

## Reinhard Bornemann: **Grundzüge der genetischen Epidemiologie, mit Blick auf Infektionskrankheiten**

Der Autor versucht, anhand der Analyse folgender Originalarbeit Grundzüge der genetischen Epidemiologie zu vermitteln. Dies soll keine fundierte Einführung in das Fachgebiet ersetzen, sondern lediglich einen ersten Eindruck von der Methodik und ihren Möglichkeiten vermitteln. Der Autor dankt an dieser Stelle dem Institut für Medizinische Statistik und Epidemiologie am Klinikum rechts der Isar, TU München, für die Durchsicht des Manuskripts.

Remus N, El Baghdadi J, Fieschi C, Feinberg J, Quintin T, Chentoufi M, Schurr E, Benslimane A, Casanova JL, Abel L: Association of IL12RB1 polymorphisms with pulmonary tuberculosis in adults in Morocco. *J Infect Dis* 190 (2004) 3: 580-587

### **Einleitung**

„Gene sind Risikofaktoren für Krankheiten“ (Risch 1997)

Eine Vielzahl von Krankheiten sind erblich bedingt, d.h., das Vorhandensein oder Nichtvorhandensein von bestimmten Genvarianten kann alleine oder in Verbindung mit weiteren Faktoren zur Entwicklung von Krankheiten führen. Die rapide Entwicklung der Molekulargenetik bzw. Genforschung in den vergangenen Jahren hat der Epidemiologie eine neue Methodik eröffnet, nach Ursachen für Krankheiten zu forschen. Zwar das menschliche Erbgut weitgehend aufgeschlüsselt (Humane Genome Project), dies heißt jedoch zunächst nur, dass die Sequenz des Genoms, bzw. die Buchstabenfolge der DNA-bildenden Basen, A, T, C und G, fast vollständig bekannt ist, hingegen erst bruchstückhaft aber deren Bedeutung in Form von einzelnen Genen.

Die menschliche Erbsubstanz liegt in 46 Chromosomen vor, von denen 22 paarweise vorkommen, zusätzlich existieren zwei Geschlechtschromosomen (bei der Frau XX, beim Mann XY). Die Erbanlagen für die Entwicklung, Morphologie und Funktion des Organismus sind in etwa 50.000 Genen codiert, Abschnitten unterschiedlicher Länge des DNA-Codes auf den verschiedenen Chromosomen. Zur Fortpflanzung des Organismus erfolgt zunächst eine Aufteilung des paarweisen (diploiden) Chromosomensatzes einer Keimzelle in zwei einfache (haploide) Sätze, von denen jeweils einer in einen Gameten (bei der Frau eine Eizelle bzw. beim Mann ein Spermium) gelangt.

Dieser Vorgang wird mit Meiose bezeichnet und ist nicht mit der gewöhnlichen Zellteilung (Mitose) zu verwechseln, bei welcher der diploide Satz verdoppelt bzw. identisch kopiert wird, um je einen Satz für die beiden neuzubildenden Zellen zur Verfügung zu haben.

Bei der Befruchtung gelangen dann wieder ein weiblicher und ein männlicher Gamet, mit ihrem jeweils haploiden Chromosomensatz, zusammen und bilden den neuen diploiden Chromosomensatz der Ursprungszelle des Nachwuchses.

Nun gelangen bei der Meiose die Chromosomen aber nicht „in einem Stück“ in einen Gameten, sondern bei der meiotischen Aufteilung werden mehrere Teilstücke eines zusammengehörenden Chromosomenpaares, z.B. die beiden Chromosomen Nr. 6, „über Kreuz“ mit dem jeweils anderen Chromosom ausgetauscht (sog. „crossing over“). Dies führt dazu, dass zwar prinzipiell die Hälfte der mütterlichen bzw. väterlichen DNA eines sich seinerseits fortpflanzenden Individuums an dessen Nachkommenschaft weitergereicht wird, aber eben nicht in Form eines ganzen mütterlichen oder väterlichen Chromosoms, wie es bei der Entwicklung des eigenen Organismus zunächst vorgelegen hat, sondern in Form eines „Flickenschemas“ der neu entstehenden Chromosomen aus mütterlichen und väterlichen Anteilen. Dieser Vorgang sorgt über diese immer neue „Rekombination“ der Erbanlagen für eine genetische Vielfalt, mit der Chance der immerwährenden Verbesserung und einem entsprechenden Selektionsvorteil.

Die genetische Vielfalt findet ihren Ausdruck im Vorhandensein einer Mehrzahl möglicher Ausprägungen bzw. „Phänotypen“, die auf die jeweiligen unterschiedlichen Erbanlagen bzw. „Genotypen“ zurückgehen. Da nun jeder neu entstehende Organismus prinzipiell zwei verschiedene „Allele“ (Varianten eines Gens bzw. der gesamten kodierenden Sequenz eines Proteins bzw. einer DNA Stelle (Locus)) für die Codierung eines bestimmten Merkmals mitbringt, je ein Allel vom Vater und von der Mutter, stehen diese untereinander in „Beziehung“ dergestalt, dass die Erbanlage des einen oder des anderen Elternteils, oder beider gemeinsam, zur Ausprägung kommt.

Dies geschieht bei denjenigen „Merkmalen“, dies gilt auch für genetisch verankerte Erkrankungen, die auf ein einzelnes Gen zurückgehen, im Prinzip entsprechend der Mendelschen Regeln. Ein wesentlicher Bestandteil der Mendelschen Regeln ist die Klassifizierung von Allelen als „dominant“ oder „rezessiv“. Die Kenntnis der „klassischen“ Mendelschen Regeln ist essentiell für das Verständnis der Genetischen Epidemiologie und insbesondere der speziellen Methode der Kopplungsanalyse, die in der nachfolgend analysierten Studie näher beschrieben wird.

Eine weiterer wichtiger Punkt ist, dass beim o.g. Crossing-over auf einem einzelnen Chromosom gelegene verschiedene Genabschnitte entweder zusammen oder getrennt auf die beiden Gameten verteilt werden können. Für jeden individuellen Genabschnitt eines einzelnen Chromosoms beträgt die statistische Chance 50:50, in einen bzw. den anderen der beiden Gameten zu gelangen; dieses Verhältnis gilt ebenso für das gesamte Genom eines Chromosoms. Betrachtet man aber zwei willkürlich auf einem Chromosom herausgepickte Genabschnitte untereinander, so werden die beiden sich um so eher „voneinander trennen“ und auf zwei verschiedene Gameten gelangen, je weiter sie voneinander auf ihrem Chromosom entfernt liegen. Umgekehrt werden zwei unmittelbar benachbarte DNA-Sequenzen praktisch immer gemeinsam in einen Gameten gelangen.

Diese „Spannweite“ zwischen Rekombinationsrate = „Null“ für „vollständige Kopplung“ (bzw. aneinandergedoppelte Vererbung zweier gemeinsam betrachteter Genabschnitte) und „0,5“ für „vollständige Nichtkopplung“ (bzw. völlig zufällige Verteilung beider Genabschnitte) macht sich die Methode der Kopplungsanalyse zu Nutze.

### Beispiel: Kopplungsungleichgewicht bei HLA-Antigenen

Man kann ein Kopplungsungleichgewicht anhand der Differenz zwischen beobachteter und erwarteter Allelhäufigkeit quantifizieren. Zur Illustration ein Beispiel: Die HLA-Antigene HLA-B8 und HLA-DR3 werden bei Weißen mit Häufigkeiten von 0.09 und 0.12 festgestellt. Wenn ein positives Kopplungsungleichgewicht nicht bestünde, würde man den Haplotyp B8-DR3 mit einer Häufigkeit erwarten, die dem Produkt der Häufigkeiten der Gene entspräche ( $0.09 \times 0.12 = 0.0108$ ). Die beobachtete Häufigkeit liegt deutlich darüber, bei 0.074%. Die Differenz  $\Delta$  von 0.0632 spiegelt dabei das Ausmaß des Kopplungsungleichgewichts wider (aus V. Kiefel: HLA und Transplantation, Manuskript, Internet: <http://people.freenet.de/vkiefel/hla.pdf>)

Das Problem ist zunächst, dass das „Krankheitsgen“ i.d.R. noch nicht bekannt ist, bzw. manchmal eine genetische Disposition überhaupt erst einmal vermutet wird. Bekannt hingegen ist die Lokalisation einer großen Anzahl von „Markern“, bzw. DNA-Sequenzvariationen, von denen zum einen die genaue Lage auf einem bestimmten Chromosom bekannt ist und die sich mittels molekularbiologischer Verfahren, z.B. PCR, aus Biomaterial von Probanden nachweisen lassen.

Nun wird zunächst ein Ort auf einem Chromosom identifiziert, das aufgrund vorheriger Forschung als Genort des Krankheitsgens in Frage kommt. Für diese „verdächtige“ Region muss dann eine molekularbiologische Identifizierungsmöglichkeit definiert werden, z.B. ein Primer für eine PCR. Nun werden in der DNA eines individuellen Probanden mit der zu untersuchenden Krankheit die Variante (Allel) des bekannten „Markers“ nachgewiesen. Dasselbe geschieht mit der DNA vorzugsweise der Eltern oder auch anderer Angehöriger eines „Stammbaumes“.

Nach diesem „molekularbiologischen“ Teil der Methode der Kopplungsanalyse folgt der „statistische“: es wird innerhalb der einzelnen untersuchten Stammbäume verglichen, ob die eingesetzten Marker entweder gemäß der Mendelschen Regeln von den Eltern auf die – erkrankten – Nachkommen weitergegeben wurden, ohne Zusammenhang mit der Erkrankung beim Nachwuchs, oder ob einzelne Marker „überzufällig“ bzw. außerhalb der „Mendelschen Erwartungswerte“ bei Erkrankten vorzufinden sind. Im ersteren Falle läge keine „Kopplung“ eines Markerallels mit der krankheitsverursachenden Variante vor, im letzteren Fall gäbe es Kopplung.

Das Ausmaß dieser Kopplung kann mittels der eingesetzten statistischen Verfahren nicht nur in ja / nein angegeben werden, sondern noch skaliert werden, z.B. mit dem sog. „LOD-Score“ (s.u.). Diejenigen der eingesetzten Marker mit dem höchsten LOD-Score lassen dann das vermutete Krankheitsgen näher lokalisieren.

Kennt man nun den ungefähren Genort eines vermuteten genetischen Risikofaktors für eine Krankheit, kann man mit weiteren molekularbiologischen Analysen diese Genregion weiter aufschlüsseln, nach den jeweiligen Genprodukten suchen, diese in ein Krankheitsmodell integrieren usw. Wie die nachfolgende Studienbeschreibung zeigt, sind allerdings für dieses Verfahren sowohl komplexe Labor- als auch

Statistikverfahren erforderlich. Dennoch nimmt die Kopplungsanalyse einen breiten Raum ein, was eine orientierende Medline-Recherche zeigt: Unter dem Suchbegriff "Linkage (Genetics)" [MeSH] werden 2000-2003 jährlich je ca. 2000 Einträge verzeichnet.

Um nur ein Alternativverfahren zur Kopplungsanalyse zu nennen, sei auf die Assoziationsanalyse hingewiesen, ein „einfacheres“ Verfahren, das hauptsächlich auf der Assoziation der bereits genannten Markerallele mit Erkrankten basiert. Das Vorhandensein bzw. Nichtvorhandensein des Markers bei Erkrankten wird analog zu einer „klassischen“ Risikofaktorenanalyse mittels z.B. Chi-quadrat-Test bewertet. Ein wesentliches Problem dieser Methode ist die i.d.R. geringe Prävalenz von Krankheitsallelen in der Gesamtpopulation, was in methodischen Problemen resultiert, die hier allerdings nicht weiter ausgeführt werden.

## **Studienbeschreibung und -analyse**

### ***Infektionsepidemiologischer, genetischer und immunologischer Hintergrund der Studie***

Die Tuberkulose (TB, bzw. pulmonale TB / pTB) stellt weltweit eine Hauptursache für Morbidität und Mortalität dar, mit geschätzt 8-9 Mio inzidenten Fällen pro Jahr und 1,9 Mio. Todesfällen. Die Inzidenz in Marokko beträgt 108 neue Fälle / 100.000 Einwohner pro Jahr. Ein bekanntes Phänomen bei der TB ist, dass ca. 90 % der infizierten Pat. keine TB entwickeln; von den übrigen 10 % entwickelt die Hälfte binnen zwei Jahren nach Infektion eine TB, die anderen im weiteren Verlauf des Lebens.

Daher stellt sich die Frage nach den Ursachen dieses unterschiedlichen Verlaufes, darunter nach möglichen genetischen Prädispositionen. (Anm.: zuvor wäre auch noch zu fragen, wer unter Exposition mit *M. tuberculosis* überhaupt infiziert wird, was in der Studie nicht angesprochen wurde). Es existierten bereits Belege dafür, dass zumindest eine genetische Ko-Disposition für den Ausbruch der Erkrankung beim Infizierten zu Grunde liegt, bislang allerdings ohne nähere Zuordnung zu einem Chromosom oder gar bestimmten Gen.

Bisherige Befunde, mit Assoziationen der TB zu insgesamt fünf Genen, führten zur Fokussierung auf das Gen IL12 R-beta-1 (IL12RB1) auf dem Chromosom 19. Dieses Gen codiert die beta-1-Kette des Interleukin- (IL-) -Rezeptors. (Exkurs: Dieser Transmembran-Rezeptor kommt hauptsächlich auf T-Lymphozyten vor. Seine Stimulation durch den spezifischen Liganden IL12, ausgeschüttet z.B. durch TB-infizierte Makrophagen, führt zur T-Zell-Antwort, u.a. mittels Interferon- (IFN-) gamma-Freisetzung bzw. NK-Aktivität; Janeway 2005) Das Gen wurde u.a. deswegen gezielt untersucht, weil es eine höhere Variabilität aufweist und damit genetische Verbindungen besser differenzierbar werden.

## ***Probanden und Methoden***

Als Kerngruppe dienten 157 Patienten mit pTB entsprechend bestimmter Einschlusskriterien (aktive Krankheit bzw. TB-positives Sputum, TB-typischer Röntgen-Thoraxbefund, klinische Beschwerden), alle aus der Region von Casablanca / Marokko, mit einem Mindestalter von 16 Jahren. (Anm.: die genaue Herkunft der Pat. - z.B. fortlaufende Pat. einer bestimmten Klinik, oder Zufallsauswahl anhand eines Registers – wird nicht angegeben). Zu diesen Indexpatienten aus insgesamt 101 Familien wurden zusätzlich beide Elternteile rekrutiert, wenn möglich. Dies gelang bei 91 Familien, bei weiteren fünf konnte nur ein, bei den restlichen fünf kein Elternteil rekrutiert werden. Die ethnische Zugehörigkeit aller Probanden zu den beiden großen Volksgruppen in Marokko, arabisch- bzw. berberstämmig, wurde anhand sprachlicher Kriterien getroffen.

Als „Kontrollgruppe“ wurden 78 Probanden bzw. deren Blutproben aus der französischen Blutspendezentrale, Paris, herangezogen.

Den Indexpatienten und ihren Eltern wurde Blut abgenommen, aus dem die DNA durch eine übliche Methode extrahiert wurde. Sodann wurden die bekannten 17 Exons des Genabschnitts, der IL12RB1 codiert, mittels bereits verfügbarer Primer durch PCR amplifiziert. Für die PCR des erstmals amplifizierten Promotors des Gens mussten neue Primer entwickelt werden. Die entstandenen Produkte wurden anschließend mittels Gel-Elektrophorese aufgetrennt und schließlich mit einem konventionellen Verfahren sequenziert.

Die „Kontrollen“ wurden dazu herangezogen, um zu überprüfen, inwieweit bei den Indexpatienten vorgefundene Auffälligkeiten – ohne das Vorliegen einer TB – zu einer funktionellen Störung der T-Zell-Antwort führen konnten

Das in der Studie verfolgte Hauptprinzip war die Suche nach einer xxx („distortion“) der Weitergabe („transmission“) von Allelen von den Eltern auf die Nachkommen.

Als ein epidemiologisches Maß wurde mittels des GOLD-Programms das „paarweise Kopplungsungleichgewicht“ („pairwise linkage disequilibrium“, LD) zwischen häufigen Allelen des Markerlocus ermittelt, ausgedrückt im Parameter „Lewontins Koeffizient D“. Ein D-Wert von Null bedeutet „kein Kopplungsungleichgewicht“, umgekehrt bedeutet der maximale Wert von Eins „maximales Kopplungsungleichgewicht“. Haplotypfrequenzen wurden mittels FBAT-Programm ermittelt. Schließlich erfolgte noch eine Assoziationsstudie mit nicht-TB-betroffenen Familienangehörigen, um Stratifikationseffekte durch ggf. unpassend gewählte anderweitige Kontrollen zu minimieren. In Ergänzung der mittels FBAT ermittelten Haplotyp-Frequenzen wurde eine Computersimulation angeschlossen, um die empirisch ermittelten Daten zufallsgeneriert miteinander zu kombinieren, um eine jeweilige Assoziation zu überprüfen.

## **Ergebnisse**

101 Familien wurden einbezogen, bestehend aus 157 Indexpatienten sowie 91x beiden Elternteilen und 5x einem Elternteil (bei 5x gar keinem rekrutierbaren Elternteil). In den Familien konnten entweder ein isolierter Fall oder mehrere Fälle bei Geschwistern vorkommen: 59x gab es nur einen Fall in der Familie, 29x 2 Fälle, 12x 3 Fälle und 1x 4 Fälle, was sich zu 157 aufaddiert. Die 101 Familien teilten sich in 77 arabisch- und 24 berberstämmige, die 157 Indexpatienten teilten sich in 60 F und 97 M, im Alter von 16-46 Jahren, mit einem empirischen Mittelwert von 24,1 Jahren. Alle „Personen“ (Anm.: unklar, ob das nur auf die Indexpat. oder auch auf die Eltern zutrifft) hatten Narben wie bei Z.n. BCG- (bzw. anti-TB-) Impfung.

Aus den 157 Indexpat. wurden 40 (entspr. 25 % der Pat. bzw. 40 % der Familien) zufallsausgewählt, die als Kriterium nicht miteinander verwandt sein durften. Bei diesen erfolgte in der beschriebenen Weise eine Sequenzierung aller 17 IL12RB1-codierenden exons, der sie jeweils flankierenden Introns sowie des Promotors. Dabei wurden 19 Punktmutationen gefunden, darunter 9 bereits bekannte, d.h., in der SNP-Datenbank des NCBI dokumentierte, sowie 10 bislang unbekannte.

Die gewonnenen Informationen sind in Abb. 1 aufgeführt, mit der graphischen Auftragung des Gens, seiner Exons bzw. Introns, sowie der gefundenen Mutationen. Diese wurden mit dem jeweiligen Abstand der Basenpaare vom Startcodon am N-terminalen bzw. 5'-Ende und der möglichen Abweichung der jeweiligen Base an dieser Stelle bezeichnet. Ergänzend werden die Prävalenzen dieser Allele in der marokkanischen Bevölkerung aufgeführt, mit Zuordnung zu entweder „minor“ bzw. < 5 %, mit 6 Allelen, oder > 5 %, mit 13 Allelen. (Anm.: es ist unklar, ob diese Daten aus dem vorliegenden Sample oder aus vorangegangenen Studien entstammten, was zwar zu vermuten wäre, was jedoch nicht zur o.g. Information passt, dass 10 der Mutationen erst in dieser Studie gefunden wurden)

Als nächstes erfolgte eine Testung der gesunden 78 „Kontrollpersonen“ bzw. ihrer Blutproben, ob diese Mutationen unterschiedlich häufig waren bzw. ob eine „loss of function“ nachweisbar war. Für diejenigen 6 Allele mit einer Frequenz < 5 % fanden sich keine Homozygoten in der „Kontrollgruppe“. Die übrigen 13 SNPs mit Frequenzen von > 5 % wurden nun im Blut der jeweils Homozygoten unter den Kontrollen auf ihren Einfluss auf die Funktionalität des Gens getestet (bez. Expression des IL12RB1-Rezeptors sowie der T-Zellantwort nach Applikation des spezifischen Liganden anhand der IFN-gamma-Produktion). Dabei ergab sich, dass alle Homozygoten bezogen auf die 13 o.g. Allele ein „erwartetes“ Verhalten zeigten, woraus geschlossen wurde, dass die 13 SNPs, darunter explizit die 5 „novel“ SNPs, Mutationen ohne nachfolgenden Funktionsausfall waren.

Anschließend wurde die gesamte Probandengruppe, also die Indexpatienten und ihre Eltern, auf das Vorhandensein der 13 o.g. SNPs genotypisiert. Alle IL12RB1-SNPs befanden sich im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht, und die Segregations-Charakteristika standen in Einklang mit den Mendelschen Gesetzen. Das Verteilungsbild der Kopplungsungleichgewicht- (LD-) Koeffizienten D zwischen den möglichen Kombinationen der 13 SNPs untereinander wird in Abb. 3 wiedergegeben. Dabei zeigten sich u.a. hohe D-Werte für die SNPs -2 C->T und -111A->T, aber auch für andere SNPs.

Die SNPs -2 C->T und -111A->T behaupteten sich allerdings als einzige in der anschließenden Assoziations-Studie bzw. im Simulationstest auf einen möglichen dominanten Effekt des Allels, vgl. Tab. 2, wohingegen die anderen SNPs mit einem zuvor vergleichbar hohen Koeffizienten keinen signifikanten Wert (bzw. keinen Schätzer mit einem den Wert 1 überschreitenden Konfidenzintervall) erreichten. Damit blieben nur die beiden erstgenannten SNPs übrig.

## ***Diskussion***

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen eine signifikante Assoziation der beiden genannten SNPs zur TB, mit einem noch etwas stärkeren Effekt vor allem in der arabischen Teilpopulation (bzw. der Bevölkerungsmehrheit). Die Autoren diskutieren, neben einzelnen Details, die für die große Linie der Studie von geringerer Bedeutung erscheinen, nicht zuletzt die Frage der unmittelbaren molekularbiologischen Auswirkung der beiden SNPs auf die Proteinbiosynthese und das damit ggf. verknüpfte pathobiochemische bzw. pathophysiologische Geschehen, entgegen der bei den Kontrollen ja nicht nachweisbaren Funktionsstörungen. Hierfür schlagen die AutorInnen weitere Untersuchungen vor.

Methodisch schlagen Khoury et al. 1993 vor, dass eine Kopplungsanalyse eine adäquate Methode darstellt, wenn eine genetische Determinierung einer Krankheit zumindest wahrscheinlich ist und ein entsprechendes pathophysiologisches Modell besteht, wovon im vorliegenden Fall auszugehen ist.

Die vorliegende Studie zeigt zunächst einen genetisch-epidemiologischen Weg auf, der grundsätzlich bei allen Erkrankungen gegangen werden kann, nämlich der Vermutung und Überprüfung einer genetischen (Ko-) Disposition auf einem bestimmten Chromosom bzw. Gen. Die Besonderheit der genetischen Epidemiologie bei Infektionskrankheiten liegt nun aber darin, dass miteinander verwandte Personen, im vorliegenden Fall erkrankte Indexpatienten, z.T. in Geschwistergruppen, und ihre Eltern, nicht nur durch die genetische Weitergabe jeweils von den Eltern- auf die Filialgenerationen in Verbindung stehen, sondern auch Infektionsketten bilden können. Diese Verbindung ist allerdings kein ausschließliches Charakteristikum von Infektionskrankheiten, sondern trafe auch auf die gemeinsame Exposition gegenüber Umwelt-Risikofaktoren zu.

Insgesamt ist die vorliegende Arbeit eine recht verständliche „Übersichtsarbeit“ in dem Sinne, dass sie sowohl die pathophysiologischen als auch genetischen Zusammenhänge detaillierter erläutert, wohl mit Blick auf den vermutlich nicht umfassend genetisch-epidemiologisch vorgebildeten Leserkreis des Journals. Es bleiben aber einige kleinere Defizite in der Beschreibung der Probanden und Methoden sowie einige Brüche in der ansonsten stringenten Erklärungskette, die den Artikel noch nicht als Modellartikel zur Edukation in der genetischen Epidemiologie empfehlen.

Die herangezogenen ergänzenden Quellen stellen aufgrund ihrer klaren Diktion eine gute Basis dar. Bedauerlich ist, dass dem Referenten kein einschlägiges Werk in

deutscher Sprache zur Verfügung stand, da die genetisch-epidemiologischen Zusammenhänge komplex sind und an vielen Stellen der näheren Erläuterung bedürfen. Es wäre interessant, vielleicht einmal eine solche zumindest kurzgefasste Übersicht in Deutsch darzustellen.

### **Ergänzende Literatur**

Abel L, Dessen AJ: Genetic Epidemiology of Infectious Diseases in Humans: Design of Population-Based Studies, Emerging Infectious Diseases Vol. 4, No. 4, Oct–Dec 1998 593 ff

Janeway CA, Travers P, Walport M, Shlomchik MJ: Immunobiology. Garland Science, New York 2005 (sic !)

Khoury MJ, Beaty TH, Cohen BH: Fundamentals of genetic epidemiology, Oxford University Press, New York – Oxford 1993, (9) Genetic approaches to familial aggregation, III. Linkage analysis, 284-311

Lewontin RC: The Detection of Linkage Disequilibrium in Molecular Sequence Data, Genetics 140 (1995) 377-388 (n.b.: in der analysierten Studie nicht zitiert)

NCBI-LocusLink: IL12RB1 / interleukin 12 receptor beta 1, LocusID: 3594, Internet: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/LocusLink/LocRpt.cgi?l=3594>

Risch N: Evolving methods in genetic epidemiology – II. Genetic linkage from an epidemiologic perspective. Epidemiol Reviews 19 (1997) 1: 24-32

Stenzel A.: Development of an SNP map in the peri-MHC region on the human chromosome 6 as a tool to identify candidate genes for inflammatory bowel disease. Dissertation, Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät der Christian-Albrechts-Universität, Kiel 2003, Internet: [e-diss.uni-kiel.de/diss\\_967/d967.pdf](http://e-diss.uni-kiel.de/diss_967/d967.pdf)