

Medizinische Fakultät der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

**Oligoklonale Immunglobulin G Banden im Blutserum nach
diagnostischer Liquorpunktion**

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Medizin (Dr. med.)

vorgelegt

der Medizinischen Fakultät

der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von Thakur Prasad Acharya

Geboren am 06.02.1980 in Laxmipur (Ilam), Nepal

Gutachter:

1. Prof. M. Kornhuber
2. Prof. D. Rujescu
3. Prof. A. Ludolph, Ulm

09.07.2019

30.07.2020

Referat

Oligoklonale Banden (OKB) sind Immunglobuline, die von unterschiedlichen B-Zellklonen stammen und mittels Gelelektrophorese (isoelektrische Fokussierung) dargestellt werden können. Es handelt sich um einen Befund, der bislang vor allem für die Diagnostik des Liquor cerebrospinalis eine Rolle spielt und hier zum Nachweis humoral entzündlicher Erkrankungen des zentralen Nervensystems wie z.B. Multiple Sklerose eingesetzt wird. OKB im Blutserum ist bisher kaum Beachtung geschenkt worden.

In der vorliegenden Untersuchung wurden Serumproben von 2823 Patienten, die im Zeitraum von 2007 bis 2013 im Universitätsklinikum Halle (Saale), Deutschland, eine Liquorpunktion erhalten hatten auf das Vorkommen von OKB im Serum hin untersucht. Nach Ausschluss von Patienten mit ungesicherten Diagnosen verblieben 2456 Patienten. Bei 730 (31%) dieser Patienten waren OKB im Serum nachweisbar und bei 1726 (69%) nicht. Zur statistischen Analyse wurde der exakte Test nach Fisher eingesetzt (mit Bonferroni Korrektur). Bei Patienten mit Neoplasien und Neurodegeneration wurden OKB im Serum signifikant häufiger angetroffen als bei Patienten mit zerebralen Entzündungen, Neuropathien, Hirninfarkten oder psychischen Erkrankungen. Eine verminderte Häufigkeit von OKB im Serum wurde bei funktionellen Störungen und bei Kopfschmerzerkrankungen angetroffen.

Bei den Pathomechanismen, die zum Auftreten von OKB prädisponieren, stehen Infektionskrankheiten an erster Stelle. Infektionskrankheiten können zur Symptombildung bei vorbestehenden Erkrankungen führen wie bei neurodegenerativen Krankheiten, multipler Sklerose, Epilepsie. Infekte können darüber hinaus z.B. durch Aktivierung des Gerinnungssystems sekundäre Erkrankungen auslösen wie etwa Schlaganfälle. Das gehäufte Vorkommen bei Patienten mit soliden Tumoren wie Mamma- oder Bronchial-Ca. ist evtl. paraneoplastisch bedingt. Darüber hinaus können OKB im Serum im Rahmen einer B-Zell-Neoplasie beobachtet werden.

Die vorliegende Untersuchung ist eine der ersten, die sich bei einer relativ umfangreichen Stichprobe dem Vorkommen von OKB im Serum widmet. Die hier gewonnenen Befunde bedürfen der Bestätigung und genaueren gezielten Untersuchung bei denjenigen Erkrankungen, bei denen hier ein erhöhtes Vorkommen gefunden worden ist. Insbesondere erscheint eine infektbedingte Triggerung sowohl von OKB im Serum als auch von klinischen Symptomen bei zahlreichen Erkrankungen eine Rolle zu spielen, der weitere Beachtung geschenkt werden sollte.

Acharya, Thakur Prasad: Oligoklonale Immunglobulin G Banden im Blutserum nach diagnostischer Liquorpunktion, Halle (Saale), Univ., Med. Fak., Diss., 70 Seiten, 2019

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Referat	I
Inhaltsverzeichnis	II
Abkürzungsverzeichnis	IV
1. Einleitung	1
1.1 Das Immunsystem	2
1.2 Die humorale Immunantwort	6
1.2.1 B-Zell Entwicklung, Reifung -und kombinatorische Diversität	8
1.2.2 Affinitätsreifung, klonale Expansion und Antikörperproduktion	9
1.2.3 Isotypen Klassenwechsel und Rolle der immunologischen Gedächtniszellen	10
1.2.4 Molekularer Aufbau des Antikörpers (IgG-Antikörper)	13
1.2.5 Mechanismen der B-Zell-Aktivierung (T-Zell-Hilfe, B-Zell-Superantigene)	16
1.2.5.1 T-Zell abhängige B-Zell-Aktivierung	16
1.2.5.2 T-Zell unabhängige B-Zell-Aktivierung	18
1.3 Autoimmunität und Mechanismus der Autoimmunität	20
1.4 Oligoklonale (IgG) - Banden (OKB) und klinische Bedeutung	21
2. Zielsetzung und Fragestellung	22
3. Methoden und Material	23
3.1 Studiendesign	23
3.2 Ein- und Ausschluss Kriterien	23
3.3 Versuchsdurchführung	23
3.3.1 Prinzip der isoelektrischen Fokussierung	23
3.3.2 Reagenzien	24
3.3.3 Probenvorbereitung	25
3.3.4 Qualitätskontrolle	26
3.3.5 Leistungsdaten	26
3.3.6. Sensitivität	26

3.4 OKB Auswertung	26
3.5 Statistische Analyse	27
4. Ergebnisse	28
4.1 Neoplasien	36
4.2 Neurodegenerative Erkrankungen	38
4.3 Anfallserkrankungen	39
4.4 Neuropathien	40
4.5 Psychische Erkrankungen	41
4.6 Zerebrale Entzündungen	42
4.7 Apoplexien	44
4.8 Systemische Entzündungen	45
4.9 Andere Erkrankungen	46
5. Diskussion	47
5.1 Neoplasien	48
5.2 Neurodegenerative Erkrankungen	49
5.3 Anfallserkrankungen	50
5.4 Neuropathien	50
5.5 Psychische Erkrankungen	52
5.6 Zerebrale Entzündungen	52
5.7 Apoplexien	53
5.8 Systemische Entzündungen	54
5.9 Andere Erkrankungen	55
6. Zusammenfassung	56
7. Literatur	58
8. Thesen	65
9. Anlagen	67
Selbständigkeitserklärung	VII
Lebenslauf	VIII
Danksagung	IX

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ADEM	Akute disseminierte Enzephalomyelitis
NMOSD	Neuromyelitis-Optica-Spectrum Disorder
AGE	Agarose Gel Elektrophorese
AID	Aktivierungsindizierte Deaminase
ALS	Amyotrophe Lateralsklerose
AP	Antigenpräsentation
APC	Antigenpräsentierende Zellen
BAFF	B-Zell aktivierender Faktor
Bcl-6	B-Zell Lymphom 6
Blimp-1	PR Domain zinc Finger Protein 1
BSF-1	B-Zell stimulierender Faktor-1
BZR	B-Zell Rezeptor
CDR	Komplement Determining Region
CD	Cluster of Differentiation (Bezeichnung für Oberflächen-Moleküle)
CD4	Cluster of Differentiation 4 (T-Helferzellen, Bindung vom MHC-II)
CD8	Cluster of Differentiation 8 (Zytotoxische T-Zellen, Bindung von MHC-I)
CD19	B-Lymphozyten
CD20	B- Lymphozyten
CD21	Komplementrezeptor 2
CD23	B-Zellen, Makrophagen Aktivierung
CD32	Rezeptor für Fc -Domänen von IgG, Phagozytose
CD35	Monozyten
CD40	B-Zellen und Makrophagen Aktivierung
CD42	B-Zell-Aktivierung, Rezeptor für von Willebrand Faktor und Thrombin
CD45	Alle Leukozyten

CIDP	Chronisch inflammatorische demyelinisierende Polyneuropathie
CJK	Creutzfeld-Jacob-Krankheit
CSF	Cerebrospinal Fluid (Liquor cerebrospinalis)
CUP	Cancer of Unknown Primary
CXCR5	CXC: Chemokinen Familie und R: Rezeptor
DC	Dendritische Zelle (APC)
DFZ	follikuläre dendritische Zellen
DNA	Deoxyribonucleic Acid (Desoxyribonukleinsäure)
Fab-Teil	Fraktion Antigen Bindung des Antikörpers
Fc-Teil	Fraktion crystalisable des Antikörpers
GBS	Guillain-Barré Syndrom
HEV	hochendotheliale Venolen
HOPS	Hirnorganisches Psychosyndrom
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
ICAM ₁	Interzelluläres Zelladäsionsmolekül-1 (z.B. Endothelzellen)
ICOS	Inducible T-cell co-stimulator
IEF	Isoelektrische Fokussierung
IEP	Isoelektrischer Punkt
IF	Immunfluoreszenz
Ig	Immunglobulin
IgA	Immunglobulin A
IgD	Immunglobulin D
IgE	Immunglobulin E
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
IL	Interleukin
IL4	Interleukin 4
IL13	Interleukine 13
IL 21	Interleukine 21

INF	Interferon
LES	Lambert-Eaton Syndrom
LP	Lumbalpunktion
MDSC	Myeloid-derived Suppressor Cell
MGUS	Monoklonale Gammopathie unklarer Signifikanz
MHC	Major Histocompatibility Complex
mRNA	messenger RNA (Ribonukleinsäure)
MS	Multiple Sklerose
NK-Zellen	Natürliche Killerzellen
NPH	Normal Pressure Hydrocephalus (Normaldruchhydrocephalus)
OKB	Oligoklonale Banden
PNP	Polyneuropathie
RSV	Respiratory syncytial Virus
SAB	Subarachnoidalblutung
SAP	SLAM-associated Protein (SH2D1A)
SCA	Spinocerebelläre Ataxie
SHM	Somatische Hypermutation
SLAM	Signalisierendes Lymphozyten-aktivierendes Molekül
SSPE	Subakuter sklerosierende Panenzephalitis
STAT 1/3	Signal transducer and activator of transcription 1
TIA	Transitorische Ischämische Attacke
TH ₁ -Zellen	T-Helfer Zelle 1
TH ₂ -Zellen	T-Helfer Zelle 2
TFH	Follikuläre T-Helfer Zelle
VLPs	Virus like particles
ZNS	Zentralnervensystem

1. Einleitung

Bei der Pathogenese von Krankheiten gibt es eine Vielzahl von beteiligten Faktoren. Dazu gehören solche, die von außen einwirken wie etwa physikalische, nutritive, toxische Faktoren oder Erreger sowie Faktoren, die von innen einwirken wie genetische Faktoren, das Immunsystem, Hormone, psychische Konstitution etc. Bei manchen Erkrankungen gilt die Pathogenese als relativ gut verstanden. Bei einer Vielzahl von Erkrankungen ist dies jedoch nicht der Fall, so dass mehr oder weniger intensiv über deren Pathogenese nachgedacht und geforscht wird. Zu den Einflüssen, denen eine große Bedeutung beigemessen werden, die aber weniger gut verstanden sind, gehören solche, die das Immunsystem betreffen. Dies hängt u.a. mit der Komplexität des Immunsystems zusammen. Im Rahmen des Immunsystems gibt es u.a. die zelluläre und die humorale Immunität. In der vorliegenden Arbeit steht mit den oligoklonalen IgG im Blutserum die humorale Immunität im Fokus. Humorale Immunaktivierung kann bei unterschiedlichen Erkrankungen zur Beobachtung kommen, insbesondere bei Infektionskrankheiten, Autoimmunerkrankungen und Paraneoplasien. Es gibt verschiedene Möglichkeiten, diese humorale Immunaktivierung zu erfassen. Neben dem Nachweis spezifischer Antikörper gibt es die Immunfluoreszenz (IF) an Gewebeschnitten sowie auch verschiedene gelelektrophoretische Verfahren. Ein relativ häufig eingesetztes gelelektrophoretisches Verfahren stellt bei neurologischen Patienten, die eine Liquorpunktion (LP) erhalten, die isoelektrische Fokussierung (IEF) dar (Johnson et al., 1977; Sidén und Kjellin, 1978; Gallo et al., 1982; Gastaldi et al., 2017).

Hierbei verteilen sich Proteine auf dem Gel entsprechend ihrem Ladungsverhalten im elektrischen Feld (16). Bei diesem diagnostischen Test steht bislang das Auftreten oligoklonaler Immunglobulin-Banden (OKB) im Liquor im Vordergrund. Dies spielt u.a. eine bedeutende Rolle für die Diagnose einer multiplen Sklerose (Johnson et al., 1977; Gastaldi et al., 2017). Multiple Sklerose ist eine degenerative und entzündliche Erkrankung des zentralen Nervensystems, bei der es durch axonale Demyelinisierung und durch Axonverlust zu Behinderungen kommen kann. Tab. 1 gibt eine Übersicht über die Erkrankungen, bei denen OKB im Liquor beobachtet wurden (Gastaldi et al., 2017, Cavalli et al. 1986). Allerdings werden nicht selten OKB im Blutserum beobachtet (Cavalli et al. 1986, Zeman et al., 1993). Während es zahlreiche Untersuchungen zur Bedeutung von OKB im Liquor gibt, ist die Bedeutung von OKB im Serum weniger gut belegt und untersucht. Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der relativen Häufigkeit von OKB im Blutserum bei verschiedenen Erkrankungen des Menschen.

Tabelle 1.: Beispiele für Erkrankungen, bei denen mit dem Vorkommen von oligoklonalen Banden im Liquor zu rechnen ist

- Bakterielle oder virale Meningitis bzw. Meningoenzephalitis
- Multiple Sklerose
- Autoimmune Enzephalitis
- Paraneoplastische neurologische Syndrome
- Akute disseminierte Enzephalomyelitis (ADEM)
- Neuromyelitis-Optica-Spectrum Erkrankungen (NMOSD)
- Dysimmune Polyradikuloneuritis
- Kraniale Mono/Polyneuritis
- Meningeale Karzinomatose
- Neurologische Beteiligung bei systemischen autoimmunen Erkrankungen

1.1 Das Immunsystem

Die wichtigste Aufgabe des Immunsystems ist die Erkennung und Abwehr verschiedener Krankheitserreger und deren Toxinen (Viren, Bakterien, Pilze, Protozoen, Würmer) sowie die Bekämpfung von Tumorzellen. Gleichzeitig vermittelt das Immunsystem eine Selbst-Toleranz, sorgt also dafür, dass körpereigene Antigene nicht angegriffen werden. Das Abwehrsystem umfasst verschiedene lymphatische Organe (u.a. Thymus, Milz, Lymphknoten, Tonsillen) sowie das blutbildende Knochenmark. Im Abwehrsystem existiert eine erhebliche Differenzierung zellulärer Bestandteile (Leukozyten), die einzeln oder häufiger in Kombination agieren, um ihre Aufgaben zu erfüllen. Die zellulären Bestandteile gliedern sich in solche des angeborenen Immunsystems wie etwa Granulozyten oder natürliche Killer-Lymphozyten (NK) und solche des erworbenen Immunsystems. Zu letzterem gehören antigenpräsentierende Zellen (APC: dendritische Zellen (DC), Monozyten/Makrophagen), fakultativ Antigen präsentierende Zellen (Astrozyten, Myozyten etc.) sowie Bestandteile der zellulären Immunität (T-Helferzellen, T-Suppressorzellen) und der humoralen Immunität (lösliche Antikörper, die von Plasmazellen sezerniert werden; Plasmazellen gehen aus B-Zellen hervor). Im Rahmen des Immunsystems wird von den beteiligten Zellen eine Vielzahl verschiedener Rezeptoren an der Oberfläche exprimiert, um z.B. Antigene direkt oder auf anderen Zellen zu erkennen. Z.B. werden Selbst-Antigene über Major Histocompatibility Complex (MHC) Klasse 1 Moleküle auf nahezu allen Körperzellen exprimiert. Fremdanigene werden über MHC Klasse 2 Moleküle auf Antigen präsentierenden Zellen den T-Helferzellen dargeboten. Darüber hinaus wird eine Vielzahl unterschiedlicher Mediatoren freigesetzt, um mit anderen Immunzellen oder anderen Körperzellen in Wechselwirkung zu treten oder etwa Barrieren zu durchdringen. Von suppressorischen/zytotoxischen T-Lymphozyten werden porenbildende Stoffe freigesetzt (z.B.

Perforin, Granzyme), die zur Lyse angegriffener Zellen beitragen. Die überwiegende Zahl dieser für sich interessanten und spannenden Mechanismen des Immunsystems spielen für die vorliegende Arbeit eine untergeordnete Rolle und werden daher nicht ausführlich dargestellt.

Im Prinzip gibt es immer eine primäre Immunabwehr (schnelle Immunantwort ohne Gedächtnis-Bildung) meist durch das angeborene Immunsystem und Immunglobulin M (IgM) und eine sekundäre Immunabwehr (verzögerte Immunantwort mit Bildung eines Immungedächtnisses), welche sehr spezifisch und komplex ist und oft durch Immunglobulin G (IgG) ausgelöst wird (Abb. 1). Die Art und Eigenschaften von verschiedenen Pathogenen spielen eine große Rolle bei der Immunabwehr. Im folgenden Abschnitt wird ein kurzer Überblick gegeben über die immunologischen Prozesse beim ersten Kontakt mit einem Pathogen (Abb. 2), die wichtigsten Komponenten des adaptiven Immunsystems und eine ausführliche Beschreibung der humoralen Immunantwort sowie die klinische Bedeutung von Antikörpern.

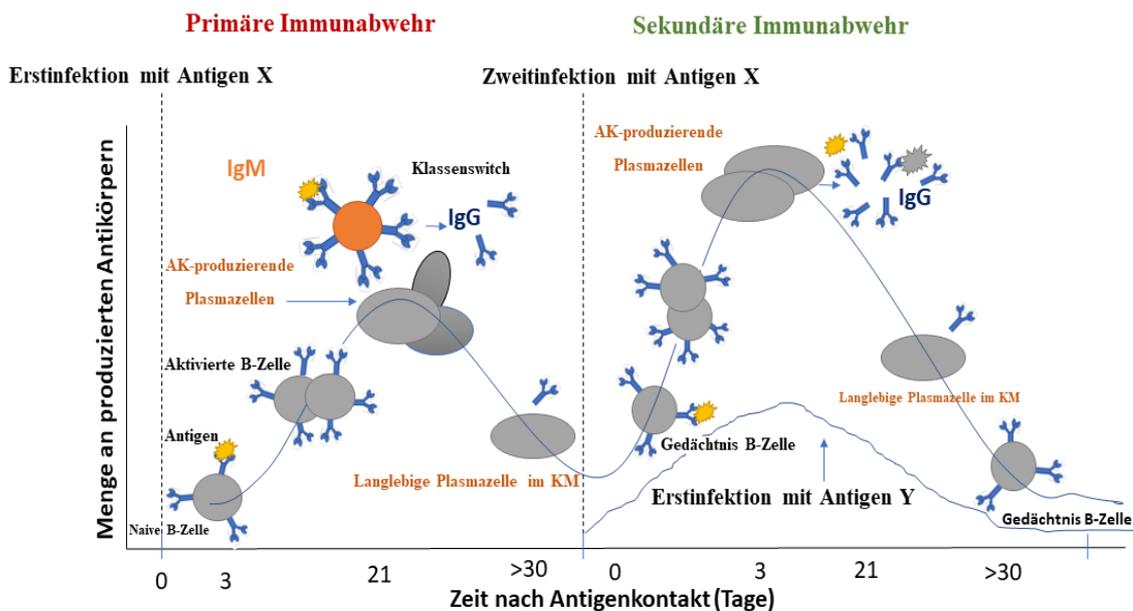


Abbildung 1: Zeitlicher Ablauf einer Immunantwort und beteiligten Zellen. Zeitlicher Ablauf der primären und sekundären humoralen Immunreaktion mit dem jeweiligen Ausmaß der Antikörperproduktion. Beim Übergang der primären humoralen Immunabwehr zur sekundären humoralen Immunabwehr kommt es zum „Switch“ von der Bildung von IgM zur Produktion von IgG. Schließlich werden sog. „Gedächtnis-B-Lymphozyten“ gebildet, die langfristig persistieren und bei einem Zweitkontakt mit dem Erreger sehr schnell zur Antikörperproduktion rekrutiert werden können.

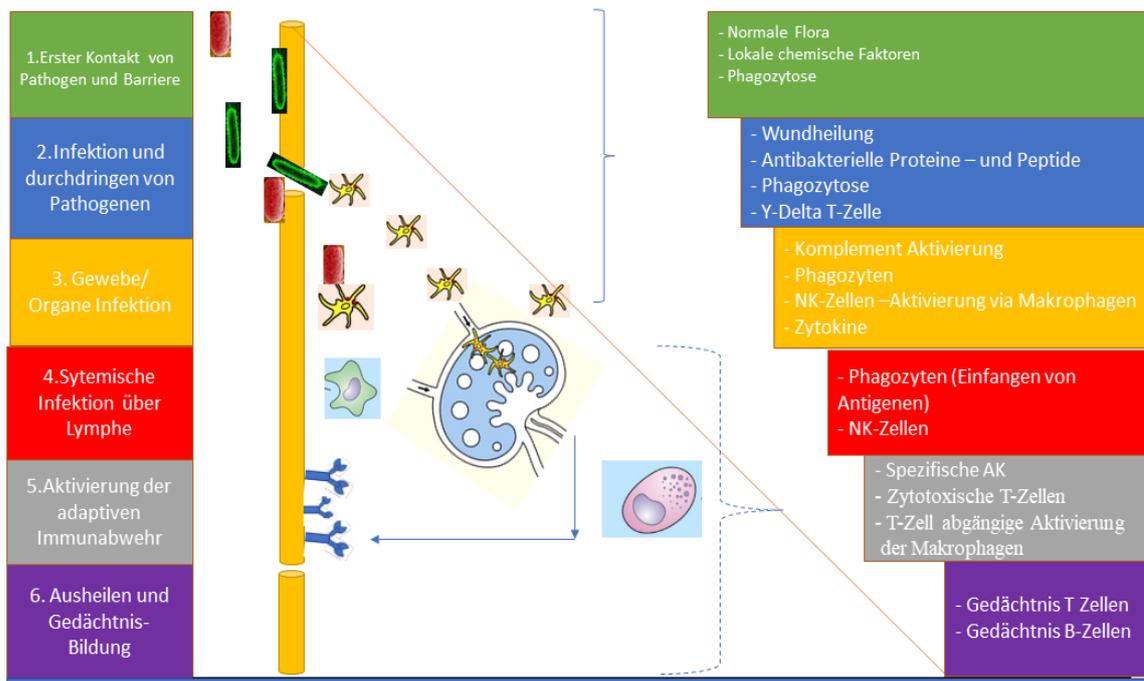


Abbildung 2: Stadien der Infektion und Immunreaktion (links) mit den beteiligten Erregern, Barrieren und Kompartimenten des Körpers und einer Auswahl beteiligter Zellen (Mitte und rechts).

Sofern ein Erreger nicht durch die angeborene Immunantwort (primäre Immunantwort) eliminiert werden kann, erfolgte die Immunabwehr ggf. spezifisch über die Aktivierung des adaptiven Immunsystems. Das angeborene Immunsystem existiert bei allen höheren Organismen. Im Gegensatz dazu beschränkt sich die spezifische Immunabwehr (erworbenes Immunsystem) nur auf die Wirbeltiere. Die wichtigste Voraussetzung des adaptiven Immunsystems ist eine genetische Vielfalt („Diversität“, u.a. durch genetische Rekombination mit Mutation, wodurch jeder Antikörper eine antigenanpassende Bindungsstelle mit höchster Affinität besitzt um eine effektive spezifische Immunabwehr zu generieren (Tonegawa 1983). Das adaptive Immunsystem besteht aus zellulären (B- und T Lymphozyten) und humoralen Bestandteilen (Plasmazellen und Antikörper). Die theoretischen Kenntnisse zur humoralen Immunantwort spielen eine wichtige Rolle für klinische Einschätzungen im Rahmen von Immunreaktionen und z.B. für die Beurteilung des Stellenwertes von OKB im Serum (Abb. 3 und 4).

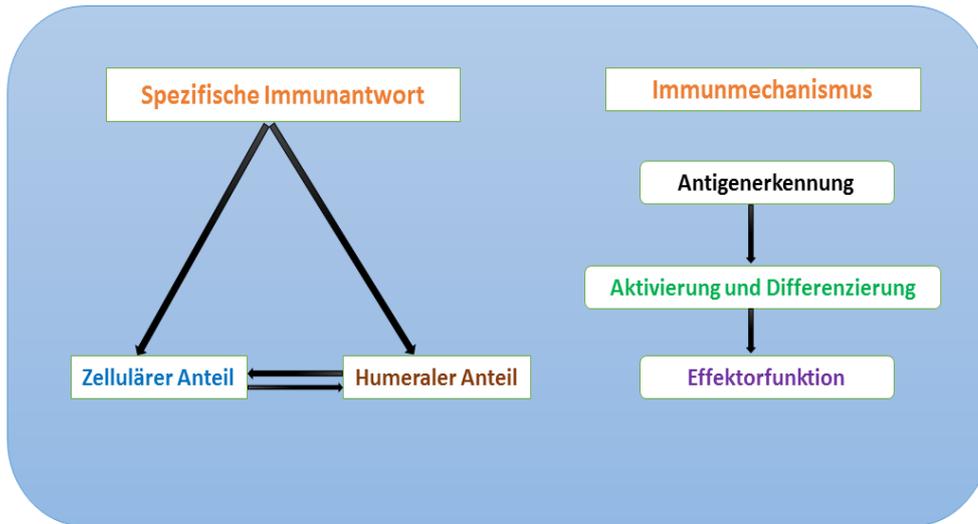


Abbildung 3: Übersicht über die Arten der spezifischen Immunantwort und die grundsätzlichen Immunmechanismen.

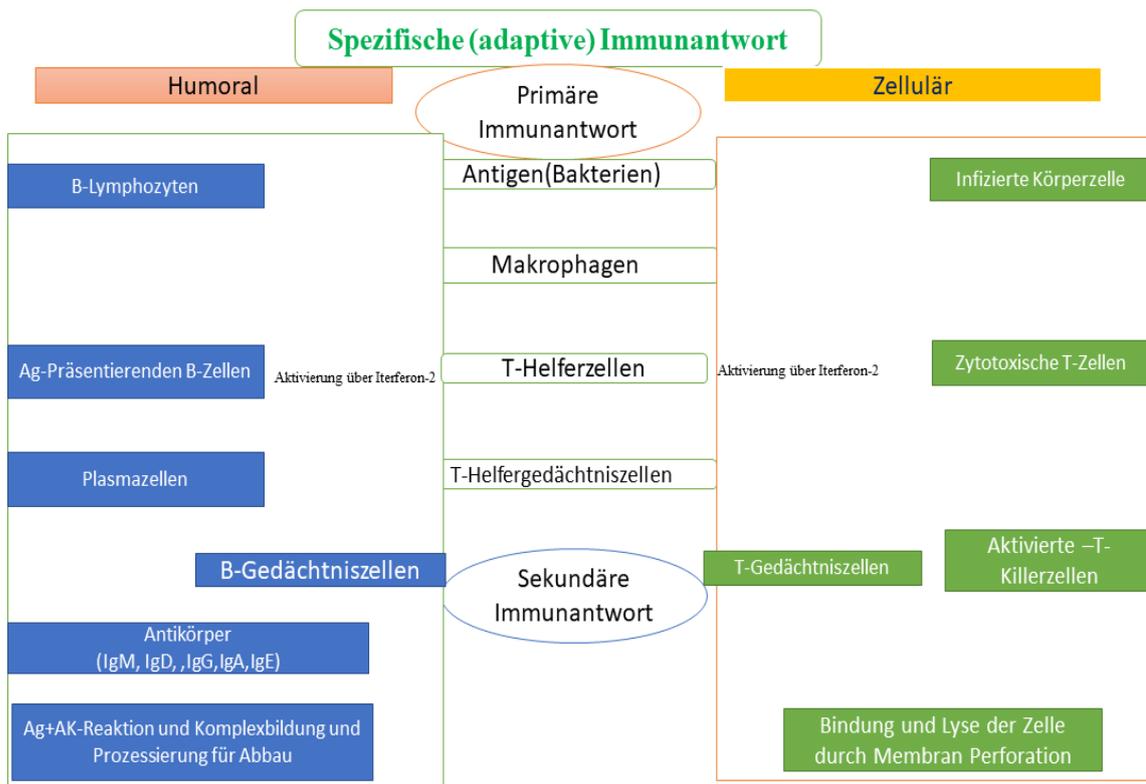


Abbildung 4: Übersicht über die spezifische humorale und zelluläre Immunantwort und die damit verbundenen Lymphozyten-Subpopulationen.

1.2. Die humorale Immunantwort

Unter der humoralen Immunantwort versteht man einen wichtigen Teil des spezifischen Immunsystems, der durch nicht-zelluläre Bestandteile vermittelt wird. Dabei spielen von B-Lymphozyten bzw. Plasmazellen gebildete Antikörper (AK) eine wesentliche Rolle. Während zelluläre Immunität vor allem durch intrazelluläre Mikroorganismen aktiviert wird, ist humorale Immunität überwiegend gegen extrazelluläre Mikroorganismen gerichtet. Antikörper sind körpereigene Proteine, die zur Proteingruppe der Immunglobuline (Ig) gehören. Im Gegensatz zu anderen antigenpräsentierenden Zellen können sich B-Lymphozyten zu Plasmazellen differenzieren, die in der Lage sind, eine Vielzahl an verschiedenen und hochspezifischen Antikörpern zu sezernieren. Sie besitzen auf der Zelloberfläche eine große Zahl von verschiedenen Rezeptoren (Abb. 5). Der B-Zell Rezeptor ist eine von diesen und stellt einen spezifischen und einzigartigen Rezeptor der B-Zelle dar mit hoher Spezifität (ähnlich dem der Antikörper). Mit dem B-Zell Rezeptor kann die B-Zelle Antigene auf Zelloberflächen oder als lösliche Antigene (Proteine, Polysaccharide, Lipide) erkennen und anschließend eine Abwehrfunktion einleiten.

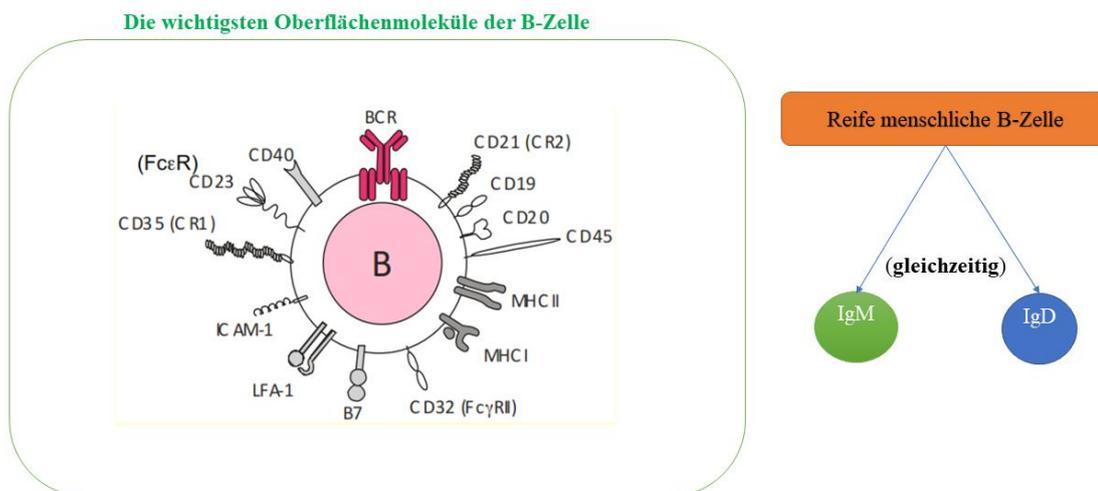


Abbildung 5: Übersicht über die auf B-Lymphozyten exprimierte Oberflächenantigene. Gruppen von Antigenen erläutern. MHC I Antigenpräsentierendes Oberflächenmolekül (präsentiert Selbst-Antigene). MHC II Antigenpräsentierendes Oberflächenmolekül (präsentiert Fremd-Antigene). BCR, B-Zellrezeptor (BCR bindet Antikörper (IgD, IgM, IgA oder IgE) und vermittelt zelluläre Reaktion nach Antigenkontakt). B7 Kostimulatorisches Molekül. ICAM-1 und LFA-1: Adhäsionsmoleküle. CD19 B-Lymphozyten-Marker (Immunglobulin-Superfamilie), CD 20 B-Zell-Oberflächen-Marker, reguliert die Aktivierung des B-Zell-Rezeptors. CD21 (CR2) B-Zell Komplementrezeptor 2. CD23 Fc Epsilon Rezeptor 2, niedrig-affiner IgE-Rezeptor. CD32 niedrig-affiner Rezeptor für IgG, regelt nach IgG-Bindung Antikörper-Produktion herab. CD35 (CR1) Komplementrezeptor 1. CD40 gehört zur TNF-Rezeptor Superfamilie, costimulatorisch aktiv. CD45 Rezeptor-Typ Tyrosin-Proteinphosphatase C (Common leukocyte antigen; Leukozytenmarker).

Die Antikörper sind nach Ihrer Produktion von Plasmazellen in den Körperflüssigkeiten und Sekreten gelöst. Sie besitzen eine Y-förmige Proteinstruktur, deren Arme zwei Antigen-Bindungsstellen tragen (s.u.). Diese Antigenbindungsstellen weisen eine hohe Variabilität auf, sind aber an den Armen desselben Antikörpers identisch. Demgegenüber bestimmt die konstante Region des Antikörpers dessen Isotyp (Antikörperklasse). Es gibt fünf Hauptklassen von Antikörpern (IgA, IgD, IgE, IgG, IgM). IgG wird wiederum nach der jeweiligen Funktion in weitere vier Subklassen IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 eingeteilt (Hmiel et al., 2015).

Je nach Stoffklasse des Antigens und dem Ort der Immunabwehrreaktion richten sich die Isotypen. während einer Immunantwort kann z.B. durch den Einfluss von Zytokinen anschließend ein Klassenwechsel stattfinden (s.u.). Dieser Prozess kann nur in aktivierten B-Zellen erfolgen. Der Fc-Anteil (Fc für Fraction crystallizable) der konstanten Region des Antikörpers ist zuständig für die Induktion der Effektorfunktion, welche die AK über eine Bindung zwischen Rezeptoren von phagozytierenden Zellen oder Komplementfaktoren eingeleitet wird. Im Gegensatz dazu ist die variable Region Fab (Fraktion Antigen Binding) des Antikörpers für die Spezifität zuständig. Das Immunsystem kann theoretisch mehr als 10^{11} (100 Milliarden, großes Repertoire) unterschiedliche Antikörper bilden. Nur die geeigneten Antikörper dieses Repertoires, die mit jeweils einzigartigen Epitopen (hoch spezifisch und mit großer Affinität) körperfremde Substanzen (z.B. von Pathogenen) erkennen, werden auf DNA-Ebene der B-Zellen kodiert (Tonegawa 1983). Diese außerordentliche Vielfalt und Diversität entsteht nicht nur durch alleinige Vererbung der Ig-Loci, sondern durch Mechanismen auf somatische Rekombination während der B-Zellreifung erfolgen (Abb. 6, 7).

PRIMÄRE –UND SEKUNDÄRE B-ZELLREIFUNG

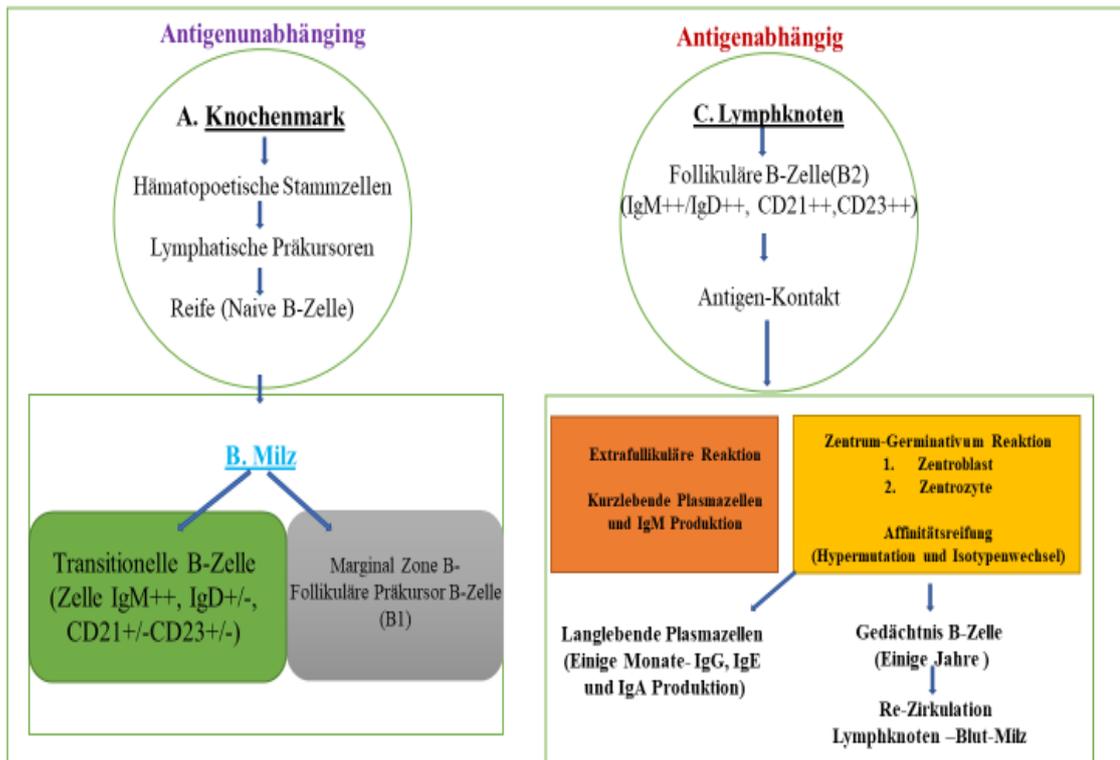


Abbildung 6: Die verschiedenen Stadien der B-Zellreifung sind in Abbildung 1-1 zunächst in einer Übersicht zusammengefasst. Übersicht über die von Antigen abhängige (rechts) und von Antigen unabhängige (links) Reifung von B-Lymphozyten.

1.2.1. Entwicklung der B-Zellen und kombinatorische Diversität

Unreife B-Lymphozyten entstehen im Knochenmark aus pluripotenten hämatopoetischen Stammzellen, die während der Embryonalentwicklung in der fötalen Leber gebildet und später ihre Entwicklung als sogenannte Pro-B-Zellen (Unreife B-Zellen) im Knochenmark beginnen. Sie besitzen bereits einen unreifen B-Zell-Rezeptor (Ig-Repertoire mit mannigfaltiger Spezifität). Die überwiegende Zahl von B-Zellen, die Selbstantigene erkennen werden im Rahmen des Reifungsprozesses eliminiert (Hayakawa et al., 1999). Nur etwa 5-10% der B-Zellen überstehen diese Selektion, verlassen das Knochenmark, wandern in sekundäre lymphatische Organe ein und differenzieren sich dort zu reifen naiven B-Zellen. Während des Reifungsprozesses wird eine große Diversität an Antikörperspezifitäten erzeugt, und zwar durch Umlagerung des variablen (V) und junktionalen (J) Gensegmentes der leichten Ketten im Fab-Bereich (Tonegawa, 1983) (Abb. 7). Reife, naive B-Zellen zirkulieren zwischen dem Blut und den sekundären lymphatischen Organen, bis sie auf ein zu ihr passendes Antigen treffen. Via B-Zell-Rezeptor wird das Antigen erkannt und gebunden. Anschließend trifft die B-Zelle auf eine Effektor-T-Zelle (in der Regel T-Helferzellen vom Typ TH2), die zuvor an einer

interdigitierenden dendritischen Zelle (DC) durch Kontakt mit einem Peptidfragment aus dem gleichen Antigen aktiviert wurde. Beide Mechanismen tragen zur Aktivierung reifer B-Zellen bei (Liu et al., 1991, Gowthaman et al., 2010). Verschiedene Entwicklungsstadien von B-Zellen bilden in den sekundären lymphatischen Organen sog. Keimzentren, deren Ziel es ist, durch somatische Hypermutation und Affinitätsreifung B-Zellen mit hochaffinen B-Zell-Rezeptoren zu produzieren. Anschließend verlassen diese hochaffinen reifen B-Zellen die sekundären lymphatischen Organe und differenzieren sich zu Plasmazellen, die in der Lage sind, hochaffine zu produzieren und freizusetzen.

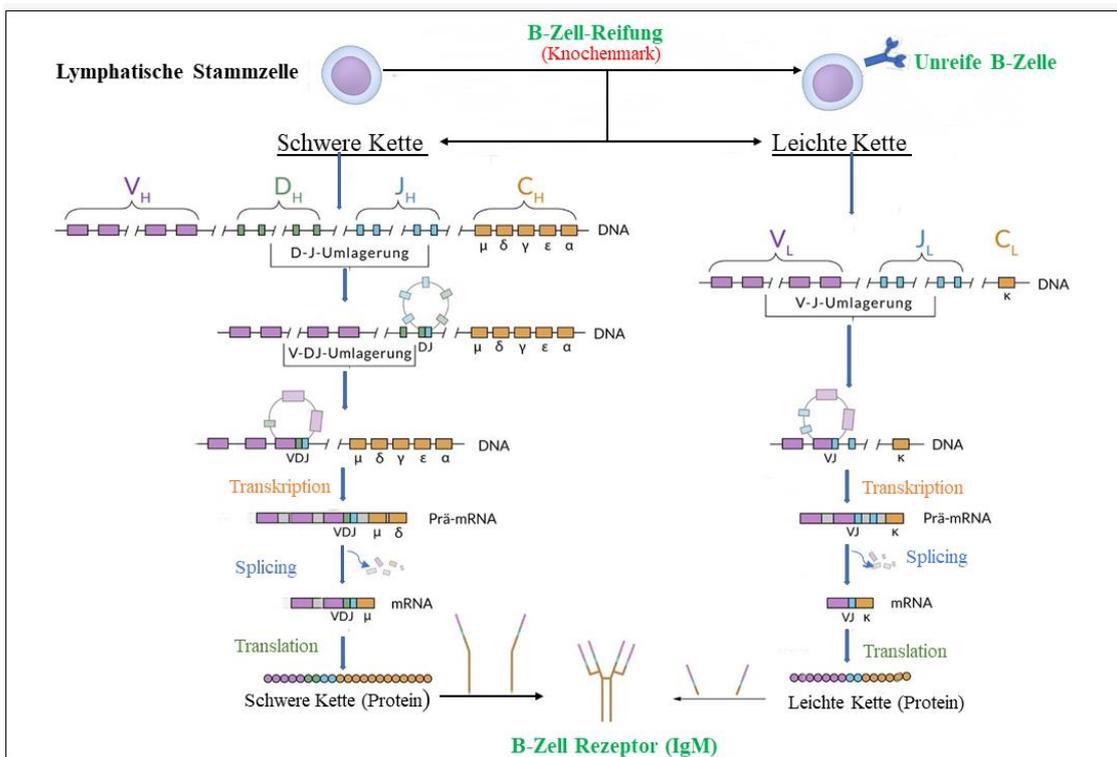


Abbildung 7: Kombinatorische und Junktionale Diversität von B-Zell-Rezeptoren und Antikörpern. Abb. modifiziert nach Königshoff und Brandenburger, 2007.

1.2.2. Affinitätsreifung, klonale Expansion und Antikörperproduktion

Die unreifen B-Zellen, die nach positiver Selektion aus dem Knochenmark entstehen, erreichen die lymphatischen Organe über Blutkreislauf bzw. Lymphwege. Die Lymphknoten werden von B- und T-Zellen ständig durchwandert. Diese Zellen verlassen die Blutbahn im inneren Lymphknotenkortex im Bereich von hochendothelialen Venolen (HEV). Die Stimulation unreifer B-Zellen hin zu Antikörper produzierenden Plasmazellen ist weiterhin Gegenstand der Forschung. Dabei spielen sowohl Antikörperkontakt als auch Stimulation über dendritische Zellen (Wykes und McPherson 2000) bzw. über T-Helferzellen eine Rolle (Yam-Puc et al., 2018). Die Mehrzahl der B-Zellen benötigt die Unterstützung durch CD4+ T-Helferzellen (T-

Zell-abhängige B-Zellstimulation) (Yam-Puc et al., 2018). Im Rahmen der T-Zell-vermittelten B-Zell-Aktivierung werden kostimulatorische Signale ausgeschüttet. Anschließend bilden aktivierte B-Zellen in den Lymphfollikeln sog. Keimzentren. Dort gibt es zusätzliche proinflammatorische Zytokinstimuli z.B. über dendritische Zellen (Wykes und McPherson 2000; Fayette et al., 2018). Im Keimzentrum findet die Ausbildung der Diversität des Ig-Repertoires (somatische Hypermutation (SHM) statt (s.o.). Das Enzym Aktivierungsinduzierte Cytidin-Deaminase (AID) spielt dafür eine entscheidende Rolle, um die Bindungsstelle des produzierten AKs zu verändern (Muramatsu et al., 2000). Daher ist die AID eine wichtige Komponente in der Reifung von hochaffinem Antikörper und ein Schlüsselenzym der spezifischen Immunantwort. Sofern die Mutationen zufällig zu einer im Vergleich zum ursprünglichen B-Zell-Rezeptor höheren Affinität gegenüber dem Zielantigen führen, wird die entsprechende B-Zelle positiv selektioniert. Man kennt heute die drei Regionen (sog. CDR (Complement-Determining Regionen)) von H- und L-Kette des Antikörpers, welche von dieser somatischen Mutation besonders betroffen sind, weil Sie direkt an der Antigenbindung beteiligt sind (Odegard und Schatz, 2006). Die hier anzutreffende Mutationsrate ist etwa 10^6 mal höher als in anderen somatischen Zellen (Odegard und Schatz, 2006). Während der SHM entstehen auch viele ineffektive B-Zellerezeptoren (z.B. Stopcodon, Mutationen), wodurch z.B. die Faltung des AKs nicht richtig stattfindet sowie eine Störung der Affinitätsreifung auftritt (B-Zellen mit verringerter Affinität). Aus diesem Grunde wird ein Großteil der B-Zellen (ca. 90%) im Keimzentrum absterben. Nur die wenigen positiv selektionierten reifen B-Zellen führen zu einer klonalen Expansion zu Antikörper produzierenden Plasmazellen (Monroe et al., 2003).

1.2.3. Isotyp-Klassenwechsel und Rolle der immunologischen Gedächtnis-B-Zellen

Im Verlauf der B-Zell Entwicklung erfolgt nun im Keimzentrum die Differenzierung der klonal expandierten B-Zellen mit der höchsten Affinität für ein bestimmtes Antigen zu Plasmablasten. Die Plasmablasten besitzen eine weitere Teilungsfähigkeit und anschließend produzieren nach vollzogenem Klassenwechsel (über Interleukine) von IgM zu z.B. IgG (Abb. 8) den hochaffinen löslichen Antikörper. Die variablen Regionen der H und L-Ketten sind genetisch nicht veränderbar und fixiert. Die konstante Region der H-Ketten besitzen genetisch veränderbare Segmente, die für verschiedene Isotypen (($C\mu$ für IgM, $C\delta$ für IgD, $C\gamma 1/2/3/4$ für IgG1/2/3/4, $C\alpha 1/2$ für IgA1/2 und $C\epsilon$ für IgE) exprimiert werden (über Transkription und Translation, Abb. 8). Dabei spielen CD40L des TH2 (Ligand für das CD40-Protein der B-Zelle) (Lipsky et al., 1997) und Interleukine (z.B. IL4) eine Rolle (Purkerson et al., 1992).

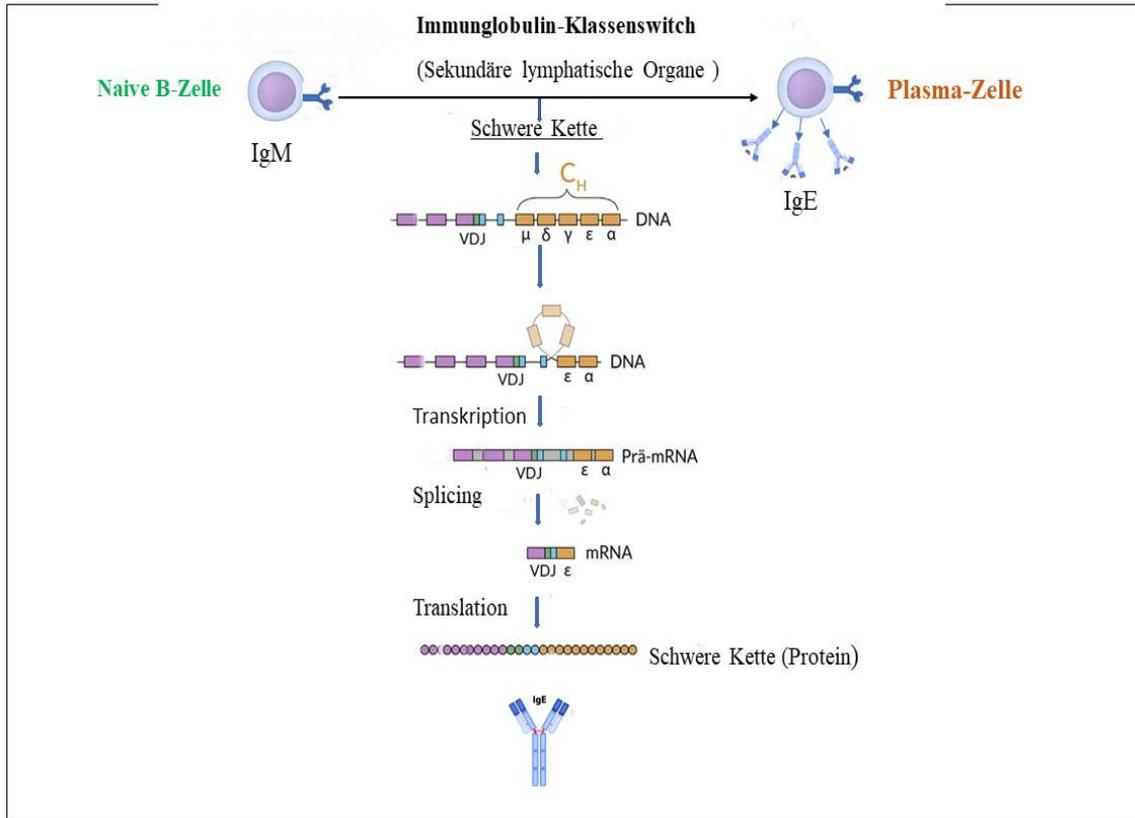


Abbildung 8: Klassenwechsel von Antikörpern (= Isotypen-Switch). Abb. modifiziert nach Königshoff und Brandenburger, 2007. Kombinatorische und junktionale Diversität von B-Zell-Rezeptoren und Antikörpern. Kodierung von mehreren genetischen Bausteinen (V-Variable Segmente, D-Diversitätssegmente und J-Verbindungssegmente, C-Konstante Segmente) für die variablen Anteile (FAB) der Schwere und leichten Ketten von AK und B-Zell-Rezeptoren. Kombination der Bausteine und verschiedener variabler Regionen der leichten und schweren Ketten im Rahmen der B-Zell Reifungsprozess (VDJ-Rekombination). Somatische Hypermutation: Modifizierung des reifen AK-Gene: Somatische Hypermutationen der leichten und schweren Ketten im Fab-Bereich während der Immunabwehr. Resortierung die variablen Abschnitte der leichten und schweren Ketten sowie Punktmutationen (Tonegawa, 1983).

Das aktivierte lösliche Immunglobulin-Molekül verfügt über bestimmte Effektorfunktionen (Abb. 9).

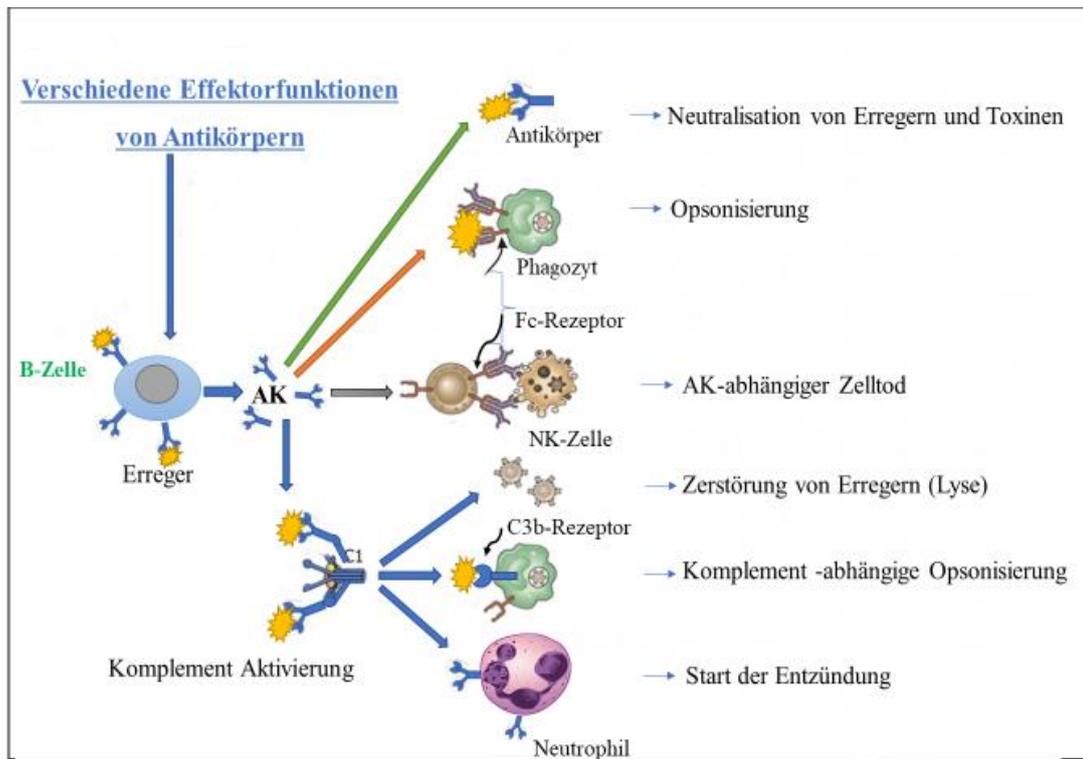


Abbildung 9: Übersicht über verschiedene Effektorfunktionen von Antikörpern im Rahmen der humoralen Immunität.

Im Keimzentrum der Lymphknoten entstehen aus Plasmablasten die Plasmazellen. Dies sind diejenigen Zellen, die je nach Art der Immunreaktion (Bakterien, Viren, Allergen) geeignete AK produzieren können. Die Plasmazellen werden in zwei Gruppen eingeteilt. Die kurzlebigen Plasmazellen haben eine Halbwertszeit von wenigen Tagen und besitzen die Fähigkeit, eine große Menge an AK bereitzustellen. Langlebige Plasmazellen verlassen das Keimzentrum und wandern ins Knochenmark, wo Sie über Monate oder (teils viele) Jahre den hochaffinen Antikörper in kleineren Mengen produzieren (Good-Jacobson und Tarlinton, 2012). Letztere Zellen werden als Gedächtnis B-Zellen bezeichnet. Sofern die Gedächtnis B-Zellen bereits einen Kontakt mit Antigen aufgenommen haben, können Sie nun bei erneutem Auftreten desselben Antigens innerhalb kürzester Zeit zur Antikörperproduktion reaktiviert werden.

1.2.4. Molekularer Aufbau des Antikörpers (IgG-Antikörper)

Antikörper sind modifizierte spezifische Rezeptormoleküle, die von Plasmazellen an den extrazellulären Raum abgegeben werden. Im Bereich des antigenbindenden Fab-Teils können Antikörper spezifisch an eine passende Molekülstelle (Antigen-Epitop z.B. an einem Bakterium oder Peptidfragment) binden. Jeder Antikörper besteht aus einem Zellbindungsteil (Fc; Fraction crystallizable). Abhängig von der Sequenz des konstanten Bereiches einer H-Kette werden Immunglobuline in 5 Klassen eingeteilt (Diversität der konstanten Region, Abb. 10).

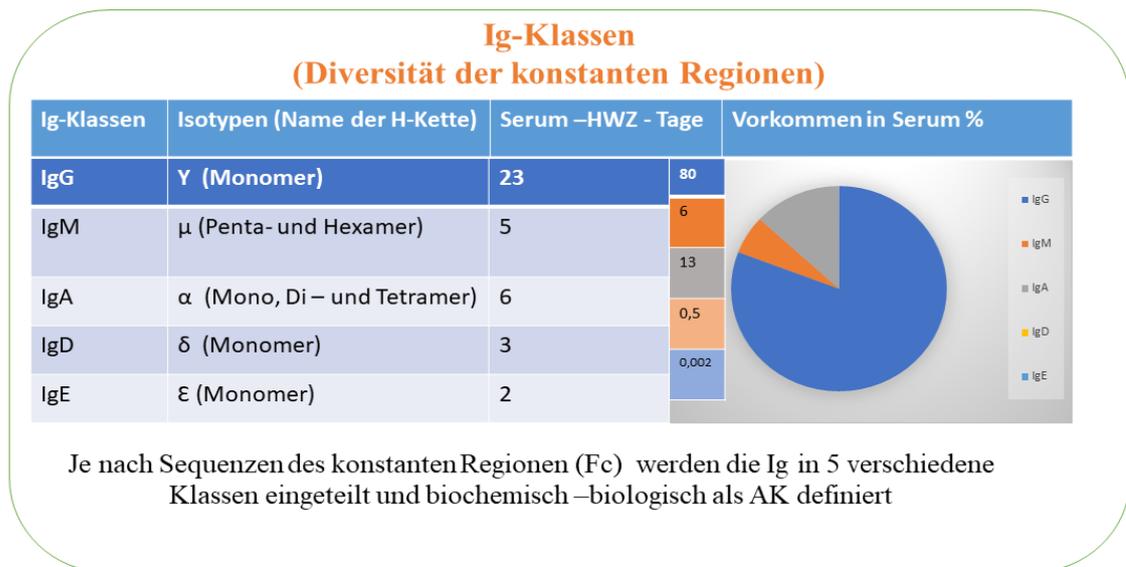


Abbildung 10: Überblick zu den Ig-Klassen, deren Isotypen und Vorkommen im Blutserum. Daten zur Serum-Halbwertszeit (HWZ) modifiziert nach Murphy und Weaver 2017, S. 215. und Owen et al. 2013, S. 86.

Antikörper können monomer (z.B. IgG), dimer (IgA) oder pentamer vorliegen (IgM). In dieser Arbeit geht es um Vorkommen von OKB im Serum, die aus IgG entstehen (vgl. Abb. 16). Daher ist das Verständnis über den molekularen Aufbau eines IgG-Antikörpers wichtig. Hier wird dieser Aufbau kurz beschrieben. IgG ist ein wichtiger Bestandteil des spezifischen Immunsystems und stellt die dominierende Immunglobulinklasse im Blut dar (Tab. 2). IgG findet sich auch z.B. in Lymphe und Darmschleimhaut. IgG sind die einzigen Antikörper, die die Plazentaschranke überwinden und einen spezifischen Immunschutz für das Neugeborene vermitteln können. Dieser "Nestschutz" hält jedoch nur etwa drei Monate an. Danach muss das Immunsystem des Neugeborenen selbst Antikörper produzieren.

Tabelle 2: Konzentration der Immunglobuline in verschiedenen Körperflüssigkeiten (in µg/ml). Modifiziert nach Arasteh K, Baenkler H-W, Bieber C et al. Innere Medizin, 2. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2009, S1312. sowie Thomas L. Immunglobuline, in: L. Thomas (Hrsg) Labor und Diagnose, TH-Books Verlag, 8. Aufl., Frankfurt a.M., 2012, S. 1231.

Flüssigkeitsmedium/Ig	IgG	IgA	IgM	IgD	IgE
Serum	7000-16000	800-4000	400-2500	30-140	<0,4
Liquor	3-25	<3	1	0	0
Kolostrum	30	10000	800	0	0
Darmflüssigkeit	200	300	1	0	<0,4

Jedes IgG-Molekül besteht aus vier Peptidketten: zwei schweren gamma-Ketten (H-Ketten) mit einem Molekulargewicht von je etwa 50 kDa und zwei leichten Ketten (L-Ketten) mit je etwa 25 kDa, die zwei Antigenbindungsstellen besitzen (Abb. 11). IgG Moleküle sind daher insgesamt 150 kDa schwer. Die beiden schweren Ketten sind mit den leichten Ketten durch Disulfidbrücken miteinander verbunden. Das daraus resultierende Tetramer hat zwei identische Hälften, die eine Y-Form besitzen. Innerhalb der Polypeptidketten lassen sich Ig-Domänen von jeweils ca. 110 Aminosäuren unterscheiden, wobei die L-Kette insgesamt aus zwei (VL, CL) und die H-Kette aus einer VH – und drei CH (CH1, CH2 und CH3) - Domänen besteht. Die N-terminalen Enden bilden den variablen Abschnitt (V-Region) und alle anderen Ig-Domänen werden als konstanter Abschnitt (C-Region) bezeichnet. Die Strukturstabilität des IgG wird von Disulfidbrücken gewährleistet. Die beiden oberen Schenkel (Domänen) des IgG Moleküls sind mit dem unteren Teil durch ein Scharnier (Gelenkregion = Hinge Region = CH1 + CH2 Domäne) über 2 Disulfidbrücken miteinander verbunden. Diese Region kann von Proteasen leicht hydrolysiert werden. Man verwendet im Labor mitunter die Protease Papain, um die Scharnierregion zu spalten. Dabei entstehen insgesamt drei Fragmente; 2 Fab-Anteile: antigenbindende Fragmente und ein konstanter Fc-Anteil: Wechselwirkung u.a. mit Zelloberflächen oder mit dem Komplementsystem z.B über C1q.

Im Verlauf der Immunantwort erfolgt eine spezifische genetische Umordnung der Immunglobuline und eine Differenzierung von B-Zellen zu Antikörper-sezernierenden Plasmazellen. In diesem Rahmen kann es zu einem Klassenwechsel (isotype switch) der konstanten Antikörper-Regionen kommen. Z.T. in Abhängigkeit vom jeweiligen Antigen erfolgt die Bildung verschiedener Immunglobulin-Isotypen (Vidarsson et al., 2014). Befunde über den dominierenden Isotyp können dabei Hinweise auf den Status der Immunantwort (primäre oder sekundäre, akute oder chronische) oder auf das vorliegende Pathogen geben (Vidarsson et al., 2014; Svirshchetskaya et al., 2016). Bei einer akuten Infektion werden

zunächst IgM-Antikörper gebildet. Im Gegensatz zu IgM vermitteln IgG-Antikörper Hinweise auf eine fortgeschrittene bzw. zurückliegende Infektion. Das Vorkommen von höheren Konzentrationen der Isotypsubklassen IgG1 und IgG3 gibt Hinweise auf Proteine (z.B. virale Infektion/Antigen), während IgG2 und IgG4 auf Polysaccharide (z.B. bakterielle Infektionen/Antigene) bzw. Allergene hinweisen (Vidarsson et al., 2014). Daher kann eine spezifische diagnostische Analyse der Antikörper mit ihren Isotypsubklassen hilfreich sein, um Erkrankungen mit unbekanntem Antigen zu identifizieren.

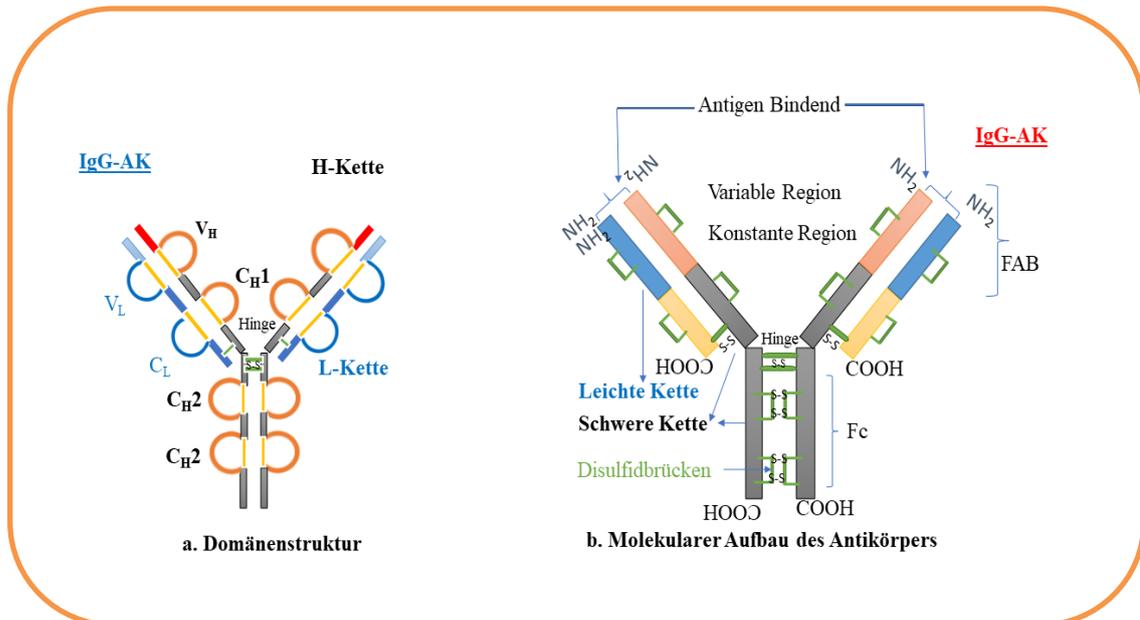


Abbildung 11: In Abbildung 1-2 ist der Aufbau eines IgG-Antikörpers schematisch dargestellt. Der Antikörper besteht aus einem Fc-Fragment (fragment crystallizable) aus 2 schweren Proteinketten, die mit Disulfidbrücken verbunden sind. Die y-förmig auseinanderweichenden Enden der schweren Ketten sind wiederum über Disulfidbrücken mit je 1 leichten Kette verbunden. Die beiden oberen Schenkel (Domänen) des IgG Moleküls sind mit dem unteren Teil durch ein Scharnier (Gelenkregion = Hinge Region = CH1 + CH2 Domäne) über 2 Disulfidbrücken miteinander verbunden. An den „oberen“ Enden befinden sich variable Regionen, die der Antikörper-Bindung dienen.

1.2.5. Mechanismen der B-Zell-Aktivierung

Der Mechanismus der B-Zell Aktivierung ist ein komplexer und u.a. Antigen-abhängiger Vorgang, welcher bereits seit den 60iger Jahren des letzten Jahrhunderts diskutiert wird (Claman et al. 1966, Katz und Benacerraf 1972). Zuletzt wurde viel über regulatorische Faktoren und genetische Einflüsse auf die Aktivierungsphase (Hypersomatische Mutation und Rekombination) sowie über kostimulatorische Signale diskutiert (Nat Rev Immunol. 2015 March; 15(3): 185–189). Man unterscheidet die Aktivierung der B und T-Zellen vor Antigen-Kontakt und nach Antigen-Kontakt. In der vorliegenden Arbeit wird nur der Vorgang der B-Zell Aktivierung nach Antigen-Kontakt mit Hilfe beteiligter Faktoren illustriert. Wesentlich unterscheidet man zwei Wege zur B-Zell Aktivierung: T-Zell-abhängige und T-Zell-unabhängige B-Zell-Aktivierung (Tab. 3).

Tabelle 3: T-Zell-abhängige und unabhängige B-Zellaktivierung im Vergleich.

1. T-Zell-abhängige B-Zell Aktivierung	2. T-Zell-unabhängige B-Zell Aktivierung
<ul style="list-style-type: none">▪ T-Zell Hilfe benötigt▪ Antigen: u.a. Proteine, Glykoproteine, Polysaccharide▪ Affinitäts-Reifung und Ig-„Klassenswitch“▪ Erzeugung eines immunologischen Gedächtnisses	<ul style="list-style-type: none">▪ Ohne T-Zell Hilfe▪ Schnelle B-Zell Antwort▪ Antigene: meist bakterielle Antigen, z.B. Polysaccharide, Lipopolysaccharide und Antigenen mit repetitiven Epitopen▪ Evtl. kein immunologisches Gedächtnis

1.2.5.1 T-Zell-abhängige B-Zell Aktivierung

Der T-Zell abhängige B-Zellaktivierungsvorgang ist komplex (Abb. 12 und 13). Die B-Zellaktivierung ist nicht allein durch die T-Zelle möglich. Die wichtigste Voraussetzung dieser Aktivierung sind: Antigen-Kontakt auf B-Zellen via APC (z.B. dendritische Zellen) und Kostimulation durch reife aktivierte T-Helferzellen (TH2, die spezifisch für das gleiche Antigen sind) mit zahlreichen Signal und Regulationsfaktoren (MHC-II, CD-40 und CD40L, Interleukine 4: Claman HN et al 1966; Abb. 12). Zusätzlich spielen vermutlich Interleukin 21(Ozaki et al. 2002, Ettinger et al. 2005), BSF1/IL4 (Paul und Ohara 1987), ICOS (Hutloff et al. 1999, McAdam et al. 2001, Tafuri et al. 2001), SAP (Crotty et al. 2003), SLAM Family receptor (Cannons et al. 2006), CXCR5 und TFH-Zellen ((Morita et al. 2011), Bcl6 and Blimp-1 (Liao et al. 2017), IL13, STAT1 und STAT3 eine Rolle für die Kostimulation (Abb. 13). Allerdings gibt es weiterhin immer noch viele offene Fragen.

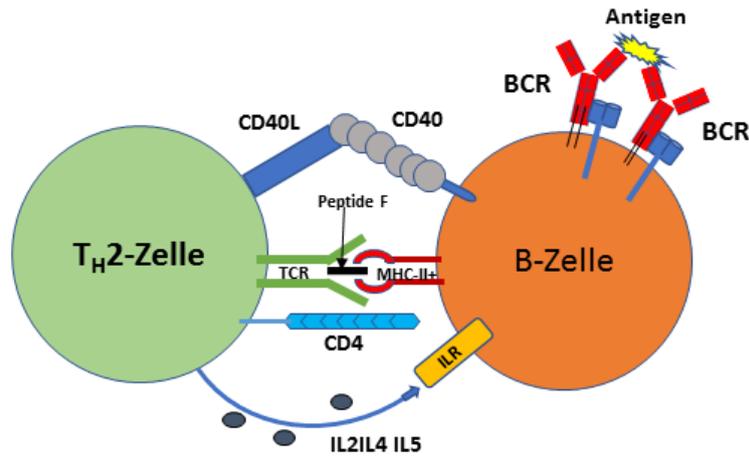


Abbildung 12: Vereinfachte Übersicht über eine Auswahl wichtiger bei der T-Zell-abhängigen B-Zellaktivierung beteiligter Oberflächenmoleküle. Dazu gehören CD40, CD40L, MHCII, der T-Zell Rezeptor TCR, CD4, verschiedene Interleukin Rezeptoren „ILR“. Ferner sind aufgeführt das bei der Stimulation wichtige Peptid-Fragment (Peptid F) und der über Antigen quervernetzte B-Zell—Rezeptor BCR.

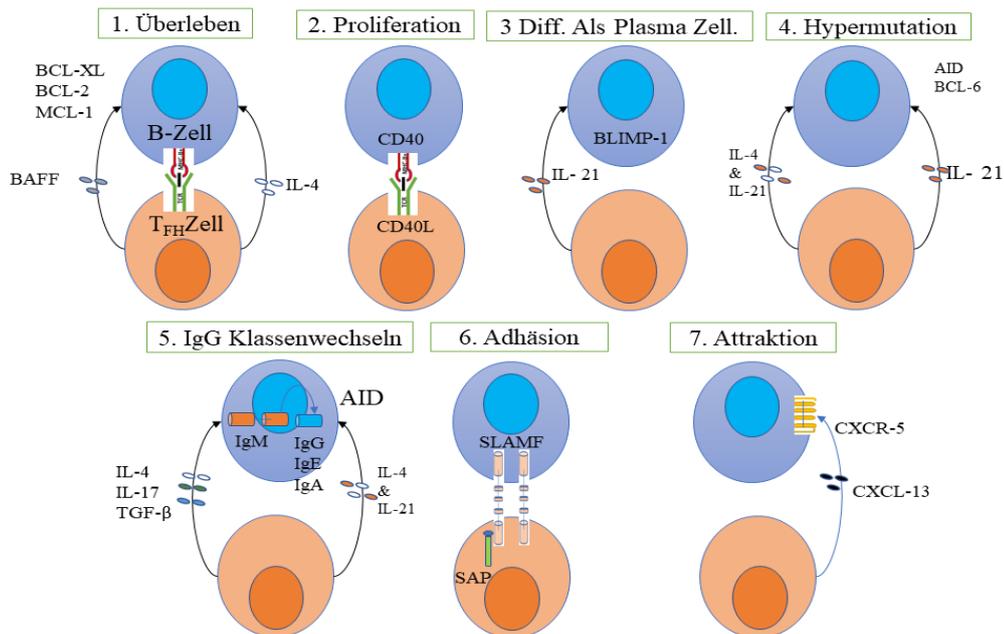


Abbildung 13: Mechanismen bei der T-Zell-abhängigen B-Zell-Aktivierung (modifiziert nach Crotty, 2015). (1) Für das Überleben der B-Zelle spielt die T-Zell-Stimulation via BAFF und IL-4 eine wichtige Rolle. (2) Für die Proliferation kommt CD40 und CD40L eine wesentliche Rolle zu. (3) Die Plasma-Zell-Differenzierung wird durch IL-21 vermittelt. (4) Für die Stimulation zur Hypermutation der B-Zellen spielt die Kostimulation via IL-4 und IL-21 eine wichtige Rolle. (5) Am Immunglobuline-„Klassenswitch“ sind eine Vielzahl an Zytokinen beteiligt, u.a. IL-4, IL-17, IL-21, TGF- β . (6) Für die B-Zell Adhäsion kommt Oberflächenmoleküle aus der Familie der „Signaling lymphocyte activating molecule“ eine große Bedeutung zu. (7) Chemoattraktion über Chemokine ist ein weiterer Faktor der T-Zell-Hilfe für die B-Zellaktivierung. CXC-Chemokin Ligand 13 (CXCL13) ist der Ligand für CXCR5. Diese Aktivierung spielt in den Keimzentren der Lymphknoten eine Rolle.

1.2.5.2 T-Zell unabhängige B-Zell Aktivierung und Immunantwort

Die Aktivierung der B-Zellen erfolgt überwiegend mit Hilfe von T-Zellen. Im Gegensatz zur T-Zell-abhängigen B-Zellaktivierung gibt es lediglich wenige experimentelle Studien zur T-Zell-unabhängigen B-Zell Aktivierung. Der genaue Mechanismus auf der molekularen Ebene ist immer noch nicht gut verstanden (Abb. 14, 15). Wie oben erwähnt ist der Mechanismus der B-Zell Aktivierung von der Antigenklasse abhängig. B.Zellmitogene wie Lipopolysaccharid oder bakterielle DNS führen zu einer i.d.R. polyklonalen B-Zell-Stimulation. Es handelt sich um Thymus-independent antigen 1 (TI-Antigen-1). Darüber hinaus können Bakterielle Polysaccharide ebenfalls B-Lymphozyten ohne Beteiligung von T-Zellen stimulieren. Es handelt sich um eine weitere Klasse Thymus-unabhängiger Antigene (TI-Antigen-2). Eigenschaften von TI-Antigen-1 und -2 sind nachfolgend aufgeführt: TI-Antigene-1 besitzen (1) eine intrinsische B-Zell Aktivität und B-Zell-mitogene Eigenschaften (Melchers et al. 1975, Andersson et al. 1977), (2) sind an der Antigen- Erkennung ohne BZR und AK-Produktion ohne T-Zell Stimulation beteiligt, (3) sind an der Antigen-Erkennung über Toll-like-Rezeptoren (TLR) beteiligt, (4) dienen der Antigenkonzentration-abhängigen Proliferation der B-Zellen (Polyklonale AK-Produktion oder Monoklonale AK-Produktion), (5) sind an der schnellen und primären Immunantwort ohne Gedächtnis-Bildung beteiligt (Extrazelluläre bakterielle Infektionen, LPS, Bakterielle DNS).

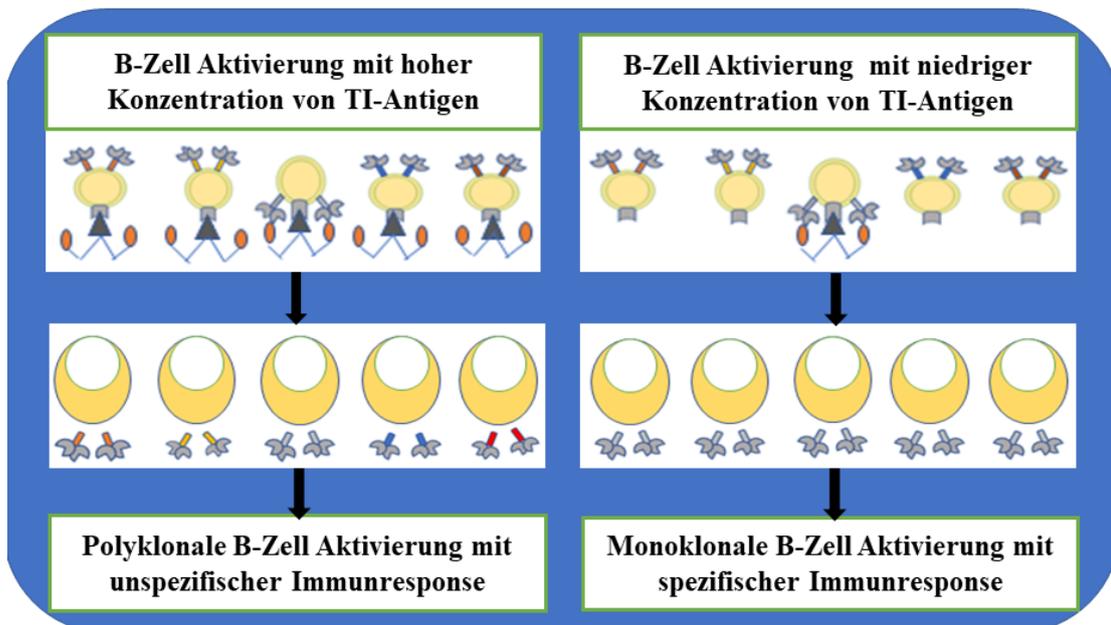


Abbildung 14: Modifiziert nach Murphy und Weaver, 2017, S. 419. T-Zell-unabhängige B-Zell-Aktivierung über mitogenes TI- Antigen I. Bei hoher TI1-Antigenkonzentration resultiert eine unspezifische B-Zell-Aktivierung mit der Folge einer polyklonalen B-Zellaktivierung (links). Bei niedriger Konzentration an TI-Antigen I reagieren nur einzelne B-Zellen. Daher kann eine monoklonale B-Zell-Aktivierung (rechts) auftreten.

TI- Antigene II (1) besitzen keine intrinsische B-Zell Aktivität, (2) sind Antigene mit hochrepetitiven Oberflächenstrukturen (Epitope) von verkapselten Bakterien (Flagellin Protein Struktur der Bakterien, Retroviren, VLP: Suprantigen), (3) verursachen eine B-Zell-Aktivierung, -Proliferation und AK-Produktion durch Vernetzung zahlreicher B-Zell-Rezeptoren (Akkumulation von BCRs), (4) aktivieren lediglich reife B-Zellen und bringen unreife B-Zellen zur Apoptose oder zur Anergie, (5) agieren bei der B-Zell-Aktivierung gemeinsam mit Zytokinen (IL2, IL3, IFN- γ), Makrophagen und follikulären dendritischen Zellen (FDZ) und (6) verursachen eher kein B-Zell Gedächtnis.

Zur direkten Aktivierung der B-Zellen via Superantigen gibt es kaum Studien.

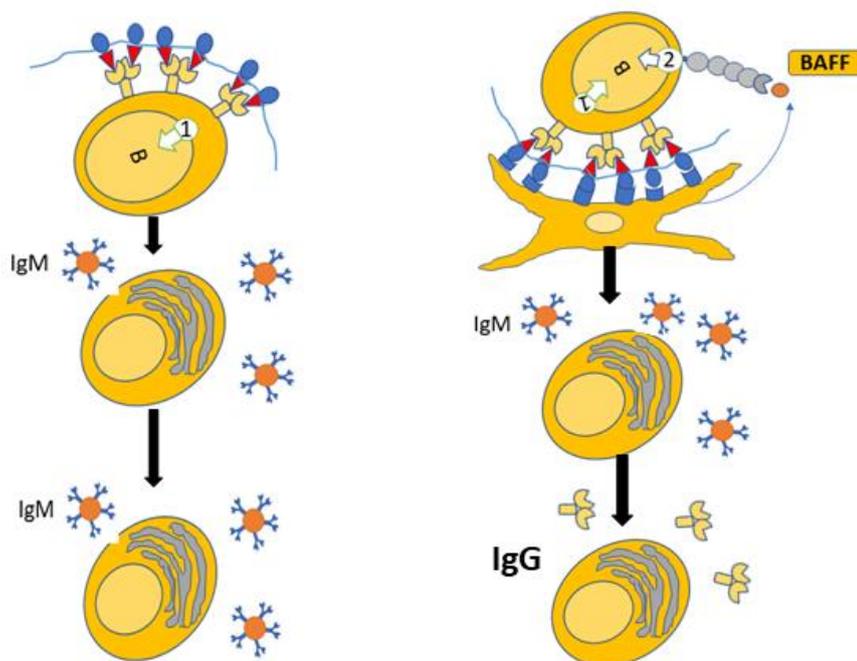


Abbildung 15: Modifiziert nach Murphy und Weaver, 2017, S 420. T-Zell-unabhängige B-Zell-Aktivierung über TI- Antigen II (z.B. bakterielles Lipopolysaccharid, LPS). TI2-Antigene führen zur Quervernetzung des B-Zell-Rezeptors. Dieser Stimulus kann durch Zusatz von Zytokinen wesentlich verstärkt werden. Ferner kann multiple Quervernetzung des B-Zell-Rezeptors zur IgM-Antikörperbildung führen (linker Teil der Abb.). Zytokinstimuli können ebenfalls zum Isotyp-Switch (IgG-IgM) beitragen. Zytokine stammen evtl. von benachbarten Dendritischen Zellen (rechter Teil der Abb.). Dendritische Zellen können darüber BAFF sezernieren, das als kostimulatorisches Signal fungiert.

1.3. Autoimmunität und Autoimmunerkrankungen

Eine entscheidende Rolle des Immunsystems ist seine Fähigkeit, zeitnah potentiell gefährdende Fremdkörper (z.B. Viren, Bakterien, Pilze, Parasiten, Proteine, Transplantate sowie Implantate) zu erkennen und abzuwehren, ohne dabei Schaden am eigenen Körpergewebe zu verursachen. Die Zellen des spezifischen Immunsystems sind gegenüber den eigenen Organen in der Regel tolerant. Während der Reifung der Immunzellen werden die selbstreaktiven Lymphozyten über verschiedene Mechanismen (s.u.) eliminiert, u.a. durch Apoptose-Induktion. Für T-Lymphozyten geschieht dies im Thymus. Für B-Lymphozyten ist die Elimination autoreaktiver Elemente weniger gut charakterisiert, wird aber als gegeben angenommen (Übelhaart und Jumaa, 2015). Unter Autoimmunität versteht man eine Immunreaktion gegen körpereigene Zellen. Diese geschieht durch den Verlust von Immuntoleranz der B- und T-Zellen. Als Folge kommt es zu einer Zerstörung körpereigenen Gewebes und löst einen chronischen Entzündungsprozess und ggf. Bildung von Autoantikörpern aus. Anschließend kann sich eine Autoimmunerkrankung manifestieren. Je nach Zielantigenen der beteiligten zellulären bzw. humoralen Bestandteile kann eine systemische Autoimmunerkrankung von der organspezifischen Autoimmunerkrankung unterschieden werden. Zu den wichtigsten Autoimmunerkrankungen zählen unter anderen: Diabetes mellitus Typ1 (DM1), Rheumatoide Arthritis (RA), Multiple Sklerose (MS), Systemischer Lupus erythematosus (SLE), Colitis ulcerosa (CU), Psoriasis Arthritis (SA), Antiphospholipidsyndrom (APS), Myasthenia gravis (MG). Eine Übersicht über die an Autoimmunität beteiligten Mechanismen ist in Tab. 4 gegeben.

Tabelle 4: Mögliche Mechanismen der Autoimmunität (exogen und endogen) und der Verhinderung von Autoimmunität modifiziert nach Diamond B und Lipsky PE, Autoimmunität und Autoimmunerkrankungen, In: Suttorp et al., Harrisons Innere Medizin, ABW Wissenschaftsverlag, 2016, S. e377-e2.

Mechanismen der Autoimmunität	
Endogen	Exogen
<ol style="list-style-type: none"> 1. Veränderung der Antigenpräsentation <ul style="list-style-type: none"> - Verlust von immunol. Privilegierung - Epitop-Ausbreitung (Neubildung) - Strukturveränderung der Selbstantigene - Funktionssteigerung von APC (Expression von kostimulatorischen Molekülen, Produktion von Zytokinen) 2. Gesteigerte B und T-Zell Funktionen 3. Verminderung von Apoptose und Abbau von apoptotischem Material 4. Ungleichgewicht von Zytokinen 5. Veränderte Immunregulation 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Molekulare Mimikry 2. Stimulation durch Supraantigenen 3. Mikrobielle und Gewebeschaden assoziierte Adjuvanten

Mechanismen zur Verhinderung von Autoimmunität
1. Sequestrierung von Selbstantigenen
2. Verstärkung durch Regulatorische Mechanismen <ul style="list-style-type: none"> - Regulatorische T-Zellen - Regulatorische B-Zellen - Regulatorischen Zytokine - Weitere regul. Zellen: MDSC (Myeloide Suppressorzellen)
3. Zentrale Deletion autoreaktiver Lymphozyten (Thymus, Knochenmark)
4. Periphere Anergie der autoreaktiven Lymphozyten
5. Veränderung in der Rezeptorstruktur autoreaktiven Lymphozyten

1.4. Oligoklonale (IgG)-Banden (OKB) und klinische Bedeutung:

OKB werden standardmäßig mittels isoelektrischer Fokussierung (IEF) bei der Laboranalyse des Liquor cerebrospinalis untersucht. Diese Methode scheint der Immunfixations-elektrophorese bei entzündlichen ZNS-Erkrankungen überlegen zu sein (Myglund et al., 2007). Auch gegenüber anderen elektrophoretischen Verfahren erwies sich die IEF als überlegen (Shan und Yeh, 1998). Bei der IEF verteilen sich die Proteine entsprechend ihrem isoelektrischen Punkt auf dem Gel. Auch wenn in der Regel IgG-Banden untersucht werden gibt es durchaus IgA-OKB (Withold et al., 1994), IgD-OKB (Mavra et al., 1999) oder auch IgM-OKB (Huss et al., 2018). Zur Routine werden derzeit oft antikörperbasierte Färbeverfahren mit Nachweis von IgG-Antikörperbanden eingesetzt. Diese haben gegenüber einer Silberfärbung den Vorteil, dass nicht andere Proteine ebenfalls gefärbt werden. Von der OKB-Untersuchung im Liquor erhofft man sich einen Beitrag zur Diagnose eines entzündlichen oder neoplastischen Prozesses im Bereich des peripheren oder zentralen Nervensystems (Gastaldi et al., 2017). OKB im Blutserum wurden demgegenüber nur wenig untersucht (Tumore und B-Zellaktivierung (Paraneoplasien, Lambert-Eaton-Syndrom (LES), Myasthenia gravis, CIDP etc., limbische Enzephalitis etc.).

2. Zielstellung

Es gibt zahlreiche Studien, die sich mit dem Vorkommen Liquor-spezifischer OKB bei unterschiedlichen Erkrankungen des Nervensystems beschäftigen (Gastaldi et al., 2017). Demgegenüber gibt es nur relativ wenige entsprechende Arbeiten, die sich mit OKB im Blutserum befassen. Eine Literatursuche in der Datenbank Pubmed unter den 2 Stichwörtern "isoelectric focusing" und „Serum“ ergab 3695 Arbeiten. Die Mehrzahl dieser Arbeiten befasst sich mit OKB im Liquor. Blutserum wurde dabei in aller Regel zu Vergleichszwecken untersucht, um zu erfassen, ob es sich um liquorspezifische Banden handelte. Die 3695 Arbeiten wurden sämtlich hinsichtlich verfügbarer Abstracts auf Erkrankungen durchgesehen, bei denen OKB im Serum messbar waren. Eine Reihe von Arbeiten zu OKB im Serum wurden bei Patienten mit monoklonaler Gammopathie, multiplem Myelom oder bei Lymphomen verfasst. Darüber hinaus gibt es wenige Publikationen zu Serum-OKB bei Patienten mit Multipler Sklerose, bei anderen entzündlichen neurologischen Krankheiten wie Guillain-Barré-Syndrom, subakuter sklerosierender Panenzephalitis (SSPE) sowie bei Polyneuropathien unterschiedlicher Genese.

Da OKB im Serum als Folge einer Immunaktivierung aufgefasst werden können, geben die Daten evtl. Aufschluss über die Beteiligung von Immunphänomenen auch bei anderen untersuchten Erkrankungen. Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung sollten OKB im Serum möglichst aller untersuchten Proben analysiert werden. Es handelt sich um eine retrospektive Analyse ohne das zuvor Hypothesen zum Vorkommen von OKB bei den untersuchten Erkrankungen vorhanden waren. Dabei standen folgende Fragen im Vordergrund:

- Wie häufig kommen OKB bei „quasi gesunden Menschen“ im Blutserum vor?
- Wie häufig kommen OKB bei Patienten mit diversen Krankheiten unterschiedlicher Organsysteme vor?
- Gibt es Erkrankungen, bei denen OKB im Serum relativ häufig vorkommen und lassen sich aus diesem Befund Schlüsse zur Pathogenese gewinnen?

3. Methoden und Material

3.1 Studiendesign

Retrospektive Datenanalyse, Zeitraum: 2007 bis 2013. Ort: Universitätsklinikum Halle (Saale) (UKH). Auf der Basis von Krankenakten und der systematischen Befunddokumentation (ORBIS und Medat) im Zentrallabors wurden retrospektiv Daten im Zeitraum 2007 bis 2013 erhoben. Alle Patienten hatten im Rahmen der Diagnostik eine Liquorpunktion erhalten und zu Vergleichszwecken war gleichzeitig auch eine Serumprobe gewonnen worden. Patientenproben kamen von nahezu allen Kliniken des UKH, vgl. Abb. 21. Es liegt ein positives Votum der Ethik-Kommission der MLU-Halle zum Versuchsvorhaben vom 18.06.2014 vor.

3.2 Ein- und Ausschlusskriterien

Es wurden alle Patienten des UKH eingeschlossen, die im Zeitraum zwischen 2007 und 2013 eine Liquorpunktion erhalten hatten, und bei denen sowohl Blutserum als auch Liquor zur gleichen Zeit mittels isoelektrischer Fokussierung auf das Vorkommen oligoklonaler Banden untersucht worden ist.

Ausgeschlossen wurden Patienten des UKH, bei denen im Studienzeitraum von 2007 bis 2013 keine Untersuchung von Serum und Liquor mittels isoelektrischer Fokussierung durchgeführt wurde.

3.3. Versuchsdurchführung:

3.3.1. Prinzip der isoelektrischen Fokussierung

Mittels IEF wird der Nachweis einer humoralen Immunaktivierung im Blutkompartiment (systemisch) oder im Liquor zerebrospinalis erbracht (autochthone Immunglobulin-Synthese). Bei der IEF werden in der Regel Blutserum und Liquor parallel untersucht. In der vorliegenden Arbeit war dies ein Einschlusskriterium. Die Proben werden auf das entsprechende Gel (AGE: Agarose-Gel Elektrophorese) aufgetragen. An den Enden des Gels wird mittels Elektroden eine Spannung angelegt. Die Proteine verteilen sich entsprechend der in ihnen vorliegenden Ladungen gemäß ihrem isoelektrischen Punkt (IEP) im Gel. Hat ein Protein eine ausgeglichene Nettoladung erreicht, bleibt es an dieser Stelle im Gel und wird dort „fokussiert“. Anschließend wird das Gel direkt mit einer Peroxidase markierten anti-IgG Antikörper inkubiert. Nicht gebundene Proteine werden vor der enzymatischen Färbereaktion ausgewaschen. Zur rascheren

Trocknung wird Filterpapier eingesetzt. Nach Färbung und Trocknung erfolgt die visuelle Auswertung der IgG-Bandenmuster.

Zur qualitativen Detektion, Identifizierung von OKB in Cerebrospinalflüssigkeit (CSF) und Blutserum wurden im Liquorlabor des UKH stets die Kits HYDRAGEL 3 CSF ISOFOCUSIN und HYDRAGEL 9 CSF ISOFOCUSING angewendet. Das Verfahren beinhaltet die IEF im Agarosegel, durchgeführt auf dem halbautomatischen System HYDRASYS, gefolgt von einer Immunfixation mit Anti-IgG-Antiserum. Durch den Gebrauch von Enzym-markiertem Anti-IgG Antiserum werden bei einer erhöhten Sensitivität nur die "echten" OKB detektiert. Die Sensitivität der Methode ermöglicht die Analyse von CSF ohne vorhergehende Konzentrierung. Die IgG-Bandenmuster von CSF und Serum desselben Patienten können auf diese Weise visuell miteinander verglichen werden (vgl. Abb 16).

3.3.2. Reagenzien

- Agarose Gel
- Ethylenglycol Lösung
- Anodische and kathodische Pufferlösung
- Pufferstreifen
- Proben-Lösungsmittel
- Antiserum Lösungsmittel CSF ISOFOCUSING
- Waschlösung CSF ISOFOCUSING
- Rehydratationslösung
- TTF1 / TTF2 (Stammlösung 1 bzw. 2)
- TTF1 und TTF2 Reagenzien
- Applikatoren
- Pufferbehälter
- Antiserum (Immunglobuline von Säugetieren, die gegen menschliches IgG gerichtet und an Peroxidase konjugiert sind)
- Filterpapier (dick und dünn)
- Plastikmasken

Je 10 µl der verdünnten Probe (Liquor, Serum) wird auf den Applikator aufpipettiert. Der beladene Applikator wird bis zur Verwendung in einer feuchten Kammer inkubiert. Je 5ml des

anodischen bzw. kathodischen Puffers werden in die Pufferboxen pipettiert. Pufferstreifen werden in die Gelkammer eingehängt. 300 µl Ethylenglykol werden auf die Migrationsplatte pipettiert. Das Gel wird für 3 min bei 20°C mit dünnem Filterpapier abgeblottet und luftblasenfrei aufgelegt. Plastikfolie wird luftblasenfrei auf das Gel aufgelegt. Die Gelkammer wird geschlossen und für etwa 10 Minuten eine Spannung angelegt bis 70 Vh erreicht sind (Vormigration). Anschließend wird für etwa 50 Minuten erneut eine Spannung angelegt bis etwa 700 Vh erreicht sind. Bevor diese Zeit abgelaufen ist, wird das Antiserum zum Gebrauch verdünnt (40 µl „Antiserum Konzentrat“ + 420 µl „Antiserum Lösungsmittel“). Die Plastikfolie wird vorsichtig vom Gel entfernt. Anschließend wird das Antiserum aufgetragen und über dem ganzen Gel verteilt. Danach wird das Gel mit dem Antiserum inkubiert (15 min bei 20°C). Anschließend wird das Antiserum 5mal abgewaschen und jeweils mit dickem Filterpapier aufgenommen. Dazu wird anfangs „Waschlösung“ verwendet und im Verlauf „Rehydrier-Lösung“ eingesetzt. In der Zwischenzeit wird „Färbelösung TTF“ bei Zimmertemperatur angesetzt. Dazu werden 4 ml TTF1/2 Lösungsmittel + 100 µl TTF1 + 100 µl TTF2 + 4 µl 30% H₂O₂ gemischt. Schließlich wird die Rehydrierlösung vom Gel abgesaugt. Die TTF1/2 Lösung wird auf das Gel pipettiert, für 15 min bei 30°C inkubiert und anschließend abgesaugt. Die Restfeuchtigkeit wird mit dickem Filterpapier aufgenommen. Anschließend wird das Gel gut abgespült, mit Alkohol gereinigt und getrocknet.

Die Gele wurden von 2 mit der Methode gut und langjährig vertrauten Untersuchern gemeinsam bewertet (Dr. med. Alexander Emmer, apl. Prof. Dr. med. Malte Kornhuber). Dies wurde verblindet, also ohne Kenntnis der Patienten bzw. der im Raum stehenden Diagnosen vorgenommen. Zwei und mehr IgG-Banden im Serum wurden als oligoklonale Serum-IgG-Banden gewertet.

3.3.3. Probenvorbereitung

- Messung der IgG-Konzentrationen von Liquor und Serum mit Hilfe der entsprechenden Verfahren.
- Die Konzentration von IgG in den zugehörigen Liquor- und Serumproben muss immer auf einen gleichen Level justiert sein.

Die Verdünnung hängt von der Ausgangs-Ig-Konzentration von Serum und Liquor ab; Proben-Lösungsmittel wird für alle Verdünnungen verwendet: Für Serum: $B = \text{IgG-Konzentration in mg/l}$. - Das Serum wird 10-fach mit Proben-Lösungsmittel verdünnt, z.B. 10 µl Serum und 90 µl Proben-Lösungsmittel. - 2 µl verdünntes Serum wird mit $(B/100)$ - 2 µl Proben-Lösungsmittel versetzt. Bei unbekannter IgG-Konzentration wird Serum 300 – 400fach verdünnt.

3.3.4. Qualitätskontrolle

Es wurde jeweils bei jeder Analysereihe ein Kontrollserum miteingeschlossen (liegt dem Kit der Firma Sebia bei).

3.3.5. Leistungsdaten

Reproduzierbarkeit: Da es sich um ein in der Patientenversorgung eingesetztes Verfahren handelt, wurde dieses bereits für Liquor und Serum von der Firma Sebia im Rahmen des Zulassungsverfahrens validiert. Darüber hinaus wurde das Testverfahren nach den Richtlinien der Bundesärztekammer im Zentrallabor des Universitätsklinikum Halle verifiziert. Zusätzlich finden zur Beurteilung der Reproduzierbarkeit Ringversuche in 6-monatigen Abständen statt.

3.3.6. Sensitivität

Als Nachweisgrenze für eine monoklonale IgG-Bande wird von der Firma Sebia eine IgG-Konzentration im Liquor und Serum von 0,031 mg/dl angegeben. Ähnliche Werte wurden auch in der Literatur angegeben (Forzy et al., 2018).

3.4. OKB Auswertung

In Abbildung 16 ist ein typisches Beispiel eines Agarose-Gels mit isoelektrischer Fokussierung von Liquor- und Serum-Proben verschiedener Patienten dargestellt. Die Auswertung von Banden in Liquor und Serum erfolgt durch Inspektion. Als IgG-Bande gilt ein sich klar vom Gel-Hintergrund abhebender horizontaler „Balken“. Derartige IgG-Banden sind etwa im Liquor von Pat. 5 dargestellt. Diffuse linienförmige Strukturen, die in allen Serum- und Liquorproben aufscheinen wie etwa im oberen Drittel des Gels werden nicht als IgG-Banden gewertet. Der Nachweis oligoklonaler Banden erfordert, dass mindestens 2 verschieden IgG-Banden vorliegen.

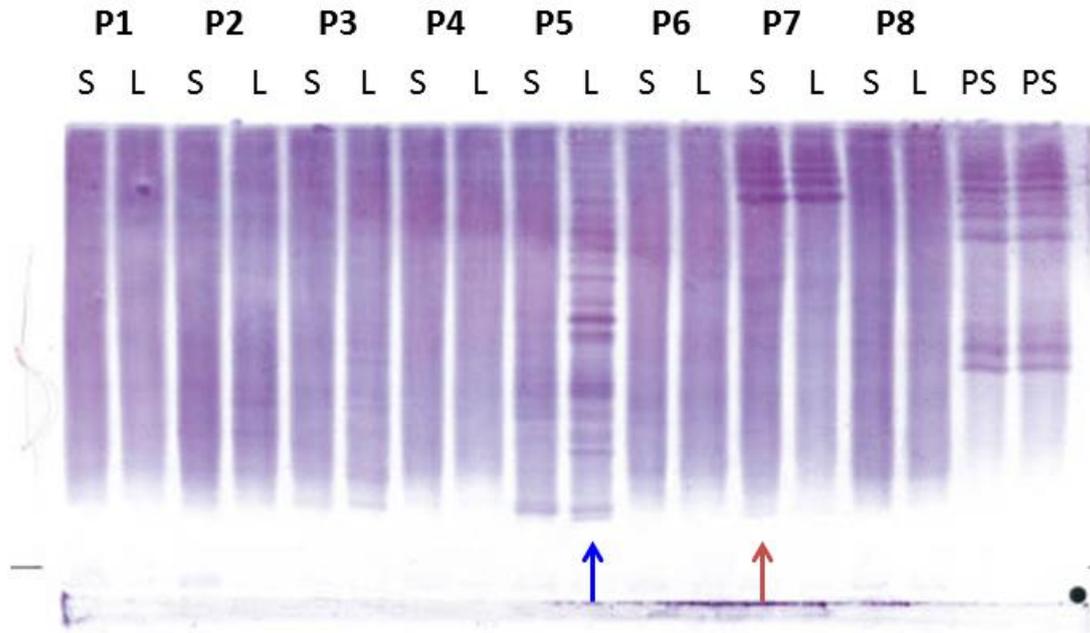


Abbildung 16: Isoelektrische Fokussierung. Typisches Beispiel. Es sind jeweils Serum- (S) und Liquorproben (L) von 8 verschiedenen Patienten (P1 bis P8) nebeneinander aufgetragen worden. Die Proteine verteilen sich im elektrischen Feld. Die Färbung erfolgte unter Einsatz eines anti-human-IgG-Antikörpers. Im Liquor von Patient P5 zeigen sich multiple oligoklonale Banden (blauer Pfeil), die im Serum nicht vorhanden sind (liquorspezifische OKB). Im Serum von Patient P7 zeigen sich fette, direkt benachbarte IgG-Banden im oberen Bereich des Gels (brauner Pfeil). Es handelt sich um Paraproteine. Im Liquor von P7 finden sich identische Paraproteinbanden. Es handelt sich um Spiegelbanden. Die Blut-Liquorschranke ist nicht komplett „dicht“, so dass Serumproteine sich im Liquor finden. PS, Proteinstandard.

3.5. Statistische Analyse

Zur statistischen Analyse der Daten wurde der exakte Fisher-Test (exakter Chi-Quadrat-Test; Fisher, 1922) herangezogen. Dazu wurden Vierfeldertafeln jeweils von 2 Patientengruppen mit den Werten für Serumproben mit bzw. ohne Nachweis von oligoklonalen Banden im Serum verglichen. Bei multiplen Gruppenvergleichen wurden die Ergebnisse nach Bonferroni korrigiert. Die entsprechenden Resultate der P-Werte für die Gruppenvergleiche und die Bonferroni-Korrekturen sind im Anhang aufgeführt. $P < 0,05$ bzw. die entsprechend kleineren Werte nach Bonferroni-Korrektur wurden als signifikant gewertet.

4. Ergebnisse

Im Flow-Chart in Abb. 17 ist Patientenrekrutierung für die vorliegende Arbeit dargestellt. Im Rahmen der vorliegenden retrospektiven Datenanalyse wurden im Zeitraum 2007 bis 2013 Serumproben von 2832 Patienten (Tab. 5, 6, 7, 8) des Universitätsklinikums Halle (Saale) entsprechend den Ein- und Ausschlusskriterien (s.o.) fortlaufend auf das Vorhandensein oligoklonaler Banden nachuntersucht. Es handelte sich um Patienten aus nahezu allen Fachbereichen des Universitätsklinikums (Abb. 20). Der Anteil der in Serum bzw. Liquor „positiv“ auf OKB getesteten Proben in den verschiedenen Jahren und Fachbereichen geht aus Abb. 18, 19 und 20 hervor.

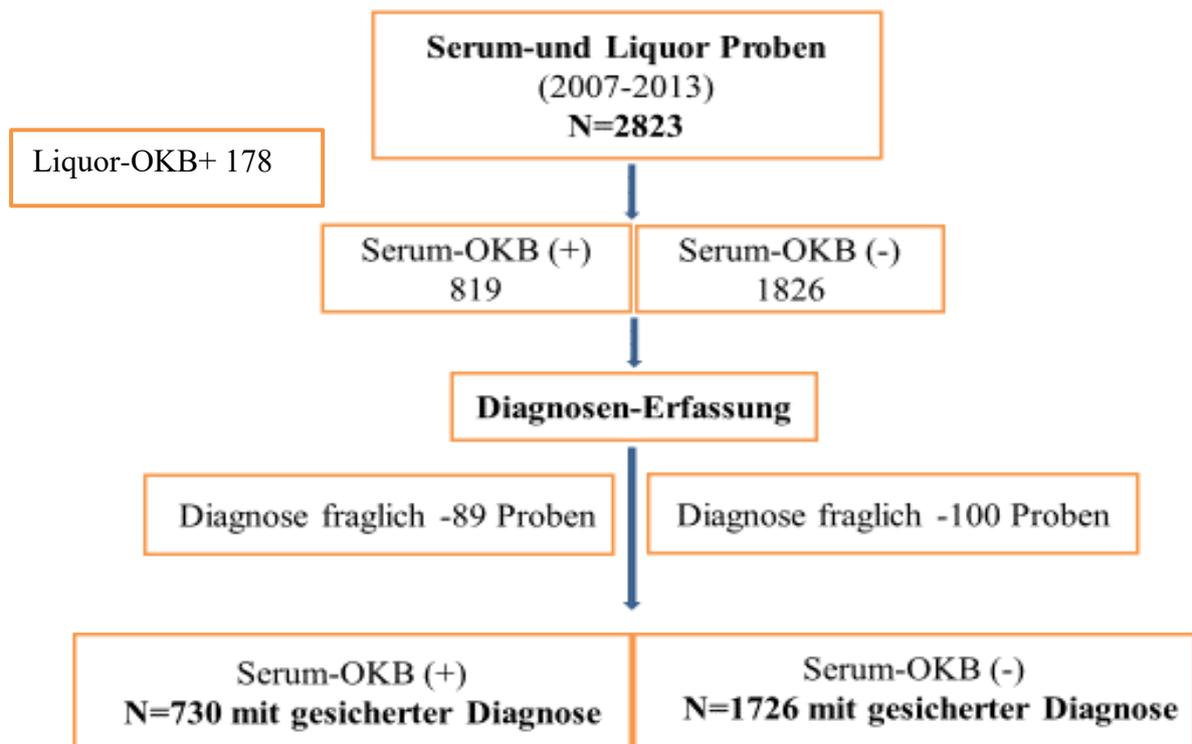


Abbildung 17: Flussdiagramm zur Patientenrekrutierung für die vorliegende Arbeit. Es wurden zunächst alle Patienten herangezogen, die im Zeitraum von 2007 bis 2013 eine Liquorpunktion im Universitätsklinikum Halle (Saale) erhalten hatten und bei denen in diesem Rahmen oligoklonale Banden im Serum bestimmt worden waren. Patienten mit fraglichen oder nicht gesicherten Diagnosen wurden nicht in die Auswertung einbezogen. Es standen 730 Patienten mit OKB im Serum 1726 Patienten ohne solche Banden gegenüber.

Tabelle 5: Überblick zur gesamten Anzahl der Liquorpunktion und Serum Proben von 2007-2013 und die Prävalenz der OKB im Serum Proben

Geschlecht	N (%) Patienten	N, Serum OKB (+)	OKB (+) in % bezogen auf 819
Männlich	1351(47,9%)	421	51,4
Weiblich	1472 (52,1%)	398	48,6
Patienten ges.	2823	819	100

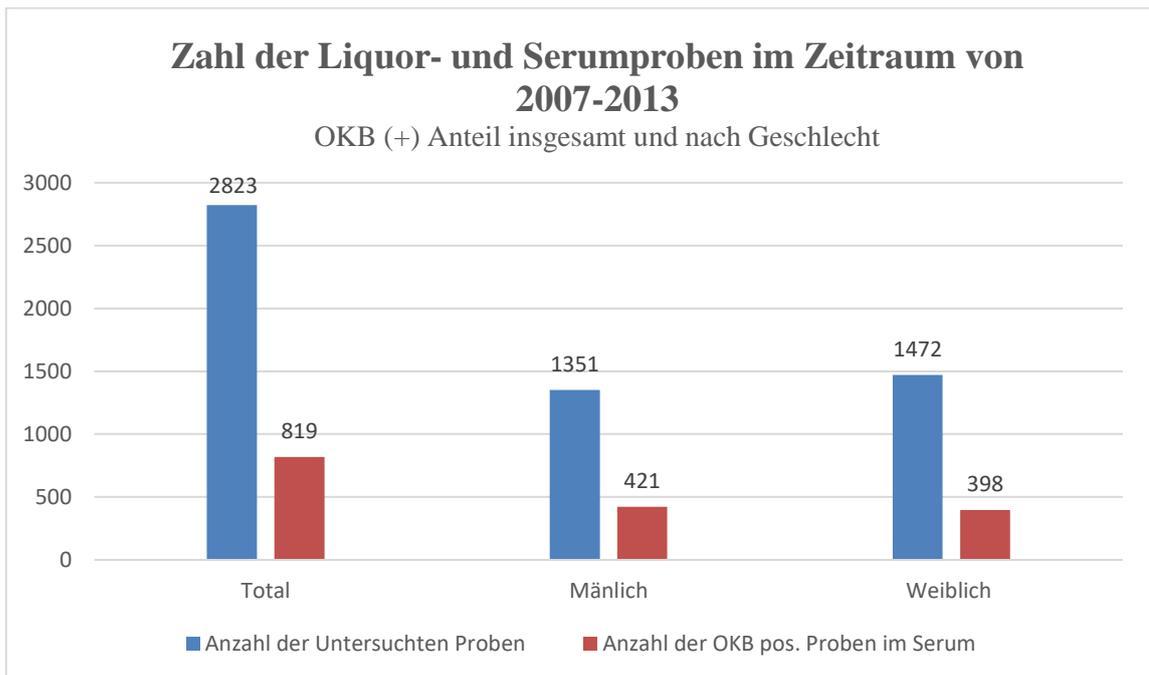


Abbildung 18: Illustration zum Anteil von OKB (+) im Serum (rote Säulen) im Vergleich zu allen untersuchten Serumproben (blau) im Zeitraum 2007-2013 mit den entsprechenden Daten für männliche und weibliche Patienten (vgl. Abb 17).

Tabelle 6: Verteilung der OKB in Liquor und Serum in der vorliegenden Stichprobe nach Jahren und Geschlecht

Unter. Jahre	Geschlecht		Anzahl der untersuchten Patienten
	M	F	
2007	163	72	335 (11.9%)
2008	235	252	487 (18.2%)
2009	181	175	356 (13.3%)
2010	189	195	384 (14.3%)
2011	176	205	381 (13.7%)
2012	195	228	423 (15,8%)
2013	212	245	457 (17.0)
Total	1351(47.9%)	1472(52.1%)	2823 (100%)

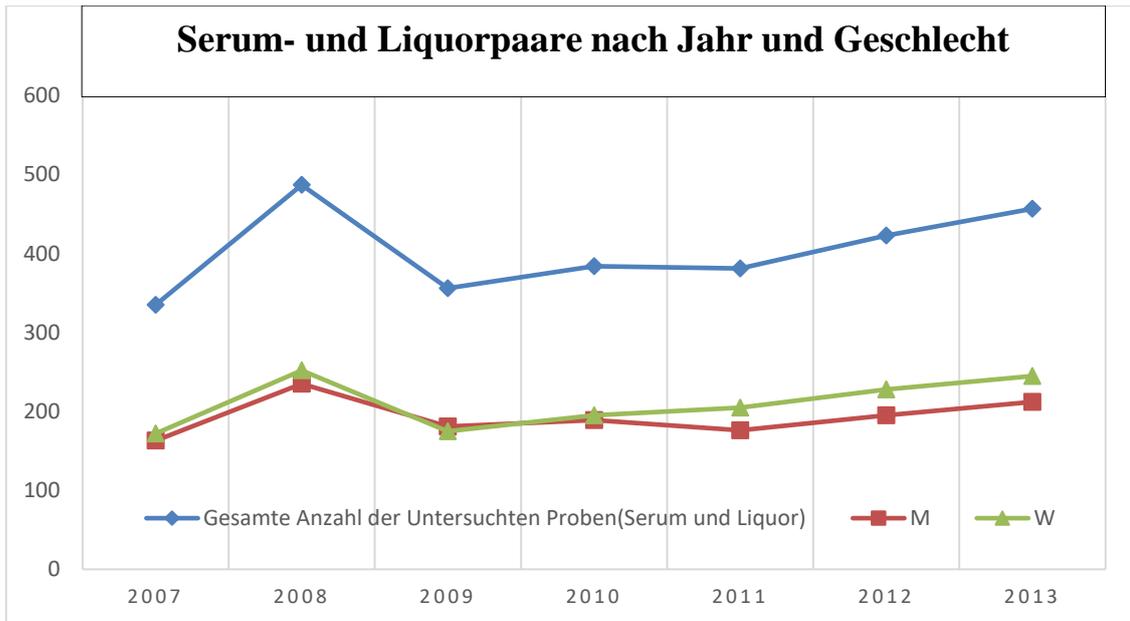


Abbildung 19: Durchschnittlich liegt das Aufkommen an Liquor/Serum-Paaren, die auf oligoklonale Banden untersucht wurden um 400 pro Jahr. Dabei fällt kein Geschlechtsunterschied auf.

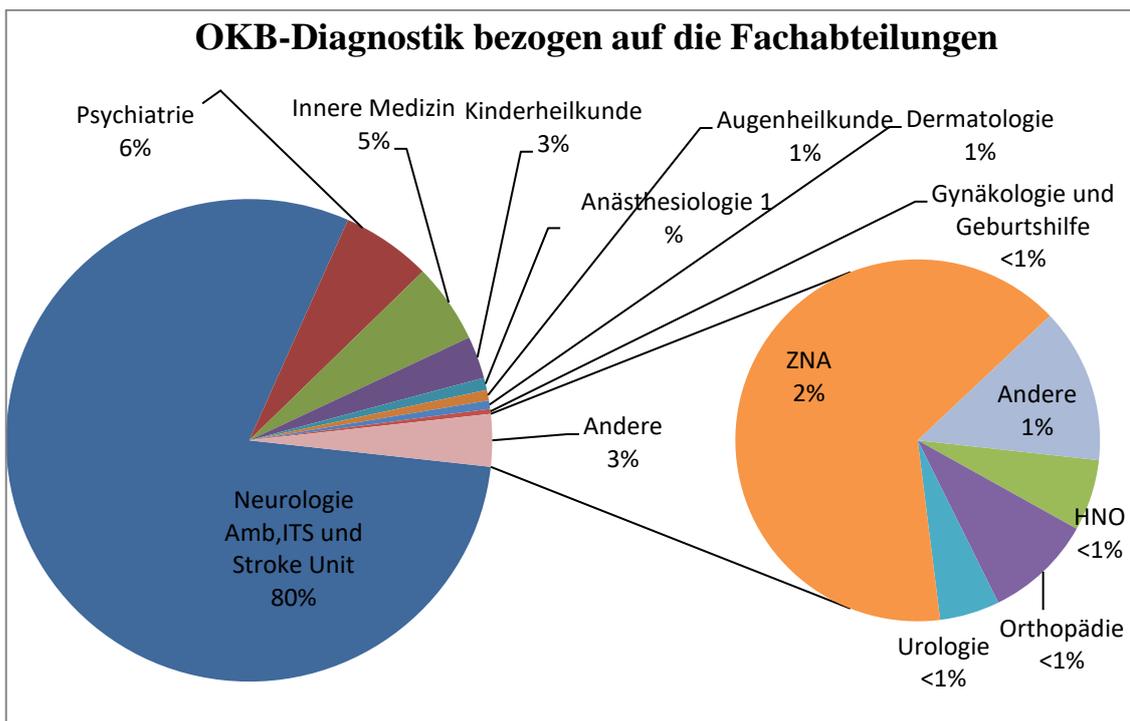


Abbildung 20: Überblick zur Anforderungshäufigkeit der OKB-Untersuchung aus verschiedener Abteilung des Krankenhauses in UKK Halle (Saale), Liegende: <13 Proben= <1%. Liquor/Serum-Probenpaare wurden im Zeitraum von 2007 bis 2013 im Liquorlabor des Universitätsklinikums Halle (Saale) von den in der Abbildung aufgeführten Kliniken mit isoelektrischer Fokussierung auf das Vorliegen oligoklonaler Banden untersucht. Die meisten Proben kamen mit 80 % aus der Klinik für Neurologie.

Tabelle 7: Patienten mit Nachweis von OKB (im Serum als auch Patienten mit OKB ausschließlich im Liquor) (2007-2013)

Unter. Jahr	Untersuchte Patienten	N, OKB (+) Serum oder Liquor	% OKB (+)	Negative Befunde
2007	335	139	41.5	196
2008	487	187	38.4	300
2009	356	119	33.4	237
2010	384	149	38.8	235
2011	381	135	35.4	246
2012	423	113	26.7	310
2013	457	155	33.9	302
Total	2823	997 (davon 178 nur Liquor)	35,3	1826

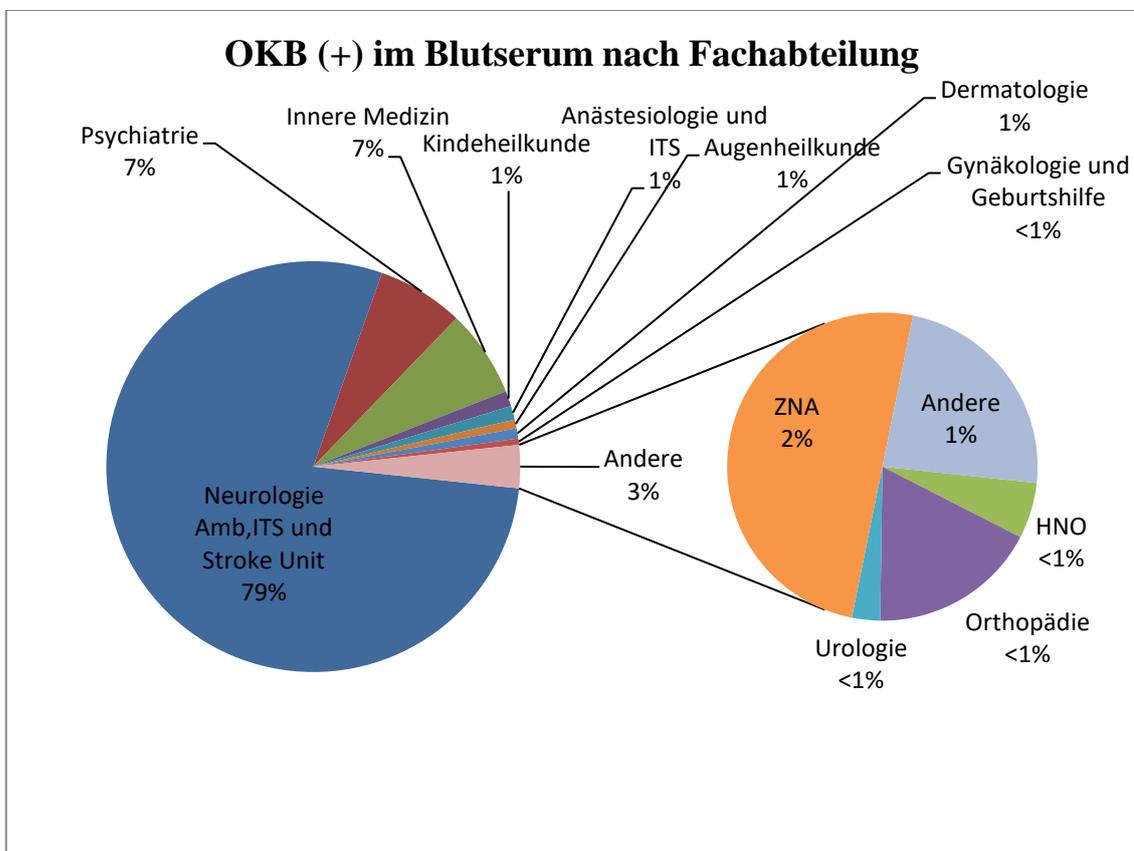


Abbildung 21: Überblick zu dem untersuchten Proben mit Nachweis von OKB im Blutserum. Von den 2007 bis 2013 im Liquorlabor des Universitätsklinikums Halle (Saale) untersuchten Liquor/Serum-Probenpaaren (vgl. Abb 20) waren oligoklonale Banden im Serum bei Patienten aus den oben gezeigten Kliniken nachweisbar.

Tabelle 8: Patienten mit OKB (+) im Serum nach Jahr und Geschlecht.

Unter. Jahre	Untersuchte Patienten	N, Serum-OKB (+) (%)	weiblich	Männlich
2007	335	132 (39.4)	63	69
2008	487	166 (34.1)	82	83
2009	356	106 (29.8)	44	61
2010	384	124 (32.3)	55	61
2011	381	105 (27.6)	58	44
2012	423	74 (17.5)	42	32
2013	457	112 (24.5)	68	49
Total	2823	819 (29.0)	398	421

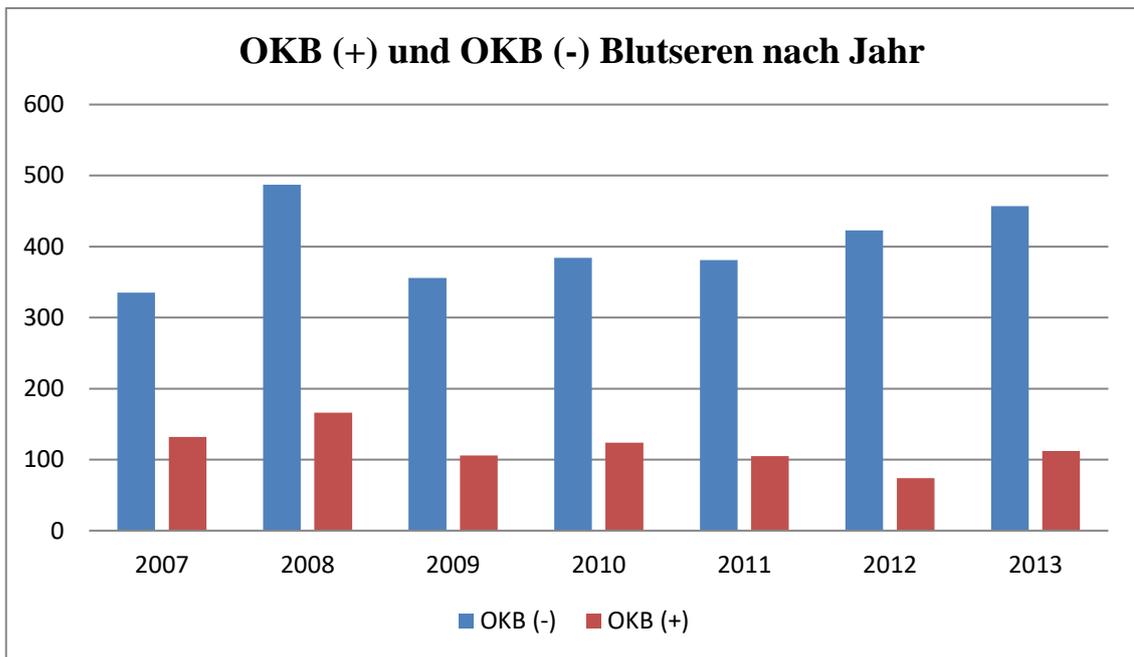


Abbildung 22: Zeigt den Anteil an Serumproben mit OKB relativ zur Gesamtzahl der untersuchten Serumproben im Zeitraum von 2007 bis 2013.

Stratifizierung der Diagnosen bei Patienten mit OKB (+) Proben im Serum: Die Patientengruppen mit gesicherten Diagnosen wurden entsprechend des Vorhandenseins oder Nicht-Vorhandenseins von OKB im Blutserum unterteilt (Tabellen 9 bis 19; Abb. 23).

Tabelle 9: Übersicht über OKB (+) und OKB (-) im Blutserum bei den hier untersuchten Diagnosegruppen. Die nicht zuordenbaren Diagnosen (vgl. Abb. 17) wurden außer Betracht gelassen. Von 2456 Patienten wiesen 730 OKB im Blutserum auf und 1726 Patienten nicht. In der äußeren rechten Spalte sind die Prozentwerte der Patienten mit positiven OKB im Serum bezogen auf die Stichprobe von 730 Patienten mit OKB (+) angegeben.

Diagnose	N, Serum-OKB (+) (%)	M/F	N, Serum-OKB (-) (%)	N (%)
Systemische Entzünd.	53 (7,3)	30/23	68(3,9)	121(4,9)
Zerebrale Entzündung	109 (14,9)	44/65	248(14,4)	357(14,5)
Neoplasie	85(11,6)	39/46	115(6,7)	200 (4,1)
Anfälle	67(9,2)	32/35	139(8,0)	206(8,4)
Neuropathie	146(20,0)	87/59	325(18,8)	471(19,2)
Neurodegeneration	106(14,5)	57/49	120(7,0)	226(9,2)
Hirninfrakt	74(10,1)	37/37	230(13,3)	304(12,4)
Psychische Erkr.	50(6,8)	20/30	210(12,2)	260(10,6)
Kopfschmerzen	18(2,5)	7/11	154(8,9)	172(7,0)
Autoimmunerkrankung	13(1,8)	3/10	31(1,8)	44(1,8)
Metabolische Erkr.	5(0,7)	2/3	22(1,3)	27(1,1)
Pseudotumor cerebri	4(0,6)	2/2	21(1,2)	25(1,0)
Andere	0(0,0)	0/0	43(2,5)	43(1,7)
Total	730 (31,0)	360/370	1726 (69,0)	2456 (100)

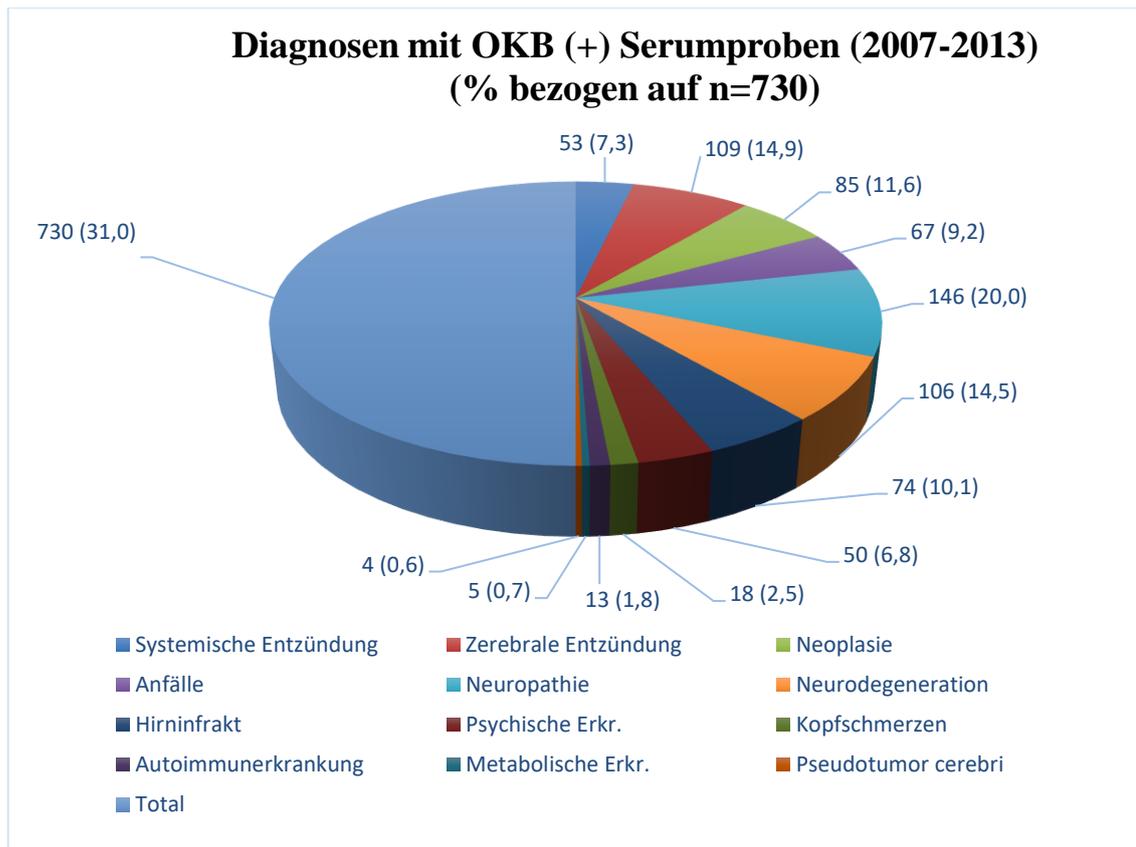


Abbildung 23: Illustration zu Tabelle 9: Übersicht über das Vorkommen von OKB im Blutserum bei den hier untersuchten Diagnosegruppen. Die nicht zuordenbaren Diagnosen (vgl. Abb. 17) wurden außer Betracht gelassen. Von 2456 Patienten wiesen 730 OKB im Blutserum auf und 1726 Patienten nicht. In der äußeren rechten Spalte sind die Prozentwerte der Patienten mit positiven OKB im Serum bezogen auf die Stichprobe von 730 Patienten mit pos. OKB angegeben.

Wenn man Patientengruppen mit unterschiedlichen Gruppierungsdiagnosen und einem Stichprobenumfang von mehr als 200 Patienten betrachtet, so ergeben sich statistisch signifikante Unterschiede (Fishers exakter Test; Bonferroni-Korrektur) in der relativen Häufigkeit von Patienten mit versus ohne OKB im Serum (Tab. 10, Abb 24). Insbesondere in den Patientengruppen mit Neoplasien und mit Neurodegenerativen Erkrankungen waren OKB im Serum häufiger vorhanden als in den anderen Patientengruppen (Zerebrale Entzündung, Neuropathien, Hirninfarkte, psychische Erkrankungen).

Tabelle 10: Aufgeführt sind die häufigsten Diagnosen mit jeweils mehr als 200 Patienten. Für diese Diagnosegruppen wurde eine statistische Analyse mit Vierfelder-Tafel (Fishers exakter Chi-Quadrat-Test) vorgenommen. Dabei zeigten sich statistisch signifikante Unterschiede (rechte äußere Spalte), die einer Korrektur für multiples Testen (nach Bonferroni) standhalten. Signifikant waren p-Werte < 0,002.

Diagnose		N, Serum-OKB		% OKB+ für diese Diagnosen	P (< 0,002) *
		(+)	(-)		
Neoplasie	1	85	115	42,5	1vs5* 1vs7*
Neurodegeneration	2	106	120	46,9	2vs4* 2vs5* 2vs6* 2vs7*
Anfallserkrankungen	3	67	139	32,5	3vs.5*
Neuropathie	4	146	325	31,0	4vs.5*
Psychische Erkrankungen	5	50	210	19,2	s.o.
Zerebrale Entzündung	6	109	248	30,5	s.o.
Hirnfarkt	7	74	230	24,3	s.o.

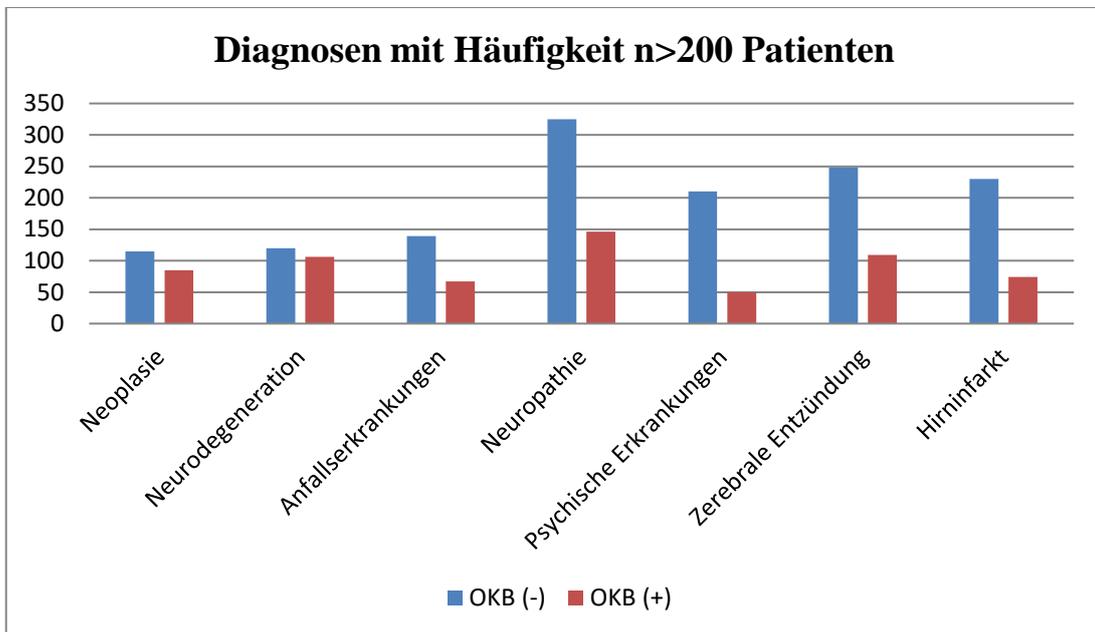


Abbildung 24: In der Abbildung sind die Daten aus Tabelle 10 zur leichteren Übersicht illustriert. Es ist zu erkennen, dass Serum-OKB (+) (blaue Säulen) relativ zu den Serum-OKB (-) bei Patienten mit Neoplasien und mit Neurodegeneration relativ häufiger anzutreffen sind als bei den anderen Krankheitsgruppen. Diese Unterschiede waren bei Patienten mit Neoplasien und Neurodegeneration u.a. im Vergleich zu Patienten mit psychischen Erkrankungen und Patienten mit Hirnfarkten statistisch signifikant.

Nachfolgend werden die in Tabelle 10 aufgeführten Krankheitsgruppen den in ihnen enthaltenen Diagnosen näher aufgeschlüsselt.

4.1. Neoplasien

Tabelle 11: Innerhalb der Patientengruppen mit $n > 200$ gab es für die Neoplasien signifikant mehr Patienten mit OKB (+) im Serum als bei Patienten mit Hirninfarkten bzw. mit psychischen Erkrankungen (vgl. Tab. 11). Hier sind nun Entitäten innerhalb der Gruppe der neoplastischen Erkrankungen aufgeführt. Für diese Diagnosen wurde eine statistische Analyse mit Vierfelder-Tafel (Fishers exakter Chi-Quadrat-Test) vorgenommen. Dabei zeigten sich statistisch signifikante Unterschiede (rechte äußere Spalte), die einer Korrektur für multiples Testen (nach Bonferroni) standhalten. *, Signifikant waren p-Werte $< 0,0013$. Gesamte Anzahl der untersuchten Proben: 200; Anzahl der OKB (+) Serumpobn = 85; Anzahl der der OKB (+) Liquorproben = 13; Anzahl der Proben, bei denen überhaupt keine OKB nachgewiesen wurden = 102.

Hauptkrankheitsgruppe		Diagnose	N, Serum- OKB (+)	N, Serum- OKB (-)	P ($<0,0013$) *
Neoplasien	1	Bronchial Ca	11	8	n.s.
	2	Leukämie	11	3	2vs3* 2vs8*
	3	Lymphom	22	53	3vs5* 3vs6* s.o.
	4	Mamma Ca	9	8	n.s.
	5	Myelom	7	0	5vs.8* 5vs.9* s.o.
	6	Gyn-Tumor	7	1	6vs.8* s.o.
	7	GI-Tumor	4	1	n.s.
	8	Hirntumoren	3	18	s.o.
	9	CUP	3	4	n.s.
	10	Weichteiltumor	0	6	n.s.
	11	Keimzelltumor	0	3	n.s.
	12	Verschiedene	8	10	n.s.
	Total			85	115

Innerhalb der Neoplasie-Patientengruppe waren OKB im Serum insbesondere bei Patienten mit multiplem Myelom, bei gynäkologischen Neoplasien (ohne Mamma-Ca.), Leukämien, gastrointestinalen Tumoren sowie Bronchial- und Mamma-Karzinom relativ häufiger anzutreffen als bei Patienten mit Lymphomen, Hirntumoren bzw. verschiedenen anderen Tumoren (Tab. 11, Abb. 25).

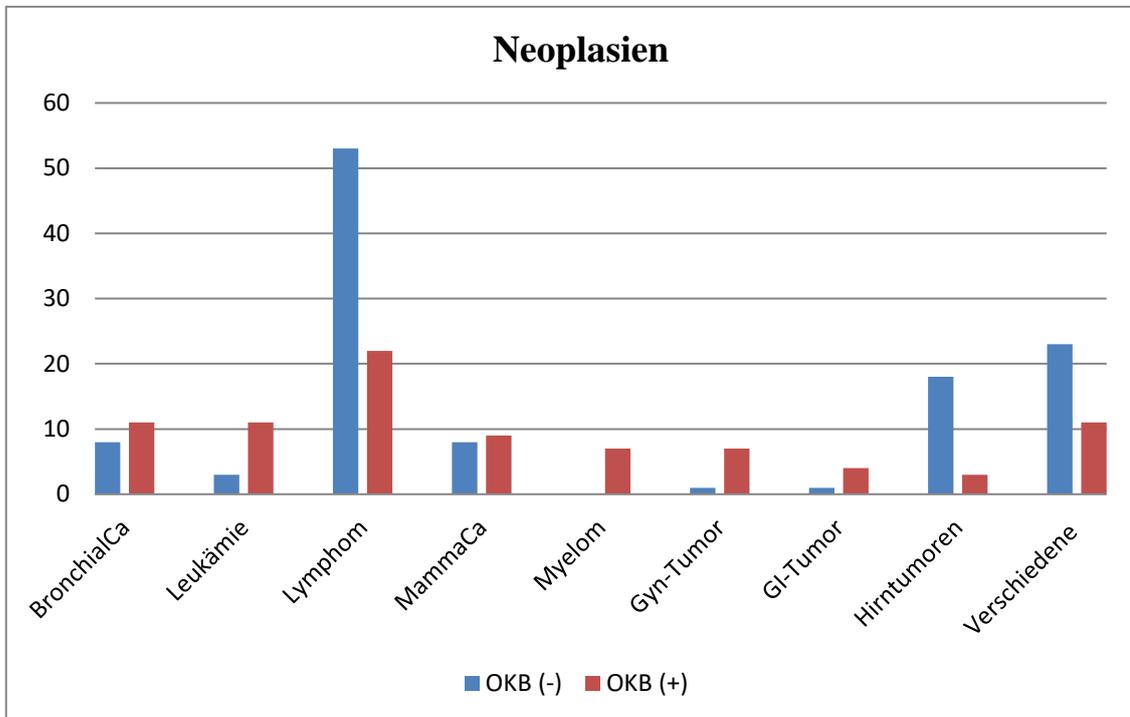


Abbildung 25: In der Abbildung sind die Daten aus Tab. 11 zur leichteren Übersicht illustriert. Diagnosen, bei denen Tumorprieten keine Serum-OKB (+) aufwiesen sind nicht dargestellt. Es ist zu erkennen, dass Serum-OKB insbesondere bei Patienten mit Leukämie, Myelomen, Bronchial-Ca, Mamma-Ca, anderen Gynäkologischen Tumoren sowie bei Gastrointestinalen Tumoren zu finden sind. Bei Myelomen handelt es sich bei den Banden um Paraproteine. Bei Lymphomen und bei Hirntumoren ist die Zahl der Patienten mit oligoklonalen Serumbanden geringer als die Zahl ohne solche Banden.

4.2. Neurodegeneration

Tabelle 12: Innerhalb der Patientengruppen mit $n > 200$ gab es für die neurodegenerativen Erkrankungen signifikant mehr Patienten mit Nachweis von OKB im Serum bei Demenz als bei Patienten mit ALS oder mit verschiedenen anderen neurodegenerativen Prozessen (Nr.7) (nach Bonferroni-Korrektur, $p < 0,003$). Anzahl der untersuchten Proben: 226. Anzahl der positiven oligoklonalen Banden im Serum: 106. Anzahl der der positiven oligoklonalen Banden ausschließlich im Liquor: 7. Anzahl der Proben, bei denen keine OKB nachgewiesen wurden: 113. ALS, amyotrophische Lateralsklerose. NPH, Normal Pressure Hydrocephalus (Normaldruckhydrozephalus). SCA, Spinozerebelläre Ataxie. CJK, Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung.

Hauptkrankheitsgruppe		Diagnose	N, Serum-OKB (+)	N, Serum-OKB (-)	P (<0,003) *
Neurodegeneration	1	Demenz	39	15	1vs.2* 1vs.7*
	2	ALS	15	37	s.o.
	3	Parkinson-Syndrom	10	13	n.s.
	4	Enzephalopathie	8	4	n.s.
	5	Myelopathie	5	6	n.s.
	6	NPH	6	1	n.s.
	7	Verschiedene (SCA, CJK, etc.)	23	44	s.o.
Total			106	120	

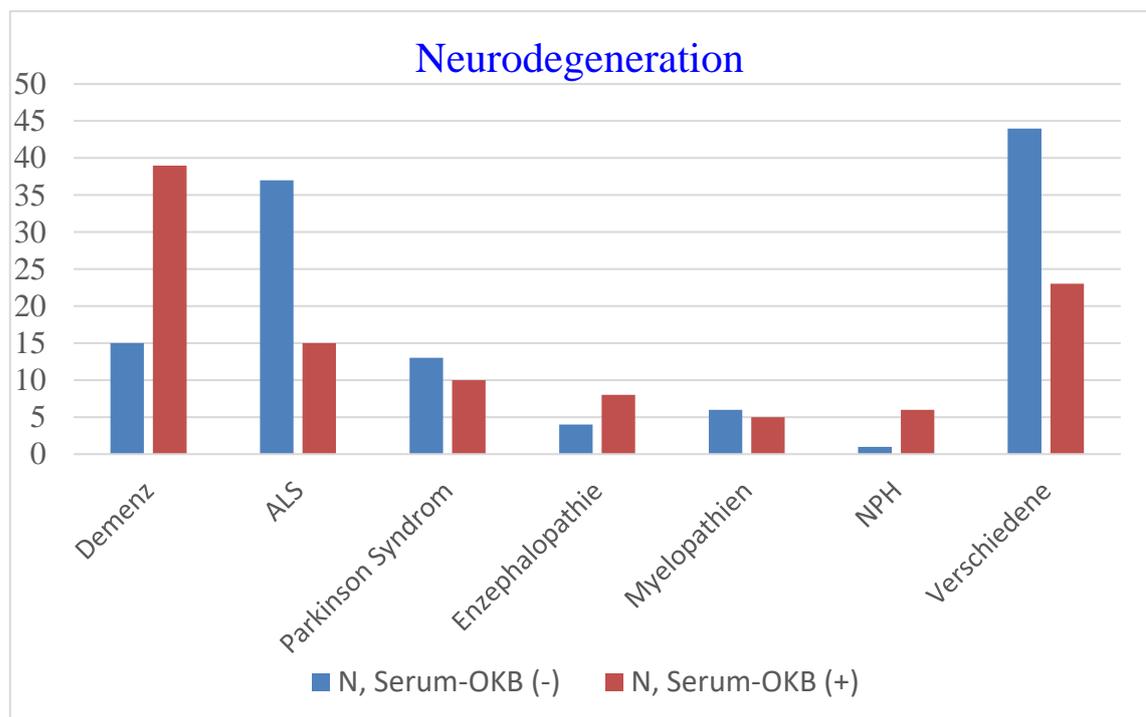


Abbildung 26: In der Abbildung sind die Daten aus Tab. 12 zur leichteren Übersicht illustriert. Es ist zu erkennen, dass Serum-OKB (+) (blaue Säulen) relativ zu den Serum-OKB (-) bei Patienten mit Demenz signifikant häufiger anzutreffen sind als bei Patienten mit ALS bzw. mit verschiedenen neurodegenerativen Prozessen. Tendenziell war die Zahl an Patienten mit OKB (+) auch bei NPH und Enzephalopathien relativ höher als die OKB (-). Allerdings war die Zahl der Patienten in diesen Gruppen recht gering.

4.3. Anfallserkrankungen

Tabelle 13: Innerhalb der Patientengruppen mit $n > 200$ gab es für die Patienten mit Anfallserkrankungen nicht signifikant mehr oder weniger Patienten mit Nachweis von OKB im Serum als bei anderen Erkrankungen (vgl. Tab. 10). Für die unterschiedlichen Diagnosegruppen innerhalb der epileptischen Syndrome wurde eine statistische Analyse mit Vierfelder-Tafel (Fishers exakter Chi-Quadrat-Test) vorgenommen. Dabei zeigten sich statistisch signifikante Unterschiede (rechte äußere Spalte), die einer Korrektur für multiples Testen (nach Bonferroni) standhalten. *, Signifikant waren p-Werte $< 0,017$. Gesamte Anzahl der untersuchten Proben: 206; Anzahl der Proben mit positiven OKB im Blutserum = 67; Anzahl der der positiven OKB nur im Liquor = 3; Anzahl der Proben, bei denen überhaupt keine OKB nachgewiesen wurden = 136.

Hauptkrankheitsgruppe		Diagnose	N, Serum-OKB (+)	N, Serum-OKB (-)	P (<0,017) *
Anfallsmanifestationen	1	fokaler Anfall	10	33	n.s.
	2	Grand mal	53	87	n.s.
	3	Status epilepticus	4	12	n.s.
	4	Verschiedene	0	7	n.s.
Total			67	139	

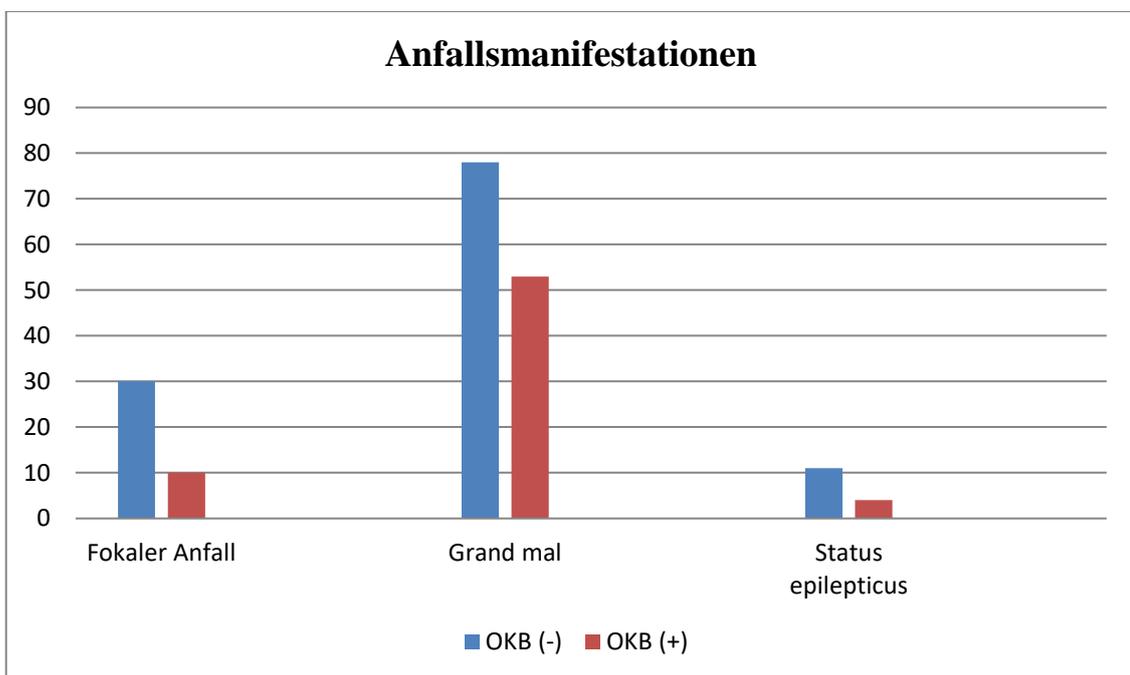


Abbildung 27: In der Abbildung sind die Daten aus Tabelle 13 zur Übersicht illustriert. Es gab zwischen den verschiedenen Diagnosegruppen keine statistisch signifikanten Unterschiede zum Vorkommen der OKB im Serum.

4.4. Neuropathie

Tabelle 14. Innerhalb der Patientengruppen mit $n > 200$ gab es für die Patienten mit Neuropathien nicht signifikant mehr oder weniger Patienten mit Nachweis von OKB im Serum als bei anderen Erkrankungen (vgl. Tab. 10). Für die unterschiedlichen Diagnosegruppen innerhalb der neuropathischen Syndrome wurde eine statistische Analyse mit Vierfelder-Tafel (Fishers exakter Chi-Quadrat-Test) vorgenommen. Dabei zeigten sich statistisch signifikante Unterschiede (rechte äußere Spalte), die einer Korrektur für multiples Testen (nach Bonferroni) standhalten. Relativ zu den Patienten mit Hirnnervenpareesen zeigten sowohl Patienten mit Diabetes-PNP als auch Patienten mit Guillain-Barré-Syndrom (GBS) häufiger OKB im Serum. *, Signifikant waren p-Werte $< 0,002$. Gesamte Anzahl der untersuchten Proben: 471; Anzahl der Proben mit positiven OKB im Blutserum = 146; Anzahl der der positiven OKB nur im Liquor = 10; Anzahl der Proben, bei denen überhaupt keine OKB nachgewiesen wurden = 315.

Hauptkrankheitsgruppe	Diagnose	N, Serum-OKB (+)	N, Serum-OKB (-)	P (< 0,002) *
Neuropathie	1 Diabetes PNP	18	18	1vs.3*
	2 GBS	16	16	2vs.3*
	3 Hirnnervenparese	50	161	s.o.
	4 Paraproteinämie PNP	6	7	n.s.
	5 Radikulär Syndrom	24	43	n.s.
	6 Unklare Genese PNP	10	29	n.s.
	7 Verschiedene (CIDP, APP)	11	51	n.s.
Total		146	325	

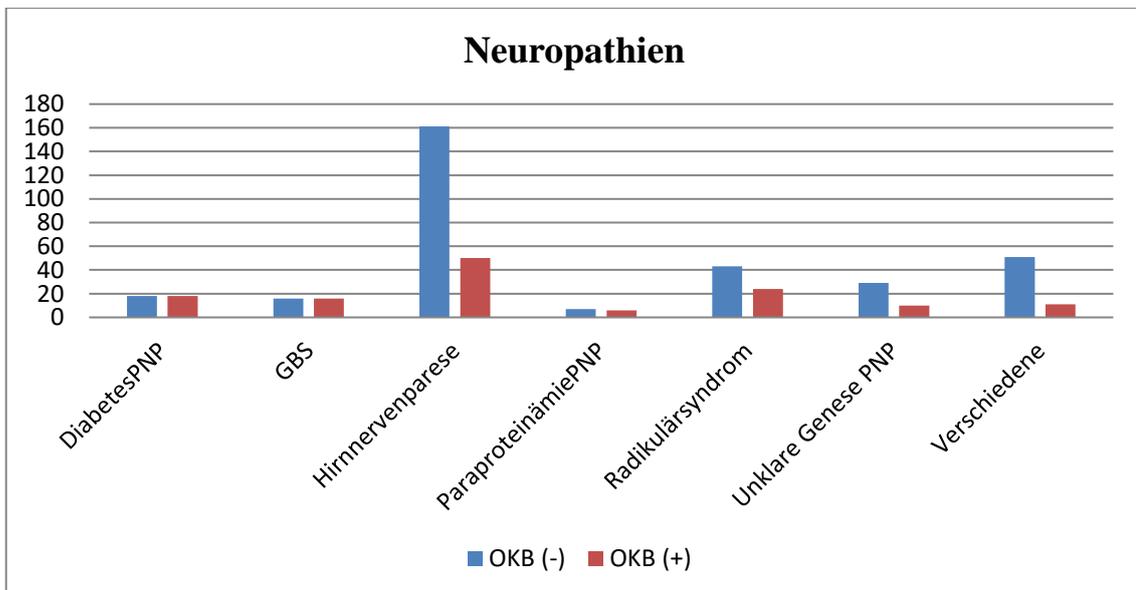


Abbildung 28: In der Abbildung sind die Daten aus Tab. 14 zur leichteren Übersicht illustriert. Unter den Patienten, die wegen neuropathischer Syndrome eine Liquordiagnostik erhielten waren Hirnnervenpareesen überrepräsentiert. Dies liegt daran, dass bei akuten Hirnnervenpareesen eine Neuroborreliose als Differenzialdiagnose im Raum steht. Der relative Anteil an OKB im Serum war bei Patienten mit Guillain-Barré Syndrom und Diabetes-PNP höher als bei Patienten mit Hirnnerven-Neuropathien.

4.5. Psychische Erkrankungen

Tabelle 15: Innerhalb der Patientengruppe der psychischen Erkrankungen mit $n > 200$ gab es für die Patienten mit Depression und solchen mit Psychose häufiger OKB (+) als bei Patienten mit funktionellen Störungen bzw. mit verschiedenen psychischen Störungen (nach Bonferroni-Korrektur, $p < 0,005$). Anzahl der untersuchten Proben: 260. Anzahl der positiven oligoklonalen Banden im Serum: 50. Anzahl der der positiven oligoklonalen Banden ausschließlich im Liquor: 8. Anzahl der Proben, bei denen keine OKB nachgewiesen wurden: 202. HOPS, Hirnorganisches Psychosyndrom.

Hauptkrankheitsgruppe		Diagnose	N, Serum-OKB (+)	N, Serum-OKB (-)	P (<0,005) *
Psychische Erkrankungen	1	Depression	15	22	1vs.2* 1vs.5*
	2	Funktionell	15	116	2vs.3* 2vs.4*
	3	HOPS	7	4	3vs.5*
	4	Psychose	10	9	4vs.5* und s.o.
	5	Verschiedene	3	59	s.o.
Total			50	210	

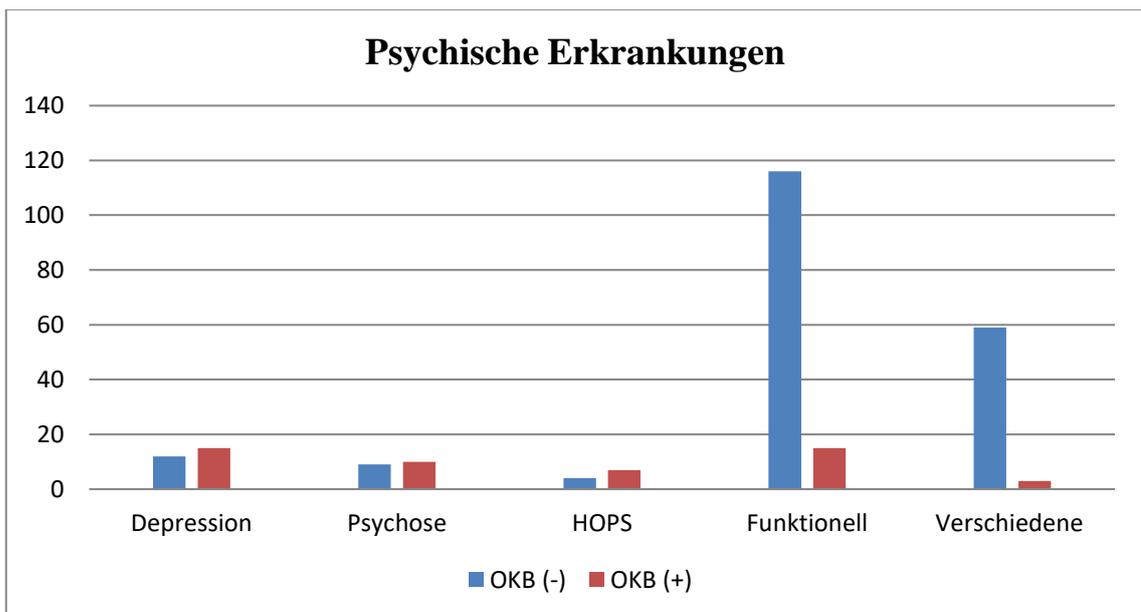


Abbildung 29: In der Abbildung sind die Daten aus Tab. 15 zur leichteren Übersicht illustriert. Bei Patienten mit psychischen Erkrankungen waren – allerdings bei teils kleinen Stichprobenumfängen – OKB im Serum häufiger bei Patienten mit Depression und Psychose vorhanden als bei Patienten mit funktionellen Störungen bzw. verschiedenen anderen psychischen Erkrankungen.

4.6. Zerebrale Entzündung

Tabelle 16: Innerhalb der Patientengruppen mit $n > 200$ gab es für die zerebralen Entzündungen signifikant weniger Patienten mit OKB (+) im Serum als bei Patienten mit Neoplasien (vgl. Tab. 10). Hier sind nun Entitäten innerhalb der Gruppe der zerebralen Entzündungen aufgeführt. Für diese Diagnosen wurde eine statistische Analyse mit Vierfelder-Tafel (Fishers exakter Chi-Quadrat-Test) vorgenommen. Dabei zeigten sich statistisch signifikante Unterschiede (rechte äußere Spalte), die einer Korrektur für multiples Testen (nach Bonferroni) standhalten. *, Signifikant waren p-Werte $< 0,002$. Gesamte Anzahl der untersuchten Proben: 357; Anzahl der Proben mit positiven OKB im Blutserum = 109; Anzahl der OKB (+) nur im Liquor = 105; Anzahl der Proben, bei denen überhaupt keine OKB nachgewiesen wurden = 143. Der hohe Anteil an Patienten mit OKB (+) im Liquor geht ganz überwiegend auf die Patienten mit Multipler Sklerose bzw. mit Retrobulbärneuritis zurück.

Hauptkrankheitsgruppe		Diagnose	N, Serum-OKB (+)	N, Serum-OKB (-)	P (<0,002)*
Zerebrale Entzündung	1	Bakterielle Meningitis	6	24	1vs.7*
	2	Virale Meningitis	7	35	2vs.7*
	3	Virale Enzephalitis	14	32	n.s.
	4	Multiple Sklerose (schubförmig)	28	78	4vs.7*
	5	Myelitis	5	10	n.s.
	6	Retrobulbär-Neuritis	32	57	n.s.
	7	Verschiedene ZNS-Entzündungen	17	12	s.o.
Total			109	248	

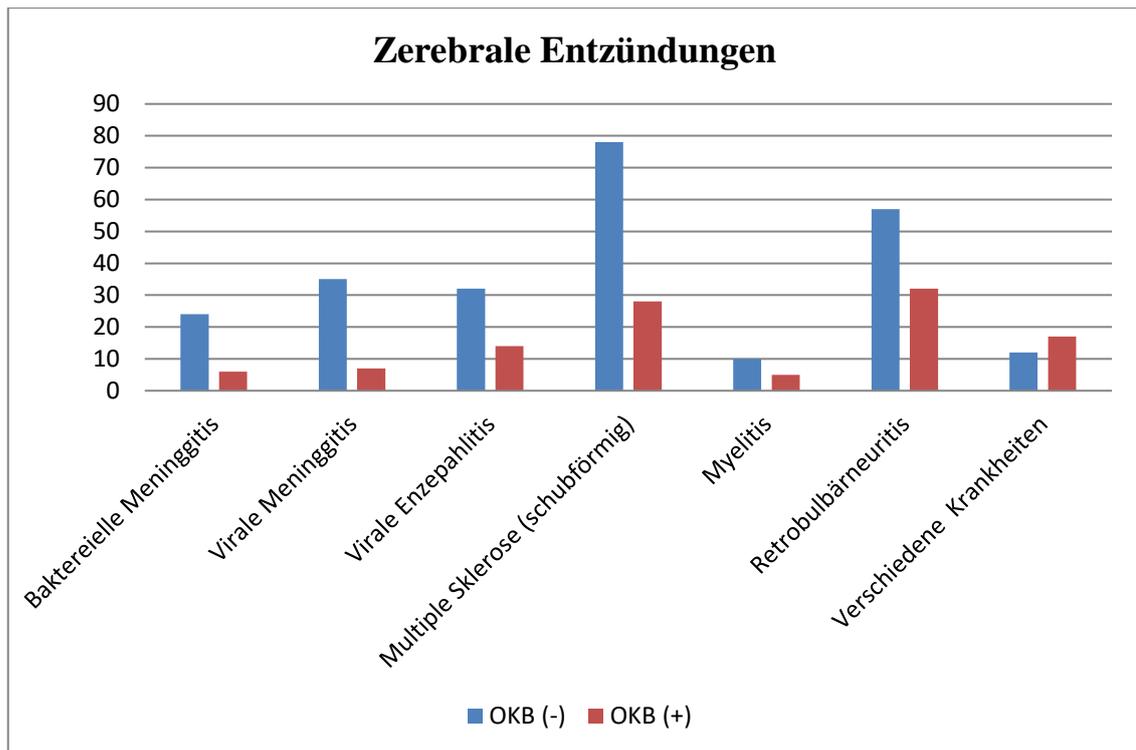


Abbildung 30: In der Abbildung sind die Daten aus Tabelle 16 zur Übersicht illustriert. Wenn man lediglich OKB im Serum (und nicht im Liquor) bei den zerebral entzündlichen Prozessen betrachtet, so fällt lediglich ein etwas höherer Anteil an Patienten mit OKB (+) im Serum bei den „verschiedenen Krankheiten“ auf. Diese verschiedenen Krankheiten teilen sich folgendermaßen auf (n): Limbische Enzephalitis (3), Neurolues (3), zerebraler Abszess (2), akute demyelinisierende Enzephalomyelitis (ADEM) (2), Tbc-Enzephalitis (1), Autoimmune Cerebellitis (1), Opsoklonus-Syndrom (1), Zerebrale Toxoplasmose (1), progressive multifokale Leukenzephalopathie (PML) (1), Neuromyelitis optica (1), Papillitis des Auges unkl. Genese (1).

4.7. Apoplexien

Tabelle 17: Innerhalb der Patientengruppen mit $n > 200$ gab es für die Apoplexien signifikant weniger Patienten mit Nachweis von OKB im Serum als bei Patienten mit Neoplasien bzw. mit neurodegenerativen Krankheiten (vgl. Tab. 10). Hier sind nun Entitäten innerhalb der Gruppe der Apoplexien aufgeführt. Für diese Diagnosen wurde eine statistische Analyse mit Vierfelder-Tafel (Fishers exakter Chi-Quadrat-Test) vorgenommen. Dabei zeigten sich keine statistisch signifikanten Unterschiede, die einer Korrektur für multiples Testen (nach Bonferroni) standhalten. *, Signifikant waren p-Werte $< 0,003$. Gesamte Anzahl der untersuchten Proben: 304; Anzahl der Proben mit positiven OKB im Blutserum = 74; Anzahl der der positiven OKB nur im Liquor = 4; Anzahl der Proben, bei denen überhaupt keine OKB nachgewiesen wurden = 226.

Hauptkrankheitsgruppe		Diagnose	N, Serum-OKB (+)	N, Serum-OKB (-)	P ($< 0,003$)*
Apoplex	1	Hemisphäreale Ischämie	38	121	n.s.
	2	Parenchymale Hämorrhagie	11	24	n.s.
	3	Hirnstamminfarkt	6	16	n.s.
	4	TIA	11	21	n.s.
	5	SAB	5	32	
	6	Verschiedene	2	16	n.s.
Total			74	230	n.s.

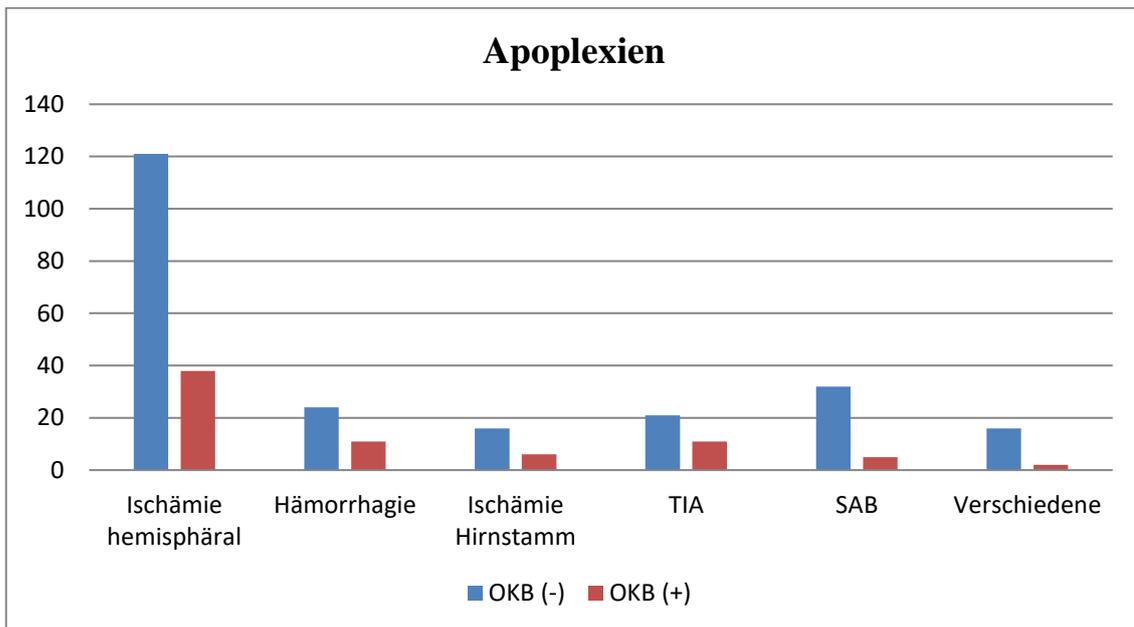


Abbildung 31: In der Abbildung sind die Daten aus Tab. 17 zur Übersicht illustriert. Die Häufigkeit der unterschiedlichen Apoplexien entspricht der zu erwartenden Verteilung. Innerhalb der Gruppe der akuten zerebrovaskulären Erkrankungen ergeben sich nach Bonferroni-Korrektur keine signifikanten Unterschiede zwischen verschiedenen Diagnosegruppen.

4.8. Systemische Entzündung

Tabelle 18: Die Gruppe der Patienten mit systemischen Entzündungen ist mit < 200 Patienten nicht in den Vergleich zwischen den Hauptdiagnosegruppen eingegangen (vgl. Tab. 10). Für die unterschiedlichen Diagnosegruppen innerhalb der systemischen Entzündungen wurde eine statistische Analyse mit Vierfelder-Tafel (Fishers exakter Chi-Quadrat-Test) vorgenommen. Dabei zeigten sich keine statistisch signifikanten Unterschiede (rechte äußere Spalte), die einer Korrektur für multiples Testen (nach Bonferroni) standhalten (p-Werte < 0,002). Gesamte Anzahl der untersuchten Proben: 121; Anzahl der OKB (+) Serumproben: 53; Anzahl der der OKB (+) Liquorproben: 7; Anzahl der Proben, bei denen überhaupt keine OKB nachgewiesen wurden: 61.

Hauptkrankheitsgruppe	Diagnose	N, Serum-OKB (+)	N, Serum-OKB (-)	P (< 0,002)*
Systemische Entzündung	1 Sepsis	21	20	n.s.
	2 Borreliose	8	3	n.s.
	3 Harnwegsinfekt	3	2	n.s.
	4 Pneumonie	6	7	n.s.
	5 Abszess	5	3	n.s.
	6 Virale Infektion	5	10	n.s.
	7 Verschiedene (Bakterielle +andere)	5	23	n.s.
Total		53	68	

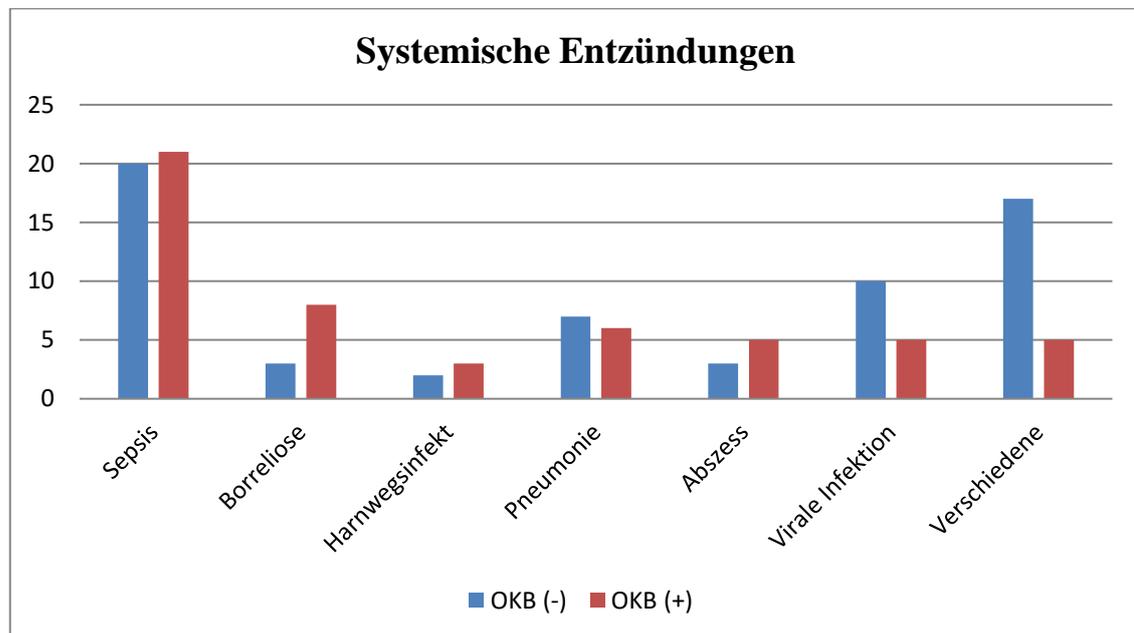


Abbildung 32: In der Abbildung sind die Daten aus Tab. 18 zur Übersicht illustriert. Es gab zwischen den verschiedenen Diagnosegruppen keine statistisch signifikanten Unterschiede zum Vorkommen der OKB im Serum. Allerdings ist zu erkennen, dass das Vorkommen von OKB (+) Serumproben zwischen den verschiedenen Erkrankungen differiert. Statische Signifikanz wird wegen der kleinen Fallzahlen nicht erreicht. In der Patientengruppe mit systemischen Entzündungen zeigen Patienten mit bakteriellen Infekten (Sepsis, Pneumonie, Abszess, Harnwegsinfekt, Borreliose) höhere relative Häufigkeiten von OKB (+) im Serum relativ zu Patienten mit viralen Infekten oder verschiedenen anderen systemischen Entzündungen.

4.9. Andere Erkrankungen

Tabelle 19: Die Gruppe der Patienten mit „anderen Erkrankungen“, die sich sonst nicht zuordnen ließen wurde nicht in die statistische Analyse der Hauptgruppen einbezogen. Auch innerhalb dieser heterogenen Gruppe wurde eine statistische Analyse mit Vierfelder-Tafel nicht durchgeführt. Gesamte Anzahl der untersuchten Proben: 311; Anzahl der Proben mit OKB (+) im Blutserum = 40; Anzahl der der OKB (+) nur im Liquor = 15; Anzahl der Proben, bei denen überhaupt keine OKB nachgewiesen wurden = 256.

Hauptkrankheitsgruppe		Diagnose	N, Serum-OKB (+)	N, Serum-OKB (-)	Keine Testung
Andere Erkrankungen	1	Kopfschmerz	18	154	
	2	Autoimmun-erkrankung	13	31	
	3	Metabolisch	5	22	
	4	Pseudotumor cerebri	4	21	
	5	Verschiedene	0	43	
Total			40	271	

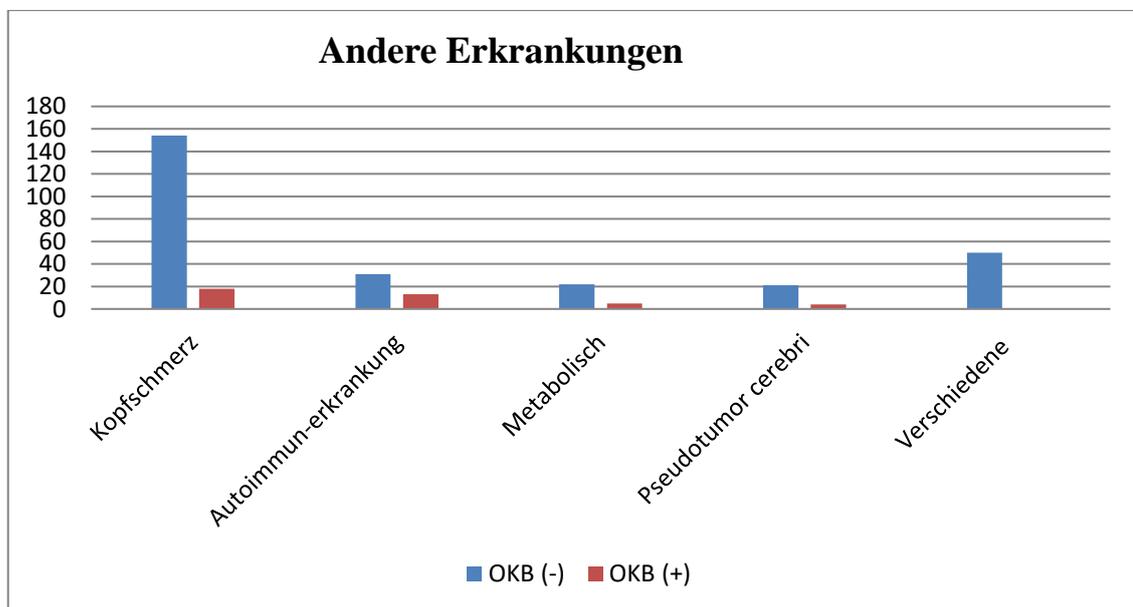


Abbildung 33: In der Abbildung sind die Daten aus Tab. 19 zur Übersicht illustriert. Man sieht, dass Kopfschmerzerkrankungen in relativ großer Zahl vorliegen. Der relative Anteil der Patienten mit OKB (+) im Serum erscheint bei Patienten mit Autoimmunerkrankungen etwas höher zu sein als bei den anderen Diagnosen. Für die heterogenen Erkrankungen dieser Gruppe wurde kein statistischer Vergleich vorgenommen.

5. Diskussion

OKB sind Ausdruck einer B-Zellaktivierung, bei der definitionsgemäß mehrere B-Zellklone Antikörper produzieren. Diese B-Zellaktivierung kann unterschiedliche Ursachen haben, nämlich z.B. virale oder bakterielle Infektionen, autoimmune Ursachen inkl. Paraneoplasien oder Ausdruck einer B-Zellneoplasie sein. Bei der Untersuchung von OKB mittels isoelektrischer Fokussierung (IEF) stand bisher vor allem der Liquor im Fokus (siehe Einleitung). Über OKB im Blutserum gibt es trotz ihres relativ häufigen Vorkommens nur begrenzte Kenntnisse. Dies liegt u.a. daran, dass OKB im Blutserum überwiegend als Referenz zur Bestimmung der OKB im Liquor herangezogen werden.

In der vorliegenden Stichprobe wurden Liquor/Serum-Paare zu 80 % aus der Neurologie in das Labor eingeschickt. Weitere 6 % der Proben kamen aus der Klinik für Psychiatrie. Bei den übrigen 14 % der Fälle darf angenommen, dass in einem Teil ein neurologischer Konsiliararzt die Liquor-Untersuchung selbst vorgenommen oder empfohlen hat. OKB werden also überwiegend bei neuropsychiatrischen Fragestellungen bestimmt. Es gibt keine systematischen Untersuchungen etwa zu rheumatischen Erkrankungen oder Tumorerkrankungen, wenn nicht eine Beteiligung des Nervensystems im Raum steht. Allerdings ist bereits aufgefallen, dass Patienten mit Multipler Sklerose zu einem gewissen Anteil OKB im Serum aufweisen (Zeman et al., 1996). Bei MS wurde aus dem Vorliegen von OKB im Serum der Schluss gezogen, dass Immunphänomene nicht nur im zentralen Nervensystem, sondern auch in der Peripherie eine Rolle spielen könnten (Zeman et al., 1996). In der vorliegenden Arbeit zeigt sich, dass OKB im Serum nicht nur bei Patienten mit MS relativ häufig vorkommen. Vielmehr werden sie bei zahlreichen Erkrankungen ähnlich häufig oder sogar häufiger angetroffen als bei MS. Daher stellt sich die Frage, welchen Anteil an der Pathogenese den OKB bei den jeweiligen Erkrankungen zukommt.

Die aktuelle Untersuchung ist – soweit aus der vorgenommenen Literatursuche in PubMed (s.o.) ersichtlich – die bisher umfangreichste ihrer Art. Dabei ist es ein Vorteil, dass im Rahmen der eingesetzten Diagnostik eine antikörperbasierte Darstellung von IgG-Banden eingesetzt wurde. Dies bedeutet, dass die hier untersuchten OKB ausschließlich IgG-Banden sind. In die vorliegende Untersuchung wurden entsprechend den Ein- und Ausschlusskriterien fortlaufend alle Liquor/Serumproben eingeschlossen, die im Zeitraum von 2007 bis 2013 im Zentrallabor des Universitätsklinikums Halle mit IEF untersucht worden waren. Es wurde also nicht eine Hypothese zu Grunde gelegt, um diese bei einem einzelnen Krankheitsbild zu testen. Das Ziel war gerade, Krankheitsbilder zu identifizieren, bei denen OKB im Serum evtl. eine Rolle spielen könnten. Aufgrund der oben skizzierten Pathomechanismen, die zur Bildung von OKB führen können, kann ein derartiger Befund also pathogenetische Bedeutung haben.

Die Vielzahl an verschiedenen Erkrankungen machte es nötig, diese zu gruppieren. Dabei wurden folgende Haupt-Krankheitsgruppen gebildet: Neoplasien, Neurodegeneration, Anfalls-erkrankungen, Neuropathien, psychische Erkrankungen, Zerebrale Entzündungen, Hirninfarkte, Systemische Entzündungsprozesse, Kopfschmerzerkrankungen, autoimmune Erkrankungen, metabolische Erkrankungen sowie andere Prozesse.

Wenn man den Anteil an Patienten mit OKB im Serum auf die verschiedenen analysierten Erkrankungsgruppen bezieht (Tab. 9, 10), springen zunächst keine großen Differenzen zwischen den Erkrankungsgruppen auf. Immerhin gibt es aber statistisch signifikante Unterschiede, wenn man eine χ^2 Statistik einsetzt (exakter Test nach Fisher) und für multiples Testen nach Bonferroni korrigiert. So wiesen Patienten mit Neoplasien und mit Neurodegenerativen Erkrankungen signifikant häufiger OKB im Serum auf als Patienten in den anderen Patientengruppen (Tab. 10, Abb. 25, 26). Interessanter wird es, wenn man das Vorkommen von OKB innerhalb der verschiedenen Patientengruppen aufschlüsselt. So kommen bei den neurodegenerativen Erkrankungen z.B. überzufällig häufig Serum-OKB bei Patienten mit Demenz im Vergleich zu solchen mit ALS vor (vgl. Tab. 10, Abb. 26). Generell zeigte sich die Häufigkeit von oligoklonalen Serum-Banden bei Patienten mit funktionellen Störungen bzw. „anderen psychischen Erkrankungen“ sowie bei Patienten mit Kopfschmerzerkrankungen gering (Tab. 15, Abb. 29; Tab. 19, Abb. 33). Demgegenüber war der erhöhte Anteil an OKB im Serum bei systemischen Entzündungsprozessen wie Sepsis, Abszess oder Borreliose zu erwarten gewesen. Nachfolgend werden die Befunde entsprechend der untersuchten Patientengruppen im Einzelnen diskutiert.

5.1. Neoplasien

Es ist gut bekannt, dass im Rahmen von B-Zell Neoplasien oder deren Vorstufen erhöhte Antikörpertiter im Blutserum gefunden werden können. Es ist daher nicht verwunderlich, dass Antikörper im Rahmen der IEF monoklonal oder als OKB nachgewiesen werden können (Leaback und Walker, 1971; Koïcheva und Apostolov, 1982; Sheehan et al., 1985; Sinclair et al., 1986; Fasullo et al., 1989). Bei monoklonaler Gammopathie gibt es deutlich weniger Studien (Tracy et al., 1982; Poloni et al., 1982; Sinclair et al., 1986; Arata et al., 1989).

In den letzten Jahren werden Zusammenhänge zwischen entzündlichen Vorgängen und der Tumorphathogenese wieder mehr in das Blickfeld gerückt (DeNardo und Coussens, 2007). Die in der vorliegenden Arbeit gefundenen Ergebnisse, nämlich einem gehäuften Auftreten von Serum-OKB bei soliden Tumoren und bei Leukosen (Tab. 10, Abb. 25) passt zu einem Einfluss von Immunmechanismen bei der Tumorphathogenese. In der Literatursuche in Pubmed wurden

lediglich 2 Arbeiten zum Thema gefunden. Zeman et al. (1993) berichten, dass Serum-OKB bei 9 von 16 Neoplasie-Patienten beobachtet wurden. Eine Aufschlüsselung der Neoplasie-Diagnosen wurde nicht mitgeteilt. Haas et al. (1987) berichten, dass Serum-OKB bei 5 von 15 Patienten mit Bronchial-Carzinom im Verlauf der Chemotherapie neu aufgetreten sind. In 4 der 5 Patienten wurden virale Komorbiditäten als Ursache vermutet.

In der vorliegenden Arbeit waren Serum-OKB überhaupt bei Patienten mit Carzinomen überrepräsentiert. Bei den Patienten mit Bronchial-Carzinomen waren Serum-OKB in 11 von 19 Fällen nachweisbar, bei Mamma-Carzinom-Patienten in 9 von 17 Fällen, bei anderen Gyn-Tumoren bei 7 von 8 und bei gastrointestinalen Tumoren in 4 von 5 Fällen. Demgegenüber waren Serum-OKB bei Patienten mit zerebralen Neoplasien mit 3 von 21 Fällen sowie bei Weichteil-Neoplasien mit 0 von 6 Patienten unterrepräsentiert.

OKB gehen von B-Lymphozyten aus. Diesen Zellen wird im Rahmen der Tumorentstehung eine besondere Rolle zugewiesen (DeNardo und Coussens, 2007). Die pathogenetischen Zusammenhänge zwischen Tumorpathogenese und den Immunphänomenen sind ungeklärt. Es ist allerdings bekannt, dass mit zunehmender Malignisierung auch die Immunphänomene zunehmen. So gehört etwa der entzündliche Brustkrebs, der 1-6 % der Fälle von Mamma-Carzinomen ausmacht zu den bösartigsten Formen von Mamma-Carzinom (DeNardo und Coussens, 2007). Es könnte sich evtl. lohnen, bei Tumoren das Vorhandensein von OKB im Serum näher zu betrachten und entsprechend dem Tumorgrading und -staging entsprechend näher zu differenzieren. Ob allerdings die OKB direkt mit der Tumorpathogenese in Verbindung stehen oder eine Folge sind – etwa in Form opportunistischer Infektionen bei geschwächter Abwehrlage oder als Folge der Tumorthherapie – lässt sich nicht ganz einfach abschätzen.

5.2. Neurodegenerative Erkrankungen

Das vermehrte Auftreten von OKB bei bestimmten neurodegenerativen Erkrankungen war zunächst so nicht erwartet worden und ist in der Literatur soweit wir sehen können bisher nicht mitgeteilt worden. Allerdings werden Immun-Mechanismen bei der Pathogenese neurodegenerativer Erkrankungen zunehmend diskutiert, und zwar insbesondere bei Alzheimer Erkrankung, M. Parkinson und amyotrophischer Lateralsklerose (Chitnis und Weiner, 2017). Die Hypothesen zu den immunogenen Anteilen an der Pathogenese neurodegenerativer Erkrankungen drehen sich insbesondere um Immunzellen wie Mikroglia oder fakultativ antigen präsentierte Zellen wie Astrozyten (Chitnis und Weiner, 2017).

Für den Befund einer erhöhten Prävalenz von Serum-OKB (+) bei Patienten mit neurodegenerativen Erkrankungen sind evtl. weitere Komorbiditäten zu berücksichtigen. Tatsächlich führen nicht selten Infekte wie etwa die häufigen Harnwegsinfekte zu einer Dekompensation von Demenzpatienten in Form deliranter Zustände (Chae und Miller, 2015). Wenn nun bei einem Demenzpatienten mit Delir und etwa einem Infekt aus differenzialdiagnostischen Gründen eine Liquorpunktion vorgenommen wird, so ist allein schon wegen des Infektes mit erhöhtem Vorkommen von oligoklonalen Banden zu rechnen. In jedem Fall erscheint es lohnenswert, dem Vorkommen von Serum-OKB bei den neurodegenerativen Erkrankungen eine größere Aufmerksamkeit zu widmen und zu klären, ob die Serum-OKB lediglich eine Folge banaler Infekte darstellen oder einen eigenen Anteil an der Pathogenese haben.

5.3. Anfallserkrankungen

Serum-OKB waren in der vorliegenden Untersuchung bei Patienten mit generalisierten epileptischen Anfällen etwas häufiger nachweisbar als bei Patienten mit fokalen Anfällen. Dieser Unterschied war statistisch nicht signifikant und ist auch nicht ganz zwanglos zu interpretieren. Evtl. bedarf es auch der Bestätigung durch eine nachfolgende Untersuchung, um die Reproduzierbarkeit des Befundes zu betrachten. Sollte der Befund aber valide sein, wäre der pathogenetische Einfluss, der zu OKB führt und gleichzeitig zur Anfallsauslösung prädisponiert evtl. interessant. Am ehesten ist wiederum an Infekte zu denken, die hier eine Rolle spielen könnten. Es gibt ferner autoimmune Syndrome wie z.B. die NMDA-Rezeptor-Autoantikörper Enzephalitis, bei der es syndromal zu Anfällen kommen kann (Bien, 2018). Darüber hinaus können Anfälle im Kindesalter etwa durch Fieber (bei Infekten) getriggert werden. Anfälle werden z.B. in 38 % der Fälle mit Herpes-Enzephalitis beobachtet (Modi et al., 2017). Es ist postuliert worden, dass in das ZNS infiltrierende Makrophagen eine Schlüsselrolle bei der Entstehung von Anfällen bei viralen Entzündungen spielen (Cusick et al., 2013). Bei viralen Infekten kann es zu OKB (+) im Serum kommen (Papadopoulos et al., 1988; Monk et al., 1989; Tsianos et al., 1990).

5.4. Neuropathien

Das gehäufte Auftreten von Serum-OKB bei verschiedenen polyneuropathischen Syndromen wie Guillain-Barré Syndrom (GBS), Diabetes-PNP, paraproteinämischen Neuropathien sowie mit Radikulopathien stellt einen interessanten Befund dar (vgl. Tab. 14, Abb. 28). Bei den

paraproteinämischen Neuropathien handelt es sich bei den OKB vermutlich um Paraproteine etwa im Rahmen einer monoklonalen Gammopathie unklarer Signifikanz (MGUS).

Das GBS ist nicht selten durch Infekte getriggert (Wakerley und Yuki, 2013), so dass das Vorkommen der OKB im Serum evtl. auf den entsprechenden Infekt zurückgeht (Papadopoulos et al., 1988; Monk et al., 1989; Tsianos et al., 1990). Interessanter Weise wurde bei GBS-Patienten bereits über das Vorkommen von OKB im Blutserum berichtet (Kjellin und Siden, 1978; Krüger et al., 1981; Segurado et al., 1986; Zeman et al., 1993). In der Arbeit von Krüger et al. (1981) wurden IgG-OKB bei 13 von 16 patients gefunden, bei 10 ausschließlich im Serum und bei 3 Patienten in Serum und Liquor. Zeman et al., geben eine Serum-OKB Häufigkeit von 9 von 16 Patienten an. In der vorliegenden Arbeit wurden IgG-OKB in 16 von 32 untersuchten Patienten gefunden, also ähnlich wie in der Arbeit von Zeman et al. (1993) und etwas weniger häufig als bei Krüger et al (1981).

Bei Patienten mit idiopathischen Polyneuropathien, bei denen also keine klare Ursache für die Polyneuropathie dingfest gemacht werden konnte, ließen sich Serum-IgG-OKB in 10 von 39 Patienten nachweisen. In einer vergleichbaren Arbeit von 1980 (Livrea et al.) waren Serum-OKB in 24 von 85 Fällen nachweisbar gewesen, also in vergleichbarer Größenordnung. Bei Zeman et al. (1993) waren Serum-OKB in 10 von 18 Fällen vorhanden.

Bei Patienten mit Diabetischer Polyneuropathie ist das gehäufte Vorkommen von Serum-OKB in der vorliegenden Studie (18 von 36 Patienten; vgl. Tab 14, Abb. 28) nicht trivial. Beim Typ1 Diabetes wird angenommen, dass autoimmune Mechanismen zum Untergang der Inselzellen führen. Ob bei Typ1 Diabetes Serum-OKB häufiger vorhanden sind als bei Typ2 Diabetes wurde in der vorliegenden Arbeit nicht untersucht. Diese Frage ist evtl. interessant, um herauszufinden, ob B-Zellen eine Rolle in der Pathogenese spielen.

Radikulopathien sind pathogenetisch sehr heterogene Erkrankungen. Diese sind oft Folge von mechanischer Kompression, etwa durch Bandscheibenhernien. Bei dieser Pathogenese wird allerdings selten eine Liquorpunktion vorgenommen. Der Liquor wird dann regelmäßig untersucht, wenn eine mechanische Ursache nicht fassbar ist. Dann kommen als Ursache u.a. entzündliche Prozesse (Borreliose, virale Infekte) oder metabolisch-vaskuläre Ursachen wie etwa im Rahmen des Diabetes mellitus in Betracht. Es ist daher auch unter Berücksichtigung der oben geführten Diskussion bei viralen Erkrankungen bzw. bei Diabetes mellitus nicht überraschend, dass Patienten mit nicht-mechanischen Nervenwurzelläsionen ein gehäuftes Vorkommen von OKB im Serum aufweisen, nämlich in 24 von 67 Fällen (vgl. Tab. 14, Abb. 28).

5.5. Psychische Erkrankungen

Die Stichprobe der Patienten mit Depressionen, Psychosen und hirnorganischen Psychosyndromen (HOPS), die eine Liquorpunktion erhielten und somit auf das Vorliegen von OKB untersucht wurden ist nicht sonderlich groß (Depression n=37, Psychose n=19, HOPS n=11). Evtl. lagen Gründe vor, die gerade bei diesen wenigen Patienten für eine Liquorpunktion sprachen, während die Masse der Patienten mit diesen Diagnosen vermutlich keine Liquorpunktion erhalten hatten. Evtl. handelte es sich um atypische Fälle. Daher ist das gehäufte Vorkommen an Serum-OKB in der hier vorliegenden Stichprobe relativ zu Patienten mit funktionellen Störungen oder mit verschiedenen anderen psychischen Erkrankungen schwer zu interpretieren. Eine prospektive Überprüfung des Ergebnisses in einer größeren Stichprobe wäre wünschenswert.

5.6. Zerebrale Entzündungen

Bei Multipler Sklerose gehören Liquor-spezifische oligoklonale Banden zu den wesentlichen Diagnose-Kriterien. Da stets das Serum zu Vergleichszwecken untersucht wird, ist frühzeitig aufgefallen, dass bei MS auch teilweise OKB im Serum vorhanden sind (Zeman et al., 1993). In der vorliegenden Studie zeigt sich, dass die OKB (+) im Serum bei MS-Patienten nicht zahlreicher sind (28 von 106 Patienten, also 26,4%) als bei vielen anderen Erkrankungen (s.o., Tab. 16, Abb. 30, vgl. Tab. 10 bis 30 bzw. Abb. 24 bis 33). Lediglich bei Patienten mit funktionellen Störungen bzw. mit anderen psychischen Erkrankungen erscheint die Zahl der OKB im Serum niedriger zu sein (15 von 131, also 11,4%). MS-Schübe werden nicht selten durch Infekte getriggert (Steelman, 2015). Da Infekte zur Bildung von OKB prädisponieren (s.o.), ist dies eine mögliche Erklärung für das relativ häufigere Vorkommen von Serum-OKB bei Patienten mit MS im Vgl. zu Patienten mit funktionellen Störungen. Tatsächlich sollten dann OKB im Serum im Rahmen eines MS-Schubes gehäuft nachweisbar sein und im Intervall ggf. nicht mehr vorhanden sein. Dies könnte der Grund für die Tatsache sein, dass Serum-OKB zu einem höheren Anteil bei Patienten mit Retrobulbärneuritis gefunden wurden (32 von 57, also 56,2%). Retrobulbärneuritis ist ein häufiges Schub-Symptom zu Beginn der Erkrankung. Aus diesem Grund werden Patienten mit Retrobulbärneuritis (als primärem Symptom) sehr oft eine Liquorpunktion erhalten. Dies könnte eine plausible Erklärung für die gefundene Befundkonstellation sein. Wenn diese Argumentation richtig ist, hätten OKB im Serum keine über die durch Infekte getriggerten Schübe hinausgehende pathogenetische Bedeutung für die MS.

Laurenzi et al. (1978) berichten, dass bei 41% der Patienten mit MS OKB im Blutserum nachweisbar waren. Der etwas erhöhte Anteil gegenüber unserer Stichprobe könnte auf die diskutierten Einflüsse zurückgehen, also auf erhöhte Nachweisbarkeit von Serum-OKB im infektgetriggerten MS-Schub.

In der vorliegenden Arbeit wurde gefunden, dass bei Patienten mit viraler Enzephalitis in einem Drittel der Fälle Serum-OKB nachweisbar sind (14 von 46), bei viraler Meningitis lediglich bei 7 von 42 Fällen (Tab. 16).

In einer älteren Arbeit zur subakut sklerosierenden Panenzephalitis, also einer Spätkomplikation nach Masern-Infektion wurden bei allen 5 Patienten Serum-OKB identifiziert, und zwar mit spezifischen Antikörpern gegen Masern-Viren (Mehta et al., 1982).

5.7. Apoplexien

Bei Patienten mit Hirninfarkten wurden OKB im Blutserum nicht häufiger beobachtet als bei anderen Erkrankungsgruppen. Bei ischämischen Hirninfarkten zeigten 38 von 121 Patienten OKB im Serum (31,4 %) (Tab. 17). Allerdings wäre evtl. zu erwarten gewesen, dass Patienten mit Hirninfarkten eine erhöhte Prävalenz von OKB im Serum zeigen. Tatsächlich gibt es Hinweise dafür, dass Infekte wesentlich zur Infarktmanifestation beitragen können (Diaz und Sempere 2004, Modi et al. 2017). Es handelt sich aber um einen Risikofaktor unter anderen. Darüber hinaus dürfte erneut eine Rolle spielen, zu welchem Zeitpunkt während des Infektes das Blut auf das Vorliegen von OKB untersucht wurde.

Interessant erscheint das geringere Vorkommen von OKB im Serum bei Patienten mit Subarachnoidalblutung (SAB) zu sein. Fünf von 32 Patienten mit SAB zeigten Serum-OKB (15,6 %) (Tab. 17, Abb. 31). Dieser Unterschied war beim Einzelvergleich der Patienten mit transitorischen Ischämien (TIA) vs. Patienten mit SAB statistisch signifikant. Allerdings hielt dieser Unterschied einer Bonferroni-Korrektur nicht stand, wenn alle Patientengruppen innerhalb der Schlaganfallgruppe herangezogen wurden. Evtl. würde es sich lohnen, größere Patientengruppen mit TIA bzw. ischämischen Hirninfarkten mit SAB-Patienten hinsichtlich des Vorkommens von OKB im Serum gezielt zu untersuchen.

Der Anteil an SAB-Patienten mit Nachweis von Serum-OKB (+) versus Serum-OKB (-) im Serum (5 von 32) lag in einer ähnlichen Größenordnung wie bei Patienten mit funktionellen Störungen (15 von 116) bzw. mit Kopfschmerzerkrankungen (18 von 154; s.u.; Tab. 15, 19). Evtl. ist dies der Anteil, mit dem bei quasi „gesunden“ Personen regelmäßig gerechnet werden kann.

5.8. Systemische Entzündungen

Systemische entzündliche Prozesse, die durch Erreger getriggert werden, können mit einer B-Zell-Reaktion und der Bildung von Antikörpern im Blutserum einhergehen. Gleichzeitig ist gut belegt, dass es im Rahmen systemischer Entzündungen wie etwa Sepsis oder Pneumonie zur Immunsuppression kommt, etwa durch proapoptotische Signale (Delano and Ward, 2016; Giamarellos-Bourboulis und Opal, 2016; Girardot et al., 2017). Daher ist es nicht leicht vorherzusehen, ob ein vermehrtes oder vermindertes Vorkommen von Serum-OKB bei systemischen Entzündungen geben sollte. Das vermehrte Vorkommen serumspezifischer OKB im Rahmen der systemischen Entzündungen relativ zu den meisten anderen Erkrankungsgruppen (Tab. 9) zeigt, dass eine B-Zell-Aktivierung eine größere Rolle spielen kann. In Einzelfällen ist bereits über das Auftreten oligoklonaler Banden nach Septikämie berichtet worden (Probert et al., 1991). Im Rahmen der Sepsis kommt es zwar zur Suppression aller Lymphozyten. Dabei nimmt aber der relative Anteil an B-Lymphozyten und an Plasmazellen zu (Gustave et al., 2018). Daher könnte es eine Rolle spielen, zu welchem Zeitpunkt im Rahmen der Sepsis das Blut auf das Vorkommen von oligoklonalen Banden hin untersucht wird. Eine solche Differenzierung können wir aufgrund der vorliegenden Befunde nicht vornehmen. Es erscheint aber sinnvoll zu sein, diesem Befund in Zukunft nachzugehen.

Ein relativ hoher Anteil an Patienten mit Serum-OKB wurde in der vorliegenden Arbeit bei Borreliose gefunden (8 von 11 Patienten). Cruz und Mitarbeiter haben bei 6 von 10 Patienten mit Lyme-Arthritis oligoklonale Banden im Serum gefunden (Cruz et al., 1991). Dabei setzten sich die entsprechenden Serumbanden aus Borrelien-spezifischen Antikörpern zusammen (Cruz et al., 1991). Vermutlich stellen die von Krüger und Mitarbeitern (1981) berichteten Fälle mit lymphozytärer Meningoradiculitis mindestens teilweise ebenfalls Borreliose-Fälle dar. Bei 5 von 19 dieser Fälle waren Serum-OKB nachweisbar.

Bei Patienten mit viralen Entzündungen bzw. „verschiedenen“ systemischen Entzündungsprozessen lag der Anteil an Patienten mit OKB im Serum niedriger als bei den bakteriellen Entzündungen (Tab. 18). Bei viralen Prozessen wie etwa den häufigen Atemwegsinfekten durch Respiratory Syncytial Virus (RSV) kommt es initial zur Lymphopenie. Im Anschluss kommt es mit Verzögerung zur Antikörperbildung über B-Lymphozyten (Russell et al., 2017). Es dürfte daher vom Zeitpunkt der Blutentnahme im Krankheitsverlauf abhängen, ob B-Zell vermittelte Phänomene wie OKB im Serum nachweisbar werden oder nicht.

5.9. Andere Erkrankungen

In diese heterogene Gruppe wurden Erkrankungen zusammengefasst, die sich nicht zwanglos in die anderen Erkrankungsgruppen einreihen ließen, also Patienten mit Kopfschmerzen, Pseudotumor cerebri (benigner intrakranieller Hypertension), metabolische Erkrankungen, Autoimmunerkrankungen und wiederum verschiedene andere. Bei Kopfschmerzpatienten fanden sich Serum-OKB (+) ähnlich selten (Abb 33) wie bei Patienten mit funktionellen Störungen (Abb. 29). Und auch bei den „verschiedenen“ Krankheitsbildern dieser Gruppe waren Serum-OKB nicht häufig anzutreffen.

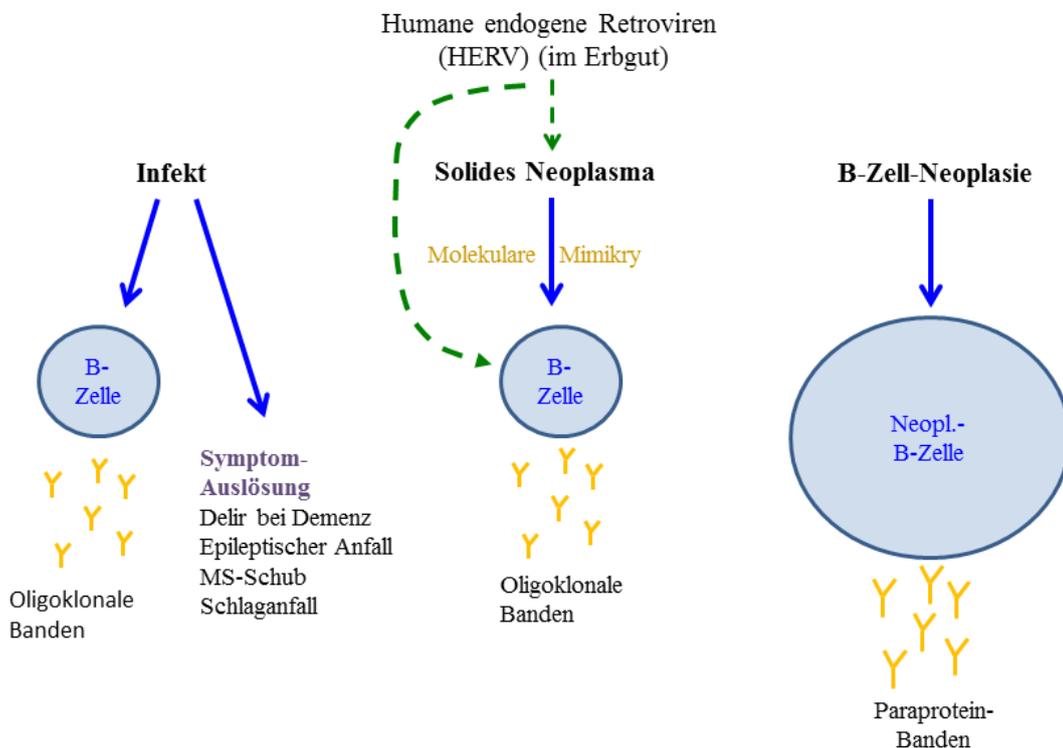


Abbildung 34: Illustration zu den pathogenetischen Vorstellungen zur Entstehung oligoklonaler Banden (OKB) im Rahmen der hier untersuchten Stichprobe. Der vermutlich häufigste Fall ist **links** dargestellt. Ein Infekt löst Krankheitssymptome aus. Dies kann bei einer vorbestehenden Erkrankung sein, z.B. bei Demenzerkrankungen wird oft ein Delir durch eine Pneumonie oder einen Harnwegsinfekt getriggert. Oder der Infekt führt zur Gerinnungsaktivierung und darüber zur Auslösung eines Hirninfarktes. Im Rahmen des Infektes kommt es gleichzeitig zur Bildung von OKB über die B-Zell-Aktivierung. In der **Mitte** sind Überlegungen zum Vorkommen von OKB bei soliden Neoplasien aufgeführt. OKB könnten z.B. über molekulare Mimikry und entsprechende B-Zellaktivierung entstehen. Alternativ wird zunehmend diskutiert, ob nicht humane endogene Retroviren (HERV) zur Tumorauslösung beitragen könnten. In diesem Rahmen ist es vorstellbar, dass HERV-Hüllproteine etwa Suprantigen wirken und über diesen Effekt B-Zellen stimulieren. Rechts sind lange bekannte Befunde zum Vorkommen von Paraproteinen im Rahmen von B-Zellneoplasien oder deren Vorstufen (monoklonale Gammopathie) dargestellt. In der isoelektrischen Fokussierung stellen sich Paraproteine als mehrere Banden dar und können daher für OKB gehalten werden.

6. Zusammenfassung

Oligoklonale Banden (OKB) sind Immunglobuline, die von mehreren unterschiedlichen B-Zellklonen stammen und mittels Gelelektrophorese (isoelektrische Fokussierung, IEF) dargestellt werden können. Es handelt sich um einen Befund, der bislang vor allem für die Diagnostik des Liquor cerebrospinalis eine Rolle spielt und hier zum Nachweis humoral entzündlicher Erkrankungen wie z.B. Multiple Sklerose eingesetzt wird. OKB im Blutserum ist bisher kaum Beachtung geschenkt worden. Allerdings ist z.B. bei Studien zur Multiplen Sklerose bzw. zu anderen neurologischen Erkrankungen oder auch Tumorerkrankungen aufgefallen, dass OKB auch im Serum vorkommen können. Die entsprechende systemische B-Zellaktivierung kann unterschiedliche Ursachen haben, nämlich z.B. virale oder bakterielle Infektionen, autoimmune Ursachen inkl. Paraneoplasien oder Ausdruck einer B-Zellneoplasie sein. In der vorliegenden Arbeit zeigt sich, dass OKB im Serum nicht nur bei Patienten mit MS vorkommen. Vielmehr werden sie bei zahlreichen Erkrankungen ähnlich häufig oder sogar häufiger angetroffen als bei MS.

Es wurden folgende Krankheitsgruppen auf das Vorliegen von Serum-OKB untersucht: Systemische Entzündungsprozesse, entzündliche Erkrankungen des Nervensystems, Neoplasien, Anfallserkrankungen, Neuropathische Syndrome, neurodegenerative Erkrankungen, Schlaganfallserkrankungen, psychische Erkrankungen sowie andere Prozesse. Es wurde Chi² Statistik eingesetzt und für multiples Testen nach Bonferroni korrigiert.

Die relative Häufigkeit, OKB im Serum anzutreffen differiert zwischen 19,2% bei psychischen Erkrankungen und 46,9% bei neurodegenerativen Erkrankungen. Innerhalb der Erkrankungsgruppen finden sich etwa bei den psychischen Erkrankungen Patienten mit funktionellen Störungen besonders selten OKB im Serum (11,5 %). Evtl. kommt das Vorkommen an OKB im Serum bei diesen Erkrankungen dem der normalen Bevölkerung näher als bei den anderen untersuchten Erkrankungen. Demgegenüber sind OKB im Serum in der vorliegenden Studie ganz besonders häufig bei Demenzpatienten innerhalb der neurodegenerativen Erkrankungen anzutreffen gewesen (72 %).

Die in der vorliegenden Arbeit gefundenen Ergebnisse eines gehäufteten Auftretens von Serum-OKB bei soliden Tumoren und bei Leukosen passt zu einem Einfluss von Immunmechanismen bei der Tumorphagenese. Die pathogenetischen Zusammenhänge zwischen Tumorphagenese und den Immunphänomenen sind weitgehend ungeklärt. Es ist allerdings bekannt, dass mit zunehmender Malignisierung auch Immunphänomene zunehmen können. Es wird evtl. lohnend sein, bei Tumoren das Vorhandensein von OKB im Serum näher zu betrachten und entsprechend dem Tumorgrading und -staging entsprechend näher zu differenzieren.

Das vermehrte Auftreten von OKB bei bestimmten neurodegenerativen Erkrankungen (etwa Demenzpatienten, s.o.) war zunächst so nicht erwartet worden. Allerdings werden Immun-Mechanismen bei der Pathogenese neurodegenerativer Erkrankungen zunehmend diskutiert, und zwar insbesondere bei Alzheimer Erkrankung, M. Parkinson und amyotrophischer Lateralsklerose. Darüber hinaus ist bei der Interpretation eines vermehrten Vorkommens von OKB im Serum bei Patienten mit Neurodegeneration evtl. auch eine vermehrte Infektanfälligkeit dieser Patienten zu berücksichtigen. Infekte spielen auch für andere hier untersuchte Erkrankungen eine Rolle, etwa für Patienten mit Immunpolyneuropathien, Anfallsauslösung, Schlaganfallauslösung, Schubauslösung bei Multipler Sklerose. Serum-OKB wurden z.B. zu einem höheren Anteil bei Patienten mit Retrobulbärneuritis gefunden. Dabei könnte die Schubauslösung durch einen Infekt eine Rolle spielen. Bei systemischen Entzündungen spielen Infekte ohnehin die maßgebende Rolle. Ein besonders hoher Anteil an Patienten mit Serum-OKB wurde bei Borreliose gefunden.

7. Literatur

Andersson J, Coutinho A, Melchers F (1977) Frequencies of mitogen-reactive B cells in the mouse. II. Frequencies of B cells producing antibodies which lyse sheep or horse erythrocytes, and trinitrophenylated or nitroiodophenylated sheep erythrocytes. *J Exp Med.* 145:1520-30.

Arasteh K, Baenkler H-W, Bieber C et al. *Innere Medizin*, 2. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2009, S1312.

Arata L, Farinelli M, Panarese C, Leonardi A (1989) IgG paraproteinemias: a comparative CSF and serum study. *Eur Neurol.* 29:53-55.

Cannons JL, Yu LJ, Jankovic D, Crotty S, Horai R, Kirby M, Anderson S, Cheever AW, Sher A, Schwartzberg PL. (2006) SAP regulates T cell-mediated help for humoral immunity by a mechanism distinct from cytokine regulation. *J Exp Med.* 203:1551–1565.

Cannons JL, Tangye SG, Schwartzberg PL (2011) SLAM family receptors and SAP adaptors in immunity. *Annu Rev Immunol.* 29:665–705.

Cavalli M, Merelli E, Sola P, Pirrò G, Faglioni P (1986) Immune complexes in CSF and serum in various neurological diseases. *Ital J Neurol Sci.* 7:249-252.

Chae JH, Miller BJ (2015) Beyond Urinary Tract Infections (UTIs) and Delirium: A Systematic Review of UTIs and Neuropsychiatric Disorders. *J Psychiatr Pract.* 21:402-411.

Chitnis T, Weiner HL (2017) CNS Inflammation and neurodegeneration. *J Clin Invest.* 127:3577-3587.

Claman HN, Chaperon EA (1966), Triplett RF. Thymus-marrow cell combinations. Synergism in antibody production. *Proc Soc Exp Biol Med.* 122:1167–1171.

Crotty S, Kersh EN, Cannons J, Schwartzberg PL, Ahmed R (2003) SAP is required for generating longterm humoral immunity. *Nature.* 421:282–287.

Cruz M, Hansen K, Ernerudh J, Steere AC, Link H (1991) Lyme arthritis: oligoclonal anti-*Borrelia burgdorferi* IgG antibodies occur in joint fluid and serum. *Scand J Immunol.* 33:61-71.

Cusick MF, Libbey JE, Patel DC, Doty DJ, Fujinami RS (2013) Infiltrating macrophages are key to the development of seizures following virus infection. *J Virol.* 87:1849-1860.

Delano MJ, Ward PA (2016) Sepsis-induced immune dysfunction: can immune therapies reduce mortality? *J Clin Invest.* 126:23-31.

- DeNardo DG, Coussens LM (2007) Inflammation and breast cancer. Balancing immune response: crosstalk between adaptive and innate immune cells during breast cancer progression. *Breast Cancer Res.* 9:212.
- Diamond B und Lipsky PE, Autoimmunität und Autoimmunerkrankungen, In: Suttorp et al., *Harrisons Innere Medizin*, ABW Wissenschaftsverlag, 2016, S. e377-e2.
- Ettinger R, Sims GP, Fairhurst AM, Robbins R, da Silva YS, Spolski R, Leonard WJ, Lipsky PE. (2005) IL-21 induces differentiation of human naive and memory B cells into antibodysecreting plasma cells. *J Immunol.* 175:7867–7879.
- Fasullo FJ Jr, Fritsche HA Jr, Liu FJ, Hamilton RG (1989) IgG heavy-chain subclass typing of myeloma paraproteins by isoelectric focusing immunoblot analysis. *Clin Chem.* 35:364-368.
- Fayette J, Dubois B, Vandenabeele S, Bridon J-M, Vanbervliet B, Durand I, Banchereau J, Caux C, Brière F (2018) Human Dendritic Cells Skew Isotype Switching of CD40-activated Naive B Cells towards IgA1 and IgA2. *Front Pharmacol.* 9:642.
- Forzy G, Peyrodie L, Boudet S, Wang Z, Vinclair A, Chieux V (2018) Evaluation of semi-automatic image analysis tools for cerebrospinal fluid electrophoresis of IgG oligoclonal bands. *Pract Lab Med* 10::1–9.
- Gallo P, Visentini E, Tavolato B (1982) Study of the IgG oligoclonal bands in cerebral spinal fluid in multiple sclerosis by Electroimmunofixation. *Ital J Neurol Sci.* 3:311-315.
- Gastaldi M, Zardini E, Leante R, Ruggieri M, Costa G, et al. (2017) Cerebrospinal fluid analysis and the determination of oligoclonal bands. *Neurol Sci.* 38(Suppl 2):217-224.
- Giamarellos-Bourboulis EJ, Opal SM (2016) The role of genetics and antibodies in sepsis. *Ann Transl Med.* 4:328.
- Girardot T, Rimmelé T, Venet F, Monneret G (2017) Apoptosis-induced lymphopenia in sepsis and other severe injuries. *Apoptosis.* 22:295-305.
- Good-Jacobson KL, Tarlinton DM (2012) Multiple routes to B-cell memory. *Int Immunol.* 24:403-408.
- Gowthaman U, Chodisetti SB, Agrewala JN (2010) T cell help to B cells in germinal centers: putting the jigsaw together. *Int Rev Immunol.* 29:403-420.
- Gustave CA, Gossez M, Demaret J, Rimmelé T, Lepape A, Malcus C, Poitevin-Later F, Jallades L, Textoris J, Monneret G, Venet F. Septic Shock Shapes B (2018) Cell Response toward an Exhausted-like/Immunoregulatory Profile in Patients. *J Immunol.* 200:2418-2425.

- Haas H, Lange A, Schlaak M (1987) Homogeneous immunoglobulins in the sera of lung carcinoma patients receiving cytotoxic chemotherapy--detection with the use of isoelectric focusing and immunoblotting. *Clin Exp Immunol.* 70:630-639.
- Hmiel LK, Brorson KA, Boyne MT 2nd (2015) Post-translational structural modifications of immunoglobulin G and their effect on biological activity. *Anal Bioanal Chem.* 407:79-94.
- Hutloff A, Dittrich AM, Beier KC, Eljaschewitsch B, Kraft R, Anagnostopoulos I, Kroczeck RA (1999) ICOS is an inducible T-cell co-stimulator structurally and functionally related to CD28. *Nature.* 397(6716):263-6.
- Katz DH, Benacerraf B (1972) The regulatory influence of activated T cells on B cell responses to antigen. *Adv Immunol.* 15:1-94
- Kjellin KG, Siden A (1978) Isoelectric focusing and isotachopheresis for investigation of CSF and serum proteins in demyelinating and infectious neurological diseases. *Adv Exp Med Biol.* 100:545-559.
- Königshoff M und Brandenburger T: *Kurzlehrbuch Biochemie*, 2. Aufl. Thieme, Stuttgart, 2007, S. 334.
- Koicheva N, Apostolov P (1990) Oligoclonal immunoglobulins in the blood serum and monoclonal light chains in the urine in malignant diseases of myelopoiesis. *Vutr Boles.* 29(1):86-88.
- Kopf M, Le Gros G, Coyle AJ, Kosco-Vilbois M, Brombacher F (1995) Immune responses of IL-4, IL-5, IL-6 deficient mice. *Immunol Rev.* 148:45-69.
- Krüger H, Englert D, Pflughaupt KW (1981) Demonstration of oligoclonal immunoglobulin G in Guillain-Barré syndrome and lymphocytic Meningoradiculitis by isoelectric focusing. *J Neurol.* 226:15-24.
- Laurenzi MA, Link H (1978) Comparison between agarose gel electrophoresis and isoelectric focusing of CSF for demonstration of oligoclonal immunoglobulin bands in neurological disorders. *Acta Neurol Scand.* 58:148-156.
- Leaback DH, Walker PG (1971) Some applications of gel isoelectric focusing to the examination of human serum proteins. *Proc R Soc Med.* 64:645-646.
- Liao W, Hua Z, Liu C, Lin L, Chen R, Hou B (2017) Characterization of T-Dependent and T-Independent B Cell Responses to a Virus-like Particle *J Immunol*, 198:3846-3856.

- Lipsky PE, Attrep JF, Grammer AC, McIlraith MJ, Nishioka Y (1997) Analysis of CD40-CD40 ligand interactions in the regulation of human B cell function. *Ann N Y Acad Sci.* 815:372-383.
- Liu YJ, Zhang J, Lane PJ, Chan EY, MacLennan IC (1991) Sites of specific B cell activation in primary and secondary responses to T cell-dependent and T cell-independent antigens. *Eur J Immunol.* 21:2951-2962.
- Livrea P, Zimatore GB, Simone IL, Trojano M, Lepore V, Ferrara V, Lupo FA, Pedone D (1980) Isoelectric focusing and quantitative estimation of cerebrospinal fluid and serum IgG in idiopathic polyneuropathy. *J Neurol.* 223:1-12.
- Mavra M, Drulovic J, Levic Z, Stojavljevic N, Grujicic D, Janicijevic M, Thompson EJ (1999) CNS tumours: oligoclonal immunoglobulin D in cerebrospinal fluid and serum. *Acta Neurol Scand.* 100:117-118.
- McAdam AJ, Greenwald RJ, Levin MA, Chernova T, Malenkovich N, Ling V, Freeman GJ, Sharpe AH. (2001) ICOS is critical for CD40-mediated antibody class switching. *Nature.* 409:102–105.
- Mehta PD, Patrick BA, Thormar H (1982) Measles-specific IgG in CSF and serum from patients with subacute sclerosing panencephalitis. *Immunology.* 46:423-428.
- Melchers F, Von Boehmer H, Phillips RA (1975) B-lymphocyte subpopulations in the mouse. Organ distribution and ontogeny of immunoglobulin-synthesizing and of mitogen-sensitive cells. *Transplant Rev.* 25:26-58.
- Miller JF, Mitchell GF (1968) Cell to cell interaction in the immune response. I. Hemolysin-forming cells in neonatally thymectomized mice reconstituted with thymus or thoracic duct lymphocytes. *J Exp Med.* 128:801–820.
- Mitchell GF, Miller JF (1968) Cell to cell interaction in the immune response. II. The source of hemolysin-forming cells in irradiated mice given bone marrow and thymus or thoracic duct lymphocytes. *J Exp Med.* 128:821–837.
- Modi S, Mahajan A, Dharaiya D, Varelas P, Mitsias P (2017) Burden of herpes simplex virus encephalitis in the United States. *J Neurol.* 264:1204-1208.
- Monk J, Calvin J, Price CP, Wreghitt TG (1989) Oligoclonal banding in serum from heart-transplant recipients. *Clin Chem.* 35:431-434.
- Monroe JG, Bannish G, Fuentes-Panana EM, King LB, Sandel PC, Chung J, Sater R (2003) Positive and negative selection during B lymphocyte development. *Immunol Res.* 27:427-442.

- Morita R, Schmitt N, Bentebibel SE, Ranganathan R, Bourdery L, Zurawski G, Foucat E, Dullaers M, Oh S, Sabzghabaei N, Lavecchio EM, Punaro M, Pascual V, Banchereau J, Ueno H (2011) Human blood CXCR5+CD4+ T cells are counterparts of T follicular cells and contain specific subsets that differentially support antibody secretion. *Immunity*. 34:108–121.
- Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, Coffman RL (1986) Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J Immunol*. 136:2348–2357.
- Muramatsu M, Kinoshita K, Fagarasan S, Yamada S, Shinkai Y, Honjo T (2000) Class switch recombination and hypermutation require activation-induced cytidine deaminase (AID), a potential RNA editing enzyme. *Cell* 102:553–563.
- Murphy K, Weaver C (Hrsg.) *Janeway Immunobiology*. 9. Aufl., Garland Science Verlag, New York, London, 2017, S. 215.
- Murphy K, Weaver C (Hrsg.) *Janeway Immunobiology*. 9. Aufl., Garland Science Verlag, New York, London, 2017, S. 419-420.
- Odegard VH, Schatz DG (2006) Targeting of somatic hypermutation. *Nature Rev Immunol* 6:573-583.
- Owen JA et al.: *Kuby, Immunology*, 7. Aufl., Freeman and Company, New York, 2013, S. 86.
- Ozaki K, Spolski R, Feng CG, Qi CF, Cheng J, Sher A, Morse HC 3rd, Liu C, Schwartzberg PL, Leonard WJ. (2002) A critical role for IL-21 in regulating immunoglobulin production. *Science*. 298:1630–1634.
- Papadopoulos NM, Costello R, Ceroni M, Moutsopoulos HM (1988) Identification of HIV-specific oligoclonal immunoglobulins in serum of carriers of HIV antibody. *Clin Chem*. 34:973-975.
- Paul WE, Ohara J (1987) B-cell stimulatory factor-1/interleukin 4. *Annu Rev Immunol*. 5:429–459.
- Poloni M, Rocchelli B, Pinelli P, Scelsi R (1982) Neuromuscular diseases associated with benign monoclonal gammopathy. Study of CSF and serum proteins by isoelectric focusing. *Acta Neurol Scand*. 65:154-159.
- Probert CS, Roland JM, Simpson KR, Fairham SA (1991) Dramatic oligoclonal paraproteinaemia following a pneumococcal septicaemia. *Postgrad Med J*. 67:295-296.

- Purkerson J, Isakson P (1992) A two-signal model for regulation of immunoglobulin isotype switching. *FASEB J.* 6:3245-3252.
- Russell CD, Unger SA, Walton M, Schwarze J (2017) The Human Immune Response to Respiratory Syncytial Virus Infection. *Clin Microbiol Rev.* 30:481-502.
- Steelman AJ (2015) Infection as an Environmental Trigger of Multiple Sclerosis Disease Exacerbation. *Front Immunol.* 6:520.
- Svirshchevskaya E, Fattakhova G, Khlgatian S, Chudakov D, Kashirina E, Ryazantsev D, Kotsareva O, Zavriev S (2016) Direct versus sequential immunoglobulin switch in allergy and antiviral responses. *Clin Immunol.* 170:31-38.
- Tafuri A, Shahinian A, Bladt F, Yoshinaga SK, Jordana M, Wakeham A, Boucher LM, Bouchard D, Chan VS, Duncan G, Odermatt B, Ho A, Itie A, Horan T, Whoriskey JS, Pawson T, Penninger JM, Ohashi PS, Mak TW. (2001) ICOS is essential for effective T-helper-cell responses. *Nature.* 409:105–109.
- Thomas L. Immunglobuline, in: L. Thomas (Hrsg) Labor und Diagnose, TH-Books Verlag, 8. Aufl., Frankfurt a.M., 2012, S. 1231
- Tonegawa S (1983) Somatic generation of antibody diversity. *Nature.* 302:575-581.
- Tsianos EV, Di Bisceglie AM, Papadopoulos NM, Costello R, Hoofnagle JH (1990) Oligoclonal immunoglobulin bands in serum in association with chronic viral hepatitis. *Am J Gastroenterol.* 85:1005-1008.
- Übelhart R, Jumaa H (2015) Autoreactivity and the positive selection of B cells. *Eur J Immunol.* 45:2971-2977
- Wakerley BR, Yuki N (2013) Infectious and noninfectious triggers in Guillain-Barré syndrome. *Expert Rev Clin Immunol.* 9:627-639.
- Withold W, Wick M, Fateh-Moghadam A, Einhäupl K (1994) Detection of oligoclonal IgA in cerebrospinal fluid samples by an isoelectric focusing procedure. *J Neurol.* 241:315-319.
- Wykes M, Macpherson G (2000) Dendritic cell–B-cell interaction: dendritic cells provide B cells with CD40-independent proliferation signals and CD40-dependent survival signals. *Immunology.* 100:1–3.
- Xu H, Li X, Liu D, Li J, Zhang X, Chen X, Hou S, Peng L, Xu C, Liu W, Zhang L, Qi H (2013) Follicular T-helper cell recruitment governed by bystander B cells and ICOS-driven motility. *Nature.* 496:523–527.

Yam-Puc JC, Zhang L, Zhang Y, Toellner KM (2018) Role of B-cell receptors for B-cell development and antigen-induced differentiation. *F1000Res.* 7:429.

Zeman A, McLean B, Keir G, Luxton R, Sharief M, Thompson E (1993) The significance of serum oligoclonal bands in neurological diseases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 56:32-35.

Zeman AZ, Keir G, Luxton R, Thompson EJ (1996) Serum oligoclonal IgG is a common and persistent finding in multiple sclerosis, and has a systemic source. *QJM.* 89:187-193.

8. Thesen

1. Oligoklonale Banden (OKB) sind Immunglobuline, die i.d.R. von mehreren B-Zellklonen stammen und mittels Gelelektrophorese (isoelektrische Fokussierung, IEF) dargestellt werden. Es handelt sich um einen Befund, der bislang vor allem für die Diagnostik des Liquor cerebrospinalis eine Rolle spielt und hier zum Nachweis humoral entzündlicher Erkrankungen wie z.B. Multiple Sklerose eingesetzt wird. OKB im Blutserum wurden bisher kaum Beachtung geschenkt. Allerdings ist z.B. bei Studien zur Multiplen Sklerose (MS) aufgefallen, dass OKB auch im Serum vorkommen können.
2. Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung wurden OKB im Blutserum bei Patienten untersucht, die im Zeitraum von 2007 bis 2013 am Universitätsklinikum in Halle (Saale) eine Liquorpunktion erhalten hatten. Es wurden folgende Haupt-Krankheitsgruppen auf das Vorliegen von Serum-OKB untersucht: Systemische Entzündungsprozesse, entzündliche Erkrankungen des Nervensystems, Neoplasien, Anfallserkrankungen, Neuropathische Syndrome, neurodegenerative Erkrankungen, Apoplexien, psychische Erkrankungen sowie andere Erkrankungen. Es wurde Chi² Statistik eingesetzt und für multiples Testen nach Bonferroni korrigiert.
3. Ein gehäuftes Auftreten von OKB im Serum wurde bei folgenden Erkrankungen beobachtet: Bei soliden Tumoren, Leukosen, neurodegenerativen Erkrankungen, Immunpolyneuropathien, epileptischen Anfällen, Apoplexien, Multipler Sklerose. Demgegenüber waren OKB im Serum bei Patienten mit funktionellen Störungen, Kopfschmerzerkrankungen oder Subarachnoidalblutungen weniger oft anzutreffen als bei den anderen Patientengruppen.
4. Bei den Pathomechanismen, die zum Auftreten von OKB im Serum prädisponieren, stehen Infektionskrankheiten an erster Stelle. Infekte können bei vorbestehenden Erkrankungen Symptome auslösen, also etwa bei neurodegenerativen Krankheiten, multipler Sklerose, Epilepsie. Darüber hinaus können Infekte das Gerinnungssystem aktivieren und auf diese Weise z.B. Apoplexien auslösen.
5. Jenseits von Infekten können OKB im Serum Folge einer humoralen Immunantwort im Rahmen rheumatisch-autoimmuner Prozesse sein oder auch paraneoplastisch bedingt sein, etwa im Rahmen solider Tumore wie Mamma- oder Bronchial-Ca.
6. Darüber hinaus können OKB im Serum u.a. direkte Folge der Neoplasie sein wie etwa bei B-Zell-Neoplasien oder deren Vorstufen.
7. Die vorliegende Untersuchung ist eine der ersten, die sich bei einer relativ umfangreichen Stichprobe dem Vorkommen von OKB im Serum widmet. Die hier gewonnenen Befunde bedürfen der Bestätigung und genaueren gezielten Untersuchung bei denjenigen Erkrankungen, bei denen hier ein erhöhtes Vorkommen gezeigt worden ist. Insbesondere

erscheint eine infektbedingte Triggerung sowohl von OKB im Serum als auch von klinischen Symptomen bei zahlreichen Erkrankungen eine Rolle zu spielen, der weitere Beachtung geschenkt werden sollte.

9. Anlagen

Statistische Analyse für Hauptkrankheitsgruppen, einzelne Krankheitsgruppen und Signifikanz-Test

Hauptkrankheitsgruppen (Stichprobe n: >200)

Hauptgruppen	N, Serum-OKB		Fishers exakter Chi-Quadrat-Test						
	(+)	(-)							
Neoplasien	85	115	1vs2 (0,362)	1vs3 (0,038)	1vs4 (0,004)	1vs5 (<0,00001)	1vs6 (0,002)	1vs7 (<0,0001)	
Neurodegeneration	106	120	2vs3 (0,002)	2vs4 (0,00004)	2vs5 (<0,00001)	2vs6 (0,0000)	2vs7 (<0,00001)		
Anfälle	67	139	3v4 (0,69)	3v5 (0,001)	3v6 (0,4)	3v7 (0,43)			
Neuropathien	146	325	4v5 (0,0006)	4v6 (0,9)	4v7 (0,4)				
Psychische Erkrankungen	50	210	5vs6 (0,005)	5vs7 (0,14)					
Zerebrale Entzündung	109	248	6vs7 (0,08)						
Hirnfarkt	74	230							

Alpha <0,05, nach Bonferroni: 0,05/21=0,002

Neoplasien

Neoplasien	N, Serum-OKB		Fishers exakter Chi-Quadrat-Test							
	(+)	(-)								
Bronchial Ca.	11	8	1v2 (0,213)	1v3 (0,020)	1v4 (0,765)	1v5 (0,039)	1v6 (0,136)	1v7 (0,364)	1v8 (0,004)	1v9 (0,07)
Leukämie	11	3	2v3 (<0,001)	2v4 (0,138)	2v5 (0,186)	2v6 (0,601)	2v7 (0,946)	2v8 (<0,001)	2v9 (0,003)	
Lymphom	22	53	3v4 (0,063)	3v5 (<0,001)	3v6 (0,001)	3v7 (0,019)	3v8 (0,165)	3v9 (0,751)		
Mamma Ca	9	8	4v5 (0,026)	4v6 (0,093)	4v7 (<0,279)	4v8 (0,011)	4v9 (0,156)			
Myelom	7	0	5v6 (0,333)	5v7 (0,217)	5v8 (<0,001)	5v9 (0,001)				
Gyn-Tumor	7	1	6v7 (0,715)	6v8 (<0,001)	6v9 (0,005)					
GI-Tumor	4	1	7v8 (0,003)	7v9 (0,041)						
Hirntumoren	3	18	8v9 (0,756)							

Alpha: < 0,05, nach Bonferroni: 0,05/36= 0,0013

Neurodegeneration

Neurodegeneration	N, Serum-OKB		Fishers exakter Chi-Quadrat-Test					
	(+)	(-)						
Demenz	39	15	1vs2 (<0,00001)	1vs3 (0,016)	1vs4 (0,7)	1vs5 (0,08)	1vs6 (0,445)	1vs7 (<0,00001)
ALS	15	37	2vs3 (0,22)	2vs4(0,14)	2vs5 (0,28)	2vs6 (0,003)	2vs7 (0,9)	
Parkinson-Syndrom	10	13	3vs4 (0,2)	3vs5(0,91)	3vs6 (0,05)	3vs7 (0,24)		
Enzephalopathie	8	4	4vs5 (0,305))	4vs6 (0,36)	4vs7 (0,015)			
Myelopathie	5	6	5vs6 (0,087)	5vs7 (0,317)				
NPH	6	1	6vs7 (0,00361)					
Verschiedene	19	44						

Alpha = < 0,05, nach Bonferroni: 0,05/21= 0,002

Anfallserkrankungen

Anfälle	N, Serum-OKB		Fishers exakter Chi-Quadrat-Test	
	(+)	(-)		
Fokaler Anfall	10	33	1v2(0,076)	1vs3(0,899)
1Grand Mal	53	87	2vs3(0,3)	
Status epilepticus	4	12		

Alpha = < 0,05, nach Bonferroni: 0,05/3= 0,017

Neuropathien

Neuropathien	N, Serum-OKB		Fishers exakter Chi-Quadrat-Test					
	(+)	(-)						
Diabetes PNP	18	18	1vs2 (1,0)	1vs3 (0,001)	1vs4 (0,81)	1vs5 (0,16)	1vs6 (0,029)	1vs7 (0,03)
GBS	16	16	2vs3 (0,002)	2vs4 (0,81)	2vs5 (0,18)	2vs6 (0,034)	2vs7 (0,035)	
Hirnnervenparese	50	161	3vs4()	3vs5()	3vs6()	3vs7()		
Paraproteinämie PNP	6	7	4vs5 (0,48)	4vs6 (0,17)	4vs7 (0,17)			
Radikulärsyndrom	24	43	5vs6 (0,28)	5vs7 (0,29)				
Unklare Genese PNP	10	29	6vs7(0,95)					
Verschiedene (CIDP, APP)	11	51						

Alpha= < 0,05, nach Bonferroni: 0,05/17=0,002

Psychische Erkrankungen

Psych. Erkrankungen	N, Serum – OKB		Fishers exakter Chi-Quadrat-Test			
	(+)	(-)				
Depression	15	22	1vs2(0,0005)	1vs3(0,2)	1vs4 (0,4)	1vs5 (<0,00001)
Funktionell	15	116	2vs3(<0,00001)	2vs4(<0,00001)	2vs5 (0,14)	
HOPS	7	4	3vs4(0,56)	3vs5(<0,00001)		
Psychose	10	9	4vs5(0,00001)			
Verschiedene	3	59				

Alpha= < 0,05, nach Bonferroni: 0,05/10=0,005

Systemische Entzündung

Syst. Entzündung	N, Serum- OKB		Fishers exakter Chi-Quadrat-Test					
	(+)	(-)						
Sepsis	21	20	1vs2(0,06)	1vs3(0,7)	1vs4(0,75)	1vs5(0,6)	1vs6 (0,2)	1vs7 (0,005)
Borreliose	8	20	2vs3(0,17)	2vs4(0,3)	2vs5(0,08)	2vs6(0,7)	2vs7 (0,3)	
Harnwegsinfektion	3	2	3vs4(0,6)	3vs5(0,9)	3vs6(0,3)	3vs7(0,04)		
Pneumonie	6	7	4vs5(0,5)	4vs6(0,5)	4vs7(0,06)			
Abszess	5	3	5vs6(0,2)	5vs7(0,01)				
Virale	5	10	6vs7(0,25)					
Verschiedene	5	23						

Alpha= < 0,05, nach Bonferroni: 0,05/21=0,002

Zerebrale Entzündung

Zerebrale Entzündung	N, Serum -OKB		Fishers exakter Chi-Quadrat-Test					
	(+)	(-)						
Bakterielle Meningitis	6	24	1vs2 (0,717)	1vs3 (0,313)	1vs4 (0,474)	1vs5 (0,327)	1vs6 (0,105)	1vs7 (0,002)
Virale Meningitis	7	35	2vs3 (0,13)	2vs4 (0,208)	2vs5 (0,174)	2vs6 (0,024)	2vs7 (<0,001)	
Virale Enzephalitis	14	32	3vs4 (0,611)	3vs5 (0,833)	3vs6 (0,521)	3vs7 (0,034)		
MS mit	28	78	4vs5 (0,573)	4vs6 (0,151)	4vs7 (0,001)			
Myelitis	5	10	5vs6 (0,844)	5vs7 (0,122)				
Retrobulbär Neuritis	32	57	6vs7 (0,031)					
Verschiedene	17	12						

Alpha= < 0, 05, nach Bonferroni: 0, 05/21=0,002

Hirnfarkt

Hirnfarkt	N, Serum-OKB		Fishers exakter Chi-Quadrat-Test				
	(+)	(-)					
Ischämie	38	121	1vs2 (0,353)	1vs3 (0,37)	1vs4 (0,216)	1vs5 (0,169)	1vs6 (0,219)
Hämorrhagie	11	24	2vs3 (0,738)	2vs4 (0,798)	2vs5 (0,068)	2vs6 (0,104)	
Hirnstamminfarkt	6	16	3vs4 (0,581)	3vs5 (0,189)	3vs6 (0,204)		
TIA	11	21	4vs5 (0,041)	4vs6 (0,072)			
SAB	5	32	5vs6 (0,802)				
Verschiedene	2	16					

Alpha = < 0,05, nach Bonferroni: 0,05/15= 0,003

Selbständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich ausdrücklich, dass ich die vorliegende Doktorarbeit selbständig ohne fremde Hilfe verfasst habe. Es wurde keine andere als von mir angegeben Quellen, Unterlagen und Hilfsmittel verwendet und die den von mir benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe. Bisher habe ich weder an in -und ausländischen medizinischen Fakultät oder Universitäten ein Versuch um Zulassung zur Promotion eingereicht, noch die verfasste Arbeit als Dissertation vorgestellt.

Lebenslauf

Nachname: Acharya
Vorname: Thakur Prasad
Geburtsort: Ilam, Nepal
Familienstand: verheiratet
Staatsangehörigkeit: nepalesisch

Ausbildung:

Seit 2018 Assistenzarzt an der Klinik für Kardiologie, Angiologie und Elektrophysiologie, HZD (Herz Zentrum Duisburg)

2016-2017 Assistenzarzt an der Klinik für Kardiologie und Angiologie, MHH (medizinische Hochschule Hannover)

2015 Approbation als Arzt

2009-2015 Studium der Humanmedizin, Universität Halle (Saale)

2007- 2008 Intensiv Deutschkurs (DSH) Uni Münster

2001-2004 Medizinische Assistenz-Ausbildung Kathmandu Universität School of Medical Science, Nepal

1999-2001 Gymnasiale Oberstufe (Intermediate in Science-11 &12 Klasse)

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt den Mitarbeiterinnen im Zentrallabor des UKH für die Laboruntersuchung der Liquor- und Serumproben und insbesondere für die Anfertigung der isoelektrischen Fokussierungen, auf die ich zurückgreifen durfte.

Herrn Dr. Alexander Emmer möchte ich für stete Motivierung und Anregung während der Ausarbeitung der vorliegenden Arbeit danken.

Mein besonderer Dank gilt Herrn apl. Prof. Dr. Malte Kornhuber für die Überlassung des Dissertationsthemas und anregende Diskussionen und Supervision.

Weiterhin möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Stephan Zierz, Direktor der Klinik für Neurologie im UKH herzlich bedanken, dass ich diese Arbeit in seiner Klinik durchführen durfte und Rechner, Material etc. stets ungehindert nutzen konnte.

Ohne die finanzielle Unterstützung durch ein Stipendium von Brot für die Welt wäre mein Leben als Student in Deutschland viel schwerer gewesen. Herrn Prof. Dr. Bernd Fischer bin ich zu Dank verpflichtet, weil er sich als Gutachter für mich eingesetzt hat.

Herrn Tobias Hugo von der Radiologie in Dinslaken bin ich sehr dankbar, dass er sich durch eine Bürgschaft für meinen Aufenthalt in Deutschland verdient gemacht hat

Last but not least möchte ich gerne meiner Familie danken, dass sie mein Leben in Deutschland finanziert und unterstützt hat.

Meiner lieben Frau, Menuka, möchte ich ganz herzlich danken, dass sie mir die Zeit gegeben hat, meine Dissertation abzuschließen.