diskrimination der Antikörper zwischen Morbus Basedow und thyroidalen Autonomie in den Literaturangaben. Unsere Zahlen liegen für die Autonomie etwas niedriger. Ansonsten stimmen die Ergebnisse mit den Mittelwerten der Literaturübersicht überein; lediglich das Auftreten der MAk erscheint zu gering. Keine

unserer Patientinnen befand sich in der hochakuten Krankheitsphase; außerdem konnte retrospektiv nicht mit Sicherheit in Erfahrung gebracht werden, ob wirklich eine Thyreoiditis Hashimoto oder eine andere nicht "autoimmune" Form vorlag.

4.2.2. Funktionsstimulierende Antikörper (TSI)

Auschnitt aus Tabelle 18b, 18c: Literaturübersicht (im Anhang)

	Zellen	Basedow		Autonomie		Thyreoiditis		Struma		Sonstiges	
		n=	pos.=	n=	pos.=	n=	pos.=	n=	pos.=	n=	pos.=
TSI gesamt		940	78%	33	3%	70	15%	66	6%		
cAMP-Stim. eigene Zahlen	human	19	15%	39	7%	6	0%	15	6%	1	0%
Ac-Stim. eigene Zahlen	human	19	52%	39	15%	7	14%	15	13%	1	0%

Für die Literaturübersicht gilt folgende Einschränkung: Nicht in allen zitierten Arbeiten finden sich exakte Zahlenwerte und Prozentangaben, teilweise mußten die Ergebnisse aus Zeichnungen entnommen werden. Auch ist die Selektion der Patienten sehr unterschiedlich und nicht immer wurden die Diagnosekriterien angegeben. Bei M.Basedow wurde jeweils das unbehandelte Kollektiv gewählt; so erklärt sich, daß die Zahl der antikörperpositiven Patienten in der Literaturübersicht höher ist, da wir alle M.Basedow-Patienten wegen der geringen Zahl zusammengefasst haben.

Der Ac-Assay erbringt etwas niedrigere Werte bei Basedow-Patienten, leicht erhöhte Werte bei der autonomen Schilddrüsenfunktion, Thyreoiditis- und Strumapatienten sind vergleichbar. Die Basedow-Werte sind wohl durch den großen Anteil der behandelten Patienten zu niedrig, da während der Remission die TSI-Werte fallen. Bei der Autonomie kann man vermuten, daß der Assay eine zu niedrige Spe-

zifität hat oder in diesem Kollektiv einige falsch klassifizierte Patienten enthalten sind, die in Wirklichkeit an M. Basedow leiden. Denkbar wäre auch, daß sich ein Patient noch im präklinischen Stadium vor Manifestation seiner Krankheit befindet.

Die verwickelten Zusammenhänge zwischen TSI und TBII wurde durch die Einführung der monoklonalen Antikörper etwas erhellt /132/. Man konnte eindeutig den Unterschied zwischen bindenden und stimulierenden oder nur bindenden bzw. nur stimulierenden Antikörpern erkennen. Ein stimulierender Antikörper kann also wohl in der Lage sein, TSH von seiner Rezeptorbindung zu verdrängen, aber das Gegenteil ist nicht unbedingt gegeben. Dies war das Ergebnis einer Reihe von Versuchen, in der individuelle Ig G-Proben nicht unbedingt ihre Potenz im Stimulationsversuch behielten /37, 69/. Für die Reaktion der TBII an der Zelle wurde zum einen die Gangliosidkomponente des Rezeptors /139/, verschiedene Klassen von Bindungsstellen /66/ sowie ein Membranglycoprotein mit hoher TSH-Affinität in Rezeptornähe vorgeschlagen. Die biochemische Reaktionskette ist nicht bekannt. Auch die Abhängigkeit dieses Prozesses von TSH ist ungeklärt. Am wahrscheinlichsten erscheint ein permissiver Effekt des TSH /64/, der bei Jodmangel ein Schilddrüsenwachstum hervorruft.

Eine weitere interessante Frage wirft die Abnahme der TSI-Aktivität nach Therapie auf /79, 147/. Zumindestens für die Operationen der M. Basedow-Patienten gilt, daß bei der Resektion auch gleichzeitig ein Großteil der aktiven Lymphozyten entfernt wird /18, 58/. Für die Wirkung der Thyreostatika wurde ein immunsuppressiver Effekt vermutet; zumindestens erscheint es einleuchtend, daß durch Normalisierung der Stoffwechsellage auch der Metabolismus der Lymphozyten wieder gedrosselt wird. Eine dritte Möglichkeit wäre die Annahme, daß es nach Blockierung der Schilddrüsenhormonproduktion zu einem geringen Anstieg von TSH kommt, welches den defekten antigenen Rezeptor besetzt und damit über die Antigenkarenz die Antikörperproduktion sinkt.

Festzuhalten ist, daß sich bei M.Basedow überzufällig häufig TSI nachweisen lassen, bei anderen Schilddrüsenerkrankungen aber mit den vorgestellten Methoden sich auch eine geringe Inzidenz findet.

4.2.3. Wachstumsstimulierende Antikörper (TGI)

Auschnitt aus Tabelle 18d: Literaturübersicht (im Anhang)

	Zellen	Basedow		Autonomie		Thyreoiditis		Struma		Sonstiges	
		n=	pos.=	n=	pos.=	n=	pos.=	n=	pos.=	n=	pos.=
gesamt		60	60%			5	40%	80	11%		
eigene Zahlen	human	19	36%	37	37%	6	66%	15	42%	1	0%

Infolge der niedrigen Fallzahlen wird ein Vergleich hier schwieriger. Die Ergebnisse bei M.Basedow würden am ehesten die Zahlen von Chiovato /19/ stützen. Die Werte bei Struma-Patienten sind deutlich höher ausgefallen als erwartet, bei der Thyreoiditis finden sich ähnliche Werte, für die Autonomie gibt es keine vergleichbare Daten. Die größten Unterschiede werden durch die unterschiedlichen Substrate (Rattenzelllinie, Schweinezellen) begründet sein. Verblüffend ist nicht nur die große Zahl antikörperpositiver Patienten bei einfacher Struma, sondern auch bei der autonomen Schilddrüsenfunktion.

Eine Tendenz von hohen TGI-Werten zu größeren Strumen konnte in Zeichnung 28 gezeigt werden.

Neueste Untersuchungen haben einen monoklonalen Antikörper mit TGI-Aktivität entdeckt; der Effekt der TGI auf den modifizierten Metaphase-Index-Assay kann durch Anti-Ig G vollkommen blockiert werden (Drexhage 1986, Kongreßreferat).

Erste Hinweise auf einen immunologischen Defekt bei euthyreoten Strumapatienten findet sich bei /135/.

In dem etwa hundertfach sensitiverem cytochemischen Bioassay /150/ wurden bei Struma-Patienten ebenfalls bis 80 % TGI gefunden. Ob die TGI wirklich auch für die Pathogenese des M. Basedow, der Autonomie, Thyreoiditis und vor allem der Struma verantwortlich gemacht werden können, müssen weitere Untersuchungen, Methoden und größere Fallzahlen bringen. Interessant wäre eine prospektive Differenzierung in Abhängigkeit von der Jodversorgung und der sonographischen Schilddrüsenvolumenmessung. Die Existenz der TGI könnte die Rezidive trotz Jod oder T 4-Medikation /89/ erklären.

Ob die TGI außer der Schilddrüse auch Augenmuskulgewebe zum Wachstum stimulieren können, ist unklar /63/. In einer weiteren Arbeitsphase wollen wir mit den hier getesteten Immunglobulinpräparationen versuchen, die Kollagensynthese in Fibroblasten zu stimulieren /106/.

4.2.4. Rezeptorbindende Immunglobuline (TBII)

Auschnitt aus Tabelle 19. Literaturübersicht (im Anhang)

	Membran	Basedow		Autonomie		Thyreoiditis		Struma		Sonstiges	
		n=	pos.=	n=	pos.=	n=	pos.=	n=	pos.=	n=	pos.=
gesamt		1927	67%	226	5%	269	14%	439	7%		
eigene Zahlen	TRAK °	19	63%	39	23%	7	28%	15	33%	1	0%

Trotz unterschiedlichster Versuchsbedingungen zeigt sich bei dem Vergleich von fast 2.000 Patienten eine niedrigere Spezifität unseres Assays. Die Unterschiede werden mit den gleichen Argumenten wie in Kapitel 4.2.2 begründet.

Die Zahl der positiven Ergebnisse ist bei der autonomen Schilddrüsenfunktion mit 23% versus 5% in der Literatur und bei der Struma mit 33% gegenüber 7% deutlich höher. Inwieweit die Rezeptorpräparationen unterschiedlich ausfallen, oder ob die in Kap. 4.1.7. und 4.2.2. angeführten Gründe verantwortlich sind, bleibt offen.

4.2.5. Diskussion der statistischen Ergebnisse

Ein Vergleich mit Literaturangaben zeigt, daß die TSH-Rezeptor-Antikörper nicht mit Thyreoglobulin /39, 111/, dagegen aber leicht mit mikrosomalen Antikörpern ($r = 0.45$ bei $p < 0.001$ /111/ und $r = 0.46$ bei $p < 0.01$ /39/) korrelieren. Die Meinungen über das Verhältnis zwischen TBII und TSI sind geteilt: Pro Korrelation ($r = 0.90$ bei $p < 0.01$ /2/, $r = 0.58$ bei $p < 0.0001$ /12/, $r = 0.69$ bei $p < 0.001$ /24/, $r = 0.93$ /50/) und contra Korrelation /45, 65, 69, 140/. Weder für TBII und TGI /134/, noch TSI und TGI /132/ konnte bisher eine Korrelation gesehen werden. Damit stimmen die vorliegenden Zahlen überein: Schwache Korrelation zwischen TBII und TgAk sowie TBII und MAK. Die schwache Korrelation wird sich über das simultane Auftreten der jeweiligen Antigene bei den verschiedenen Schilddrüsenerkrankungen erklären. Ebenso läßt sich die Korrelation zwischen TgAk und MAK erklären. Die deutliche Korrelation zwischen TSI und TBII unterstützt die These, daß die TSI über die Rezeptorbindungsstelle des TSH agieren. Die TGI ließen sich in Übereinstimmung mit den Literaturwerten mit keinem anderen Antikörper korrelieren; dies legt die Vermutung nahe, daß die TGI nicht an der TSH-Rezeptor-Bindungsstelle angreifen.

Korrelation zwischen Antikörpern und Behandlungsverfahren wurden bisher nicht untersucht. Unsere Zahlen zeigen eine statistische Abhängigkeit zwischen mikrosomalen Antikörpern und operierten Patienten. Wenn man die mikrosomalen Antikörper als Marker für die Zell-

vulnerabilität ansieht, ließe sich die Beziehung zu dem chirurgischen Eingriff verstehen. Alle weiteren leicht positiven Ergebnisse sind als zufällig zu werten, da ein behandeltes Kollektiv in einer Schilddrüsensambulanz eher antikörperpositiv ist als ein unbehandeltes.

4.3. Allgemeine Diskussion

4.3.1. Ergebniszusammenfassung und Interpretation

In den Kapiteln 4.2.1. bis 4.2.5. konnte gezeigt werden:

1. hohe Inzidenz von TgAk bei M.Basedow und Thyreoiditis. Folgerung: Assoziation mit follikulärer Destruktion.
2. hohe Inzidenz von MAk bei M.Basedow, autonomer Schilddrüsenfunktion (und Thyreoiditis). Folgerung: Kombination mit einem Zellschaden.
3. hohe Inzidenz von TSI bei M.Basedow. Folgerung: TSI sind verantwortlich für die Pathogenese des M.Basedow.
4. mäßige Inzidenz von TGI bei M.Basedow, hohe Inzidenz bei autonomer Schilddrüsenfunktion, Thyreoiditis und vor allem bei Struma-Patienten. Folgerung: TGI könnten eine Rolle bei diesen Krankheiten spielen.
5. hohe Korrelation zwischen TBII und TSI. Folgerung: TSI agieren über die TSH-Rezeptor-Bindungsstelle.
6. keine Korrelation zwischen TBII und TGI. Folgerung: TGI agieren nicht über die TSH-Rezeptor-Bindungsstelle.

4.3.2. Klinische Relevanz

TgAk und mikrosomale Antikörper werden bei Verdacht auf Autoimmunthyreopathien schon häufig bestimmt. Die Bestimmung weiterer Antikörper (ANA, AMA...) bringen keinen Fortschritt in der Diagnose. Den gezeigten Daten entsprechend lassen sich bei der Thyreoiditis positive Werte für MAK und TGAK erwarten, bei M.Basedow eher nur erhöhte MAK. Allerdings zeigt die Literaturübersicht, daß die Diskrimination zu anderen thyroidalen Erkrankungen nicht besonders hoch ist.

Ein Fortschritt könnte die Bestimmung der TBII mit dem TRAK bringen, da alle weiteren hier vorgestellten Methoden noch nicht "klinikreif" sind. In ausgewählten Fällen könnte der TBII-Wert bei der Differenzierung zwischen M.Basedow und autonomer Schilddrüsenfunktion dienen. Aber auch als score für die Krankheitsaktivität, für die frühzeitige Erkennung von Rezidiv und Remission, der Klassifikation einer unklaren Ophthalmopathie und für das Erkennen der Neugeborenenhypothyreose ließe er sich verwenden. Von einer kritiklosen Anwendung sollte vorläufig noch abgeraten werden, da der Assay zu teuer für den routinemäßigen Gebrauch ist und noch zu wenige experimentelle Daten zur Interpretation vorliegen. Für die Forschung aber bietet er sich an und man wird vor allem auf Follow-up-Studien mit verschiedenen Therapieformen und -zyklen gespannt sein /51/. Gerade der M.Basedow als "multisystem disease" hat sich bisher jeder Prognose auf Exazerbation und Remission entzogen.

Die Bestimmung der TSI wird sich nur bei ganz extremen Fragestellungen lohnen, wo zwischen stimulierenden und blockierenden Antikörpern unterschieden werden muß.

Die TGI-Bestimmung ist noch nicht sinnvoll für die Klinik, obwohl der Nachweis einer "immunologischen" Struma klinische Auswirkungen hätte: Vermutlich wäre es sinnvoller, einen Patienten schon bald zu operieren, da sich mit Thyroxin das Strumawachstum nicht supprimieren läßt.

Die große Zahl der Methoden und die Geschwindigkeit, mit der jeder Assay durch einen leicht verbesserten ersetzt wird, illustriert die Komplexität der Antikörper. Ihre Bestimmung hat mit den beschriebenen Einschränkungen einen sinnvollen Platz bei Diagnose, Therapie und Prognose der Schilddrüsenerkrankungen.

Zusammenfassung

Untersucht wurden 84 Ig G-Präparationen von 81 Patienten mit unterschiedlichen Schilddrüsenerkrankungen (M. Basedow (n=19), autonome Schilddrüsenfunktion (n=39), Struma (n=15), Thyreoiditis (n=7) und Carcinom (n=1), sowie 27 Ig G-Fraktionen einer Kontrollgruppe auf die Inzidenz von Autoantikörpern gegen die Schilddrüse.

Hoch positive Werte wurden erzielt 1. für Thyreoglobulinantikörper (TbAk) bei M. Basedow (47%) und Thyreoiditis (71%), 2. für mikrosomale Antikörper (MAk) bei M. Basedow (63%) und autonome Schilddrüsenfunktion (35%), 3. für TSH-Rezeptor-Antikörper (TBII) bei M. Basedow (63%), 4. für stimulierende Antikörper (TSI), gemessen an der intrazellulären cAMP-Akkumulation und der Adenylatcyclase an der isolierten Membran, bei M. Basedow (52%), 5. für wachstumsstimulierende Antikörper (TGI), gemessen am Thymidineinbau in die Zellen bei M. Basedow (36%), Autonomie (37%), Struma (66%) und Thyreoiditis (42%).

Die Assaysysteme werden charakterisiert und die Ergebnisse mit Klinik der Patienten und Literaturangaben verglichen; statistische Korrelationen werden berechnet und die Ergebnisse graphisch veranschaulicht.

Daraus folgt: 1. Fast jeder Patient besitzt ein eigenes, typisches Antikörperprofil 2. TgAk und vor allem MAk sind bei der Thyreoiditis Hashimoto und M. Basedow stark erhöht 3. TSI sind an der Pathogenese des M. Basedow beteiligt, 4. TGI könnten eine Rolle bei Initiation des M. Basedow, der Autonomie, Thyreoiditis und vor allem der Struma spielen, 5. TSI agieren wahrscheinlich über die TSH-Rezeptor-Bindungsstelle, die TGI jedoch nicht, 6. die Bestimmung

dieser zusätzlichen Antikörper ist zwar noch nicht sinnvoll für die klinische Routine, könnte aber bei bestimmten Fragestellungen eine wertvolle Ergänzung bei Diagnose und Therapie von Schilddrüsenerkrankungen haben.

Tabellen 17: VERSUCHSERGEBNISSE

Die Fußnoten gelten für alle folgenden Zeilen und Spalten

*1 Angabe in IU/ml

*2 Bewertungsfaktor 0 = nicht bestimmt

1 = nicht erhöht

2 = grenzwertig oder leicht erhöht

3 = stark erhöht

*3 Angabe in pg cAMP/90 Min./50000 Zellen

*4 Prozentangabe, auf den Mittelwert der Kontrollen bezogen

*5 Angabe in cpm/24 Stunden/10000 Zellen

*6 Bindungsinhibition des markierten TSH in Prozent

*7 Angabe in pmol cAMP/30 Min./mg Membran

BASEDOW												
Pat.	TgAk		MAk		cAMP		Thymidin		TRAK		Ac	
1.1	*1	1187	*1	288	*3	1.05	*5	109	*6	49	*7	43.4
					*4	96	*4	58			*4	126
	*2	3	*2	1	*2	1	*2	1	*2	3	*2	2
1.2		15		169		0.69		257		27.8		39.6
						63		136				115
		1		1		1		1		3		1
1.3		469		2892		0.56		137		22.8		75.5
						51		73				219
		2		3		1		1		3		3
1.4		270		2945		1.29		391		80.1		258.0
						118		207				748
		1		3		1		2		3		3
1.5		229		1080		0.25		90		0		32.4
						23		48				94
		3		3		1		1		1		1
1.6		211		2419		0		168		42.8		58.9
						0		89				171
		1		3		1		1		3		3
1.7		2800		3000		0		156		21.7		97.2
						0		83				282
		3		3		1		1		3		3
1.8		1939		3000		3.37		43		0		25.5
						307		23				74
		3		3		3		1		1		1
1.9		256		2465		0.56		470		9.2		34.8
						51		249				101
		1		3		1		2		1		1
1.10		837		937		0.33		1169		15.6		27.6
						30		619				80
		3		3		1		3		2		1
1.11		4997		3000		0.20		355		22.6		35.1
						19		188				102
		3		3		1		1		3		1
1.12		901		247		2.10		73		9.4		48.3
						191		39				140
		3		1		3		1		1		2

1.13	113	105	1.93	466	10.0	42.0
			176	247		122
	1	1	2	2	1	2
1.14	8602	3000	0.77	2322	69.1	145.5
			70	1229		422
	3	3	1	3	3	3
1.15	0	124	0.49	300	5.0	28.6
			45	159		83
	1	1	1	1	1	1
1.16	92	365	0.82	383	18.2	44.8
			75	203		130
	1	2	1	2	2	2
1.17	171	2753	1.07	215	19.9	36.5
			98	114		106
	1	3	1	1	3	1
1.18	224	187	1.12	2921	19.8	43.1
			102	1546		125
	1	1	1	3	3	2
1.19	229	131	0.94	137	8.2	26.5
			86	73		77
	1	1	1	1	1	1
AUTONOMIE						
2.1	2213	2582	0.02	192	6.5	52.0
			2	102		151
	3	3	1	1	1	2
2.2	8061	2272	0.03	149	16.5	40.7
			3	79		118
	3	3	1	1	2	1
2.3	101	52	0.82	189	8.5	38.9
			75	100		113
	1	1	1	1	1	1
2.4	58	161	0.81	122	6.9	56.5
			74	65		164
	1	1	1	1	1	3
2.5	11	6	0.80	73	10.2	40.0
			73	39		116
	1	1	1	1	1	1
2.6	102	1210	0.58	224	0	36.2
			53	119		105
	1	3	1	1	1	1
2.7	2800	1799	0	45	0	40.7
			0	24		118
	3	3	1	1	1	1
2.8	5052	3000	1.27	73	22.5	22.0
			116	39		64
	3	3	1	1	3	1
2.9	160	205	0.97	861	2.8	34.5
			89	456		100
	1	1	1	3	1	1
2.10	209	2350	0.19	2354	4.1	28.2
			18	1246		82
	1	3	1	3	1	1

2.11	846	2833	0	750	16.8	32.4
			0	397		94
	3	3	1	3	2	1
2.12	84	3000	0.09	357	9.5	32.0
			9	189		93
	1	3	1	1	1	1
2.13	228	274	0.70	204	7.6	33.1
			64	108		96
	1	1	1	1	1	1
2.14	175	338	0.58	731	5.5	32.0
			53	387		93
	1	1	1	3	1	1
2.15	313	298	0.35	238	7.6	26.9
			32	126		78
	1	1	1	1	1	1
2.16	73	49	0.34	147	10.7	41.7
			31	78		121
	1	1	1	1	1	1
2.17	35	32	0.25	60	14.7	25.8
			23	32		75
	1	1	1	1	1	1
2.18	329	698	0.08	71	8.7	41.0
			8	38		119
	1	2	1	1	1	1
2.19	124	293	3.61	243	4.4	23.1
			329	129		67
	1	1	3	1	1	1
2.20	62	124	1.95	145	5.1	36.5
			178	77		106
	1	1	2	1	1	1
2.21	101	249	0.49	824	4.8	31.7
			86	436		92
	1	1	1	3	1	1
2.22	419	209	1.02	442	13.3	
			93	234		
	2	1	1	3	1	0
2.23	0	1209	1.00	241	12.7	38.9
			91	128		113
	1	2	1	1	1	1
2.24	254	209	1.47	621	7.7	34.8
			134	329		101
	1	1	1	3	1	1
2.25	23	9	0.71	2436	17.3	24.8
			65	1289		72
	1	1	1	3	2	1
2.26	27	44	1.43	429	11.0	37.2
			130	227		108
	1	1	1	2	1	1
2.27	143	918	1.07	2515	13.7	45.8
			98	1331		133
	1	3	1	3	1	2
2.28			1.06	217	16.7	50.3
			97	115		146
	0	0	1	1	2	2

2.29	205	211	1.06	2322	11.0	35.8
	1	1	97	1229		104
			1	3	1	1
2.30	50	95	1.23	2693	15.0	31.7
	1	1	112	1425		92
			1	3	2	1
2.31	69	24	1.26		6.8	35.8
	1	1	115			104
			1	0	1	1
2.32	506	542	0.18		16.7	39.6
	2	2	17			115
			1	0	2	1
2.33	444	343	0.08	1510	14.6	43.8
	2	1	8	799		127
			1	3	1	2
2.34	102	101	1.19	287	17.8	40.7
	1	1	109	152		118
			1	1	2	1
2.35	0	76	1.14	149	9.1	54.8
	1	1	104	79		159
			1	1	1	2
2.36			1.00	128	11.6	34.5
	0	0	91	68		100
			1	1	1	1
2.37			1.19	268	14.5	33.8
	0	0	109	142		98
			1	1	1	1
2.38			1.19	111	19.8	40.3
	0	0	109	59		117
			1	1	2	1
2.39			2.58	551	12.9	26.5
	0	0	235	292		77
			3	2	1	1
STRUMA						
3.1	58	52	0.56	425	18.2	33.8
	1	1	51	225		98
			1	2	2	1
3.2	31	47	0.73	56	12.7	37.9
	1	1	67	30		110
			1	1	1	1
3.3	65	98	0	107	0	32.7
	1	1	0	57		95
			1	1	1	1
3.4	1272	586	0	500	12.8	30.7
	3	2	0	265		63
			1	2	1	1
3.5	3720	262	0.51	260	48.8	25.8
	3	1	47	138		75
			1	1	3	1
3.6	32	55	0.22	1357	5.7	44.8
	1	1	20	718		130
			1	3	1	2

3.7	80	122	0.29	58	3.4	32.7
			27	31		95
	1	1	1	1	1	1
3.8	84	193	0	555	3.7	24.8
			0	294		72
	1	1	1	2	1	1
3.9	0	9	0.09	697	14.7	27.6
			9	369		80
	1	1	1	3	1	1
3.10	99	95	1.19	470	17.3	31.0
			109	249		90
	1	1	1	2	2	1
3.11	45	49	1.27	1474	15.4	34.8
			116	780		101
	1	1	1	3	2	1
3.12	66	57	1.17	663	16.7	19.6
			107	351		57
	1	1	1	3	1	1
3.13	90	91	1.56	289	19.5	19.6
			142	153		57
	1	1	2	1	2	1
3.14	162	68	1.04	1360	16.4	36.9
			95	720		107
	1	1	1	3	1	1
3.15	85	93	0.95	3927	6.9	51.7
			87	2078		150
	1	1	1	3	1	2
THYREODITIS						
4.1	48	58	0.69	52	0	36.9
			63	28		107
	1	1	1	1	1	1
4.2	46	50		1120	0	27.6
			0	593		80
	1	1	0	3	1	1
4.3	956	194	1.19	810	10.8	34.8
			109	429		101
	3	1	1	3	1	1
4.4	515	85	1.11	107	17.4	40.3
			101	57		117
	2	1	1	1	2	1
4.5	3000		1.02	126	23.3	48.9
			93	67		142
	3	0	1	1	3	2
4.6	1081	129	0.15		10.6	31.7
			14			92
	3	1	1	0	1	1
4.7	1708	55	0.09	1336	11.9	25.8
			9	723		75
	3	1	1	3	1	1

CARCINOM						
5.1			1.01	137	10.4	34.5
			92	73		100
	0	0	1	1	1	1

Tabellen 18: L I T E R A T U R Ü B E R S I C H T

A. Thyreoglobulin-(*)2 und mikrosomale(*)1 Antikörper

AUTOR/Jahr	Basedow		Autonomie		Thyreoiditis		Struma		Sonstiges	
	n=	pos.=	n=	pos.=	n=	pos.=	n=	pos.=	n=	pos.=
Hornung 1970 /53/	91*1	15%	16	50%			299	3%		
	91*2	58%	16	67%			299	20%		
Pinchera 1977 /95/	51	21%	32	6%	18	83%	66	7%	Carcinom	
Akert 1977 /1/	80	60%	22	23%	51	82%	109	8%	2	100%
	80	20%	22	13%	51	66%	109	6%	2	0%
Mc Gregor 1980 /78/	14	92%								
Benker 1983 /10/			460	57%						
			460	32%						
Dali 1984 /25/					62	67%				
					62	32%				
Tajiri 1984 /129/							Blutspender		1354	3,7%
									1354	5,8%
Schneidinger 1985 /117/	25	80%	17	20%	33	84%	55	13%		
	25	20%	17	20%	33	45%	55	2%		
Husby 1985 /55/							51	23%		
							51	10%		
gesamt	210	45%	515	54%	146	76%	514	7%		
	247	34%	547	39%	164	50%	580	20%		
eigene Zahlen	19	63%	34	35%	6	0%	15	6%	1	0%
	19	46%	34	23%	7	71%	15	13%	1	0%

B. cAMP-Stimulation

AUTOR/Jahr	Zellen	Basedow		Autonomie		Thyreoiditis		Struma		Sonstiges	
		n=	pos.=	n=	pos.=	n=	pos.=	n=	pos.=	n=	pos.=
Hinds 1981 /52/	human	25	80%								
Stöckle 1981 /124/	human	41	100%	18	0%						
Vitti 1983 /139/	FRTL 5	84	90%	5	0%	7	42%	11	0%	6	0%
										Carcinom	
Bidey 1983 /11/	human	28	100%			7	42%	11	36%	14	64%
										Exophtalmus	
Valente 1983 /132/	FRTL 5	20	100%			4	20%				
Marcocci 1983 /74/	FRTL 5	19	57%								
Madec 1983 /71/	human	67	95%	10	10%	7	0%	12	0%		

Creagh 1983 /24/	Schwein	44	83%			12	0%				
Davies 1983 /27/	human	45	71%								
Madec 1984 /72/	human	29	96%								
Rapoport 1984 /101/	human	61	93%			18	22%	12	0%		
Wenzel 1984 /147/	human	69	90%								
van der Gaag 1985 /134/	human	12	91%					20	0%		

C. Adenylatcyclase-Stimulation

AUTOR/Jahr	Zellen	Basedow		Autonomie		Thyreoiditis		Struma		Sonstiges	
		n=	pos.=	n=	pos.=	n=	pos.=	n=	pos.=	n=	pos.=
Orgiazzi 1976 /91/	human	15	60%								
Macchia 1981 /69/	human	49	71%								
Karlsson 1981 /57/	human	50	82%								
Bliddal 1982 /12/	human	52	73%								
Bech 1982 /5/	human	22	72%								
Macchia 1983 /70/	human	57	88%			15	0%				
Hensen 1983 /50/	human	42	57%								
Bliddal 1984 /13/	human									46	32%
										Diabetes m.	
Gardas 1984 /42/	human	92	32%								
Hegedüs 1984 /49/	human	17	82%								
TSI gesamt		940	78%	33	3%	70	15%	66	6%		
cAMP-Stim. eigene Zahlen	human	19	15%	39	7%	6	0%	15	6%	1	0%
Ac-Stim. eigene Zahlen	human	19	52%	39	15%	7	14%	15	13%	1	0%

D. Thymidineinbau

AUTOR/Jahr	Zellen	Basedow		Autonomie		Thyreoiditis		Struma		Sonstiges	
		n=	pos.=	n=	pos.=	n=	pos.=	n=	pos.=	n=	pos.=
Chiovato 1983 /19/	Ratte	10	30%					14	21%		
Schatz 1983 /112/	Schwein	22	68%					59	7%		
Valente 1983 /132,133/	FRTL 5	28	64%			5	40%	7	28%		
gesamt		60	60%			5	40%	80	11%		
eigene Zahlen	human	19	36%	37	37%	6	66%	15	42%	1	0%

E. TSH-Rezeptor-Antikörper-Assay

AUTOR/Jahr	Membran	Basedow		Autonomie		Thyreoiditis		Struma		Sonstiges	
		n=	pos.=	n=	pos.=	n=	pos.=	n=	pos.=	n=	pos.=
Smith 1974 /120/	human	25	88%			13	7%			6	16% Carcinom
Gossage 19874 /48/	human	6	83%								
Mukhtar 1975 /83/	human	56	100%			43	13%	25	0%		
Clague 1976 /20/	human	33	51%								
Fenzi 1978 /39/	human	15	53%			8	25%			11	9% Carcinom
Strakosch 1978 /125/	human	15	93%					Diabetes m. M. Addison		1	100%
Endo 1978 /36/	human	27	60%			20	10%				
Wägar 1978 /141/	human	26	76%	17	24%	13	38%				
Kuzuya 1979 /65/	human	16	63%								
Ozawa 19879 /92/	human	17	68%			14	0%				
Docter 1980 /29/	human	24	63%								
Finke 1981 /41/	human	69	72%								
Macchia 1981 /69/	human	49	43%			16	25%				
Wall 1982 /143/	human	15	86%			15	33%				

Becker 1983/ 1984 /6,7/	TRAK °	37	70%	32	0%	19	5%				
Schleusener 1983 /116/	human	42	71%								
Creagh 1983 /24/	TRAK °	60	100%			13	0%	13	0%		
Reinwein 1983 /103/	TRAK °	751	61%								
Schicha 1983 /113/	TRAK °	54	76%	33	7%			85	5%		
Nordmeyer 1983 /85/	TRAK °	22	95%	10	0%	17	17%				
Hörmann 1983 /54/	TRAK °	33	87%	35	9%			113	18%	67	16% Carcinom
Nitz 1983 /87/	TRAK °	80	87%	25	0%	10	10%				
Schatz 1983 /111/	TRAK °	93	33%	30	0%			107	3%		
Schifferdecker 1983 /114/	TRAK °	15	93%	14	0%						
Becker 1983 /6, 7, 8/	TRAK °	37	70%					41	0%		
Ginsberg 1983 /45/	human	6	100%								
Hensen 1984 /51/	TRAK °	42	71%								
Southgate 1984 /123/	human	107	74%	10	0%	12	0%				
Bliddal 1984 /13/	human									46	21% Diabetes m.
Gardas 1984 /42/	human	92	62%								
Hegedüs 1984 /49/	human	17	88%								
Schneidinger 1985 /117/	TRAK °	25	72%	20	5%	33	15%	55	4%		
Shinozawa 1986 /119/	Meer- schwein	21	100%			23	13%	Lupus eryth. 6	50%	Rheumat.Arth10	30%
								Diabetes m. 2	100%		
gesamt		1927	67%	262	5%	269	14%	439	7%		
eigene Zahlen	TRAK °	19	63%	39	23%	7	28%	15	33%	1	0%

LITERATURVERZEICHNIS

- /1/ Akert, F.G. und Grob, P.J. (1977) Diagnostische Bedeutung von Schilddrüsen-Antikörpern, Schweizerische Medizinische Wochenschrift 107, 1119-1125
- /2/ Arikawa, K. et al. (1985) Blocking type of antithyrotropin receptor antibody in patients with nongoitrous hypothyroidism: its incidence and characteristics of action, Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 60, 953-959
- /3/ Atkinson, S. und Kendall-Taylor, P. (1981) The stimulation of thyroid hormone secretion in vivo by thyroid-stimulating antibodies, Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 53, 1263-1266
- /4/ Atkinson, S. et al. (1984) Ophthalmic immunoglobulin in patients with Graves' ophthalmopathy, The Lancet 1984, II, 374-376
- /5/ Bech, K. et al. (1982) Production of non stimulation immunoglobulins that inhibit TSH-binding in Graves' disease after radioiodine administration, Clinical Endocrinology 17, 395-402
- /6/ Becker, W. et al. (1983) Bestimmung schilddrüsenstimulierender Autoantikörper mit einem Radiorezeptorassay (TRAK-Assay), Nuc Compact 14, 168-170
- /7/ Becker, W. et al. (1984) TSH-Rezeptor-Antikörpertiter und Hyperthyreoserezidivvorhersage in Pickardt, C.R. et al. (ed.) Schilddrüse 1983, Thieme S. 143
- /8/ Becker, W. et al. (1984) TSH-receptor autoantibody titers in untreated toxic diffuse goitres—an early indicator of relapse, Nuc Compact 15, 252-262
- /9/ Beguinot, F. et al. (1982) TSH effects on the microviscosity of reconstituted TSH-receptor, Abstract Nr. 16 des 12. jährlichen Treffens der Europäischen Schilddrüsenvereinigung, Brüssel 1982, Acta Endocrinologica 1982 Supp.
- /10/ Benker, G. und Reinwein, D. (1982) Thyreoglobulin und mikrosomale Antikörper sowie TSH-Rezeptorantikörper bei hyperthyreoten Patienten der Europäischen Multiizentrischen Studie, in H. Schatz und D. Doniach (ed.) Autoimmunität bei Schilddrüsenerkrankungen, Thieme S. 248-255
- /11/ Bidey, S.P. et al. (1983) Bioassay of thyroid stimulating immunoglobulins using human thyroid cell cultures—optimization and clinical assessment, Clinical Endocrinology 18, 193-206

- /12/ **Bliddal, H. et al.** (1982) Evidence of a correlation between thyrotrophin receptor binding inhibiting and thyroid adenylate-cyclase activation by immunoglobulin in Graves' disease before and during long-term antithyroid treatment, *Acta endocrinologica* 101, 35-40
- /13/ **Bliddal, H. et al.** (1984) Thyroid stimulating immunoglobulins in insulin-dependent diabetes mellitus, *European Journal of Clinical Investigation* 14, 474-478
- /14/ **Bourke, J.R. et al.** (1981) Changes in membrane potential of cultured porcine and human thyroid cells in response to thyrotropin and other reagents, *Journal of Endocrinology* 88, 187-196
- /15/ **Bradford, M. et al.** (1976) *Analytical Biochemistry* 72, 248
- /16/ **Brück, K.** (1980) Funktionen des endokrinen Systems, in R.F. Schmidt und G. Thews (ed.) *Physiologie des Menschen*, Springer, S. 733
- /17/ **Buddecke, E.** (1980) *Grundriss der Biochemie*, de Gruyter
- /18/ **Canonica, G.W. et al.** (1983) Why thyroid is major site of thyroid autoantibody synthesis in autoimmune thyroid disease (letter), *The Lancet* 1983, I, 1163
- /19/ **Chiovato, L. et al.** (1983) Detection of thyroid growth Immunoglobulins (TGI) by 3H-thymidine incorporation in cultured rat thyroid follicles, *Clinical Endocrinology* 19, 581-590
- /20/ **Clague, R. et al.** (1976) Thyroid stimulating immunoglobulins and the control of thyroid function, *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 43, 550-556
- /21/ **Clark, O.H. und B.J. Csartner** (1979) Thyrotropin "receptors" in normal and neoplastic human thyroid tissue, *Surgery* 85, 624-632
- /22/ **Clark, O.H. et al.** (1984) Mechanisms for increased adenylate cyclase responsiveness to TSH in neoplastic human thyroid tissue, *World Journal of Surgery* 8, 466-473
- /23/ **Cooper, E. und S.W. Saulding** (1984) Histone and high mobility group protein phosphorylation in the thyroid: regulation by cyclic nucleotides, *Endocrinology* 115, 2324-2331
- /24/ **Creagh, F.M. et al.** (1983) The TSH-receptor in Graves' disease in D. Doniach et al. (ed.) *Current topics in thyroid autoimmunity*, Thieme, S. 62
- /25/ **Dali, S.M. et al.** (1984) Antithyroid antibodies and thyroiditis - a correlative study in adenomatous goiter and adenoma thyroid, *Indian Journal of Medical Research* 80, 551-556

- /26/ **Davies, T.F.** und Bernardo E.D. (1983) Thyroid Autoantibodies and disease: an overview, in Davies, T.F. (ed.) autoimmune endocrine disease, Wiley and Sons, New York, S. 127-137
- /27/ **Davies, T.F.** et al. (1983) Functionality of thyroid stimulation antibodies assessed by cryopreserved human thyroid cell bioassay, *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 57, 1021-1027
- /28/ **Davies, T.F.** et al. (1986) Restricted heterogeneity and T cell dependence of human thyroid autoantibody immunoglobulin G subclasses, *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 62, 945-949
- /29/ **Docter, R.** et al. (1980) Thyrotrophin binding inhibiting immunoglobulins in Graves' disease before, during and after antithyroid therapy and its relation to LATS, *Clinical Endocrinology* 12, 143-153
- /30/ **De Bruijn, T.W.A.** et al. (1985) Anti TSH-receptor antibodies in Graves' disease modulate the kinetic behaviour of autologous thyroid TSH-receptors. Evidence for the IgG-induced cross-linkage of autologous TSH-receptors, *Acta Endocrinologica* 105, 330-340
- /31/ **Drexhage, H.A.** et al. (1980) Evidence for thyroid growthstimulating immunoglobulins in some goitrous thyroid diseases, *The Lancet* 1980, II, 287-291
- /32/ **Dreyer, M.** und Rüdiger, H.W. Erworbene Rezeptordefekte, *Deutsche Medizinische Wochenschrift* 111, 427-433
- /33/ **Dumont, J.E.** et al. (1981) Thyroid control: an example of a complex cell regulation network, in Dumont, J.E. et al. (ed.) *Advances in cyclic nucleotide research*, 14, 479-489, Raven-Press
- /34/ **Ealey, P.A.** et al. (1985) Thyrotropin stimulation of mitogenesis of the rat thyroid cell strain FRTL 5: a metaphase index assay for the detection of thyroid growth stimulators, *Journal of Endocrinology* 106, 203-210
- /35/ **Eggo, M.C.** und G.N. Burrow (1982) Stimulation of protein glycosylation by thyrotropin, *Endocrinology* 111, 1663-1665
- /36/ **Endo, K.** et al. (1978) Detection and properties of TSH-binding inhibitor immunoglobulin in Patients with Graves' disease and Hashimoto's thyroiditis, *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 46, 734-739
- /37/ **Endo, Y.** et al. (1983) Peripheral K cells in Graves' disease and Hashimoto's thyroiditis in relation to circulating immune complexes, *Clinical Endocrinology* 18, 187-194
- /38/ **Federlin, K.** und J. Teuber (1982) Zelluläre Immunphänomene bei Schilddrüsenerkrankungen, in H. Schatz und D. Donaich (ed.), *Autoimmunität bei Schilddrüsenerkrankungen*, Thieme, S. 103

- /39/ **Fenzi, G. et al.** (1978) Radioreceptorassay of TSH, its use to detect thyroid-stimulating immunoglobulins, *Journal of Endocrinological Investigation* 1, 17-24
- /40/ **Fieldt-Rasmussen, U. et al.** (1983) Methodological aspects of thyroglobulin autoantibodies in serum and their relation to serum globulin, in D. Donaich et al. (ed.) *Current topics in thyroid autoimmunity*, S. 101
- /41/ **Finke, R. et al.** (1981) Klinische Bedeutung der Bestimmung von schilddrüsenstimulierenden Antikörpern, *Deutsche Medizinische Wochenschrift* 106, 38-42
- /42/ **Gardas, A. et al.** (1984) Simple and sensitive method for estimation of antithyroid plasma membrane antibodies in the serum of patients with autoimmune thyroid disease: comparison with other assays, *Acta endocrinologica* 105, 492-499
- /43/ **Gärtner, R. und W. Greil** (1985) Wachstumsregulation isolierter Schweineschilddrüsenfollikel in vitro: Einfluss von zyklischem ATP, Jod, sowie Metaboliten der Arachidonsäure, *Endokrinologie-Informationen* 3, 156-157
- /44/ **Geerdsen, J.P. und L. Frund** Recurrence of nontoxic goitre with and without postoperative thyroxine medication, *Clinical Endocrinology* 21, 529-533
- /45/ **Ginsberg, J. et al.** (1983) Stimulation of iodine organification in porcine thyroid cells by thyroid stimulators, *Life Sciences* 32, 153-160
- /46/ **Goretzki, P.E. et al.** (1984) Zur Wirksamkeit von Beta-Rezeptorenblockern auf die Adenylat-Cyclase-Aktivität menschlicher Schilddrüsengewebe in C.R. Pickardt et al. (ed) *Schilddrüse 1983*, Thieme, S. 329
- /47/ **Goretzki, P.E. et al.** (1985) Indication for operation of patients with autonomously functioning thyroid tissue in endemic goiter areas, *World Journal of Surgery* 9, 149-155
- /48/ **Gossage, A.A.R. et al.** (1981) A comparative study of the binding of Graves' immunoglobulins by the patients own and other thyroid membranes, *Clinical Endocrinology* 14, 301-310
- /49/ **Hegedüs, L. et al.** (1984) Thyroid stimulating immunoglobulins in Graves' disease with goitre growth, low thyroxine and increasing triiodothyronine during PTU treatment, *Acta endocrinologica* 107, 482-488
- /50/ **Hensen, J. et al.** (1983) Measurement of thyroid stimulating antibodies (TSAb) in D. Donaich et al. (ed.) *Current topics in thyroid autoimmunity*, Thieme, S. 120

- /51/ **Hensen, J.** et al. (1984) Methodological aspects and clinical results of an assay for thyroid-stimulating antibodies: correlation with thyrotropin binding inhibiting antibodies, *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 58, 980-987
- /52/ **Hinds, W.E.** et al. (1981) Thyroid stimulating immunoglobulins bioassay using cultured human thyroid cells, *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 52, 1204-1210
- /53/ **Hornung, G.** et al. (1970) Antikörper gegen Thyreoglobulin und Mikrosomenfraktion bei Schilddrüsenerkrankungen, *Deutsche Medizinische Wochenschrift* 95, 568-572
- /54/ **Hörmann, R.** et al. (1983) Spezifität und Sensitivität des TRAK-Assays in C.R. Pickardt et al. (ed.) *Schilddrüse 1983*, Thieme, S. 70
- /55/ **Husby, S.** et al. (1985) Investigation of TSH dependency, circulating thyroid autoantibody and morphological features of recurrent nontoxic goiter, *Acta medica scandinavica* 217, 61-65
- /56/ **Kanazawa, H.** et al. (1984) Serum of patients with autoimmune disease induces in vitro production of disease specific antibodies from peripheral mononuclear cells normal subjects, Abstract Nr. 100 des 14. jährlichen Treffens der Europäischen Schilddrüsenvereinigung, Rotterdam 1984, in *Acta Endocrinologica* 1984 Suppl.
- /57/ **Karlsson, I.A.** et al. (1981) Thyroid stimulating antibodies (TSAb) in patients with Graves' disease undergoing antithyroid drug treatment: indicators of activity of disease, *Clinical Endocrinology* 14, 579-585
- /58/ **Kendall-Taylor, P.** et al. (1984) Evidence that thyroid stimulating antibody is produced in the thyroid gland, *The Lancet* 1984, I, 654-655
- /59/ **Kermode, J.C.** et al. (1984) Receptors for thyroid stimulating hormone in normal and pathological human thyroid tissue, *Journal of Endocrinology* 102, 369-374
- /60/ **Kidd, A.** et al. (1980) Immunologic aspects of Graves' and Hashimoto's disease, *Metabolism* 29, 1: 80-99
- /61/ **Klein, E.** et al. (1973) Klassifikation der Schilddrüsenerkrankheiten, *Deutsche Medizinische Wochenschrift* 98, 2249-2251
- /62/ **Knight, J.** et al. (1986) Thyroid stimulating autoantibodies usually contain only λ -light chains: Evidence for the forbidden clone theory, *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 62, 342-347
- /63/ **Kodama, K.** et al. (1982) Demonstration of a circulating autoantibody against a soluble eye-muscle antigen in Graves' ophthalmopathy, *The Lancet* 1982, II, 1353-1356

- /64/ **Köbberling, J.** (1983) Pathogenese des Strumarezidivs nach Strumaresektion in C.R. Pickardt et al. (ed.) Schilddrüse 1983, Thieme, S. 204
- /65/ **Kuzuya, N.** et al. (1979) Correlation between thyroid stimulators and 3, 5, 3-triiodothyronine suppressibility in patients during treatment for hyperthyroidism with thionamide drugs: comparison of assays by thyroid stimulating and thyrotropin displacing activities, *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 48, 706-711
- /66/ **Lefort, G.P.** et al. (1984) Relevance of the low and high affinity Thyrotropin binding sites of human thyroid membranes to the stimulation of adenylate cyclase, *Endocrinology* 114, 1005-1011
- /67/ **Ludgate, M.E.** et al. (1984) Analysis of T-cell subsets in Graves' disease: alterations associated with carbimazole, *British Medical Journal* 288, 526-529
- /68/ **Maayan, M.** et al. (1981) Norepinephrine and thyrotropin effects on the thyroid in vitro: simultaneous stimulation of iodide organification and antagonism of thyroxine release, *Endocrinology* 109, 930-934
- /69/ **Macchia, E.** et al. (1981) Comparison between thyroid stimulating and TSH binding inhibiting immunoglobulins of Graves' disease, *Clinical Endocrinology* 15, 175-182
- /70/ **Macchia, E.** et al. (1983) A sensitive method for assaying thyroid stimulating immunoglobulins of Graves' disease: use of the guanylnucleotide amplified thyroid adenylate cyclase assay, *Acta Endocrinologica* 103, 345-351
- /71/ **Madec, A.M.** et al. (1983) Thyroid stimulating antibody (TSAb) assay in whole serum using cultured human thyroid cells in D. Donaich et al. (ed.) *Current topics in thyroidal autoimmunity*, Thieme, S. 111
- /72/ **Madec, A.M.** et al. (1984) Thyroid stimulating antibodies: an aid to the strategy of treatment of Graves' disease, *Clinical Endocrinology* 21, 247-255
- /73/ **Magnusson, R.P.** et al. (1985) Modulation of differentiated function in cultured thyroid cells: thyrotropin control of thyroid peroxidase activity, *Endocrinology* 116, 1493-1500
- /74/ **Marcocci, C.** et al. (1983) Graves' IgG stimulation of iodide uptake in FRTL 5 rat thyroid cells, *Journal of Endocrinological Investigation* 6, 463-471
- /75/ **Marcocci, C.** et al. (1984) Effect of Actinomycin D on iodide transport in FRTL 5 thyroid cells, *Endocrinology* 115, 2123-2132

- /76/ **Maurer, H.R.** (1981) Potential pitfalls of ³H-thymidine techniques to measure cell proliferation, *Cell and Tissue Kinetics* 14, 111-120
- /77/ **Mc Devitt, H.O.** (1980) Regulation of the immune response by the major histocompatibility system, *New England Journal of Medicine* 303, 1514-1517
- /78/ **Mc Gregor, A.M. et al.** (1980) Treatment and the autoimmune response in Graves' disease, *Journal of Molecular Medicine* 4, 119-127
- /79/ **Mc Gregor, A.M. et al.** (1980) Carbimazole and the autoimmune response in Graves' disease, *New England Journal of Medicine* 303, 302-307
- /80/ **Mc Kenzie, J.M. und M. Zakarija** (1983) Assays of thyroid stimulating antibody (TSI), in *Methods in Enzymology* 109, 677-691
- /81/ **Moncayo, R. et al.** (1985) ELISA systems for the detection of eye muscle and TSH antibodies in Graves' disease with opthalmopathy Nr. 98 des 29. Symposiums der Deutschen Gesellschaft für Endokrinologie, Göttingen 1985, *Acta endocrinologica* 1985 Suppl.
- /82/ **Mori, T. et al.** (1970) Studies of an in vitro binding reacting between thyroid microsomes and long acting thyroid stimulator globulin (LATS) I. Development of solid-state competitive binding radioassay methods for measurement of antimicrosomal and anti-thyroglobulin antibodies, *Journal of Clinical Endocrinology* 31, 119-132
- /83/ **Mukhtar, E.D. et al.** (1975) Relation of thyroid stimulating immunoglobulins to thyroid function and effects of surgery, radioiodine and antithyroid drugs, *The Lancet* 1975, I, 713-715
- /84/ **Munari-Silem, Y. et al.** (1984) Thyroid membrane substrates of cAMP dependent and independent protein kinase activities, Abstract Nr. 44 des 14. Treffens der Europäischen Schilddrüsenvereinigung, Rotterdam 1984, *Acta Endocrinologica* 1984 Suppl.
- /85/ **Nordmeyer, J.P. und Eickenbusch, W.** (1983) Erste Erfahrungen mit einem kommerziell erhältlichen Radiorezeptorassay zur Bestimmung von TSH-Rezeptor-Autoantikörper (TRAK-Assay), in C.R. Pickardt et al. (ed.) *Schilddrüse* 1983, Thieme, S. 58
- /86/ **Nielsen, T.D. et al.** (1985) Morphological and biochemical responses of cultured thyroid cells to thyrotropin, *Endocrinology* 116, 788-797
- /87/ **Nitz, D.W. und Holstein, P.** (1983) TSH-Rezeptor-Autoantikörperbestimmung bei Diagnose und Verlaufskontrolle von Hyperthyreosen in C.R. Pickardt et al. (ed.) *Schilddrüse* 1983, Thieme, S. 72

- /88/ **Okita, N.** et al. (1981) Suppressor T-lymphocyte deficiency in Graves' disease and Hashimoto's thyroiditis, *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 52, 528-533
- /89/ **Olbricht, T.** (1985) Sonographische Volumetrie der Schilddrüse zur Verlaufskontrolle bei der Thyroxin und Jodidbehandlung der blanden Struma, *Deutsche Medizinische Wochenschrift* 110, 863
- /90/ **Ollis, C.** et al. (1985) Thyroid stimulating immunoglobulins: measurement and clinical use, *Clinical Science* 69, 113-121
- /91/ **Orgiazzi, J** et al. (1976) Human thyroid adenyl cyclase-stimulating activity in immunoglobulin G of patients with Graves' disease, *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 42, 341-354
- /92/ **Ozawa, Y.** et al. (1979) Relationships among immunoglobulin markers in Graves' disease, *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 48, 381-387
- /93/ **Palumbo, G.** et al. (1983) The polypeptide composition of serum thyroglobulin in a case of thyroid papillary carcinoma, Abstract Nr. 25 des 13. jährlichen Treffen der Europäischen Schilddrüsenvereinigung, Madrid 1983, in *Acta Endocrinologica* 1983 Suppl.
- /94/ **Paul, J.** (1980) *Zell und Gewebekultur*, de Gruyter
- /95/ **Pinchera, A.** et al. (1977) Interference of serum thyroglobulin in the radioassay for serum antithyroglobulin antibodies, *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 45, 1077-1087
- /96/ **Pinchera, A.** et al. (1982) Antithyroglobulin und antimikrosomale Autoantikörper bei Schilddrüsenerkrankungen in H. Schatz und D. Donaich (ed.) *Autoimmunität bei Schilddrüsenerkrankungen*, Thieme, S. 6-17
- /97/ **Pisarev, M.A.** et al. (1983) Action of TSH on nuclear ADP-ribosylation in dog thyroid slices, Abstract Nr. 75 des 13. jährlichen Treffens der Europäischen Schilddrüsenvereinigung, Madrid 1983, *Acta Endocrinologica* 1983 Suppl.
- /98/ **Raines, K.B.** et al. (1985) Antithyrotropin antibodies in the sera of Graves' disease Patients, *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 61, 217-222
- /99/ **Rapoport, B.** et al. (1978) Production of non immunoglobulin thyroid stimulator by human lymphocytes during mixed culture with human thyroid cells, *The Journal of Biological Chemistry* 253, 631-640
- /100/ **Rapoport, B.** et al. (1984) Immunoprecipitation of radiolabelled human thyroid cell proteins by serum from patients with autoimmune thyroid disease, *Endocrinology* 115, 2137-2144

- /101/ **Rapoport, B.** et al. (1984) Clinical experience with a human thyroid cell bioassay for thyroid-stimulating immunoglobulin, *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 58, 332-338
- /102/ **Reader, S.C.J.** et al. (1984) Measurement of low concentrations of bovine thyrotropin by iodide uptake and organification in porcine thyrocytes, *Journal of Endocrinology* 106, 13-20
- /103/ **Reinwein, D.** et al. (1983) Hyperthyreose-Survey: Teilergebnisse einer europäischen multizentrischen Studie in C.R. Pickardt et al. (ed. *Schilddrüse* 1983, Thieme, S. 47
- /104/ **Rodbell, M.** (1980) The role of hormone receptors and GTP-regulatory proteins in membrane transduction, *Nature* 284, 17-21
- /105/ **Rotella, C.M.** et al. (1983) Mitogenic effect of TSH in cultured rat thyroid cells: possible action of prostaglandins, Abstract Nr. 118 des 13. jährlichen Treffens der Europäischen Schilddrüsenvereinigung Madrid 1983, *Acta Endocrinologica* 1983 Suppl.
- /106/ **Rotella, C.M.** et al. (1986) Ability of monoclonal antibodies to the thyrotropin receptor to increase collagen synthesis in human fibroblasts: An assay which appears to measure exophthalmogenic immunoglobulins in Graves' sera, *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 62, 357-367
- /107/ **Sakata, S.** et al. (1985) Autoantibodies against thyroid hormones or iodothyronine, *Annals of Internal Medicine* 103, 579-589
- /108/ **Salomon, Y.** et al. (1974) in *Analytical Biochemistry* 58, 541-548
- /109/ **Santisteban, P.** et al. (1985) Effects of high doses of iodide on thyroid secretion: evidence for the presence of iodinated membrane tubulin, *Endocrinology* 117, 607-612
- /110/ **Schatz, F.** (1980) Krankheiten der Schilddrüse, in H.A. Kühn und J. Schirmer (ed.) *Innere Medizin*, Springer, S. 1030-1044
- /111/ **Schatz, H.** (1983) Klinische Wertigkeit von Schilddrüsenantikörper-testen, in C.R. Pickardt et al. (ed.) *Schilddrüse* 1983, Thieme, S. 76
- /112/ **Schatz, H.** et al. (1983) Radioassay for thyroid growth stimulating immunoglobulins (TGI) with cultivated porcine thyroid follicles, *Hormone and Metabolic Research* 15, 627-628
- /113/ **Schatz, H.** (1983) Abgrenzung von immunogener und nichtimmunogener Hyperthyreose in C.R. Pickardt et al. (ed.) *Schilddrüse* 1983, Thieme, S. 54
- /114/ **Schifferdecker, E.** et al. (1983) Klinische Erfahrung mit zwei neuen Testbesteckchen zur Bestimmung von TSH-Rezeptor-Antikörpern, in C.R. Pickardt et al. (ed.) *Schilddrüse* 1983, Thieme, S. 54

- /115/ **Schleusener, H.** (1983) Die Hyperthyreose-Morbus Basedow oder autonome Struma als Ursache, *Klinikerarzt* 12, 181-190
- /116/ **Schleusener, H.** et al. (1983) Autoimmunerkrankungen der Schilddrüse, in C.R. Pickardt et al. (ed.) *Schilddrüse 1983*, Thieme, S. 30
- /117/ **Schneidinger, P.** et al. (1985) Schilddrüsenantikörper und ihre diagnostische Bedeutung, *Schweizerische Medizinische Wochenschrift* 115, 1536-1544
- /118/ **Sherwin, J.R.** und **W. Tong** (1974) The actions of iodide and TSH on thyroid cells showing dual control system for the iodide pump, *Endocrinology* 94, 1465-1474
- /119/ **Shinozawa, T.** et al. (1986) A new serum based assay for fat cell binding immunoglobulins: application to the detection of the thyrotropin receptor antibodies of Graves' disease, *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 62, 10-15
- /120/ **Smith, B.R.** und **R. Hall** (1974) Thyroid stimulating immunoglobulins in Graves' disease, *The Lancet* 1974, II, 427-431
- /121/ **Smith, B.R.** (1981) Thyrotropin receptor antibodies, in R.J. Lefkowitz (ed.) *Receptors and Recognition*, Chapman and Hall, London, S. 215-244
- /122/ **Smyth, P.A.** et al. (1983) Association of thyroid-stimulating immunoglobulins and thyroid-releasing hormone responsiveness in women with euthyroid goiter, *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 57, 1001-1006
- /123/ **Southgate, K.** et al. (1984) A receptorassay for the measurement of TSH receptor antibodies in unextracted serum, *Clinical Endocrinology* 20, 539-543
- /124/ **Stöckle, G.** et al. (1981) Micromethod of human thyrocyte cultures for detection of thyroid stimulating antibodies and thyrotropin, *Acta Endocrinologica* 97, 369-375
- /125/ **Strakosch, C.R.** et al. (1978) Thyroid stimulating antibodies in patients with autoimmune disorders, *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 47, 361-365
- /126/ **Stringer, B.M.J.** et al. (1985) In vitro evidence for an intracellular mechanism limiting the thyroid follicular cell growth response to thyrotropin, *Endocrinology* 116, 611-615
- /127/ **Studer, H.** (1982) Schilddrüse, in W. Siegenthaler (ed.) *Klinische Pathophysiologie*, Thieme, S. 343
- /128/ **Studer, H.** (1982) A fresh look to an old thyroid disease: euthyroid and hyperthyroid nodular goiter, *Journal of Endocrinological Investigation* 5, 57

- /129/ Tajiri, J. et al. (1984) Thyroid antibodies in healthy blood donors, *Endocrinologica Japonica* 31, 837-843
- /130/ Tong, W. et al. (1975) Methods for assessing thyroid stimulating hormone effects on thyroidal iodide transport, *Methods in Enzymology* 37, 256-262
- /131/ Tovey, K.C. et al. (1974) A simple direct assay for cyclic AMP in plasma and other biological samples using an improved competitive protein binding technique, *Clinical Chimica Acta* 56, 221-234
- /132/ Valente, W.A. et al. (1983) The relationship of growth and adenylate cyclase activity in cultured thyroid cells: separate bioeffects of thyrotropin, *Endocrinology* 112, 71-79
- /133/ Valente, W.A. et al. (1983) Antibodies that promote thyroid growth, *New England Journal of Medicine* 309, 1028-1034
- /134/ van der Gaag, R.D. et al. (1985) Further studies on thyroid growth stimulating immunoglobulins in euthyroid nonendemic goiter, *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 60, 972-979
- /135/ van der Gaag, R.D. et al. (1986) T-suppressor cell defects in euthyroid nonendemic goitre, *Acta endocrinologica* 112, 83-88
- /136/ van Heuwerswyn, B. et al. (1984) Thyrotropin controls transcription of the thyroglobulin gene, *Proceedings of the National Academy of Sciences in the USA* 81, 5941-5945
- /137/ van Ouwkerk, B.M. et al. (1985) Autoimmunity of thyroid disease, *Netherlands Journal of Medicine* 28, 32-39
- /138/ van Uijen, A.J. et al. (1985) Freeze fracture morphology of thyroid tight junctions in goats with different thyrotropin stimulation, *Endocrinology* 116, 114-118
- /139/ Vitti, P. et al. (1983) Characterization of the optimal stimulatory effects of Graves' monoclonal and serum immunoglobulin G on adenosine 3', 5' monophosphate production in FRTL 5 thyroid cells: a potential clinical assay, *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 57, 782-791
- /140/ Wadeleux, P. et al. (1985) Synthesis of basement membrane components by differentiated thyroid cells, *Biochimica et Biophysica Acta* 846, 257-264
- /141/ Wägar, G. et al. (1982) Thyrotropin binding inhibiting immunoglobulins (TBII) in Graves' disease, toxic nodular goiter and autoimmune thyroiditis, *Annals of Clinical Research* 14, 83-89
- /142/ Warnatz, H. (1982) Immunsystem, in W. Siegenthaler (ed.) *Klinische Pathophysiologie*, Thieme, S. 543

- /143/ **Wall, A.** et al. (1982) Nature of thyrotropin displacement activity in subacute thyroiditis, *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 54, 349-353
- /144/ **Weeks, I.** et al. (1984) A high sensitive immunochemiluminometric assay for human thyrotropin, *Clinical Endocrinology* 20, 489-495
- /145/ **Weiss, M.** et al. (1983) Demonstration of an saturable binding site for thyrotropin, in *Yersinia enterocolitica*, *Science* 219, 1331
- /146/ **Weiss, S.** et al. (1984) Effect of thyrotropin on iodide efflux in FRTL 5-cells mediated by Ca^{2+} , *Endocrinology* 114, 1108-1113
- /147/ **Wenzel, K.W.** und J.R. Lente (1984) Similiar effects of thionamide drugs and perchlorate on thyroid stimulating immunoglobulins in Graves' disease, evidence against an immunosuppressive action of thionamide drugs, *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 58, 62-69
- /148/ **Westermark, B.** et al. (1983) Effect of iodide on cAMP synthesis and 3H-thymidine incorporation in porcine follicle cells in suspension culture, Abstract Nr. 101 des 13. jährlichen Treffen der Europäischen Schilddrüsenvereinigung, Madrid 1983, *Acta Endocrinologica* 1983 Suppl.
- /149/ **Westermark, B.** et al. (1979) Thyrotropin is not a growth factor for human thyroid cells in culture, *Proceedings of the National Academy of Sciences in the USA* 76, 2022-2026
- /150/ **Wiersinga, W.M.** et al. (1984) Thyroid growth stimulating immunoglobulins, *Aktuelle Endokrinologie und Stoffwechsel* 5, 104-108
- /151/ **Yagura, T.** et al. (1985) Increased cyclic nucleotide phosphodiesterase (PDE) and calmodulin activities in soluble fraction of Graves' thyroid: analysis of increase in Ca^{2+} dependence of PDE activities, *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 60, 1180
- /152/ **Yamashita, S.** et al. (1986) Specific stimulatory effects of Graves' Ig G on the release of triiodothyronine from the patient's own thyroids, *Acta endocrinologica* 112, 204-209
- /153/ **Zakarija, M.** und J.M. Kenzie (1978) Zoological specification of human thyroid stimulating antibody, *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 47, 249-254

Ich erkläre ehrenwörtlich, daß ich die dem Fachbereich Humanmedizin Marburg zur Promotionsprüfung vorgelegte Arbeit mit dem Titel "Messung von Schilddrüsenantikörpern" im Medizinischen Zentrum für Operative Medizin I unter Leitung von Prof. Dr. H.D. Röher mit Unterstützung von Dr. P. Goretzki und Dr. R. Koob ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt habe und bei Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation aufgeführten Hilfsmittel benutzt habe. Ich habe bisher weder an einem in- und ausländischen Fachbereich ein Gesuch auf Zulassung zur Promotion eingereicht noch die vorliegende oder eine andere Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Marburg, 1. April 1986

Lebenslauf

13. September 1958 geboren als Kind des Walter Wjst und seiner Frau Margot Wjst, geb. Kappes in Karlsruhe
10. Sept. 1965 bis 24. Juli 1968 Drais-Grundschule in Karlsruhe
9. September 1968 bis 12. Mai 1977 Helmholtz-Gymnasium in Karlsruhe, Abschluß mit Abitur
1. Juli 1977 bis 5. März 1978 Wehrdienst in Bexbach/Saar und Ellwangen/Jagst
6. März 1978 bis 31. Okt. 1978 Zivildienst Städt. Klinikum Karlsruhe
1. Nov. 1978 bis 30. Sept. 1980 Pflegedienst im Städt. Klinikum Karlsruhe, Chirurgische Klinik, Leiter Prof. Dr. K. Spohn
14. Oktober 1980 Studium der evangelischen Theologie an der Philipps-Universität Marburg
24. Nov. 1981 Wechsel zur medizinischen Fakultät der Philipps-Universität Marburg
5. Sept. 1983 Ärztliche Vorprüfung
14. Sept. 1984 1. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

Meine akademischen Lehrer der medizinischen Fakultät in Marburg waren:

Prof. Dr. Aumüller für Anatomie
Prof. Dr. Dr. Basler für Psychologie
Prof. Dr. Bauer für Chirurgie
Prof. Dr. Beato für physiologische Chemie
Prof. Dr. Blankenburg für Psychiatrie
Prof. Dr. Braasch für Physiologie
Prof. Dr. Brandis für Pädiatrie
Prof. Dr. Friedrich für Dermatologie
Prof. Dr. Ganz für HNO-Heilkunde
Prof. Dr. Geus für Medizingeschichte
Prof. Dr. Griss für Orthopädie
Prof. Dr. Havemann für Innere Medizin
Prof. Dr. Hackeloer für Gynäkologie
Prof. Dr. Hildebrandt für Arbeitsmedizin
Prof. Dr. Hilgermann für Rechtsmedizin
Prof. Dr. Huffmann für Neurologie
Prof. Dr. Ihm für Biomathematik
Prof. Dr. Joseph für Nuklearmedizin
Prof. Dr. Kaffarnik für Innere Medizin
Prof. Dr. Karlson für physiologische Chemie
Prof. Dr. Kern für Biologie
Prof. Dr. Knoll für Hygiene
Prof. Dr. Kretschmer für Transfusionsmedizin
Prof. Dr. Lennartz für Anästhesie
Prof. Dr. Lorenz für Theoretische Chirurgie
Prof. Dr. Lorenz-Meyer für Innere Medizin
Prof. Dr. Netter für Pharmakologie
Prof. Dr. Renschmidt für Psychiatrie
Prof. Dr. Rieger für Pädiatrie
Prof. Dr. Rodeck für Urologie
Prof. Dr. Röher für Chirurgie
Prof. Dr. Siegrist für Soziologie

Prof. Dr. Strauer für Innere Medizin

Prof. Dr. Dr. Straub für Augenheilkunde

Prof. Dr. Unsicker für Anatomie

Prof. Dr. Utermann für Humangenetik