

Aus der Klinik für Neurologie
Direktor: Prof. Dr. med. C. Weiller

Universtätsklinikum Hamburg-Eppendorf
Martinistr. 52
20246 Hamburg

**Antikörper gegen
die Ganglioside GM1, GD1b, GQ1b
und das
Myelin-assoziierte-Glykoprotein
(MAG)
im Serum von Patienten
mit Multipler Sklerose**

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors in Medizin
dem Fachbereich Medizin der Universität Hamburg vorgelegt von

Christoph Kunde
aus Essen
Hamburg, 2005

Angenommen vom Fachbereich Medizin
der Universität Hamburg am: 08.09.2005

Veröffentlicht mit Genehmigung des Fachbereichs
Medizin der Universität Hamburg

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: PD Dr.C. Heesen

Prüfungsausschuss: 2. Gutachter/in: Prof. Dr. A. Münchau

Prüfungsausschuss: 3. Gutachter/in: PD Dr. C. Hagel

Inhaltsverzeichnis

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen	S. 3
Verzeichnis der Tabellen und Abbildungen	S. 4
1. Einleitung	S. 6
1.1 Einführung	S. 6
1.2 Multiple Sklerose: Epidemiologie, klinischer Verlauf, Diagnose und Therapie	S. 7
1.3 Pathologie und Pathogenese der MS	S. 11
1.3.1 Pathologie der MS	S. 11
1.3.2 Pathogenese der MS	S. 12
1.3.3 Antikörper bei MS	S. 14
1.4 Ganglioside und das Myelin-assoziierte-Glykoprotein (MAG)	S. 17
1.5 Ziele der Arbeit und Fragestellung	S. 19
2. Materialien und Methoden	S. 20
2.1 Untersuchungskollektiv der Patienten mit MS	S. 20
2.1.1 Gewinnung der Patientenserum	S. 20
2.1.2 Definition der Aktivitätsstadien der MS	S. 20
2.1.3 Patienten mit MS	S. 21
2.2 Patienten mit Erkrankungen des peripheren Nervensystems	S. 22
2.3 Bestimmung der Antikörperkonzentrationen	S. 23
2.3.1 Durchführung der Enzym-Immuno-Assays	S. 23
2.3.2 Definition der Normwerte	S. 25
2.4 Statistische Verfahren und Methoden	S. 26

3.	Ergebnisteil	S. 27
3.1	Gangliosid Antikörper bei Multipler Sklerose	S. 27
3.2	Gangliosid-Antikörper bei MS-Patienten und gesunden Blutspendern	S. 29
3.3	Vergleich der Antikörperkonzentrationen bei den verschiedenen Verlaufsformen der MS	S. 31
3.4	Erhöhte Gangliosid-Antiköpertiter bei Patienten mit MS	S. 33
3.5	Antikörper gegen das Gangliosid GQ1b und Störungen der Augenmotilität	S. 34
3.6	Antikörper während aktiver und stabiler Krankheitsphasen	S. 35
3.7	Vergleich der Antikörperspiegel bei Patienten mit MS und bei Patienten mit Erkrankungen des peripheren Nervensystems	S. 37
4.	Diskussion	S. 40
5.	Zusammenfassung	S. 51
6.	Literaturverzeichnis	S. 52
7.	Anhang	S. 62
	Danksagung	S. 62
	Lebenslauf	S. 63
	Liste der verwendeten Laborgeräte	S. 64
	Eidesstattliche Versicherung	S. 66

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

Abb.	Abbildung
ADCC	(antibody-dependent-cell-cytotoxicity) = Antikörper abhängige Zell Zytotoxizität
ALS	Amyotrophe Lateralsklerose
BHS	Blut-Hirn-Schranke
BTU	Bühlmann-Titer-Units
CIDP	chronisch inflammatorische demyelinisierende Polyneuropathie (chronische Form des GBS)
EAE	Experimentelle-autoimmune-Enzephalitis (das Tiermodell der MS)
EDSS	Expanded Disability Status Scale [nach Kurtzke] (= Maß für die Behinderung von MS-Patienten)
et al.	et aliqui = und andere [Autoren]
GBS	Guillain-Barré-Syndrom
IgG	Immunglobuline der G-Klasse
IgM	Immunglobuline der M-Klasse
IVIG	intravenöse Immunglobuline
MAG	Myelin-assoziiertes-Glykoprotein
MBP	Myelin-basisches-Protein
MD	Median
MFS	Miller-Fisher-Syndrom (eine Sonderform des GBS)
MMN	Multifokale Motoneuropathie
MOG	Myelin-Oligodendrozyten-spezifisches-Protein
MS	Multiple Sklerose
PCP	primär chronisch progrediente MS
PLP	Proteo-Lipid-Protein
PNP	Polyneuropathie
PNS	peripheres Nervensystem
RR	(relapsing remitting MS) = schubförmige MS
SCP	sekundär chronisch progrediente MS
SHT	Schädel-Hirn-Trauma
SLE	Systemischer Lupus Erythematosus
ZNS	zentrales Nervensystem

Verzeichnis der Tabellen und Abbildungen

Tabelle 1:	Überblick über die Patienten mit MS.	S. 21
Tabelle 2:	Antikörper gegen die Ganglioside GM1, GD1b, GQ1b und MAG bei Patienten mit MS unter Berücksichtigung der Verlaufsform	S. 28
Tabelle3:	Korrelation der Antikörperkonzentrationen mit der Krankheitsdauer und dem EDSS bei Patienten mit MS.	S. 28
Tabelle 4:	Vergleich der Antikörperkonzentrationen gegen die Ganglioside GM1, GD1b, GQ1b und MAG bei Patienten mit MS und gesunden Blutspendern.	S. 29
Tabelle 5:	Vergleich der Antikörperkonzentrationen bei den verschiedenen Verlaufsformen der MS.	S. 31
Tabelle 6:	Erhöhte Antikörperspiegel bei den verschiedenen Verlaufsformen der MS.	S. 33
Tabelle 7:	Antikörper gegen die Ganglioside GM1, GD1b, GQ1b und MAG während aktiver und stabiler Krankheitsphase	S. 35
Tabelle 8:	Antikörper gegen die Ganglioside GM1, GD1b, GQ1b und MAG bei Patienten mit MS und Patienten mit Erkrankungen des PNS.	S. 37
Abbildung 1:	Antikörper gegen die Ganglioside GM1, GD1b, GQ1b und MAG bei Patienten mit MS.	S. 27
Abbildung 2:	Antikörper gegen die Ganglioside GM1, GD1b, GQ1b und MAG bei Patienten mit MS und gesunden Blutspendern.	S. 30
Abbildung 3:	Vergleich der Antikörperkonzentrationen bei schubförmiger MS, PCP und SCP.	S. 32

Abbildung 4: Antikörper gegen die Ganglioside GM1, GD1b, GQ1b und MAG während aktiver und stabiler Krankheitsphase. S.36

Abbildung 5: Antikörper gegen die Ganglioside GM1, GD1b, GQ1b und MAG bei Patienten mit MS und Patienten mit Erkrankungen des PNS . S. 39

1.

Einleitung

1.1 Einführung

Die Multiple Sklerose (MS) ist eine der häufigsten, entzündlichen Erkrankungen des zentralen Nervensystems (ZNS) und führt zum Verlust von Myelinscheiden und Axonen (Rosche et al. 2003, Keegan u. Noseworthy 2002). Sie gilt als Autoimmunerkrankung auch wenn ihre Pathogenese noch nicht vollständig verstanden ist (Steck u. Schaeren-Wiemers 1999, Lucchinetti et al. 2001).

Verschiedene Studien machen eine Beteiligung von Antikörpern an der Pathogenese der MS – zumindest bei einem Teil der Patienten – wahrscheinlich (Iglesias et al. 2001, Lucchinetti et al. 2000, Berger et al. 2003). Im Serum von Patienten mit MS finden sich Antikörper gegen Myelinbestandteile, Axonbestandteile und verschiedene Glykolipide, wie z. B. Ganglioside (Storch u. Lassmann 1997, Reindl et al. 1999, Archelos et al. 2000).

Ganglioside sind eine Gruppe von Glykosphingolipiden und sind Bestandteil der Myelinscheiden und der Axonmembranen (Willison 1996). Antikörper gegen Ganglioside finden sich bei verschiedenen demyelinisierenden Erkrankungen des peripheren Nervensystems (PNS) und werden mit deren Pathogenese in Verbindung gebracht (Willison 1996, Willmann et al. 19997).

Acarin et al. (1996) und Sadaptipour et al. (1998) haben das Vorkommen von Gangliosid-Antikörpern bei Patienten mit MS untersucht und berichten von erhöhten Anti-Gangliosid-Titern bei Patienten mit chronisch progredienten Krankheitsverläufen.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit soll das Vorkommen von Antikörpern gegen die Ganglioside GM1, GD1b, GQ1b und das Myelin-assoziierte-Glykoprotein (MAG) im Serum von Patienten mit MS untersucht und ihre Bedeutung für die Pathogenese unter Berücksichtigung der Verlaufsform diskutiert werden.

1.2 Multiple Sklerose:

Epidemiologie, klinischer Verlauf, Diagnose und Therapie

Die Multiple Sklerose - oder auch Enzephalomyelitis Disseminata – ist eine chronisch entzündliche Erkrankung des Zentralen Nervensystems (ZNS), die zum Verlust von Myelinscheiden und Axonen führt. Es finden sich zahlreiche, über das gesamte Gehirn und Rückenmark verstreut liegende Entmarkungsherde (sog. Plaques), die im weiteren Krankheitsverlauf durch Astrozytenproliferation (Sklerose) vernarben (Kappos 1999).

Die MS ist eine der häufigsten neurologischen Erkrankung weltweit, jedoch tritt sie in verschiedenen geographischen Regionen in unterschiedlicher Häufigkeit auf (Steck u. Schaeren-Wiemers 1999). Das niedrigste Krankheitsrisiko besteht in Gebieten um den Äquator und steigt mit zunehmender Entfernung von diesem an. (Schmidt et al. 1992). Daneben scheinen genetische Faktoren, die Zugehörigkeit zu bestimmten ethnischen Rassen, aber auch verschiedene Umweltfaktoren einen Einfluss auf die Krankheitsempfänglichkeit zu haben (Noseworthy et al. 2000, Hemmer et al. 2001, Sommer et al. 1996).

Die Prävalenz für Deutschland beträgt ca. 50 – 70 Neuerkrankungen je 100.000 Einwohner, wobei Frauen nahezu doppelt so häufig erkranken wie Männer.

Am häufigsten manifestiert sich die Krankheit bei jungen Erwachsenen im Alter von 20 – 40 Jahren (Rosche et al. 2003).

Die zahlreichen, verstreut liegenden Läsionen im ZNS können zu einer Vielzahl von Symptomen führen. Typische Symptome sind Sensibilitätsstörungen, spastische Paresen, Sehstörungen, Zeichen der Kleinhirnschädigung, wie z. B. Stand- und Gangataxie, Intentionstremor oder skandierende Sprache, und nach längerer Krankheitsdauer auch Störungen des autonomen Nervensystems (Compston u. Coles 2002, Keegan u. Noseworthy 2002, Poser 1996).

Eine Visusstörung infolge einer Optikusneuritis kann schon Jahre vor der Diagnosestellung auftreten. Mehrere Studien haben gezeigt, dass über 80% der Patienten mit isolierter Optikusneuritis innerhalb von 15 Jahren eine klinisch manifeste MS entwickeln (Kappos 1999, Frick 1989).

Im weiteren Krankheitsverlauf kommt es durch Parese der Augenmuskeln häufig zu Doppelbildern oder durch Läsionen im Bereich des medialen Längsbündels zu einer internukleären Ophthalmoplegie mit dissoziiertem Nystagmus (Kappos 1999).

Üblicherweise werden drei Verlaufsformen der MS unterschieden: Schubförmige (RR=relapsing-remitting), primär (PCP) und sekundär chronisch progrediente (SCP) MS (Lublin u. Reingold 1996).

Zu Beginn der Erkrankung überwiegt die schubförmige Verlaufsform. Sie ist durch das akute Auftreten neurologischer Symptome oder die Verschlechterung bestehender Symptome gekennzeichnet. Zwischen den einzelnen Schüben schreitet die Erkrankung nicht weiter fort, es kann sogar zu einer teilweisen oder vollständigen Rückbildung der Symptome kommen (Lublin u. Reingold 1996).

Nach 10 bis 15 Jahren kommt es bei 30-40% der Patienten zu einer stetigen Verschlechterung der Erkrankung, ohne dass einzelne Schübe voneinander abgegrenzt werden können, der sekundär chronisch progredienten Verlaufsform (SCP) (Lublin u. Reingold 1996).

In 10-15% der Fälle nimmt die Krankheit einen primär chronisch progredienten Verlauf (PCP), ohne dass jemals Schübe aufgetreten sind. Häufig erkranken diese Patienten erst in einem höherem Alter und weisen frühzeitig bleibende Behinderungen auf (Lublin u. Reingold 1996).

Der Krankheitsverlauf der MS ist äußerst variabel, so dass sich nur schwer individuelle Prognosen abgeben lassen (Kappos 1999). Entgegen der weit verbreiteten Meinung ist die Diagnose MS jedoch nicht gleichbedeutend mit baldiger Invalidität oder Tod. Mehrere Studien haben gezeigt, dass die Lebenserwartung von MS-Patienten nur geringfügig verkürzt ist (Flachenecker u. Hartung 1996). Mehr als die Hälfte der Patienten kann nach 15 Jahren Krankheitsdauer noch ohne Gehhilfe laufen und ist in der Lage, noch Vollzeit zu arbeiten (Flachenecker u. Hartung 1996, Rodriguez et al. 1994).

Um die Diagnose MS sicher stellen zu können, ist der Nachweis einer zeitlichen und einer räumlichen Multiplizität der Läsionen notwendig (Lublin 2002, Kappos 1999). Mit Hilfe der Kernspintomographie läßt sich die MS frühzeitig und zuverlässig diagnostizieren. Durch die Gabe eines Kontrastmittels können in der Kernspintomographie frische von älteren Läsionen unterschieden werden, wodurch der Nachweis der zeitlichen Multiplizität der Läsionen erbracht werden kann (Lublin 2002). Entsprechend den international anerkannten Mc Donald-Kriterien (Mc Donald et al. 2001) reichen ein Schub und der Nachweis einer räumlichen und zeitlichen Dissemination der Läsionen in der Kernspintomographie aus, um eine MS diagnostizieren zu können.

Die Liquordiagnostik hilft, die differenzialdiagnostischen Überlegungen auf einen entzündlichen Prozess zu lenken. Etwa die Hälfte der MS-Patienten weist eine leichte Pleozytose bei normalem bis leicht erhöhtem Liquor-Eiweiß auf (Kappos 1995). Häufig findet sich im Liquor eine autochthone Produktion von Immunglobulinen. In der Liquor-Elektrophorese finden sich sog. oligoklonale Banden, d. h. Immunglobuline, die nur von einzelnen B-Zell-Klonen gebildet werden (Keegan u. Noseworthy 2002).

Die Therapie der MS besteht aus einer symptomatischen und einer immunmodulierenden, den Krankheitsverlauf verlangsamenen Behandlung.

Wichtige Aspekte der symptomatischen Therapie sind die medikamentöse, aber auch krankengymnastische Behandlung der Spastik, die Vermeidung und Behandlung von Komplikationen, wie z. B. Harnwegs- und pulmonalen Infekten (Kappos 1999).

Der Standard zur Behandlung eines akuten Schubes ist die intravenöse Gabe von Kortikoiden (Bereznai et al. 1999).

Glatirameracetat, β -Interferon und Azathioprin gelten als Basismedikamente bei schubförmiger und sekundär chronisch progredienter MS zur Verlangsamung des Krankheitsverlauf. Bei rasch progredienten Krankheitsverläufen können vorübergehend Zytostatika, wie Methotrexat, Mitoxantron oder Cyclophosphamid versucht werden (Bereznai et al. 1999, MSTKG 2002).

Neuere Studien zeigen eine günstige Wirkung von Hemmstoffen der HMG-CoA-Reduktase, den sogenannten Statinen. Sie lassen sich möglicherweise auch mit β -Interferonen additiv kombinieren (Neuhaus et al. 2003). Daneben gibt es Bemühungen den Krankheitsausbruch beispielsweise durch monoklonale Antikörper gegen Bestandteile der Leukozytenoberfläche zu verhindern (Jarius et al. 2003, Trebst et al. 2003).

1.3 Pathologie und Pathogenese der MS

1.3.1 Pathologie der MS

Das wesentliche pathologische Merkmal der MS sind die zahlreichen Demyelinisierungsareale im ZNS, die sich bei der Autopsie teilweise schon mit bloßem Auge erkennen lassen (Adams u. Victor 1993). Als Prädilektionsstellen gelten das Halsmark, die periventrikuläre weiße Substanz, die graue Substanz um den Aquaeductus Cerebri, der Boden des IV. Ventrikels, das Corpus Callosum, die peripheren Gyri, der N. Opticus und die Sehbahn (Kappos 1999).

Histologisch sind die Herde durch einen variablen Verlust der Myelinscheiden und durch eine deutliche Minderung der Oligodendrozytendichte gekennzeichnet (Steck u. Schaeren-Wiemers 1999). Es lassen sich aktive, chronisch-aktive, inaktive und Shadow-Plaques unterscheiden (Hickey 1999).

In den aktiven Läsionen findet sich eine Vielzahl von Entzündungszellen, wie z. B. T-Zellen, B-Zellen, Makrophagen und aktivierte Mikrogliazellen. Am Rande der Plaque finden sich vermehrt Makrophagen, in denen sich elektronenmikroskopisch Myelinbestandteile nachweisen lassen (Kappos 1999, Heckl 1994, Lassmann 1996).

In den älteren oder auch inaktiven Herden nimmt die Zahl der Entzündungszellen ab und es kommt durch Astrozytenproliferation zur Ausbildung einer bindegewebigen Narbe (Hickey 1999).

Shadow-Plaques setzen sich weniger deutlich von dem umgebenden Gewebe ab als aktive oder inaktive Läsionen. In ihnen findet eine Remyelinisierung statt, die zu einer teilweisen oder vollständigen funktionellen Wiederherstellung führt (Heckl 1994, Lassmann 1996).

Der Verlust der Myelinscheiden bewirkt eine Störung der neuronalen Impulsweiterleitung und führt so zu den verschiedenen klinischen Symptomen.

Zwar ist die MS primär eine Erkrankung der Myelinscheiden und der Oligodendrozyten, dennoch finden sich bereits frühzeitig Schädigungen der Axone. Möglicherweise ist dies eine Ursache für die bleibenden Behinderungen bei einem Teil der Patienten (Scolding u. Franklin 1998, Bjatmar u. Trapp 2001, Lucchinetti et al. 2001).

1.3.2 Pathogenese der MS

Die Pathogenese der MS ist – mehr als hundert Jahre nach der Erstbeschreibung durch Charcot - noch immer ungeklärt. Verschiedene Umwelteinflüsse, virale Infektionen und eine genetische Disposition werden als Ursache der Erkrankung diskutiert (Hemmer et al. 2001, Storch u. Lassmann 1997).

Der Nachweis von Entzündungszellen in den Läsionen, die entzündlichen Liquorveränderungen (Pleozytose, autochthone Immunglobulinproduktion und oligoklonale Banden) haben schon früh zu der Annahme geführt, dass die MS eine immunvermittelte Erkrankung ist (Steck u. Schaeren-Wiemer 1999, Lassmann 1996).

Beobachtungen bei der Experimentellen-Autoimmun-Enzephalitis (EAE) - dem Tiermodell der MS - haben diese Hypothese untermauert. Nach allgemeiner Auffassung gilt die MS als Autoimmunerkrankung (Hartung u. Toyka 1999, Cross et al. 2001, Westland et al. 1999, Lucchinetti et al. 2001).

Bei zahlreichen Tierspezies lässt sich durch Immunisierung mit verschiedenen Myelinbestandteilen, wie z.B. dem Myelin-basischem Protein (MBP), dem Proteolipid-Protein (PLP) und anderen enzephalogenen Proteinen nach einer gewissen Latenzzeit eine akute Leukenzephalitis auslösen. Isoliert man von EAE-erkrankten Tieren Lymphknotenlymphozyten oder einzelne T-Zellklone und überträgt diese auf gesunde Tiere, so erkranken diese auch (Transfer-EAE).

Morphologisch finden sich zelluläre Infiltrate, jedoch fällt die Entmarkung geringer aus als bei der MS (Hartung u. Toyka 1999).

Überträgt man zusätzlich noch myelinspezifische Antikörper, so erhält man eine wesentlich stärkere Entmarkungsreaktion und damit ein morphologisches Bild, das dem der MS eher entspricht (Hartung u. Toyka 1999, Westland et al. 1999).

Viele der heutigen Vorstellungen zur Pathogenese der MS beruhen auf Beobachtungen bei der EAE (Westland et al. 1999, Cross et al. 2001). Insbesondere das Modell der Transfer-EAE hat zu der Hypothese geführt, dass autoreaktive T-Zellen für die Entwicklung der MS entscheidend sind (Hartung 1996, Cross 2000).

Im Blut und im Liquor von MS-Patienten finden sich ZNS-spezifische, autoreaktive T-Lymphozyten, die gegen eine Reihe verschiedener Myelinbestandteile gerichtet sind (Hartung 1996, Hohlfeld u. Wekerle 2001). Allerdings scheinen noch weitere Faktoren für den Ausbruch der Erkrankung

erforderlich zu sein, da sich auch im Blut von gesunden Personen ZNS-spezifische, autoreaktive T-Lymphozyten finden (Hartung u. Toyka 1999, Hartung 1996, Hohlfeld u. Wekerle 2001).

Nach heutiger Auffassung sind autoreaktive T-Zellen für die Induktion der Erkrankung und den Zusammenbruch der Blut-Hirn-Schranke (BHS) verantwortlich (Archelos et al. 2000, Westland et al. 1999, Cross 2000).

Solange diese autoreaktiven T-Lymphozyten im Blut zirkulieren, befinden sie sich in einem „ruhenden“ Zustand und können die BHS nicht überwinden. Erst nach Aktivierung – z.B. durch einen viralen oder bakteriellen Infekt – können sich diese autoreaktiven T-Zellen mit Hilfe von Adhäsionsmolekülen der BHS anlagern. Zusammen mit einer Gruppe von bestimmten Endoproteinasen – den sog. Metallo-Matrix-Proteinasen – bewirken sie einen Zusammenbruch der BHS und ermöglichen so anderen Bestandteilen des Immunsystems den Zugang zum ZNS (Hartung 1996, Archelos et al. 2000).

Die so eingewanderten T-Zellen werden im ZNS durch Präsentation des entsprechenden Antigens in Kombination mit einem MHC-Klasse-II-Komplex reaktiviert und lösen durch klonale Vermehrung und Sekretion von verschiedenen inflammatorischen Zytokinen eine entzündliche Kaskade aus, an deren Ende der für die MS charakteristische Verlust der Myelinscheiden steht (Hartung 1996).

Allerdings führt eine ausschließlich T-Zell-vermittelte Immunreaktion histologisch zum Bild einer akuten oder chronischen Leukenzephalitis. Um die für die MS typischen, demyelinisierten Plaques zu erhalten, bedarf es weiterer immunologischer Mechanismen, z. B. der Freisetzung von toxischen Zytokinen, der primären Schädigung von Oligodendrozyten oder der Aktivierung des Komplement-Systems durch ZNS-spezifische Antikörper (Lassmann 1996).

ZNS-spezifische Antikörper und Komplementfaktoren können nach Zusammenbruch der BHS in das ZNS übertreten. Aus kernspintomographischen Untersuchungen ist bekannt, dass es bei der Entwicklung von MS-Läsionen bereits frühzeitig zu einem Zusammenbruch der BHS kommt (Compston u. Coles 2002, Scolding u. Franklin 1998, Lucchinetti et al. 2001).

Die Vielzahl morphologischer Veränderungen und der variable Krankheitsverlauf haben zu der Hypothese geführt, dass verschiedene immunologische

Mechanismen für das pathologische Bild der MS verantwortlich sind (Ludwin 2000).

Lucchinetti et al. (1999) haben in einer großen pathologischen Studie gezeigt, dass die Oligodendrozyten bei verschiedenen Patienten unterschiedlich stark geschädigt werden. Bei einem Teil der Patienten werden nur das Myelin und reife Oligodendrozyten geschädigt, bei einem anderem Teil werden aber auch Vorstufen der Oligodendrozyten, sog. Progenitorzellen geschädigt. Bei der zuletzt genannten Gruppe finden sich keine Shadow-Plaques, da eine Remyelinisierung nicht mehr möglich ist.

In einer weiteren Studie haben Lucchinetti et al. (2000) vier verschiedene Muster der Demyelinisierung beschrieben, die sich auf Grund von pathologischen Merkmalen deutlich voneinander unterscheiden. Intraindividuell scheinen die verschiedenen Läsionen, durch einen einheitlichen Mechanismus zu entstehen.

Die von Lucchinetti et al. (2000) beschriebenen Typen I und II ähneln einer T-Zell-vermittelten bzw. einer T-Zell und Antikörper-vermittelten Enzephalomyelitis, wohingegen die anderen beiden Muster (Typ III und IV) eher an eine virale oder toxische Schädigung der Oligodendrozyten erinnern als an eine Autoimmunreaktion. Die Mehrzahl der untersuchten Patienten weist eine Demyelinisierung entsprechend Typ II auf, welche durch Ablagerung von Antikörpern und aktiviertem Komplementfaktor C9-neo-Antigen in den Bereichen der aktiven Demyelinisierung gekennzeichnet ist.

1.3.3 Antikörper bei MS

Antikörper haben bei der Suche nach der Pathogenese der MS lange Zeit eine untergeordnete Rolle gespielt, obwohl der Nachweis von oligoklonalen Banden im Liquor und die autochthone Produktion von Immunglobulinen im ZNS seit Jahrzehnten wichtige laborchemische Kriterien für die Diagnose der MS sind (Cross 2000, Hidecki et al. 1998, Poser et al. 1983).

Es sprechen jedoch verschiedene Beobachtungen für eine Beteiligung von Antikörpern an der Pathogenese der MS: In aktiven Plaques finden sich vermehrt Plasma- und B-Zellen; die gleichzeitige Übertragung von T-Zellen und ZNS-spezifischen-Antikörpern führt im Tierexperiment zu einer stärkeren Entmarkungsreaktion; gentechnisch veränderte Tiere, denen die B-Zellen fehlen,

erkranken nicht an EAE (Archelos et al. 2000, Storch u. Lassmann 1997, Lassmann et al. 1998, Cross et al. 2001)

Brück und Mitarbeiter (2001) berichten von einer Patientin mit fulminantem Krankheitsverlauf, bei der bioptisch eine T-Zell und Antikörper-vermittelte Form der Demyelinisierung gesichert worden ist. Im Anschluss an eine Plasmapherese Behandlung besserte sich ihre Symptomatik deutlich. Die Autoren werten dieses Ergebnis als Beleg für eine Beteiligung von löslichen Immunfaktoren, wie z. B. Myelin-spezifischen Antikörpern, an der Pathogenese der MS.

Mehrere Arbeitsgruppen konnten zeigen, dass Antikörper – insbesondere Antikörper gegen das Myelin-Oligodendrozyten-spezifische-Glykoprotein (MOG) – erheblich zur Entwicklung der EAE bei verschiedenen Tierspezies beitragen (Reindl et al. 1999, Iglesias et al. 2001). Selbst bei der als EAE-resistent geltenden norwegischen braunen Ratte lässt sich durch Übertragung von T-Zellen zusammen mit Antikörpern gegen MOG eine EAE auslösen (Stefflerl et al. 1999). Im Tiermodell binden Anti-MOG-Antikörper an die Myelinscheiden und bewirken so eine ausgeprägte Demyelinisierung (Wekerle 1999).

Raine et al. (1999) haben gezeigt, dass Antikörper gegen Myelinbestandteile zu einer blasigen Auftreibung der Myelinscheiden führen, wie sie auch bei der MS beobachtet wird. Die Autoren vermuten, dass Immunglobuline bereits frühzeitig an der Entwicklung der aktiven MS-Läsionen beteiligt sind.

Häufig beginnt die Erkrankung mit nur einem einzigen MS-verdächtigen Symptom, wobei die Zeit bis zur Entwicklung einer klinisch manifesten MS jedoch individuell sehr verschieden ist. Berger und Mitarbeiter (2003) berichten, dass Patienten mit einem isolierten Symptom, bei denen sich im Serum Antikörper gegen MBP oder MOG finden, früher eine klinisch manifeste MS entwickeln als Patienten, bei denen sich keine Antikörper finden. Die Autoren vermuten, dass Myelin-spezifische Antikörper – zumindest bei einem Teil der Patienten – wesentlich an der an der Pathogenese der MS beteiligt sind. Allerdings können sie nicht ausschließen, dass die gemessenen Antikörperkonzentrationen lediglich ein Epiphänomen der Demyelinisierung darstellen.

Es sind verschiedene Mechanismen denkbar, wie Antikörper zu einer Demyelinisierung beitragen können: Freisetzung von Entzündungsmediatoren; Stimulation der Fc-Rezeptoren auf Natürlichen-Killer-Zellen oder Makrophagen; Antikörper-abhängige-Zell-Zytotoxizität (ADCC); Opsonierung des Myelins mit der Folge einer vermehrten Phagozytose durch Makrophagen; Aktivierung des Komplementsystems mit anschließender Lyse der Myelinscheiden (Archelos et al. 2000, Storch u. Lassmann 1997).

In aktiven MS-Läsionen haben Storch und Mitarbeiter (1998) diffuse Ablagerungen von Immunglobulinen und zahlreichen Komplementfaktoren (C3, C4, C6, C7, C8 und C9) gefunden. Weiterhin haben sie in Makrophagen Immunglobuline und C9-neo-Antigen – einen Bestandteil des Terminalen-Komplement-Komplexes – zusammen mit Myelinbestandteilen entdeckt.

Die Autoren schließen aus diesen Beobachtungen, dass Antikörper das Komplementsystem aktivieren können und so – bei einem Teil der Patienten - zur Zerstörung der Myelinscheiden beitragen (Storch et al. 1998).

Möglicherweise entstehen Myelin-spezifische Antikörper bereits während der B-Zell-Differenzierung oder infolge einer Kreuzreaktivität mit viralen oder bakteriellen Antigenen (=Molekulares Mimikry). Normalerweise werden solche Autoantikörper in den sekundären Lymphorganen erkannt und durch Apoptose eliminiert. Es ist noch unklar, auf welcher Ebene die Immuntoleranz gestört ist, da bei der MS vermehrt Autoantikörper gegen verschieden ZNS-Bestandteile vorkommen (Archelos et al. 2000).

Unter normalen Umständen können im Blut zirkulierende Antikörper nur in geringen Umfang in das ZNS eindringen. Da es bei der MS jedoch frühzeitig zu einem Zusammenbruch der BHS kommt, erhalten Autoantikörper Zugang zum ZNS und können so ihre demyelinisierende Wirkung entfalten (Archelos et al. 2000).

Auch wenn die meisten neueren Studien Anti-MOG-Antikörper untersuchen, ist MOG nicht das einzige Antigen ist, das zu einer Antikörper-vermittelten Demyelinisierung im ZNS führt (Reindl et al. 1999).

Verschiedene Autoren haben im Serum von MS Patienten Antikörper gegen das Myelin-assoziierte-Glykoprotein (MAG), das Myelin-basische-Protein (MBP), das Proteolipid-Protein (PLP), Axonbestandteile und verschiedene Glykolipide, wie z. B. Ganglioside, gefunden (Archelos et al. 2000, Storch u. Lassmann 1997, Reindl et al. 1999, Cross et al. 2001).

Bereits Anfang der achtziger Jahre haben mehrere Forschergruppen das Vorkommen von Gangliosid-Antikörpern bei der MS untersucht (Boggs et al. 1984, Mullin et al. 1980). Acarin et al. (1996) und Sadaptipour et al. (1998) haben Gangliosid-Antikörper im Serum bzw. im Liquor von MS-Patienten untersucht und berichten von erhöhten Gangliosid-Antikörper-Titern bei Patienten mit chronisch progredienten Krankheitsverläufen.

1.4 Ganglioside und das Myelin-assoziierte-Glykoprotein (MAG)

Ganglioside sind komplexe Glykosphingolipide, die eine oder mehrere Sialinsäuren enthalten. Sie sind Bestandteil der Myelinscheiden und der Axonmembranen im zentralen (ZNS) und peripheren Nervensystem (PNS) (Willison 1996). Die häufigsten Ganglioside im ZNS sind: GM1, GD1a, GD1b und GT1b. Das Gangliosid GQ1b findet sich vor allem im N. Okkulomotorius, aber auch im N. Optikus, im N. Abduzens und im N. Trochlearis (Willison 1996, Willmann et al. 1997, Chiba et al. 1997).

Ganglioside sind Bestandteil der Glykokalix und tragen dazu bei, die Ionengradienten über die Zellmembran zu stabilisieren (Sandhoff 1988, Wiegandt 1988). Ganglioside können in vitro und in vivo die Nervenleitfähigkeit verbessern und eine Regeneration von Axonen bewirken (Tüllner 1988).

Antikörper gegen Ganglioside finden sich bei verschiedenen, demyelinisierenden Erkrankungen des PNS, z. B. dem Guillain-Barré-Syndrom (GBS), der chronisch inflammatorischen demyelinisierenden Polyneuropathie (CIDP), oder der multifokalen Motoneuropathie (MMN) und werden mit deren Pathogenese assoziiert (Quarles u. Weiss 1999, Willison 1996, Giovannoni u. Hartung 1996, Biessels et al. 1997).

Antikörper gegen das Gangliosid GQ1b finden sich bei über 90% der Patienten mit Miller-Fisher-Syndrom (MFS), einer Variante des GBS, die durch Ataxie, Areflexie und Ophthalmoplegie gekennzeichnet ist. Es scheint so, dass Antikörper gegen GQ1b spezifisch für die Entwicklung einer Ophthalmoplegie sind (Willmann et al. 1997, Quarles u. Weiss 1999).

Gangliosid-Antikörper können durch Interaktion mit Ionen-Kanälen in vitro und in vivo die Nervenleitfähigkeit stören (Willison et al. 1997, Quarles u. Weiss 1999, Giovannoni u. Hartung 1996, Takigawa et al. 1995) und eine ausgeprägte Demyelinisierung bewirken (Unicini et al. 1993, Santoro et al. 1992, Yan et al. 2000).

Das Myelin-assoziierte-Glykoprotein (MAG) ist in geringem Umfang ebenfalls Bestandteil der Myelinscheiden im PNS und ZNS (Link 1996). Wahrscheinlich trägt MAG zur Zellinteraktion zwischen den Myelinscheiden und den Axonen bei und ist möglicherweise für den Erhalt der Axone und Myelinscheiden verantwortlich (Link 1996, Quarles u. Weiss 1999).

Genetisch veränderte Mäuse, denen MAG fehlt, entwickeln im Alter von 8-10 Monaten eine Neuropathie, in deren Folge es zu einem Verlust von Axonen und einer ausgeprägten Demyelinisierung kommt (Quarles u. Weiss 1999). Der Verlust von MAG würde somit einen sekundären Verlust von Axonen bewirken. Erhöhte Antikörpertiter gegen MAG finden sich bei mehr als der Hälfte der Patienten mit Polyneuropathie (PNP) infolge einer monoklonalen Gammopathie. Elektrophysiologisch lässt sich eine ausgeprägte Demyelinisierung, teilweise auch in Kombination mit einer Axonschädigung nachweisen. Histologisch finden sich weit auseinander stehende Myelinlammellen (Link 1996), wie sie auch nach der intraneuralen Injektion von Antikörpern gegen MAG beobachtet wurden (Quarles u. Weiss 1999).

1.5 Ziele der Arbeit und Fragestellung

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit soll das Vorkommen von Antikörpern gegen die Ganglioside GM1, GD1b, GQ1b und gegen das Myelin-assoziierte Glykoprotein (MAG) im Serum von Patienten mit MS untersucht werden und bisherige Befunde erweitert werden.

Es soll untersucht werden, ob die Antikörpertiter mit der Krankheitsaktivität oder der Verlaufsform assoziiert sind und so möglicherweise bei der Klassifikation der Verlaufsform hilfreich sein können.

Weiterhin soll untersucht werden, ob Antikörper gegen das Gangliosid GQ1b möglicherweise mit der Entwicklung von Störungen der Augenmotorik bei MS-Patienten assoziiert sind.

Um die Relevanz und die Spezifität von Antikörpern gegen die Ganglioside GM1, GD1b, GQ1b und gegen MAG bei der MS besser beurteilen zu können, sollen die Antikörpertiter der MS-Patienten mit denen von Patienten mit verschiedenen Neuropathien des peripheren Nervensystems (PNS) verglichen werden.

2. Materialien und Methoden

2.1 Untersuchungskollektiv der MS-Patienten

2.1.1 Gewinnung der Patientenserum

Die im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Seren stammen von MS-Patienten aus der neurologischen Abteilung des Universitätskrankenhauses Hamburg-Eppendorf und von Patienten der MS-Sprechstunde. Die untersuchten Seren stammen somit von Patienten, die wegen einer akuten Exazerbation behandelt wurden, von Patienten, die im Rahmen von Studien mit immunmodulierenden Medikamenten behandelt wurden und von Patienten, denen bei stabilem Krankheitsverlauf routinemässig Blut abgenommen wurde.

Alle Patienten wiesen eine entsprechend den Poser-Kriterien (Poser et al. 1983) klinisch gesicherte MS auf.

Die Patienten wurden sorgfältig neurologisch untersucht und die Verlaufsform wurde entsprechend den üblichen Kriterien (vgl. Lublin u. Reingold 1996) klassifiziert. Als Maß für die Behinderung wurde der Expanded-Disability-Status-Scale (EDSS) nach Kurtzke (1983) ermittelt und die Aktivität der Erkrankung entsprechend der nachfolgenden Kriterien beurteilt (s. u. Definition der Aktivitätsstadien).

Nachdem die Patienten schriftlich ihr Einverständnis gegeben hatten, wurde ihnen 10 ml Blut abgenommen. Die Blutproben wurden bei 3000 Umdrehungen/Minute zentrifugiert und das Serum abpipettiert und bei -80°C eingefroren.

2.1.2 Definition der Aktivitätsstadien der MS

Der Krankheitsverlauf wurde als aktiv angesehen, wenn es in den letzten vier Wochen zu einem Schub bzw. bei den chronisch progredienten Verlaufsformen zu einer Verschlechterung innerhalb des letzten Jahres gekommen war.

Der Krankheitsverlauf wurde als stabil betrachtet, wenn es im letzten Monat zu keinem erneutem Schub bzw. bei den chronisch-progredienten Verläufen zu keiner klinischen Verschlechterung innerhalb des letzten Jahres gekommen war.

2.1.3 Patienten mit MS

Von den eingefrorenen Seren 75 Proben – 20 von Patienten mit schubförmiger MS (relapsing remitting=RR), 27 von Patienten mit sekundär chronisch progredienter MS (SCP) und 28 von Patienten mit primär chronisch progredienter MS (PCP) – ausgewählt, wobei darauf geachtet wurden, dass das Verhältnis zwischen aktiven und stabilen Krankheitsstadien in etwa ausgewogen ist.

Insgesamt wurden die Seren von 45 Frauen und 30 Männern untersucht, wobei das Durchschnittsalter 41,4 Jahre (+/- 11,3 Jahre) betrug. Die Krankheitsdauer schwankte zwischen weniger als einem und 26 Jahren.

Die nachstehende Tabelle (s. Tab. 1) gibt einen Überblick über Alter, Dauer und EDSS der ausgewählten Patienten.

Anzahl		Alter		Dauer		EDSS	
		Mittelwert	Standardabw.	Mittelwert	Standardabw.	Mittelwert	Standardabw.
MS gesamt	n=75	41,4	11,3	9,2	6,6	4,6	2,1
Schubförmig	n=20	33,2	7,7	6,8	6,6	2,3	1,6
SCP	n=27	42,4	9,7	13,9	6,2	5,5	1,5
PCP	n=28	46,3	11,9	6,7	4,6	5,3	1,6

Tabelle 1: Überblick über die Patienten mit MS.
Alter und Krankheitsdauer sind in Jahren angegeben.

2.2 Patienten mit Erkrankungen des peripheren Nervensystems

Um die Bedeutung von Antikörpern gegen die Ganglioside GM1, GD1b und GQ1b und gegen MAG bei MS besser beurteilen zu können, wurden die Antikörpertiter der MS-Patienten mit denen von Patienten mit verschiedenen Erkrankungen des PNS verglichen.

Hierzu wurden die Anti-Gangliosid-Titer von Patienten mit Guillain-Barré-Syndrom (GBS), chronisch inflammatorischer demyelinisierender Polyneuropathie (CIDP), Miller-Fisher-Syndrom (MFS), multifokaler Motoneuropathie (MMN), Polyneuropathie (PNP) oder Amyotropher Lateralsklerose (ALS) aus den Laborunterlagen herausgesucht, bei denen im Rahmen der klinischen Routine entsprechende Antikörper bestimmt worden waren. Es wurden Patienten ausgewählt, bei denen die Antikörperspiegel während der Zeit vom 1.1.1997 bis zum 30.6.1999 gemessen worden waren, da während dieses Zeitraumes die selben Enzym-Immuno-Assays verwendet wurden, wie zur Bestimmung der Antikörpertiter bei den MS-Patienten.

Auf Grund der geringen Fallzahlen sind die Patienten mit den verschiedenen Erkrankungen des PNS zu Gruppen zusammengefasst worden und mit den MS-Patienten verglichen worden.

Die Patienten mit GBS, MFS, CIDP und MMN wurden zu einer Gruppe (Neuropathie 1=NP1) zusammengefasst, da bei diesen Erkrankungen erhöhte Gangliosid-Antikörper-Titer bekannt sind (Willison 1996, Willmann et al. 1997). Die Patienten mit PNP und ALS wurden zu einer zweiten Gruppe (Neuropathie 2=NP2) zusammengefasst, da bei diesen Erkrankungen normale bzw. nur leicht erhöhte Antikörperkonzentrationen zu erwarten waren (Adams et al. 1991, Pestronk 1991, Steck u. Kappos 1996).

Es ist zu beachten, dass die Antikörpertiter der Patienten mit den Erkrankungen des PNS aus einer klinischen Fragestellung heraus und nicht im Rahmen einer wissenschaftlichen Arbeit gemessen wurden. Aus diesem Grund wurden bei den einzelnen Patienten oft nur ein oder zwei der verschiedenen Gangliosid-Antikörper bestimmt und nicht alle vier Antikörper wie bei den MS-Patienten.

Weiterhin ist zu beachten, dass niedrige Antikörpertiter nur eine geringe klinische Relevanz besitzen, weshalb Werte kleiner 100 als gleich 100 bei den Patienten mit den Erkrankungen des PNS im Rahmen der Routinediagnostik in den Akten vermerkt wurden. Im Gegensatz hierzu erfolgte die Messung der Antikörpertiter bei den Patienten mit MS aus einer wissenschaftlichen Fragestellung heraus, so dass hier die Werte genau dokumentiert wurden. Dieser methodische Unterschied muss beim Vergleich der Antikörperkonzentrationen der MS-Patienten und der Patienten mit Erkrankungen des PNS berücksichtigt werden.

Darüber hinaus ist unklar, wie sensitiv die verwendeten Enzym-Immuno-Assays niedrige Antikörpertiter - unterhalb der niedrigsten Standardkonzentration - messen, auch wenn die Herstellerfirma ein lineares Messverhalten der Tests postuliert. Die niedrigste Standardlösung beträgt für GM1 und GQ1b 800 BTU, für GD1b und MAG 1000 BTU.

2.3 Bestimmung der Antikörperkonzentrationen

Zur Bestimmung der Antikörpertiter bei den MS-Patienten und den Patienten mit Erkrankungen des peripheren Nervensystems sind kommerzielle Enzym-Immuno-Assays der Firma Bühlmann verwendet worden. Für GM1 und GD1b sind Ig-G-Antikörper bestimmt worden, für GQ1b und MAG IgM-Antikörper.

2.3.1 Durchführung der Enzym-Immuno-Assays

Die Durchführung der Enzym-Immuno-Assays erfolgte entsprechend den Angaben der Herstellerfirma Bühlmann.

Die gefrorenen MS-Seren wurden bei Raumtemperatur aufgetaut und für die Bestimmung von GM1, GD1b und GQ1b im Verhältnis 1:49 (20 µl Serum + 980 µl Inkubationspuffer), für die Bestimmung von MAG im Verhältnis 1:1000 (2 µl Serum + 2000µl Inkubationspuffer) verdünnt. Anschliessend wurden die verdünnten Seren für eine halbe Stunde gekühlt (2-8°C).

Die Mikrotiter-Platte wurde mehrfach mit je 400 µl gekühlter Waschlösung gespült und auf Filterpapier ausgeschlagen.

Anschließend wurden 100 µl der Standardlösungen (A – D), der beiden Kontrollseren sowie 100 µl des Inkubationspuffers – als Leerwert – in jeweils zwei Mikroküvetten pipettiert. Die übrigen Mikroküvetten wurden mit je 100 µl der verdünnten MS-Seren beschickt. Die Mikrotiterplatte wurde mit Folie bedeckt und für 2 Stunden im Kühlschrank inkubiert.

Anschließend wurden die Mikroküvetten dekantiert, mehrfach gespült (4x je 400 µl) und auf Filterpapier vorsichtig getrocknet.

Im nächsten Schritt wurde in jede Küvette 100 µl des Anti-h-Enzymkonjugates (Antikörper gegen humane Antikörper gekoppelt mit Meerrettichperoxidase) gegeben und für weitere zwei Stunden im Kühlschrank inkubiert. Anschliessend wurden die Mikroküvetten erneut dekantiert und mehrfach gespült.

Als Nächstes wurden je 100 µl der auf Raumtemperatur erwärmten TMB-Enzymlösung (3,3',5,5'-Tetra-Methyl-Benzidin in gepufferter Peroxidlösung) in die Mikroküvetten pipettiert und die Mikrotiterplatte mit einer lichtundurchlässigen Folie abgedeckt. Während der 30-minütigen Inkubationsphase wurde der Inhalt der Mikroküvetten mit Hilfe eines Mikroplatten-Schüttlers bei Raumtemperatur vermischt.

Anschließend wurden jeweils 100 µl der Stop-Lösung zugegeben und die optische Dichte der Proben mit Hilfe eines Microtiter-Platten-Readers bei 450 nm gemessen.

Von den doppelt gemessenen Leerwerten wurde der Mittelwert gebildet und von den übrigen Messwerten abgezogen.

Von den ebenfalls doppelt gemessenen Standardlösungen A-D wurde ebenfalls der Mittelwert gebildet. Nach Erstellung einer Eichkurve wurden die Antikörperkonzentrationen der MS-Seren mit Hilfe eines Computerprogramms ermittelt.

Die Angabe der Antikörpertiter erfolgt in Bühlmann-Titer-Units (BTU) (Definition der Bühlmann-Titer-Units s. u.).

Die Antikörperkonzentrationen der MS-Seren wurden nur einfach bestimmt, um eine größere Anzahl von Seren untersuchen zu können. Dies führt zwar zu einer grösseren Ungenauigkeit der Einzelwerte, die jedoch bewusst in Kauf genommen wurde, da es bei der Konzeption der Arbeit als wichtiger erachtet wurde, eine möglichst grosse Zahl von Seren zu messen.

2.3.2 Definition der Normwerte

Die verwendeten Enzym-Immuno-Assays messen den Antikörpergehalt der Proben in Bühlmann Titer Units (BTU). Die Einheit BTU ist eine von der Herstellerfirma willkürlich geschaffene Größeneinheit. Ergebnisse die mit anderen Methoden erhalten worden sind lassen sich nicht direkt vergleichen.

Durch Messung von mehreren Verdünnungsreihen von Seren mit bekanntem Antikörperkonzentration hat die Firma Bühlmann das lineare Messverhalten Enzym-Immuno-Assays nachgewiesen.

Im Rahmen der Etablierung ihrer Enzym-Immuno-Assays hat die Firma Bühlmann mehr als 100 Seren von gesunden Blutspendern im Alter von 17 bis 70 Jahren auf Antikörper gegen die Ganglioside GM1, GD1b, GQ1b und gegen MAG hin untersucht (s. Tab. 1 im Ergebnisteil). Werte größer als der Mittelwert plus drei Standardabweichungen sind in mehreren Schritten eliminiert worden.

Anschliessend ist ein theoretischer Cut-Off-Wert (Mittelwert plus drei Standardabweichungen) berechnet worden. Aus praktischen Gründen entspricht der Grenzwert der niedrigsten Konzentration der Standardlösungen.

Die Firma Bühlmann empfiehlt folgende Normwerte:

< 800 BTU für GM1 und GQ1b, <1000 BTU für GD1b und MAG.

Im Rahmen der vorliegendem Arbeit sind Antikörperkonzentrationen größer als der empfohlene Normwert als pathologisch angesehen worden.

2.4 Statistische Verfahren und Methoden

Für die deskriptive Beschreibung der gemessenen Antikörperkonzentrationen wurde der Median berechnet. Der Median wurde als Kenngröße gewählt, da die Einzelwerte stark streuen und der Median – gerade bei kleiner Gruppengröße - weniger empfindlich auf Ausreißer reagiert als der Mittelwert.

Bei den durchgeführten Signifikanz-Tests sind p-Werte mit $p < 0,05$ jeweils als signifikant angesehen worden.

Mit Hilfe der Spearman'schen Rangkorrelation ist untersucht worden, ob ein statistischer Zusammenhang zwischen Dauer der Erkrankung oder klinischer Behinderung (gemessen als EDSS) und der Höhe der Antikörpertiter besteht.

Die Antikörpertiter der verschiedenen Gruppen/Verlaufsformen wurden mit Hilfe der Kruskal-Wallis-ANOVA miteinander verglichen. Bestand ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen, wurden die einzelnen Gruppen mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Testes direkt miteinander verglichen.

Mit Hilfe von Kontingenztafeln (Chi-Quadrat-Test) wurde die Häufigkeit erhöhter Antikörpertiter bei den verschiedenen Verlaufsformen miteinander verglichen. Fand sich ein signifikanter Unterschied, wurden die einzelnen Gruppen mit Hilfe des exakten Testes nach Fisher direkt miteinander verglichen.

Es ist jedoch zu beachten, dass die verwendeten statistischen Tests auf Grund der geringen Gruppengrößen generell nur eine bedingte Aussagekraft besitzen.

3. Ergebnisteil

3.1 Gangliosid Antikörper bei Multipler Sklerose

Die Seren von 75 MS-Patienten sind auf Antikörper gegen die Ganglioside GM1, GD1b, GQ1b und das Myelin assoziierte Glykoprotein (MAG) untersucht worden. Die Angabe der Antikörpertiter erfolgt in Bühlmann Titer Units (BTU) (Def. BTU s. Materialien und Methoden).

Insgesamt finden sich für GM1 und GD1b deutlich höhere Antikörpertiter, als für GQ1b und MAG. Die höchsten Antikörpertiter finden sich für GD1b (Median=MD: 464 BTU), gefolgt von GM1 (MD: 215 BTU) und MAG (MD: 33 BTU). Die niedrigsten Antikörperspiegel finden sich für GQ1b (MD: 7,8 BTU) (s. Abb. 1 u. Tab. 2).

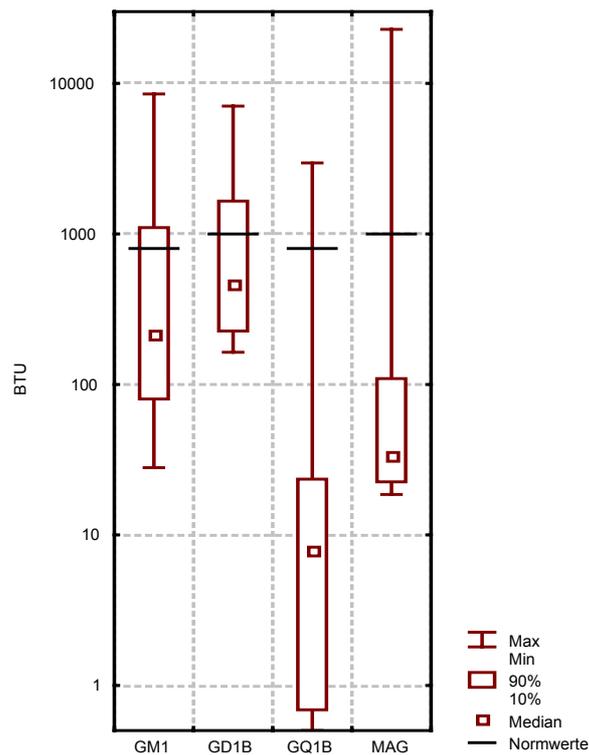


Abbildung 1: Antikörper gegen die Ganglioside GM1, GD1b, GQ1b und MAG bei Patienten mit MS.

Die Angabe der Antikörperkonzentrationen erfolgt in BTU (logarithmische Auftragung auf der Y-Achse).

Normwerte: GM1 und GQ1b: bis 800 BTU;

GD1b und MAG: bis 1000 BTU

Antikörper		MS gesamt n=75	schubförmig n=20	SCP n=27	PCP n=28
GM1	Median	215	247	176	230
	Spannweite	28/8500	65/3063	48/1436	28/8509
GD1b	Median	464	407	557	435
	Spannweite	163/7075	163/4718	185/7075	185/978
GQ1b	Median	8	12	8	6
	Spannweite	0/2965	0/2965	0/1451	0/41
MAG	Median	33	97	36	33
	Spannweite	19/22869	19/1303	20/22869	21/412

Tabelle 2: Antikörper gegen die Ganglioside GM1, GD1b, GQ1b und MAG bei Patienten mit MS unter Berücksichtigung der Verlaufsform.

Alle Angaben in BTU

Mit Hilfe der Spearman'schen Rangkorrelation ist untersucht worden, ob ein Zusammenhang zwischen der Höhe der Antikörpertiter und der Krankheitsdauer bzw. dem EDSS - als Mass für die klinische Behinderung - besteht.

Es findet sich jedoch für keinen der untersuchten Antikörper eine Korrelation zwischen dem EDSS oder der Krankheitsdauer (s. Tab. 3).

Antikörper	EDSS (n=73)		Dauer (n=74)	
	Spearman-R	p	Spearman-R	p
GM1	-0,025	0,8	0,14	0,2
GD1b	-0,101	0,4	0,0007	0,995
GQ1b	-0,072	0,5	0,018	0,89
MAG	-0,029	0,8	0,097	0,41

Tabelle 3: Korrelation der Antikörperkonzentrationen mit der Krankheitsdauer und dem EDSS bei Patienten mit MS.

3.2 Gangliosid-Antikörper bei MS-Patienten und gesunden Blutspendern

Vergleicht man die Antikörperkonzentrationen der untersuchten MS-Patienten mit denen von mehr als 100 gesunden Blutspendern¹ (s. Tab. 4 und Abb. 2), so weisen die MS-Patienten signifikant höhere Werte für GD1b ($p < 0,00005$) auf. Für GM1 besteht zwar kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den MS-Patienten und den Blutspendern, jedoch weisen die MS-Patienten eine stärkere Streuung und höhere Antikörpertiter für die 90. Perzentile auf als die Blutspender (s. Tab. 4).

Die Blutspender weisen für GQ1b ($p < 0,00001$) und MAG ($p < 0,00001$) signifikant höhere Antikörperkonzentrationen auf als die MS-Patienten.

Antikörper	Gesunde Blutspender			MS-Patienten n=75		Mann-Whitney-U-Test
	Anzahl	Median	Spannweite	Median	Spannweite	
GM1	n=111	246	50/670	215	28/8509	$p=0,46$
GD1b	n=109	296	66/1060	464	164/7075	$p < 0,00005$
GQ1b	n=132	47	8/300	8	0/2965	$p < 0,00001$
MAG	n=148	425	89/874	33	19/22869	$p < 0,00001$

Tabelle 4: Vergleich der Antikörperkonzentrationen gegen die Ganglioside GM1, GD1b, GQ1b und MAG bei Patienten mit MS und gesunden Blutspendern.
Die Anzahl der MS-Patienten beträgt für alle Antikörper 75.
Die Anzahl der Blutspender schwankt und ist in der Tabelle angegeben.

¹ Die Daten der Blutspender wurden freundlicherweise von der Firma Bühlmann zur Verfügung gestellt. Für die Berechnung der Normwerte sind Werte größer als der Mittelwert + 3 Standardabweichungen eliminiert worden.

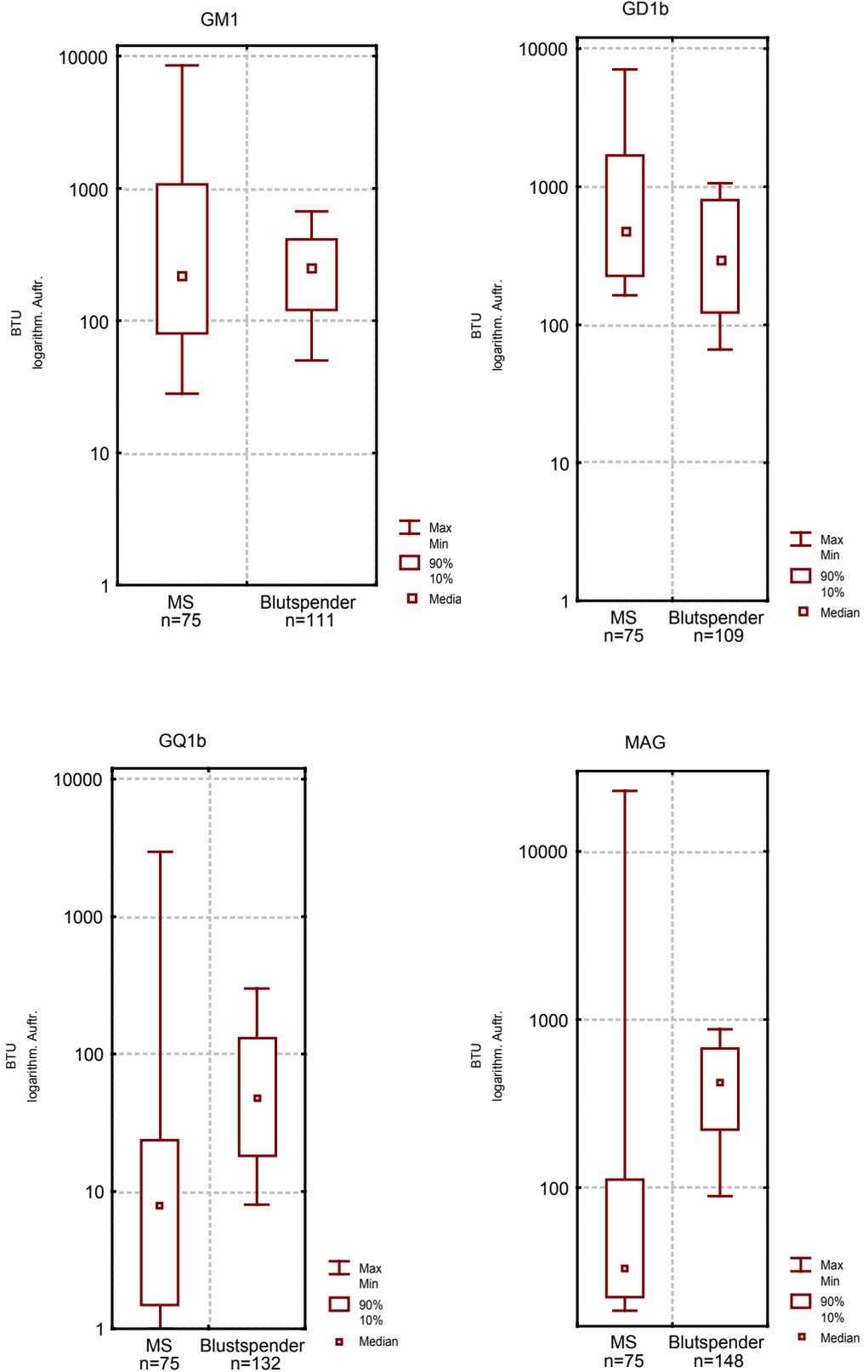


Abbildung 2: Antikörper gegen die Ganglioside GM1, GD1b, GQ1b und MAG bei Patienten mit MS und gesunden Blutspendern.

3.3 Vergleich der Antikörperkonzentrationen bei den verschiedenen Verlaufsformen der MS

Vergleicht man die Antikörpertiter der verschiedenen Verlaufsformen mit Hilfe der Kruskal-Wallis-ANOVA, so findet sich für keinen der untersuchten Antikörper ein signifikanter Unterschied.

Auch wenn man die Patienten mit SCP und PCP zusammenfasst und als Gruppe der chronisch progredienten Erkrankungen den schubförmigen Erkrankungen gegenüberstellt, findet sich kein signifikanter Unterschied.

Die Patienten mit schubförmiger MS (MD 246 BTU) weisen für GM1 die höchsten Antikörperspiegel auf, gefolgt von den Patienten mit PCP und SCP (s. Tab. 5 und Abb. 3).

Die Patienten mit SCP weisen für GD1b (MD 557 BTU) die höchsten Werte auf, gefolgt von den Patienten mit PCP und schubförmiger MS.

Die Patienten mit schubförmiger MS weisen sowohl für GQ1b als auch für MAG höhere Werte auf als die an SCP oder PCP Erkrankten.

Antikörper		Schubförmig n=20	SCP n=27	PCP n=28	Kruskal- Wallis- Anova
GM1	Median	246	176	230	p=0,52
	Spannweite	64 - 3063	48 - 1436	28 - 8509	
GD1b	Median	407	557	435	p=0,28
	Spannweite	163 - 4718	185 - 7075	185 - 2828	
GQ1b	Median	12,1	7,8	6,4	p=0,29
	Spannweite	0 - 2965	0 - 1451	0 - 41	
MAG	Median	97	36	32,5	p=0,61
	Spannweite	19 - 1303	20 - 22869	21 - 412	

Tabelle 5: Vergleich der Antikörperkonzentrationen bei den verschiedenen Verlaufsformen der MS.
Die Angabe der Antikörpertiter erfolgt in BTU.

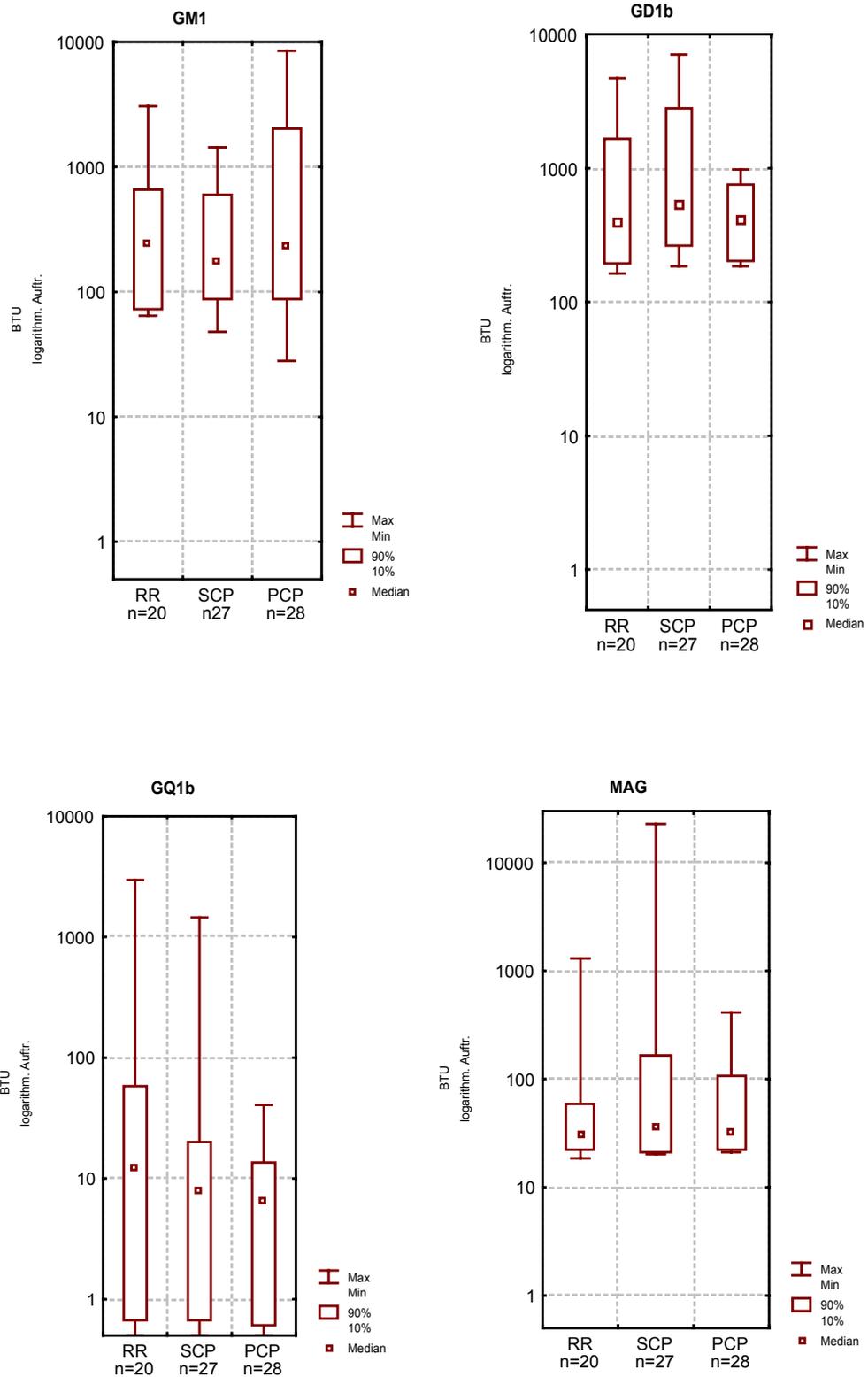


Abbildung 3: Vergleich der Antikörperkonzentrationen bei schubförmiger, primär chronischer (PCP) und sekundär chronisch progredienter (SCP) MS.

3.4 Erhöhte Gangliosid-Antikörper-Titer bei Patienten mit MS

Legt man die von der Herstellerfirma empfohlenen Normwerte (vgl. Materialien und Methoden) zugrunde, so weisen 22 (29,3%) der untersuchten 75 MS-Patienten erhöhte Werte für mindestens einen der untersuchten Antikörper auf (s. Tab. 6).

Ein Patient mit SCP weist für GM1 und für GD1b erhöhte Antikörpertiter auf, ein anderer mit schubförmiger MS weist für GD1b und MAG erhöhte Titer auf*.

Im Einzelnen weisen neun Proben erhöhte anti-GM1-Titer, elf Proben erhöhte anti-GD1b-Titer und jeweils zwei Seren erhöhte Werte für GQ1b und MAG auf.

Antikörper		MS gesamt n=75	schubförmig n=20	SCP n=27	PCP n=28	Chi-Quadrat- Test
GM1 erhöht	absolut	9	2	2	5	p=0,47
	prozentual	12,0%	10,0%	7,4%	17,9%	
GD1b erhöht	absolut	11	3	8	0	p=0,008
	prozentual	14,7%	15,0%	29,6%	0,0%	
GQ1b erhöht	absolut	2	1	1	0	p=0,52
	prozentual	2,7%	5,0%	3,7%	0,0%	
MAG erhöht	absolut	2	1	1	0	p=0,52
	prozentual	2,7%	5,0%	3,7%	0,0%	
insgesamt erhöht	absolut	22	7	12	5	
	prozentual	29,3%*	35%	44,4%	17,5%	

Tabelle 6: Erhöhte Antikörperspiegel bei den verschiedenen Verlaufsformen der Multiplen Sklerose.
Normwerte: GM1 und GQ1b 800 BTU, GD1b und MAG 1000 BTU (vgl. Materialien und Methoden).

* Da zwei der Patienten erhöhte Werte für GM1 und GD1b bzw. GD1b und MAG aufweisen, ist die Gesamtzahl der Patienten mit erhöhten Antikörpertitern niedriger als die Summe der Einzelwerte.

Insgesamt weisen die Patienten mit SCP am häufigsten erhöhte Antikörpertiter auf, gefolgt von den Patienten mit schubförmiger MS. Am seltensten finden sich bei den Patienten mit PCP erhöhte Antikörperkonzentrationen.

Vergleicht man mit Hilfe von Kontingenztafeln (Chi-Quadrat-Test) die Häufigkeit, mit der erhöhte Antikörperspiegel bei den einzelnen Verlaufsformen auftreten, so findet sich für GD1b ein signifikantes Ergebnis ($p=0,008$).

Im exakten Test nach Fisher weisen die Patienten mit SCP signifikant häufiger ($p=0,002$) erhöhte Anti-GD1b-Spiegel auf als die Patienten mit PCP.

Die Patienten mit schubförmiger MS weisen ebenfalls häufiger erhöhte Antikörper gegen GD1b als die Patienten mit PCP auf, jedoch ist der Unterschied nicht signifikant ($p=0,07$).

Zwischen den Patienten mit SCP und schubförmiger MS besteht kein relevanter statistischer Unterschied.

Die Patienten mit PCP weisen mit knapp 18% am häufigsten erhöhte Antikörpertiter für GM1 auf, gefolgt von den Patienten mit schubförmiger MS und SCP. Allerdings ist dieser Unterschied nicht signifikant.

Jeweils ein Patient mit schubförmiger MS und einer mit SCP weisen für GQ1b und MAG erhöhte Werte auf, jedoch kein Patient mit PCP.

3.5 Antikörper gegen GQ1b und Störungen der Augenmotilität

Die Antikörpertiter für GQ1b sind insgesamt eher niedrig ($MD = 7,8$ BTU), da bei elf Proben Antikörperspiegel von weniger als einer BTU gemessen worden sind.

Lediglich zwei der untersuchten 75 Patienten weisen Antikörpertiter über der Norm von 800 BTU auf. Ein Patient mit SCP weist einen Wert von 1451 BTU, ein Patient mit schubförmiger MS einen Wert von 2965 BTU auf. Bei beiden Patienten ist keine Störung der Augenmotilität im bisherigen Krankheitsverlauf festgestellt worden.

Hingegen finden sich bei sieben Patienten, bei denen im bisherigen Krankheitsverlauf Störungen der Augenmotorik aufgetreten sind, keine erhöhten Antikörpertiter gegen GQ1b.

3.6 Antikörpertiter während aktiver und stabiler Krankheitsphasen

Die 75 untersuchten Serumproben stammen in 39 Fällen (52%) von Patienten, die sich zum Zeitpunkt der Blutentnahme in einer stabilen Krankheitsphase² befunden haben, und in 36 Fällen (48%) von Patienten während aktiver Krankheitsphasen (s. Tab. 7 und Abb. 4).

Vergleicht man die Höhe der Antikörperspiegel mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Testes, so zeigen die Patienten während der stabilen Krankheitsphasen signifikant höhere Werte für GM1 ($p=0,0005$), als die Patienten während der aktiven Krankheitsstadien.

Für GD1b weisen die Patienten mit stabilen Krankheitsverläufen im Mittel ($MD=483$ BTU) ebenfalls höhere Werte auf, jedoch streuen die Werte der Patienten mit aktiver Erkrankung stärker, so dass dieser Unterschied nicht signifikant ist ($p=0,61$).

Hinsichtlich GQ1b und MAG unterscheiden sich beide Gruppen nur geringfügig.

Antikörper	aktive Krankheitsphasen n=36	stabile Krankheitsphasen n=39	Mann-Whitney-U-Test
	Median	Median	
GM1	153	292	$p=0,0005$
GD1b	382	483	$p=0,61$
GQ1b	8	8	$p=0,5$
MAG	31	36	$p=0,2$

Tabelle 7: Antikörper gegen die Ganglioside GM1, GD1b, GQ1b und MAG während aktiver und stabiler Krankheitsphase. Die Grösse der Gruppen sind in der Tabelle angegeben, die Angabe der Medianwerte erfolgt in BTU.

² Def. von aktiven und stabilen Krankheitsphasen s. Materialien und Methoden.

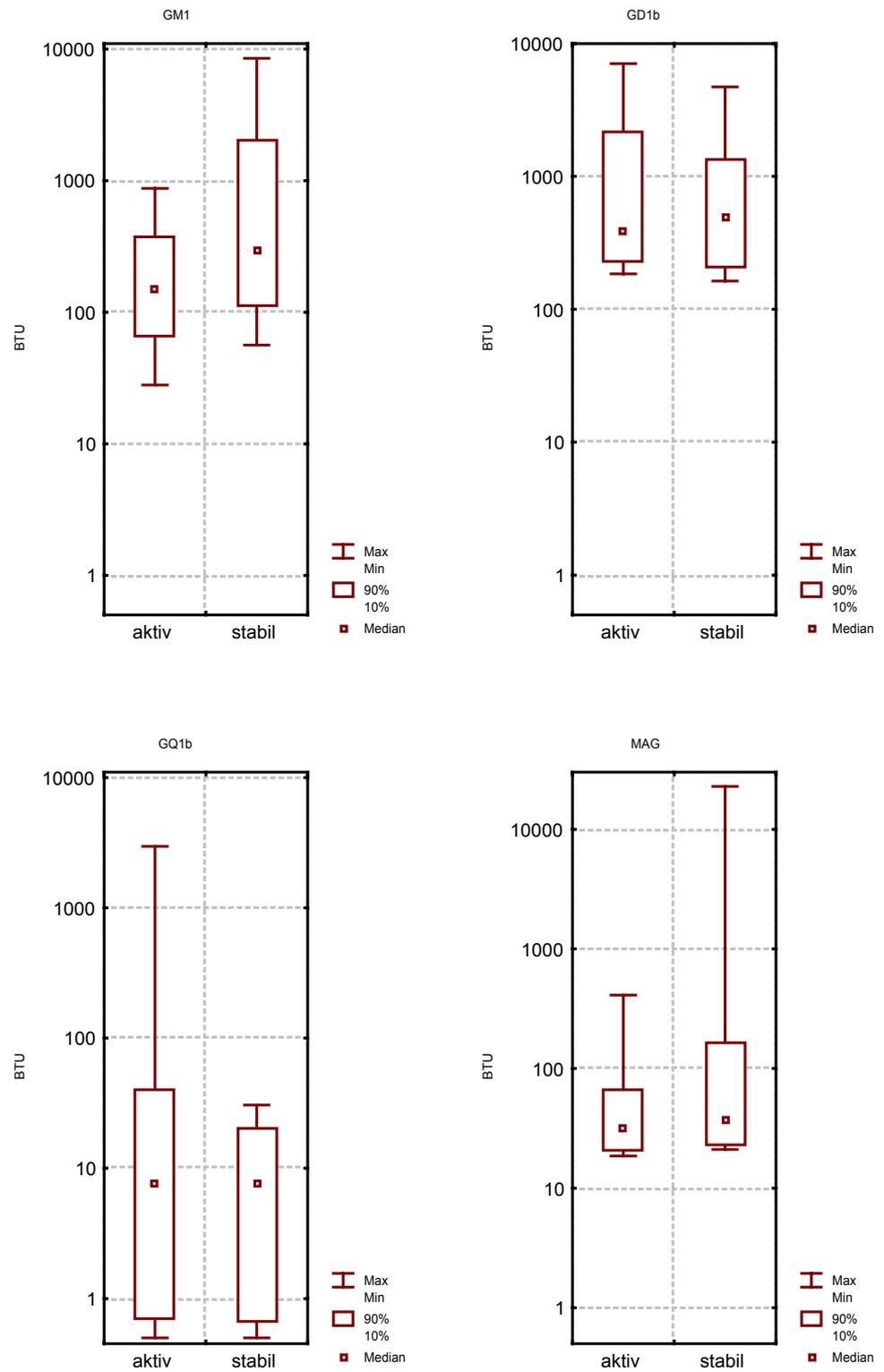


Abbildung 4: Antikörper gegen die Ganglioside GM1, GD1b, GQ1b und MAG bei Patienten während stabiler und aktiver Krankheitsphasen.
 Pat. m. aktiver Erkrank.: n=36 Pat. m. stab. Erkrank.: n=39

3.7 Vergleich der Antikörperspiegel gegen die Ganglioside GM1, GD1b, GQ1b und MAG bei Patienten mit MS und bei Patienten mit Erkrankungen des peripheren Nervensystems

Um das Vorkommen von Antikörpern gegen die Ganglioside GM1, GD1b, GQ1b und gegen MAG bei MS-Patienten besser beurteilen zu können, sind die Antikörpertiter der MS-Patienten mit denen von Patienten mit Erkrankung des peripheren Nervensystems (PNS) verglichen worden (vgl. Materialien u. Methoden, S. 22). Als Vergleichsgruppen sind einerseits Patienten mit GBS, CIDP, MFS und MMN (Neuropathie 1 = NP1) und andererseits Patienten mit PNP unklarer Genese und ALS (Neuropathie 2 = NP2) ausgewählt worden.

Für die Erkrankungen der Gruppe NP1 sind deutlich erhöhte Gangliosid-Antikörper-Titer, für die Gruppe NP2 sind normale bis leicht erhöhte Antikörpertiter beschrieben (Pestronk 1991, Adams et al. 1991, Willison 1996, Willimann et al. 1997).

Auf Grund der unterschiedlichen Dokumentation der Messergebnisse ist für GQ1b und MAG kein Signifikanztest gerechnet worden (vgl. Materialien und Methoden, S. 22).

Antikörper		MS	NP1	NP2	Kruskall-Wallis-Anova
GM1	Anzahl	75	20	52	p=0,030
	Median	215	382	202	
GD1b	Anzahl	75	19	49	p=0,028
	Median	464	947	401	
GQ1b	Anzahl	75	9	17	nicht berechnet
	Median	8	110	100	
MAG	Anzahl	75	14	35	nicht berechnet
	Median	33	243	388	

Tabelle 8: Antikörper gegen die Ganglioside GM1, GD1b, GQ1b und MAG bei Patienten mit MS und bei Patienten mit Erkrankungen des PNS. Angabe der Medianwerte in BTU. Die Anzahl der Patienten mit NP1 und NP2 wird in der Tabelle angegeben. Die Anzahl der MS-Patienten beträgt immer 75.

NP1: Patienten mit GBS, MFS, CIDP und MMN

NP2: Patienten mit PNP und ALS

Die Patienten mit NP1 weisen sowohl für GM1 (MD 382 BTU) als auch für GD1b (MD 947 BTU) deutlich höhere Antikörpertiter auf, als die Patienten mit MS oder NP2 (s. Tab. 8 und Abb. 5).

Vergleicht man die Antikörpertiter der drei Gruppen mit Hilfe der Kruskal-Wallis-Anova, so findet sich sowohl für GM1 ($p=0,03$) als auch für GD1b ($p=0,0028$) ein signifikanter Unterschied.

Im anschliessend durchgeführten Mann-Whitney-U-Test weisen die Patienten mit NP1 signifikant höhere Werte für GM1 als die Patienten mit MS ($p=0,01$) oder NP2 ($p=0,02$) auf.

Die Gruppe NP1 zeigt für GD1b ebenfalls signifikant höhere Antikörperspiegel als die Patienten mit MS ($p=0,006$) oder NP2 ($p=0,03$).

Die MS-Patienten weisen sowohl für GM1 (MD 215 BTU) als auch für GD1b (MD 202 BTU) höhere Werte auf als die Gruppe NP2 (s. Tab. 8 und Abb. 5), jedoch sind diese Unterschiede nicht signifikant (GM1: $p=0,95$; GD1b: $p=0,09$).

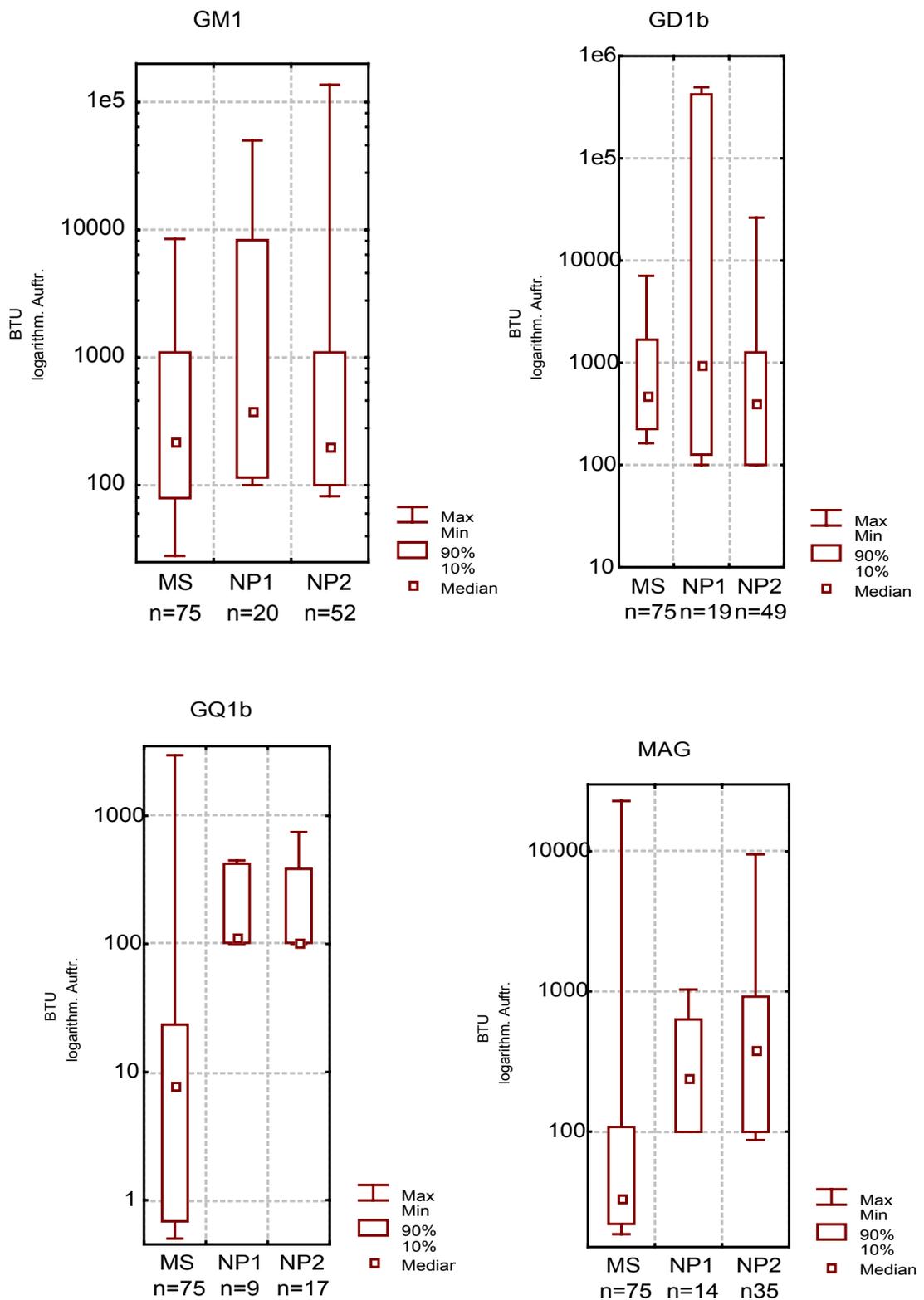


Abbildung 5: Antikörper gegen die Ganglioside GM1, GD1b, GQ1b und MAG bei Patienten mit MS und Patienten mit Erkrankungen des PNS.

NP1: Patienten mit GBS, CIDP, MFS und MMN

NP2: Patienten mit PNP und ALS

4. Diskussion

Die MS gilt nach allgemeiner Auffassung als Autoimmunerkrankung des ZNS, auch wenn ihre Pathogenese noch nicht vollständig verstanden ist (Rosche et al. 2003, Steck u. Schaeren-Wiemers 1999). Mehrere Studien lassen eine Beteiligung von Antikörpern – zumindestens bei einem Teil der MS-Patienten – vermuten (Lucchinetti et al. 2000, Hemmer et al. 2000, Archelos et al. 2000, Berger et al. 2003). Antikörper können z.B. durch Opsonierung des Myelins oder durch Freisetzung von Chemokinen oder durch Aktivierung des Komplementsystems zur Demyelinisierung beitragen (Cross 2000, Storch u. Lassmann 1997).

Die meisten Arbeitsgruppen, die das Vorkommen und die Bedeutung von Antikörpern bei MS untersuchen, konzentrieren sich auf Antikörper gegen MOG, da MOG ausschliesslich im ZNS vorkommt und stark immunogen ist (Iglesias et al. 2001).

Im Serum und Liquor von MS-Patienten finden sich jedoch auch Antikörper gegen MBP, PLP, MAG und verschiedene Glykolipide, wie z. B. Ganglioside (Reindl et al. 1999, Cross et al. 2001, Archelos et al. 2000).

Ganglioside sind wichtige Bestandteile der Myelinscheiden und finden sich auch in Axon- und Oligodendrozytenmembranen. Antikörper gegen Ganglioside finden sich bei verschiedenen, demyelinisierenden Erkrankungen des PNS und werden mit deren Pathogenese bzw. mit dem Krankheitsverlauf assoziiert (Quarles u. Weiss 1999, Willison 1996, Roberts et al. 1994).

Es ist denkbar, dass Gangliosid-Antikörper bei der Pathogenese der MS - zumindestens bei einem Teil der Patienten - eine Rolle spielen.

Antikörper gegen Ganglioside binden im Tiermodell an die Ranvier'schen Schnürringe und können durch Interaktion mit Ionenkanälen die elektrische Leitfähigkeit von Neuronen beeinflussen (Takigawa et al. 1995, Quarles u. Weiss 1999). In einigen Studien hat die intraneurale Injektion von Gangliosid-Antikörpern eine ausgeprägte Demyelinisierung und einen Leitungsblock bewirkt (Santoro et al. 1992, Unicini et al. 1993, Roberts et al. 1995, Thomas et al. 1991), jedoch nicht in allen (Harvey et al. 1995, Bourdette et al. 1989, Paprounas et al. 1999).

Bereits Anfang der achtziger Jahre haben verschiedene Forschergruppen (Arnon et al. 1980, Boggs et al. 1984, Mullin et al. 1980) das Vorkommen von Gangliosid-Antikörper bei MS-Patienten untersucht. Arnon und Mitarbeiter (1980) haben mit Hilfe einer Liposomen-Lyse-Technik Antikörper gegen die Ganglioside GM1 und GM4 im Serum und im Liquor von Patienten mit MS nachgewiesen. Die verwendete Liposomen-Lyse-Technik zeigt deutlich, dass die MS-Seren in der Lage sind, Lipidmembranen, die Ganglioside enthalten - wie z. B. Myelinscheiden - zu zerstören.

Andere Autoren berichten von erhöhten Antikörpertitern gegen die Ganglioside GM2, GM3, GD1a, GD1b, GT1b und GQ1b im Serum von Patienten mit MS (Acarin et al. 1996, Matà et al. 1999, Stevens et al. 1992), wobei Antikörper der IgG-Klasse gegenüber denen der IgM-Klasse überwiegen (Acarin et al. 1996, Stevens et al. 1992).

In dem hier untersuchten Patientenkollektiv weist knapp ein Drittel der Patienten (29,3%) erhöhte Antikörperspiegel für mindestens einen der untersuchten Antikörper auf. Am häufigsten finden sich erhöhte Antikörpertiter für die Ganglioside GM1 und GD1b. In der Studie von Acarin et al. (1996) finden sich sogar bei knapp der Hälfte (48%) der MS-Patienten erhöhte Gangliosid-Antikörperspiegel; allerdings beziehen sich deren Werte nur auf eine relativ kleine Kontrollgruppe (n=36).

Vergleicht man die gemessenen Anti-Gangliosid-Titer mit den Werten von gesunden Blutspendern, so weisen die MS-Patienten signifikant höhere Antikörperspiegel für GD1b auf als die Blutspender. Für GM1 findet sich zwar kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen, jedoch scheinen die MS-Patienten in der Tendenz höhere Werte aufzuweisen als die gesunden Blutspender.

Für GQ1b und MAG weisen die MS-Seren überraschend niedrige Antikörperspiegel auf, die auch signifikant kleiner sind als bei der Gruppe der gesunden Blutspender. Es ist unklar, wieso für GQ1b und MAG so niedrige Antikörpertiter gemessen wurden.

Möglicherweise hat durch das Einfrieren der Seren bzw. durch ein wiederholtes Auftauen und Einfrieren der Seren die Bindungsfähigkeit der Antikörper abgenommen, so daß diese nicht mehr an die Antigen-beschichtete Mikrotiterplatte binden konnten.

Eine weitere Ursache für die niedrigen Antikörpertiter kann sein, dass ein Teil der Patienten bereits mit einer immunsupprimierenden Therapie behandelt wurde. Dies würde jedoch nicht erklären, warum nur für GQ1b und MAG erniedrigte Werte gemessen wurden, nicht jedoch für GM1 und GD1b.

Eine Fehlmessung bzw. Fehler in der Durchführung der Enzym-Immuno-Assays ist ebenfalls nicht auszuschließen, jedoch erscheint dies weniger wahrscheinlich, da die mitbestimmten Standardseren korrekt gemessen wurden.

Ein wichtiger Hinweis für eine Beteiligung von Gangliosid-Antikörpern an der Pathogenese der MS kommt von Matà und Mitarbeitern (1999). Sie haben bei Patienten mit isolierter Optikusneuritis – als Frühform der MS – signifikant häufiger erhöhte Antikörper gegen GD1a gemessen als bei Patienten mit nicht-entzündlichen neurologischen Erkrankungen. Diese Beobachtung zeigt, dass Antikörper gegen Ganglioside bereits frühzeitig bei MS auftreten können und nicht unbedingt infolge eines sogenannten Epitope-Spreading entstehen (Matà et al. 1999).

Allerdings weisen nicht alle Untersuchungen erhöhte Anti-Gangliosid-Titer für MS-Patienten nach (Uetz von Almen et al. 1998, Kasai et al. 1986, Giovannoni et al. 2000). Außerdem finden sich auch bei gesunden Kontrollpersonen, Patienten mit anderen Autoimmunerkrankungen, wie z. B. Systemischem Lupus Erythematosus oder Rheumatoider Arthritis, aber auch bei Schlaganfallpatienten erhöhte Anti-Gangliosid-Titer. Jedoch überwiegen bei diesen Patienten Antikörper der IgM-Klasse (Bansal et al. 1994, Endo et al. 1984).

Die Tatsache, dass nur ein Teil der hier untersuchten MS-Seren erhöhte Antikörperspiegel aufweist, widerspricht nicht der Hypothese, dass Gangliosid-Antikörper bei einer Subgruppe von MS-Patienten an der Pathogenese beteiligt sein könnten. Bedenkt man die heterogene Pathogenese (Ludwin 2000), überrascht es nicht, dass nur ein Drittel der untersuchten Patienten erhöhte Anti-Gangliosid-Titer aufweist. In der Arbeit von Luccinetti u. Mitarbeiter (2000)

findet sich bei etwa der Hälfte der Patienten eine Antikörper-vermittelte Art der Demyelinisierung, wobei unklar ist, ob die gefundenen Antikörper sich nur gegen ein oder aber gegen mehrere Antigene richten.

Berücksichtigt man die zahlreichen morphologischen Veränderungen, die sich bei der MS finden, dann ist fraglich, ob diese durch die Immunreaktion gegen ein einzelnes Antigen hervorgerufen werden, oder ob nicht verschiedene Antigene hierfür verantwortlich sind (Ludwin 2000).

Einige Autoren haben eine höhere Frequenz von erhöhten Anti-Gangliosid-Titern bei Patienten mit PCP, bzw. PCP und SCP gegenüber Patienten mit schubförmiger MS gefunden (Acarin et al. 1996, Sadaptipour et al. 1998).

Matà et al. (1999) berichten, erhöhte Anti-Gangliosid-Titern häufiger bei Patienten mit maligner MS (Dauer < 2 Jahre und EDSS > 6) als bei Patienten mit benigner MS (Dauer >10 Jahre und EDSS<3) gefunden zu haben.

Acarin et al. (1996) haben bei Patienten mit PCP häufiger erhöhte Anti-Gangliosid-Titer gefunden als bei Patienten SCP oder schubförmiger MS. Die Autoren vermuten, dass unterschiedliche Gangliosid-Antikörpermuster möglicherweise Ausdruck verschiedener Pathomechanismen bei den unterschiedlichen Verlaufsformen der MS darstellen könnten (Acarin et al. 1996).

Sadaptipour u. Mitarbeiter (1998) haben bei Patienten mit SCP und PCP signifikant höhere Antikörperspiegel gemessen als bei Patienten mit schubförmiger MS oder gesunden Kontrollpersonen. Die Autoren vermuten, dass die erhöhten Anti-Gangliosid-Titer möglicherweise Folge einer vermehrten Axonschädigung sind. Sie spekulieren, dass Gangliosid-Antikörper möglicherweise auch direkt zu einem Verlust von Axonen beitragen können (Sadaptipour et al. 1998).

Im Tierexperiment korreliert der Axonverlust mit dem Ausmaß der Behinderung und scheint von der Zahl der durchgemachten Schübe abzuhängen (Wujek et al. 2002). Die Mehrzahl der Patienten mit PCP oder mit Lähmungen weisen einen deutlichen Verlust der Axonzahl im Bereich des Halsmarks auf (Wujek et al. 2002). Sollten die Vermutungen von Sadaptipour et al. (1998) zutreffen, dann wären erhöhte Anti-Gangliosid-Titer möglicherweise Ausdruck einer vermehrten Krankheitsaktivität bei den chronisch progredienten Verlaufsformen.

Allerdings haben Giovannoni et al. (2000) keinen Unterschied in der Frequenz erhöhter Anti-Gangliosid-Titer zwischen Patienten mit schubförmiger MS oder SCP festgestellt. Die Antikörpertiter korrelierten in einer Follow-Up-Studie nach 18 Monaten weder mit dem Ausmaß der Kleinhirnatrophie in der Kernspintomographie noch mit einer Zunahme des EDSS-Wertes als Ausdruck einer klinischen Verschlechterung.

In dem hier untersuchten Patientenkollektiv weisen die Patienten mit SCP signifikant häufiger erhöhte Antikörper auf als diejenigen mit PCP, jedoch nicht als die Patienten mit schubförmiger MS. Allerdings besteht hinsichtlich der absoluten Höhe der Antikörperkonzentrationen kein relevanter Unterschied zwischen den verschiedenen Verlaufsformen. Die im Rahmen dieser Arbeit gewonnenen Daten unterstützen somit nicht die Beobachtung von Acarin et al. (1996) und Sadaptipour et al. (1998), dass sich erhöhte Gangliosid-Antikörpertiter vermehrt bei chronisch progredienten Verlaufsformen finden.

Ferner liefern die hier dargelegten Ergebnisse keinen Hinweis auf die von Sadaptipour et al. (1998) geäußerte Vermutung, dass Gangliosid-Antikörper möglicherweise primär an der Axonschädigung beteiligt sind bzw. sekundär infolge des Axonverlustes auftreten.

Es ist jedoch denkbar, dass unterschiedliche Anti-Gangliosid-Profile weniger von der Verlaufsform, als vielmehr von den verschiedenen Aktivitätsstadien der Erkrankung abhängen (Acarin 1996).

In dem hier untersuchten Patientenkollektiv weisen die Patienten mit stabilem Krankheitsverlauf (d. h. kein Schub in den letzten vier Wochen bzw. keine Krankheitsprogredienz im letzten Jahr) signifikant höhere anti-GM1-Spiegel auf als diejenigen mit aktivem Krankheitsverlauf ($p=0,0005$). Für GD1b weisen die Patienten mit stabilem Krankheitsverlauf tendenziell ebenfalls höhere Antikörpertiter auf als die Patienten mit aktivem Krankheitsverlauf.

Es ist unklar, ob diese Beobachtung einen Zufallsbefund darstellt oder Ausdruck einer vermehrten Abräumreaktion der zerstörten Myelinscheiden ist.

Es ist auch denkbar, dass Gangliosid-Antikörper möglicherweise einen dämpfenden Einfluß auf die Krankheitsaktivität haben.

Es ist bekannt, dass Immunglobuline einen modulierenden Einfluss auf das Immunsystem ausüben, der bei der intravenösen Gabe von Immunglobulinen (IVIG) bei verschiedenen autoimmunen Erkrankungen, wie z. B. der Myasthenia Gravis, dem Lambert-Eaton-Syndrom, dem GBS, aber auch bei der MS therapeutisch ausgenutzt wird (Dalakas 1999). IVIG können durch Bindung einzelner Faktoren der Komplementkaskade die Aktivierung des Komplementsystems verhindern, durch Blockade des T-Zell-Rezeptors bzw. durch Blockade des Fc-Rezeptors eine Aktivierung von T-Zellen bzw. die Phagozytose durch Makrophagen unterbinden und durch Interaktion mit der Antigen-bindenden Region von Antikörpern deren Funktion beeinflussen (Stangel et al. 1999, Dalakas 1999).

Ausserdem können Anti-Myelin-Antikörper – zumindestens im Tiermodell- eine Remyelinisierung verstärken. Möglicherweise üben sie einen stimulierenden Einfluss auf die Oligodendrozyten oder deren Vorläuferzellen aus (Stangel et al. 1999).

Es ist denkbar, dass Gangliosid-Antikörper einen oder mehrere der genannten Effekte ausüben und so möglicherweise dämpfend auf die Krankheitsaktivität einwirken. Sollte sich in weiteren Studien bestätigen, dass Gangliosid-Antikörper bei stabilem Krankheitsverlauf erhöht sind, dann könnten Antikörper gegen Ganglioside möglicherweise einen Aktivitätsparameter für die MS darstellen.

Bisher fehlt ein einfach zu bestimmender und objektiv messbarer Parameter zur Beurteilung der Krankheitsaktivität bzw. ob eine Therapie erfolgreich ist (Galboiz u. Miller 2002). Zwar lässt sich die Krankheitsaktivität der MS gut mit Hilfe der Kernspintomographie darstellen, jedoch ist diese Methode teuer und zeitaufwendig, so dass sie im klinischen Alltag nicht routinemäßig zur Aktivitätsbestimmung und zur Kontrolle des Therapieerfolges verwendet wird. Gangliosid-Antikörper könnten hier als Aktivitätsparameter hilfreich sein. Ein Abfall der Antikörpertiter könnte dann die Entscheidung zum Beginn oder zum Wechsel einer immunsupprimierenden Therapie erleichtern.

Sehstörungen sind ein häufiges Symptom der MS. Zu Beginn der Erkrankung sind sie häufig Folge einer Optikusneuritis oder einer Retinitis, im weiteren Krankheitsverlauf treten sie eher infolge einer internukleären Ophthalmoplegie (Kappos 1999) auf. Es ist noch unklar, wieso es bei der MS so häufig zu Sehstörungen kommt. Möglicherweise sind spezielle Antikörper für den prädisponierenden Befall des visuellen Systems verantwortlich, wobei jedoch zu bedenken ist, dass die Retina frei von Myelin ist (Storch u. Lassmann 1997).

Das Gangliosid GQ1b findet sich in hoher Konzentration im N. Okkulomotorius und im N. Optikus und in geringerer Konzentration auch in den Nerven Aduzens und Trochlearis (Willimann et al. 1997, Chiba et al. 1997).

Antikörper gegen GQ1b finden sich bei über 90% der Patienten mit Miller-Fisher-Syndrom (MFS), einer Variante des GBS, die durch Areflexie, Ataxie und Ophthalmoplegie gekennzeichnet ist (Colding-Jorgensen u. Vissing 2001, Steck u. Kappos 1996). Antikörper gegen GQ1b finden sich ebenfalls bei Patienten mit GBS und Ophthalmoplegie, jedoch nicht bei Patienten mit GBS ohne Ophthalmoplegie. Es scheint somit, dass Antikörper gegen GQ1b relativ spezifisch für die Entwicklung einer Ophthalmoplegie sind (Willimann et al. 1997, Steck u. Kappos 1996).

Das MFS gilt, wie das GBS, als Erkrankung des peripheren Nervensystems. Es bestehen jedoch Zweifel, ob es bei beiden Krankheiten mitunter nicht auch zu einer Beteiligung des ZNS kommt (Yuan et al. 2000, Colding-Jorgensen u. Vissing 2001).

Mehrere Autoren berichten von Patienten mit klinisch gesichertem GBS bzw. MFS, bei denen sich pathologisch oder kernspintomographisch auch Läsionen im ZNS finden (Giroud et al. 1990, Colding-Jorgensen u. Vissing 2001).

Es ist denkbar, dass GQ1b bei der MS als Antigen wirkt. Antikörper gegen GQ1b könnten dann an der Entwicklung von Sehstörungen bei der MS eine Rolle spielen.

Die MS-Seren, die im Rahmen dieser Arbeit untersucht wurden, weisen insgesamt sehr niedrige Anti-GQ1b-Titer und signifikant niedrigere Antikörperspiegel auf als gesunde Kontrollpersonen. Wie zuvor erörtert, ist es unklar, weshalb so niedrige Anti-GQ1b-Titer gemessen wurden.

Lediglich in zwei der untersuchten Seren fanden sich erhöhte Anti-GQ1b-Titer, jedoch sind bei beiden Patienten während des bisherigen Krankheitsverlaufs keine Sehstörungen aufgetreten. Hingegen finden sich bei 7 Patienten, bei denen Sehstörungen festgestellt wurden, keine erhöhten Anti-GQ1b-Titer.

Anhand der hier vorgelegten Daten lässt sich somit vermuten, dass Antikörper gegen das Gangliosid GQ1b nicht mit der Entwicklung von Sehstörungen und auch nicht mit der Pathogenese der MS assoziiert sind.

Die Bedeutung von Gangliosid-Antikörpern bei der MS ist schwierig zu beurteilen, da die verschiedenen Arbeitsgruppen unterschiedliche Nachweismethoden verwendet haben und diese nicht miteinander vergleichbar sind. Ein weiteres Problem besteht darin, dass Gangliosid-Antikörper auch im Serum von gesunden Kontrollpersonen nachweisbar sind und keine allgemein akzeptierten Grenzwerte darüber vorliegen, ab wann Gangliosid-Antikörper-Titer pathologisch sind.

Erschwerend kommt hinzu, dass sich Gangliosid-Antikörper auch bei Patienten mit nicht neurologischen Autoimmunerkrankungen, wie z. B. dem systemischen Lupus Erythematosus (SLE) und der rheumatoiden Arthritis, aber auch bei Schlaganfall-Patienten und Patienten mit Schädel-Hirn-Trauma (SHT), finden. Jedoch sind bei diesen Patienten die Antikörper überwiegend vom IgM-Typ (Endo et al. 1984, Bansal et al. 1994).

Endo et al. (1984) berichten, dass sie bei 74% der Patienten mit MS gegenüber 55% der Patienten mit SLE erhöhte Antikörpertiter gegen ein oder mehrere Ganglioside gefunden haben. Allerdings fanden sich erhöhte Anti-Gangliosid-Titer in ähnlicher Frequenz bei Schlaganfall-Patienten und bei Patienten mit SHT (Endo et al. 1984).

Sadapour et al. (1998) haben bei MS-Patienten signifikant höhere Antikörpertiter für GM1 und GM3 gefunden als bei Patienten mit anderen neurologischen Erkrankungen, jedoch haben sie nur wenige Patienten mit Erkrankungen untersucht, bei denen erhöhte Gangliosid-Antikörper-Titer bekannt sind (GBS n=2, MMN n=1).

Matà et al. (1999) berichten über signifikant höhere Anti-GD1a-Titer bei MS-Patienten als bei Patienten mit anderen neurologischen Erkrankungen. Die

Patienten mit MS weisen auch höhere Anti-GD1a-Titer auf als Patienten mit GBS, jedoch weisen die zuletzt genannten höhere Anti-GM1-Spiegel auf als die MS-Patienten.

Um die Bedeutung von Gangliosid-Antikörpern bei der MS besser beurteilen zu können, wurden die Antikörpertiter der MS-Patienten mit denen von Patienten mit Erkrankungen des peripheren Nervensystems verglichen, bei denen normale bis leicht erhöhte bzw. deutlich erhöhte Gangliosid-Antikörper-Titer bekannt sind.

Bei den Erkrankungen der Gruppe NP1 (GBS, MFS, CIDP und MMN) sind deutlich erhöhte Anti-Gangliosid-Antikörper bekannt (Willison 1996, Willmann et al. 1997). Für die Erkrankungen der Gruppe NP2 (PNP und ALS) werden normale bis leicht erhöhte Anti-Gangliosid-Titer beschrieben (Adams et al. 1991, Pestronk et al. 1991, Steck u. Kappos 1996).

Die MS-Seren weisen vergleichbare Antikörperspiegel für GM1 und GD1b auf wie die Seren der Gruppe NP2, jedoch weisen sie signifikant niedrigere Antikörpertiter auf als die Seren der Gruppe NP1, bei denen erhöhte Anti-Gangliosid-Titer bekannt sind.

Adams et al. (1991) berichten Ähnliches. Sie fanden bei einer Gruppe von Patienten mit MS oder Myasthenia gravis in 40% der Fälle erhöhte Antikörpertiter gegen GM1, jedoch wiesen Patienten mit MMN häufiger und höhere Antikörperspiegel gegen GM1 auf.

Uetz von Allmen und Kollegen (1998) fanden bei Patienten mit GBS, CIDP oder MMN signifikant höhere Anti-GM1-Titer als bei MS-Patienten. Weiterhin berichten die Autoren über in der Tendenz höhere Antikörperspiegel gegen GM1 bei Patienten mit PNP oder Wurzelkompressionssyndrom als bei Patienten mit MS.

Giovannoni u. Mitarbeiter (2000) berichten über eher niedrige Anti-Gangliosid-Titern bei MS-Patienten. Zwar konnten sie in allen Seren von MS-Patienten Antikörper gegen GM1, GM3, GD1a, GT1b oder GQ1b nachweisen, jedoch lagen die gemessenen Antikörpertiter unter den in ihrem Labor sonst üblichen Cut-Off-Werten.

Schlussfolgerungen

Fasst man die verschiedenen Studien (Giovannoni et al. 2000, Matà et al. 1999, Sadaptipour et al. 1998, Uetz von Almen et al. 1998, Kasai et al. 1986, Stevens et al. 1992, Acarin et al. 1996) zum Vorkommen von Gangliosid-Antikörpern bei MS zusammen, so erhält man ein uneinheitliches Bild.

Auf Grund der hier vorgelegten Daten, scheint keine direkte Beteiligung von Antikörpern gegen die Ganglioside GM1, GD1b, GQ1b und MAG an der Pathogenese der MS zu bestehen, da die Antikörpertiter weder mit der Dauer der Erkrankung, noch mit dem Ausmaß der Behinderung (gemessen als EDSS) korrelieren. Außerdem weisen die MS-Patienten signifikant niedrigere Antikörperspiegel für GM1 und GD1b auf als Patienten mit Erkrankungen des peripheren Nervensystems (NP1), bei denen erhöhte Anti-Gangliosid-Antikörpertiter bekannt sind und mit dem Krankheitsverlauf assoziiert werden.

Es scheint jedoch denkbar, dass Antikörper gegen GM1 und GD1b sekundär an der Pathogenese der MS beteiligt sind. Möglicherweise entstehen Gangliosid-Antikörper infolge des Verlustes der Myelinscheiden oder einer Schädigung der Axone durch ein sogenanntes Epitope Spreading. Gangliosid-Antikörper wären somit indirekt mit der Pathogenese der MS assoziiert. Hierfür spricht einerseits, dass die MS-Patienten signifikant höhere Antikörpertiter für GD1b und in der Tendenz auch für GM1 aufweisen als gesunde Kontrollpersonen und andererseits die Tatsache, dass die MS-Patienten ähnliche hohe Antikörperspiegel aufweisen, wie Patienten mit PNP oder ALS (NP2), für die leicht bis mäßig erhöhte Anti-Gangliosid-Titer beschrieben sind.

Die hier vorgelegten Daten liefern jedoch keinen Hinweis darauf, dass Antikörper gegen das Gangliosid GQ1b mit der Entwicklung von Sehstörungen bei der MS assoziiert sind.

Weiterhin bestätigen die vorgelegten Daten die Hypothese von Sadaptipour et al. (1998) und Acarin et al. (1996) nicht, dass sich erhöhte Anti-Gangliosid-Titer vermehrt bei den chronisch progredienten Verlaufsformen der MS finden. Zwar weisen die Patienten mit SCP signifikant häufiger erhöhte Antikörperspiegel für GD1b auf als die Patienten mit PCP, jedoch unterscheidet sich die Höhe der

Antikörpertiter bei den verschiedenen Verlaufsformen nicht wesentlich voneinander.

Möglicherweise hängt die Höhe der Antikörpertiter nicht von der Verlaufsform, sondern von der Krankheitsaktivität ab. So weisen die Patienten mit stabiler MS signifikant höhere Antikörperspiegel für GM1 und in der Tendenz auch für GD1b auf als die Patienten mit aktiver MS. Sollte sich dieser Befund in weiteren Studien bestätigen, dann könnten Gangliosid-Antikörper möglicherweise bei der Beurteilung der Krankheitsaktivität hilfreich sein. Ein Abfall der Anti-GM1-Konzentrationen könnte dann möglicherweise die Entscheidung erleichtern, mit einer immunsupprimierende Therapie zu beginnen oder auf eine andere Therapie zu wechseln.

5. Zusammenfassung

Antikörper gegen die Ganglioside GM1, GD1b, GQ1b und gegen das Myelin-assoziierte-Glykoprotein (MAG) wurden im Serum von 75 Patienten mit MS gemessen. Knapp ein Drittel (29,3%) der untersuchten Seren weist erhöhte Titer für einen oder mehrere der gemessenen Antikörper auf. Die Antikörpertiter korrelieren jedoch weder mit der Dauer der Erkrankung noch mit dem Ausmaß der Behinderung (gemessen als EDSS).

Die MS-Patienten weisen gegenüber gesunden Kontrollpersonen signifikant höhere Antikörperkonzentrationen für GD1b und in der Tendenz auch für GM1 auf. Zwischen den MS-Patienten und Patienten mit PNP oder ALS besteht kein wesentlicher Unterschied in der Höhe der Antikörpertiter. Allerdings zeigen die MS-Patienten deutlich niedrigere Antikörperspiegel als Patienten mit GBS, MFS, CIDP oder MMN.

Antikörper gegen das Gangliosid GQ1b scheinen nicht mit der Entwicklung von Sehstörungen bei der MS assoziiert zu sein.

Zwischen den verschiedenen Verlaufsformen der MS besteht kein relevanter Unterschied hinsichtlich der Höhe der Anti-Gangliosid-Titer, auch wenn die Patienten mit SCP signifikant häufiger erhöhte Antikörperspiegel für GD1b aufweisen als die Patienten mit PCP.

Allerdings zeigen die Patienten mit stabiler MS signifikant höhere Antikörpertiter für GM1 als Patienten mit aktiver MS. Möglicherweise stellen Antikörper gegen GM1 somit einen Parameter zur Beurteilung der Aktivität der MS dar.

Literaturverzeichnis

Adams D., Kuntzer T., Burger D., Chiffon M., Magistris M.R., Regli F., Steck A.J.:
Predictive Value of anti-GM1 Ganglioside Antibodies in Neuromuscular Diseases: a Study of 180 Sera
Journal of Neuroimmunology 1991 (32), S. 223-230

Adams R., Victor M.:
Multiple Sklerose
Ausz. aus Adams R., Victor M: Principles of neurology
McGraw-Hill, New York; 1993
In Poser S. (Hrsg.) Taschenbuch Multiple Sklerose
Blackwell-Wissenschafts-Verlag, Berlin, Wien; 1996; S. 1 – 28

Acarin N., Rio J., Fernandez A.I., Tintore M., Duran I., Galan I., Montalban X.:
Different Antiganglioside Antibody Pattern Between Relapsing-Remitting and Progressive Multiple Sclerosis
Acta Neurologica Scandinavica 1996 (93), S. 99-103

Archelos J. J., Storch M., Hartung H.-P.:
The Role of B Cells and Autoantibodies in Multiple Sclerosis
Annals of Neurology 2000 (47), S. 694 – 706

Arnon R., Crisp E., Kelley R., Ellison G., Myers L., Tourtellote W.:
Anti-Gangliosid Antibodies in Multiple Sclerosis
Journal of the Neurological Sciences 1980 (46), S. 179 – 186

Bansal A.S., Abdul-Karim B., Malik R.A., Goulding P., Pumphrey R.S.H., Boulton A., Holt P., Wilson P.B.:
IgM Ganglioside GM1 Antibodies in Patients With Autoimmune Disease or Neuropathy, and Controls
Journal of Clinical Pathology 1994 (47), S. 300 – 302

Bereznai B., Goebels N., Dang T., Voltz R., Walther E., Zimmermann C., Hohlfeld R.:
Therapie der Multiplen Sklerose
Deutsche medizinische Wochenschrift 1999 (124), S. 595 – 599

Berger T., Rubner P., Schatzer F., Egg R., Ulmer H., Mayringer I., Dilitz E., Deisenhammer F., Reindl M.:
Antimyelin Antibodies as a Predictor fo Clinically Definite Multiple Sclerosis After a First Demyelinating Event
The New England Journal of Medicine, 2003 (349), S. 139 – 145

Biessels G.J., Franssenn H., van den Berg L.H., Gibson A., Kappelle L.J., Venables G.S., Wokke J.H.:
Multifocal Motor Neuropathy
Journal of Neurology, 1997 (244), S. 143 – 152

- Bjartmar C., Trapp B.D.:
Axonal and Neuronal Degeneration in Multiple Sclerosis: Mechanisms and Functional Consequences
Current Opinion in Neurology 2001 (14), S. 271 – 278
- Boggs J., Samji N., Adamo S.:
Immune Lysis of Lipid Vesicles Containing Myelin Basic Protein or Glycolipid Antigens by Multiple Sclerosis and Normal Sera
Journal of the Neurological Sciences 1984 (66), S. 339 – 348
- Bourdette D.N., Zalc B., Baumann N., Seil F.J.:
Antisera to the Ganglioside GM1 do not Have Anti-Myelin or Anti-Axon Activities in Vitro
Brain Research 1989 (478), S. 175-180
- Brück W., Neubert K., Berger T., Weber J.:
Clinical, Radiological, Immunological and Pathological Findings in Inflammatory CNS Demyelination – Possible Markers for an Antibody-Mediated Process
Current Opinion in Neurology 2001 (7), S. 173 – 177
- Chiba A., Kusunoki S., Obata H., Machinami R., Kanazawa I.:
Ganglioside Composition of the Human Cranial Nerves, With Special Reference to Pathophysiology of Miller Fisher Syndrome
Brain Research 1997 (745), S. 32 – 36
- Colding-Jorgensen E., Vissing J.:
Visual Impairment in Anti-GQ1b Positive Miller Fisher Syndrome
Acta Neurologica Scandinavica 2001 (103), S. 259 – 260
- Compston A., Coles A.:
Multiple Sclerosis
The Lancet 2002 (359), S. 1221 – 1231
- Cross A.:
MS: The Return of the B cell
Neurology 2000 (154), S. 1214-1215
- Cross A., Trotter J.L., Lyons J.-A.:
B Cells and Antibodies in CNS Demyelinating Disease
Journal of Neuroimmunology 2001 (112), S. 1 - 14
- Dalakas M.C.:
Intravenous Immunoglobulin in the Treatment of Autoimmune Neuromuscular Diseases: Present Status and Practical Therapeutic Guidelines
Muscle & Nerve 1999 (22), S. 1479 – 1497
- Endo T., Scott D., Stewart S., Kundu S., Marcus D.:
Antibodies to Glycosphingolipids in Patients with Multiple Sclerosis and SLE
The Journal of Immunology 1984 (132), S. 1793 – 1797

Flachenecker P., Hartung H.-P.:
Krankheitsverlauf und Prognose der Multiplen Sklerose
1. Teil: der natürliche Krankheitsverlauf
Nervenarzt 1996 (67), S. 435 – 443

Frick E.: Klinische Befunde
In Frick E. (Hrsg.): Multiple Sklerose ;2. Aufl.
Edition Medizin (Praktische Neurologie, Bd. 3)
VCH, Weinheim, Basel; 1989; S. 19 – 47

Galboiz Y., Miller A.:
Immunological Indicators of Disease Activity and Prognosis in Multiple
Sclerosis
Current Opinion in Neurology 2002 (15), S. 233 – 237

Giovannoni G., Hartung H.-P.:
The Immunopathogenesis of Multiple Sclerosis and Guillain-Barré-Syndrom
Current Opinion in Neurology 1996 (9), S. 165 - 177

Giovannoni G., Morris P., Keir G.:
Circulating Antiganglioside Antibodies Are Not Associated with the Development
of Progressive Disease or Cerebral Atrophy in Patients With Multiple Sclerosis
Annals of Neurology 2000 (47), S. 684 – 685

Giroud M., Mousson C., Chalopin J., Rifle G., Dumas R.:
Miller-Fisher Syndrome and Pontine Abnormalities on MRI: A Case Report
Journal of Neurology 1990 (237), S. 489 – 490

Hartung H.-P.:
Pathogenese der Multiplen Sklerose: Stand der Forschung
Wiener medizinische Wochenschrift 1996 (146), S. 520 – 527

Hartung H.-P., Toyka V.:
Immunpathologie und Immuntherapie
In Kunze K. (Hrsg.): Praxis der Neurologie, 2. Aufl.
Thieme ; Stuttgart, New York; 1999; S. 90 – 122

Harvey G.K., Toyka V., Zielasek J., Kiefer R., Simonis C., Hartung H.-P.:
Failure of Anti-GM1 IgG or IgM to Induce Conduction Block Following
Intraneural Transfer
Muscle & Nerve 1995 (18), S. 388-394

Heckl R.:
Neuropathologische Veränderungen (unter klinischem Aspekt)
In Heckl R. (Hrsg.):
Multiple Sklerose: Klinik, Differentialdiagnose, Behandlung
Thieme, Stuttgart, New York; 1994; S. 15 - 70

- Hemmer B., Cepok S., Nessler S., Sommer N.:
 Neue Forschungsansätze zur Therapie der Multiplen Sklerose
 Medizinische Klinik 2001 (96/Suppl. I), S. 23 – 28
- Hemmer B., Cepok S., Nessler S., Sommer N.:
 Pathogenesis of Multiple Sclerosis: An Update on Immunology
 Current Opinion in Neurology 2002 (15), S. 227 – 231
- Hickey W.:
 The Pathology of Multiple Sclerosis: A Historical Perspective
 Journal of Neuroimmunology 1999 (98), S. 37 – 44
- Hideki G., Steinman L., Lock C.:
 The Specificity of the Antibody Response in Multiple Sclerosis.
 Annals of Neurology 1998 (43), S. 4-5
- Hohlfeld R., Wekerle H.:
 Immunological Update on Multiple Sclerosis
 Current Opinion in Neurology 2001 (14), S. 299 – 304
- Iglesias A., Bauer J., Litzemberger T., Schubart A., Linnington C.:
 T- and B-Cell Responses to Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein in Experimental
 Autoimmune Encephalomyelitis and Multiple Sclerosis
 Glia 2001 (36), S. 220 – 234
- Jarius S., Hohlfeld R., Voltz R.:
 Diagnose und Therapie der Multiplen Sklerose
 Müncher medizinische Wochenschrift 2003 (145), Sonderheft 2, S. 88 – 95
- Kappos L.:
 Multiple Sklerose: diagnostisches Vorgehen und neue therapeutische
 Entwicklungen
 Schweizer medizinische Wochenschrift 1995 (125), S. 1251 – 1263
- Kappos L.:
 Entmarkungskrankheiten unter besonderer Berücksichtigung der multiplen
 Sklerose
 In Kunze K. (Hrsg.): Praxis der Neurologie , 2. Aufl.
 Thieme, Stuttgart, New York; 1999; S. 623 - 641
- Kasai N., Pachner A.R., Yu R.K.:
 Anti-Glycolipid Antibodies and Their Immune Complexes in Multiple Sclerosis
 Journal of the Neurological Sciences 1986 (75), S. 33-42
- Keegan B.M., Noseworthy J.H.:
 Multiple Sclerosis
 Annual Reviews in Medicine 2002 (53), S. 285 – 302

Kurtzke J. F.:
Rating Neurologic Impairment in Multiple Sclerosis: An Expanded Disability Status Scale (EDSS).
Neurology 1983 (11), S. 1444 - 1452

Lassmann H.:
Perspektiven der Multiple-Sklerose-Forschung
Wiener medizinische Wochenschrift 1996 (146), S.528 – 532

Lassmann H., Raine C.S., Prineas J.W.:
Immunopathology of Multiple Sclerosis: Report on an International Meeting Held at the Institute of Neurology of the University of Vienna
Journal of Neuroimmunology 1998 (86), S. 213-217

Link H.:
Myelin-associated Glycoprotein Autoantibodies
in Peter J.B., Schoenfeld Y. (Hrsg.): Autoantibodies
Elsevier Sciences B.V. 1996, S. 513 - 519

Lublin F.:
The Diagnosis of Multiple Sclerosis
Current Opinion in Neurology 2002 (15), S. 253 – 256

Lublin F., Reingold S.:
Defining the Clinical Course of Multiple Sclerosis: Results of an International Survey
Neurology 1996 (46), S. 907 - 911

Ludwin S.:
Understanding Multiple Sclerosis: Lesson From Pathology
Annals of Neurology 2000 (46) S. 691 - 693

Lucchinetti C., Brück W., Nosewothy J.:
Multiple Sclerosis: Recent Developments in Neuropathology, Pathogenesis, Magnetic Resonance Imaging Studies and Treatment
Current Opinion in Neurology 2001 (14), S. 259 – 269

Lucchinetti C., Brück W., Parisi J., Scheithauer B., Rodriguez M., Lassmann H.:
A Quantitative Analysis of Oligodendrocytes in Multiple Sclerosis Lesion:
A Study of 113 Cases
Brain 1999 (122), S. 2279 –2295

Lucchinetti C., Brück W., Parisi J., Scheithauer B., Rodriguez M., Lassman H.:
Heterogeneity of Multiple Sclerosis Lesions: Implications for the Pathogenesis
Annals of Neurology 2000 (47), S. 707-717

Matà S., Lolli F., Söderström M., Pinto F., Link H.:
Multiple Sclerosis is Associated With Enhanced B Cell Responses to the Gangliosid GD1a
Multiple Sclerosis 1999 (5), S. 379 – 388

Mc Donald W., Compston A., Edan G., Goodkin D., Hartung H.-P., Lublin F., McFarland H., Paty D., Polman C., Reingold S., Sandberg-Wollheim M., Sibley W., Thompson A., van den Noort S., Weinshenker B., Wolinsky J.:
Recommended Diagnostic Criteria for Multiple Sclerosis: Guidelines From the International Panel on the Diagnosis of Multiple Sclerosis
Annals of Neurology 2001 (50), S. 121 – 127

Mullin B.R., Montanaro A.J., Reid J.D., Nishimura N.:
Interaction of Multiple Sclerosis Serum With Liposomes Containing
Ganglioside GM1
Annals of Neurology 1980 (7), S. 587 – 590

MSTKG – MS-Therapie Konsensus Gruppe
Immunmodulatorische Stufentherapie der Multiplen Sklerose
Der Nervenarzt 2002 (73), S. 556 - 563

Neuhaus O., Wiendl H., Kieseier B. C., Archelos J. J., Hartung H.-P.:
Cholesterinsenker – eine neue Therapieoption bei Multipler Sklerose?
Der Nervenarzt 2003 (74), S. 704 – 708

Noseworthy J.H., Lucchinetti C., Rodriguez M., Weinshenker B.G.:
Multiple Sclerosis
The New England Journal of Medicine 2000 (343), S. 939 – 952

Paprounas K., O’Hanlon G.M., O’Leary C.P., Rowan E.G., Willison H.J.:
Anti-Ganglioside Antibodies can Bind Peripheral Nerve Nodes of Ranvier and the
Complement Cascade Without Inducing Acute Conduction Block in Vitro
Brain 1999 (122), S. 807 - 816

Pestronk A.:
Invited Review: Motor Neuropathies, Motor Neuron Disorders and Antiglycolipid
Antibodies
Muscle & Nerve 1991 (14), S. 927 - 936

Poser C., Paty D., Scheinberg L., McDonald I., Davis F., Ebers G., Johnson K.,
Sibley W., Silberberg D., Tourtellotte W.:
New Diagnostic Criteria for Multiple Sclerosis: Guidelines for Research Protocols
Annals of Neurology 1983 (13), S. 227 – 231

Poser S.:
Kapitel 3: Diagnose
In Poser S. (Hrsg.): Taschenbuch Multiple Sklerose
Blackwell-Wissenschafts-Verlag, Berlin, Wien; 1996; S. 53 – 83

Quarles R.H., Weiss M.D.:
Autoantibodies Associated With Peripheral Neuropathy
Muscle & Nerve 1999 (22), S. 800-822

- Raine C.S., Cannella B., Hauser S., Genain C.:
Demyelination in Primate Autoimmune Encephalomyelitis and Acute Multiple Sclerosis Lesions: A Case for Antigen-Specific Antibody Mediation
Annals of Neurology 1999 (46), S. 144 – 160
- Reindl M., Linnington C., Brehm U., Egg R., Dilitz E., Deisenhammer F., Poewe W., Berger T.:
Antibodies Against the Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein and the Myelin Basic Protein in Multiple Sclerosis and Other Neurological Diseases:
A Comparative Study
Brain 1999 (122), S. 2047 – 2056
- Roberts M., Willison H., Vincent A., Newsom-Davis J.:
Serum Factor in Miller-Fisher Variant of Guillain-Barre Syndrome and Neurotransmitter Release.
The Lancet 1994 (343), S. 454-455
- Roberts M., Willison H.J., Vincent A., Newsom-Davis J.:
Multifocal Motor Neuropathy Human Sera Block Distal Motor Nerve Conduction in Mice
Annals of Neurology 1995 (38), S. 111-118
- Rodriguez M., Siva A., Ward J., Stolp-Smith K., O'Brien P., Kurland L.:
Impairment, Disability, and Handicap in Multiple Sclerosis: A Population-Based Study in Olmsted County, Minnesota
Neurology 1994 (44), S. 28 - 33
- Rosche B., Kieseier B., Hartung H. P., Hemmer B.:
Neue Einblicke in die Immunpathogenese der Multiplen Sklerose
Der Nervenarzt 2003 (74), S. 654 - 663
- Sadapour B., Greer J., Pender M.:
Increased Circulating Antiganglioside Antibodies in Primary and Secondary Progressive Multiple Sclerosis
Annals of Neurology 1998 (44), S. 980 – 983
- Sandhoff K.:
Biochemie der Ganglioside
In Krämer G. (Hrsg):
Ganglioside: Biologie, Biochemie, Pharmakologie und klinische Anwendung
Thieme, Stuttgart, New York; 1988; S. 7 – 13
- Santoro M., Unicini A., Corbo M., Staugaitis S.M., Thomas F.P., Hays A.P., Latov N.:
Experimental Conduction Block Induced by Serum From a Patient With Anti-GM1 Antibodies
Annals of Neurology 1992 (31), S. 385-390

- Schmidt R., Kissig B., Enke H.:
Epidemiologie der Multiplen Sklerose
In Schmidt R. (Hrsg.):
Multiple Sklerose: Epidemiologie, Diagnostik und Therapie
Fischer, Jena; 1992; S. 21 – 35
- Scolding N., Franklin R.:
Axon Loss in Multiple Sclerosis
The Lancet 1998 (352), S. 340 – 341
- Sommer N., Zipp F., Dichgans J., Martin R.:
Der Einfluss genetischer Faktoren auf die Multiple Sklerose
Der Nervenarzt 1996 (67), S. 457 – 464
- Stangel M., Toyka K., Gold R.:
Mechanisms of High-Dose Intravenous Immunoglobulins in Demyelinating Diseases
Archives of Neurology 1999 (56), S. 661 – 663
- Steck A.J., Kappos L.:
Chapter 7: Changing Concepts in Inflammatory and Paraneoplastic Neuropathies
in Current Neurology, Mosby Year Book Inc.; 1996; S. 191-212
- Steck A., Schaeren Wiemers N.:
Multiple Sklerose: Epidemiologie, molekulare Pathologie und Therapie
Schweizer medizinische Wochenschrift 1999 (129), S. 1764 – 1768
- Stefflerl A., Brehm U., Storch M., Labracht-Washington D., Bourquin C.,
Wonigeit K., Lassman H., Linington C.:
Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein Induces Experimental Autoimmun
Encephalomyelitis in the „Resistant“ Brown Norway Rat: Disease Susceptibility
Is Determined by MHC and MHC-Linked Effects on the B Cell Response
The Journal of Immunology 1999 (163), S. 40 – 49
- Stevens A., Weller M., Wiethölter H.:
CSF and Serum Ganglioside Antibody Patterns in MS.
Acta Neurologica Scandinavica 1992 (86), S. 485-489
- Storch M., Lassman H.:
Pathology and Pathogenesis of Demyelinating Diseases
Current Opinion in Neurology 1997 (10), S. 186 – 192
- Storch M., Piddlesden S. Hatita M., Iivanainen M., Morgan P., Lassmann H.:
Multiple Sclerosis: In Situ Evidence for Antibody and Complement-Mediated
Demyelination
Annals of Neurology 1998 (43), S. 465 – 471
- Takigawa T., Yasuda H., Kikkawa R., Shigeta Y., Saida T., Kitasato H.:
Antibodies Against GM1 Ganglioside Affect K⁺ and Na⁺ Currents in Isolated rat
Myelinated Nerve Fibers.
Annals of Neurology 1995 (37), S. 436-442

Thomas F.P., Trojaborg W., Nagy C., Santoro M., Sadiq S.A., Latov N.,
Hays A.P.:
Experimental Autoimmune Neuropathy With Anti-GM1 Antibodies and
Immunoglobulin Deposits at the Nodes of Ranvier.
Acta Neuropathologica 1991 (82), S. 378-383

Trebst C., Ransohoff R.M., Windhagen A., Stangel M.:
Chemokine: Neue Therapieansätze für die Multiple Sklerose?
Der Nervenarzt 2003 (74), S. 850 – 857

Tüllner H.-U.:
Pharmakologische Wirkung von Gangliosiden bei experimentellen peripheren
Neuropathien unterschiedlicher Genese
In Krämer G. (Hrsg)
Ganglioside: Biologie, Biochemie, Pharmakologie und klinische Anwendung
Thieme, Stuttgart, New York; 1988; S. 35 - 49

Unicini A., Santoro M., Corbo M., Lugaesi A., Latov N.:
Conduction Abnormalities Induced by Sera of Patients With Multifocal Motor
Neuropathy and Anti-GM1 Antibodies
Muscle & Nerve 1993 (16), S. 610-615

Uetz von Allmen E., Sturzenegger M., Rieben R., Rihs F., Frauenfelder A.,
Nydegger U.E.:
Antiganglioside GM1 Antibodies and Their Complement Activating Capacity in
Central and Peripheral Nervous System Disorders and in Controls
European Neurology 1998; 39; S. 103-110

Wekerle H.:
Remembering MOG: Autoantibody Mediated Demyelination in Multiple
Sclerosis?
Nature Medicine 1999 (5), S. 153-154

Westland K.W., Pollard J.D., Sander S., Bonner J.G., Linington C., McLeod J.G.:
Activated Non-Neural Specific T Cells Open the Blood-Brain Barrier to
Circulating Antibodies
Brain 1999 (122), 1283 – 1291

Wiegandt H.:
Daten zur Geschichte der Ganglioside
In Krämer G. (Hrsg.)
Ganglioside: Biologie, Biochemie, Pharmakologie und klinische Anwendung
Thieme, Stuttgart, New York; 1988; S. 3 – 6

Willmann P., Lechner-Scott J., Ferracin F., Mieschr G., Steck A.J.:
Klinische Bedeutung der Anti-GQ1b-Antikörper bei Patienten mit Miller-Fisher-
Syndrom
Aktuelle Neurologie 1997 (24), S. 60-70

Willison H.J.:
Ganglioside Autoantibodies
in: Peter J.B. and Shoenfeld Y. (Hrsg): Autoantibodies
Elsevier Science B.V. 1996, S. 277-284

Willison H.J., O'Hanion G., Paterson G., O'Leary C.P., Veitch J., Wilson G.,
Roberts M., Tang T., Vincent A.:
Mechanism of Action of Anti-Gm1 and Anti-GQ1b Ganglioside Antibodies in
Guillain-Barré-Syndrome
The Journal of Infectious Diseases 1997 (176 Suppl 2), S. 144-149

Wujek J.R., Bjartmar C., Richer E., Rasonhoff R., Yu M., Tuohy V., Trapp B.D.:
Axon Loss in the Spinal Cord Determines Permanent Neurological Disability in
an Animal Model of Multiple Sclerosis
Journal of Neuropathology and Experimental Neurology 2002 (61), S. 23 – 32

Yan W.X., Taylor J., Andrias-Kauba S., Pollard J.D.:
Passive Transfer of Demyelination by Serum or IgG from Chronic inflammatory
Demyelinating Polyneuropathy Patients
Annals of Neurology 2000 (47), S. 765 – 775

Yuan C.L., Wang Y.J., Tsai C.P.:
Miller Fisher Syndrome: A Hospital-Based Retrospective Study
European Neurology 2000 (44), S. 79-85

Anhang

Danksagung

Ich danke ganz besonders Herrn Dr. med. C. Heesen für seine gute und engagierte Betreuung der Arbeit. Wann immer Fragen oder Probleme auftauchten stand er mir mit Rat und Tat zur Seite. Mit seiner geduldigen Art und seiner Fähigkeit, mich immer wieder zu motivieren, hat er mir bei der Fertigstellung der Arbeit sehr geholfen.

Ich danke Frau Tessmer und Frau Dieux, die mir bei der Durchführung der Versuche und bei allen Fragen rund um die Tätigkeit im Labor zur Seite standen.

Ich danke Herrn Dr. Cotti und Herrn Dr. Meier von der Firma Bühlmann Laboratories, die mir freundlicherweise die Daten der Blutspender zur Verfügung gestellt haben.

Ein besonderer Dank gilt auch meinen Eltern und meinen Geschwistern, deren Zuspruch und moralische Unterstützung mir sehr geholfen hat.

Lebenslauf

Name: Christoph Kunde

Adresse: Bleichstr. 125
33607 Bielefeld

Geburtsdatum: 09.02.1974 in Essen

Staatsangehörigkeit: deutsch

Familienstand ledig

Ausbildung:

1980 – 1984 Grundschule Bad Salzuflen

1984 – 1993 Gymnasium Bad Salzuflen

Juni 1993 Erwerb der allgemeinen Hochschulreife

Juli 1993 – Mai 1994 Grundwehrdienst als Sanitätssoldat

Mai 1994 – April 2002 Studium der Humanmedizin in Hamburg

September 1996 Ärztliche Vorprüfung

August 1997 1. Abschnitt der ärztlichen Prüfung
(1. Staatsexamen)

September 2000 2. Abschnitt der ärztlichen Prüfung
(2. Staatsexamen)

Oktober 2000 – Forschungssemester

Januar 2001 Beginn mit der Promotionsarbeit,
Durchführung der Laborversuche

Feb. 2001 – Feb. 2002 Beginn mit dem Praktischen Jahr in Hamburg
(Wahlfach Gynäkologie)

Mai 2002 Abschluss des Medizinstudiums mit dem
3. Abschnitt der ärztlichen Prüfung
(3. Staatsexamen)

seit Dezember 2002 Tätigkeit als AiP/Assistenzarzt in der
Medizinischen Klinik
des Klinikums Rosenhöhe/ Bielefeld

Bielefeld im Januar 2005

Christoph Kunde

Liste der verwendeten Laborgeräte

Gerät	Hersteller und Bezeichnung
Mikrotiter-Platten-Shaker	MWG HB-0407N
Pipette 0,5 – 10 µl	eppendorf 4860000.011
Pipettenspitzen 0,5 – 10µl	eppendorf 0030000854
Pipette 100 – 5000µl	eppendorf 4860000577
Pipettenspitzen 100 – 5000µl	eppendorf 0030000978
Variopipette 50 –1200µl (8-Kanal)	eppendorf 4860000577
Pipettenspitzen	eppendorf 0030000878
Zentrifuge (5000 U/min)	eppendorf 5415 C
Wirbelmischer f. Serumröhrchen	Heidolph Reax 2000
Gefrierschrank (-80 ⁰ C)	Colora E 80-4509
Kühlschrank (2 - 6 ⁰ C)	Liebherr FKS-5000-1
Mikrotiter-Platten-Reader	MWG TC-2500-HE
Software	Softmax von MWG
Enzym Immuno Assay anti-MAG Antikörper	Bühlmann Laboratories AG Allschwil/ Schweiz

Enzym Immuno Assay

anti-GQ1b Antikörper

Enzym Immuno Assay

anti-GM1 Antikörper

Enzym Immuno Assay

anti-GD1b Antikörper

Bühlmann Laboratories AG

Allschwil/ Schweiz

Bühlmann Laboratories AG

Allschwil/ Schweiz

Bühlmann Laboratories AG

Allschwil/ Schweiz

Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht an einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

.....