

Aus der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie
Zentrum für psychische Erkrankungen
der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg i. Br.

**Prävalenz einer intrathekalen Antikörpersynthese
gegen neurotrope Erreger bei Patienten mit
Bipolarer Störung**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung des Medizinischen Doktorgrades

der Medizinischen Fakultät

der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg i. Br.

Vorgelegt 2013

von Tamara Antje Andres

geboren in Karlsruhe

Dekan: Prof. Dr. Dr. h.c. mult. Hubert E. Blum

1. Gutachter: PD Dr. med. J. Langosch

2. Gutachter: PD Dr. med. O. Stich

Jahr der Promotion: 2013

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....	5
Einleitung.....	7
1.1 Die Bipolare Störung.....	7
1.1.1 Klinische Manifestationen.....	7
1.1.2 Epidemiologie.....	8
1.1.3 Ätiologie.....	9
1.1.3.1 Genetik.....	9
1.1.3.2 Umweltfaktoren und Infektionshypothese.....	9
1.1.4 Pathophysiologie	14
1.2 Liquordiagnostik.....	15
1.2.1 Bedeutung der Liquordiagnostik.....	15
1.2.2 Intrathekale Antikörpersynthese und Antikörperspezifitätsindex.....	17
1.3 Fragestellung.....	19
Patienten, Material und Methoden.....	20
2.1 Probandenkollektiv.....	20
2.1.1 Studienpatienten.....	20
2.1.2 Kontrollkollektiv.....	23
2.2 Material.....	25
2.2.1 Gebrauchsmaterialien.....	25
2.2.2 Geräte.....	25
2.3 Methoden.....	26
2.3.1 Prinzip der Bestimmung einer intrathekalen Antikörpersynthese mit quantitativen Methoden.....	26
2.3.2 Prinzip des ELISA.....	30
2.3.3 Statistische Methoden.....	32
Ergebnisse.....	33
3.1 Demographische Daten.....	33
3.2 Ergebnisse aus der Routinediagnostik.....	36
3.2.1 CSF-Routineparameter der Patientenkollektive.....	36
3.3 Ergebnisse der erregerspezifischen ELISA-Untersuchungen.....	40
3.3.1 Seroprävalenz.....	40
3.3.2 Antikörperspezifitätsindex.....	43
3.3.3 Humorale Immunreaktion.....	48
Diskussion.....	54
4.1 Infektionshypothese der Bipolaren Störung.....	54
4.2 Polyspezifische Antikörpersynthese als Marker für eine humorale Immunreaktion.....	57
4.3 Charakterisierung der Patienten mit Auffälligkeiten im Liquor.....	62
4.4 Limitationen.....	63
4.5 Ausblick.....	65
Zusammenfassung	67

Literaturverzeichnis.....68
Publikationen.....77
Danksagung.....78
Lebenslauf.....79

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
AI	Antikörper-Index
C	Konzentration
CMV	Cytomegalievirus
cMRT	zerebrale Magnetresonanztomographie
CRP	C-reaktives Protein
CSF	Cerebrospinal Fluid (Liquor cerebrospinalis)
DSM-IV	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition, 1994 (American Psychiatric Association, 1400 K Street NW Suite 1101, Washington, DC 20005 – 2403 USA)
EBNA 1	Epstein Barr nuclear antigen 1
EBV	Epstein-Barr-Virus
EEG	Elektroenzephalographie
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
EM	Erstmanifestation
FA	Familienanamnese
HIV	Humanes Immundefizienz-Virus
HSV	Herpes simplex-Virus
ICD-10	International Classification of Diseases and Related Health Problems, 10 th edition (Internationale statistische Klassifikation der Krankheiten und verwandter Gesundheitsprobleme, 10. Auflage)
IFN	Interferon
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
LP	Lumbalpunktion
MS	Multiple Sklerose
OD	optische Dichte
PCR	Polymerase chain reaction (Polymerasekettenreaktion)
PTC	Pseudotumor cerebri

Q	Quotient
RC	Rapid Cycling
Tab.	Tabelle
T. gondii	Toxoplasma gondii
TNF	Tumornekrose-Faktor
WHO	World Health Organization (Weltgesundheitsorganisation)
ZNS	Zentrales Nervensystem

Einleitung

1.1 Die Bipolare Störung

Die Bipolare Störung ist eine schwerwiegende und häufige psychische Erkrankung, die großes Leid für Betroffene und deren Angehörige bedeutet. Nach Schätzungen der Weltgesundheitsorganisation (WHO) sorgt die Bipolare Störung für 0,9 % der weltweiten Krankheitslast. Sie liegt nach Angaben der WHO weltweit an neunter Stelle hinsichtlich eines Verlustes an „gesunden“ Lebensjahren, gemessen in von Behinderung bereinigten Lebensjahren („disability adjusted life years“, DALY) [1].

1.1.1 Klinische Manifestationen

Die Betroffenen leiden in depressiven Phasen vor allem unter einer gedrückten Stimmung und einer Antriebsminderung bzw. -hemmung. Auch andere Symptome, die während einer depressiven Episode im Rahmen einer monopolen Erkrankung auftreten, können beobachtet werden. Die Manie (bzw. Hypomanie als weniger ausgeprägte Form) zeichnet sich vor allem durch eine euphorische oder auch gereizte Stimmung und ein erhöhtes Antriebsniveau bis hin zur Getriebenheit aus. Beide Manifestationen können durch synthyme, das heißt zur Stimmungslage kongruente, Wahnsymptome begleitet werden [2].

Die Klassifikation psychischer Störungen der Amerikanischen Psychiatrischen Vereinigung (DSM-IV) unterscheidet verschiedene Verlaufsformen der

Erkrankung: Die Bipolar-I-Störung, die durch das Auftreten von mindestens einer manischen Episode gekennzeichnet ist, die Bipolar-II-Störung, bei der depressive und hypomanische Episoden vorkommen, die Zylothymie, deren Phasen veränderter Stimmungs- und Antriebslage nie die Kriterien für eine depressive bzw. manische oder hypomanische Episode erfüllen, und die nicht näher bezeichnete Bipolare Störung [3].

1.1.2 Epidemiologie

Die Bipolare Störung ist eine häufige Erkrankung. Die Lebenszeitprävalenz in der Weltbevölkerung wird mit 0,2 bis 6 % angegeben, abhängig u.a. von der Definition der Diagnose [1]. Die Krankheit ist mit einer signifikanten Letalität verbunden: Etwa 25 % der Patienten unternehmen Selbsttötungsversuche, 11 % versterben an Suizid. Bei der Bipolar-I-Störung werden keine Geschlechtsunterschiede beobachtet. Die Bipolar-II-Störung betrifft Frauen etwas häufiger als Männer. Das „Rapid Cycling“, welches sich durch vier oder mehr Krankheitsepisoden in einem Jahr auszeichnet, betrifft ebenfalls gehäuft Frauen. Das mittlere Alter bei Erstmanifestation beträgt 21 Jahre. Patienten mit Bipolarer Störung leiden häufig zusätzlich an einer weiteren psychischen Erkrankung. Zu diesen überzufällig oft komorbid auftretenden Krankheiten gehören der Substanzmissbrauch, das Aufmerksamkeitsdefizit-Hyperaktivitäts-Syndrom, die Panikstörung und Impulskontrollstörungen [3, 4].

1.1.3 Ätiologie

Die Ätiologie der Bipolaren Störung ist noch ungeklärt. Es wird eine multifaktorielle Genese, bei der sowohl genetische als auch Umweltfaktoren zusammenwirken, angenommen [3, 4].

1.1.3.1 Genetik

Eine genetische Beteiligung an der Entwicklung der Bipolaren Störung gilt als gesichert. Zahlreiche Familien-, Zwillings- und Adoptionsstudien liefern Hinweise darauf [4]. Es wird über mögliche Assoziationen mit Regionen auf unterschiedlichen Chromosomen berichtet, trotz intensiver Bemühungen zahlreicher Arbeitsgruppen ist es bisher jedoch nicht gelungen, bestimmte für die Entwicklung der Erkrankung ursächliche Gene oder Genloci sicher zu identifizieren [3, 5-7]. Oligogenetische Zusammenhänge, CNVs (copy number variants) oder alternatives Splicen werden hinsichtlich der Ätiologie komplexer psychiatrischer Erkrankungen wie der Bipolaren Störung diskutiert [7-9].

1.1.3.2 Umweltfaktoren und Infektionshypothese

Zu den Umweltfaktoren, die neben einer genetischen Disposition Einfluss auf Entstehung und Verlauf einer Bipolaren Störung nehmen können, werden prä- und perinatale Einflüsse sowie Ereignisse in früher Kindheit und Jugend gezählt. So weisen epidemiologische Beobachtungen darauf hin, dass ein hohes Alter des Vaters, Hypoxie, Mangelernährung und mütterlicher Stress in utero, Geburts- und

Kindheitstraumata, ein belastendes Umfeld und chronischer Stress in Kindheit und Jugend, Migration, früher Konsum von Cannabis und anderen Drogen sowie belastende Lebensereignisse, wie zum Beispiel Tod von Angehörigen, Scheidung oder Arbeitslosigkeit, und Desynchronisation zirkadianer Rhythmen das Risiko, an einer Schizophrenie oder Bipolaren Störung zu erkranken, steigern können [3, 10-12].

Zahlreiche Untersuchungen liefern Hinweise darauf, dass auch infektiöse Agenzien hier eine Rolle spielen könnten [13-26, 29]. Die „Infektionshypothese“ psychischer Erkrankungen wird schon seit Langem erforscht. Bereits Eugen Bleuler (1857 - 1939), einer der ersten Beschreiber der Schizophrenie, und Emil Kraepelin (1856-1926), der den Begriff „manisch-depressives Irresein“ prägte, setzten sich mit diesem Thema auseinander. So forderte Bleuler 1911, dass „die Verbindung der Schizophrenie zu infektiösen Prozessen eines weiterführenden Studiums bedarf“. Kraepelin stimmte zu, indem er postulierte „Infektionen in den Jahren der Entwicklung könnten eine kausale Signifikanz besitzen“ [13]. Neurotropismus und die Fähigkeit zur Latenz sind virale Eigenschaften, die grundsätzlich einen Zusammenhang zwischen chronischen psychischen Erkrankungen und infektiösen Agenzien möglich erscheinen lassen [13].

Tierversuche stützen die Vorstellung, dass infektiöse Agenzien prinzipiell Verhaltensänderungen bei infizierten Organismen auslösen können. So verlieren beispielsweise mit dem Protozoon *Toxoplasma gondii* infizierte Mäuse und Ratten ihre Scheu vor Katzengeruch, was zu einer erhöhten Wahrscheinlichkeit führt, dass das Tier von einer Katze gefangen und gefressen werden kann. Da die Katze

den Endwirt des Protozoons darstellt und es nur hier seinen Entwicklungszyklus vervollständigen kann, stellt die Induktion der Verhaltensänderung des Nagers einen evolutionären Vorteil für *Toxoplasma gondii* dar [14].

Auch beim Menschen gibt es Infektionen mit Agenzien, von denen bekannt ist, dass sie Verhaltensänderungen und psychotische Symptome auslösen können. Dazu gehören unter anderem *Treponema pallidum*, der Erreger der Syphilis, *Borrelia burgdorferi*, Erreger der Lyme-Borreliose, und Rabies-Viren, die die Tollwut verursachen [14, 27]. Infektionen mit HSV, EBV, CMV, Influenza, Masern, Röteln, Mumps, Polio-, Coxsackieviren, HIV, Bornavirus und *T. gondii* können sich in einigen Fällen mit psychiatrischen Symptomen manifestieren [14]. Ebenso ist bekannt, dass infektiöse Agenzien in der Lage sind, mit menschlichen Genen zu interagieren [14].

Auch epidemiologische Beobachtungen an Schizophrenen und bipolar Erkrankten weisen auf eine mögliche ursächliche Beteiligung eines infektiösen Agens hin. Die Verteilung der Geburten von schizophrenen oder bipolaren Patienten im Jahresverlauf mit Überwiegen im Winter und Frühjahr stimmt mit der Beobachtung überein, dass Viren das ZNS unter kalten Bedingungen leichter infizieren können. Eine höhere Rate an Schwangerschafts- und Geburtskomplikationen, möglicherweise durch Infektionen getriggert, das häufigere Auftreten von Schizophrenie und Bipolarer Störung in Städten, wo Menschen enger zusammenleben und sich Infektionen deshalb leichter ausbreiten können, und die höhere Prävalenz der Störungen bei Menschen, die mit älteren Geschwistern, einer Quelle viraler Infektionen, aufwachsen, werden von Yolken und Torrey

ebenfalls als Hinweise auf einen möglichen Zusammenhang zwischen chronischen psychischen Erkrankungen und infektiösen Agenzien gewertet [13, 28].

Untersuchungen zur Rolle mikrobieller Agenzien in der Ätiologie psychischer Störungen schließen vor allem neurotrophe Viren, wie z.B. das HI- oder Borna-Disease-Virus, aber auch das Hepatitis C-, Influenza- und Coronavirus ein. Auch ein ursächlicher Zusammenhang zwischen schweren psychischen Erkrankungen und Infektionen mit Viren aus der Herpesgruppe, zu denen unter anderem das Herpes simplex-Virus, das Cytomegalievirus und das Epstein-Barr-Virus zählen, sowie dem Protozoon *Toxoplasma gondii* wurden mehrfach untersucht. Die Studien kommen jedoch zu voneinander abweichenden Ergebnissen. Es konnte bisher kein Erreger sicher mit der Ätiologie der Schizophrenie oder der Bipolaren Störung assoziiert werden [13].

Versuche, einen direkten Nachweis viraler Infektionen bei Patienten mit chronischen psychischen Erkrankungen über virale Antigene, virales Genom, cytopathischen Effekt oder Transmissionsversuche im Tiermodell zu erbringen, gelangen nicht konsistent.

Verschiedene Arbeitsgruppen wiesen Antikörper gegen virale Bestandteile im Serum, teilweise auch im Liquor, von an Schizophrenie und Bipolarer Störung erkrankten Menschen nach. Doch auch diese Ergebnisse konnten nicht zuverlässig bestätigt werden [13].

Einige Untersuchungen kommen zu dem Schluss, dass mütterliche Infektionen mit Röteln, HSV-2 und *T. gondii* die Inzidenz psychotischer Erkrankungen bei den

Nachkommen erhöhen. Andere Studien bestätigen dies jedoch nicht [14]. Ein fast vierfach erhöhtes Risiko für Bipolare Störungen bei den Nachkommen wurde bei mütterlicher Exposition mit Influenza während der Schwangerschaft gezeigt [29]. Vermehrtes Auftreten von Schizophrenien wurde bei Erwachsenen beobachtet, die in der Kindheit eine virale oder bakterielle Meningitis erlitten hatten.

Besonders zahlreiche Untersuchungen zu einer Rolle in der Ätiologie der Bipolaren Störung gibt es für die Familie der Herpesviren und das Protozoon *Toxoplasma gondii* [14-19]. Eine Metaanalyse über 23 Studien ergab eine Odds ratio von 2,73 (95 % CI 2.1 – 3.6, $p < 0.0000001$) und damit einen Hinweis auf eine moderate Assoziation des Risikos einer Schizophrenie mit serologischem Nachweis einer Infektion mit *T. gondii* [14]. Die Studienlage zu einem möglichen Zusammenhang zwischen einer Infektion mit Cytomegalieviren und psychischen Erkrankungen ist uneinheitlich. Es gibt sowohl Studien, die eine positive Korrelation von CMV-Seropositivität und Schizophrenie zeigen, als auch Untersuchungen, die dies nicht bestätigen. In einem Review berichten Yolken und Torrey über acht Untersuchungen, die Anti-CMV-Antikörper im Liquor schizophrener Patienten nachwiesen. Die Hälfte der Arbeitsgruppen fand bei den Schizophrenie-Patienten erhöhte Antikörper im Liquor, die andere Hälfte nicht. Es liegen außerdem Berichte über Liquor-Antikörper gegen Masern- und Mumpsviren bei psychiatrischen Patienten vor [14].

1.1.4 Pathophysiologie

Wie die Ätiologie ist auch die Pathophysiologie der Bipolaren Störung Gegenstand intensiver Forschungsbemühungen. Biochemische und pharmakologische Untersuchungen legen eine Beteiligung der Neurotransmitter der Katecholamin-Klasse sowie des Serotonins nahe. In neuropathologischen Untersuchungen zeigten sich Läsionen in den Frontal- und Temporallappen mit der Bipolaren Störung assoziiert [3]. Zahlreiche zerebrale Bildgebungsstudien wurden zur Bipolaren Störung durchgeführt. So fanden Chen et al. in ihrem Review über fMRI-Studien bei Patienten mit Bipolarer Störung eine abnormale fronto- limbische Aktivität. Im Vergleich zu gesunden Probanden zeigten die an Bipolarer Störung erkrankten Patienten verminderte Aktivität im inferioren frontalen Kortex und im Putamen sowie eine Überaktivität in Arealen des limbischen Systems [30].

In der Literatur finden sich außerdem zahlreiche Hinweise auf eine Beteiligung des Immunsystems an der Pathophysiologie der Bipolaren Störung [31-49]. Über ein gehäuftes Auftreten von Autoimmunkrankheiten bei manisch-depressiven Patienten [41], von der Normalbevölkerung abweichende Reaktionen der Hypothalamus-Hypophysenachse, verstärkte Reaktionen im CRH-Test und eine relative Glukokortikoidresistenz bei Menschen mit Bipolarer Störung [42, 43] wird berichtet. Auch Untersuchungen von Zytokinen in Serum und Liquor weisen auf Veränderungen des Immunprofils bei der Bipolaren Störung hin [31-33, 44-47]. Goldstein et al. fassten die in der Literatur zu findenden Erkenntnisse über immunologische Zusammenhänge bei psychischen Erkrankungen in einem systematischen Review zusammen. Sie kommen dabei zu dem Schluss, dass

Entzündung in mehrfacher Hinsicht relevant ist für die Bipolare Störung [44]. Unter anderem stützen auch genetische Studien den vermuteten Zusammenhang zwischen Entzündungsvorgängen und der Bipolaren Störung [44].

Die Hypothese, dass Entzündungsvorgänge eine Rolle in der Pathophysiologie der bipolaren Erkrankung spielen könnten, wird auch durch die Beobachtung gestützt, dass anti-entzündliche Substanzen zu einer Besserung psychischer Symptome führen können. In mehreren Untersuchungen wurden positive Auswirkungen des Cyclooxygenase-2-Hemmers Celecoxib als Adjuvans in der Therapie der Bipolaren Störung, der Schizophrenie und der Depression gefunden [35, 44]. Weiterhin zeigten mehrere klinische und präklinische Studien anti-entzündliche Effekte der Stimmungsstabilisierer, insbesondere von Lithium, dem gebräuchlichsten Medikament in der Phasenprophylaxe der Bipolaren Störung [44]. Weiterhin wurde gezeigt, dass Lithium und Antipsychotika die Expression pro-inflammatorischer Gene herunterregulieren können [44].

1.2 Liquordiagnostik

Analysen der Zusammensetzung des Liquor cerebrospinalis gehören zu den wichtigsten Untersuchungen innerhalb der medizinischen Diagnostik.

1.2.1 Bedeutung der Liquordiagnostik

Die Liquoranalyse gilt als einer der Hauptpfeiler und unverzichtbar in der Diagnostik vieler neurologischer Erkrankungen [50]. Besondere Bedeutung kommt

ihr bei der Diagnose und Differentialdiagnose entzündlicher, neoplastischer und immunologischer ZNS-Erkrankungen zu.

Methode der Wahl für die Gewinnung von Liquor cerebrospinalis (CSF) zu diagnostischen Zwecken ist die Lumbalpunktion. Unter sterilen Bedingungen wird der Duralsack im Bereich des Raumes zwischen den Lendenwirbelkörpern 3 und 4 oder 4 und 5 punktiert und etwa 10 ml Liquor werden entnommen. Zeitgleich erfolgt eine Blutentnahme zur Gewinnung von Serum. Neben der makroskopischen Beurteilung des Liquors, beispielsweise als farblos-klar, trüb oder blutig, wird im Labor eine Reihe verschiedener Parameter bestimmt. Eine erhöhte Zellzahl gilt darunter als sensitiver Parameter für das Vorliegen einer akut-entzündlichen ZNS-Erkrankung [51]. Antikörper- oder Erregernachweise, die beispielsweise mittels ELISA oder PCR durchgeführt werden, können Hinweise auf die Ätiologie der Entzündung liefern. Durch zytologische Beurteilung des Nervenwassers können maligne Erkrankungen im Liquorraum, wie z.B. maligne Lymphome, erkannt werden. Eine Störung der Blut-Hirn-Schrankenfunktion wird durch Bestimmung des Gesamtproteins im Liquor und den Vergleich der Albuminkonzentrationen in CSF und Serum mit Berechnung des Liquor-Serum-Albuminquotienten nachgewiesen. Speziellere Untersuchungen, beispielsweise der Nachweis von Protein 14.3.3, Tau-Protein, β -Amyloid 1-42 oder Carcinoembryonales Antigen, können unter anderem zur Charakterisierung dementieller Prozesse oder maligner Erkrankungen eingesetzt werden [51].

1.2.2 Intrathekale Antikörpersynthese und Antikörperspezifitätsindex

Blut-Hirn- und Blut-Liquor-Schranke verhindern einen unkontrollierten Übertritt von Substanzen aus dem Blut in den Liquorraum. Der Stofftransport erfolgt überwiegend passiv durch Diffusion. Daraus folgt, dass die Konzentration einzelner Moleküle im Liquor von der jeweiligen Serumkonzentration abhängt. Auch der überwiegende Teil der intrathekal nachzuweisenden Antikörper ist auf diesem Wege eingewandert. Es gibt jedoch, vor allem perivaskulär, auch beim Gesunden im ZNS B-Zell-Cluster, die in der Lage sind autochthon, also innerhalb der Blut-Hirn-Schranke, Immunglobuline zu synthetisieren. Um bei einer Erhöhung der Gesamt-IgG-Konzentration im Liquor zwischen einer lokalen IgG-Synthese und einer IgG-Erhöhung anderer Genese unterscheiden zu können, wurde von Delpech und Lichtblau der Quotient aus IgG und Albumin in CSF und Serum, der sog. IgG-Index, vorgeschlagen [52]. Darüber hinaus ist mit den sog. Reiber-Diagrammen, einer logarithmischen Auftragung des IgG-Quotienten auf den Albuminquotienten, eine quantitative Analyse einer intrathekalen Gesamt-IgG-Produktion möglich. Goldstandard einer chronischen Immunreaktion im ZNS ist jedoch die Bestimmung der hierfür hochsensitiven oligoklonalen Banden (OKB) des Gesamt-IgG [51].

Eine Infektion des ZNS mit neurotrophen Erregern führt physiologischerweise zur Aktivierung des autochthonen Immunsystems einschließlich einer Stimulation der ortsansässigen B-Zellen und damit zur erregerspezifischen Antikörpersynthese. Der Quotient aus der Konzentration dieser spezifischen Antikörper im Liquor und im Serum wird auf den Quotienten des Gesamt-IgG in Liquor und Serum bezogen.

Die so errechnete Größe wird als Antikörperspezifitätsindex bezeichnet. Ist er $> 1,4$ wird dies als Hinweis auf eine erregerspezifische intrathekale Antikörpersynthese gewertet. Von klinischer Relevanz ist dies bei Infektionen mit neurotrophen Erregern, wie z.B. der HSV-Enzephalitis oder der Neuroborreliose [51].

Bei unkontrollierter Stimulation mehrerer B-Zell-Klone, beispielsweise im Rahmen eines pathologischen, autoimmunologischen Prozesses, kommt es ebenfalls zur intrathekalen Bildung von Antikörpern. Diese sind allerdings nicht zwingend spezifisch gegen ein Antigen gerichtet, sondern polyspezifisch. Es können also Immunglobuline gegen unterschiedliche Antigene nachgewiesen werden. Bekannt ist das Vorliegen einer solchen polyspezifischen intrathekalen Antikörpersynthese vor allem bei der Multiplen Sklerose (MS). In die Diagnosekriterien der MS nach McDonald 2001 bzw. in die revidierte Fassung 2005 wurde der Nachweis solcher Antikörper als „oligoklonale Banden“ durch isoelektrische Fokussierung oder anhand eines erhöhten IgG-Index nach Reiber aufgenommen [53]. Weiterhin lassen sich als sogenannte „MRZ-Reaktion“ bei 84 – 94 % der an MS Erkrankten eine intrathekale IgG-Synthese spezifischer Immunglobuline gegen Masern-, Röteln- oder Varizella Zoster-Viren nachweisen, was als Ausdruck einer generalisierten Aktivierung des Immunsystems im Rahmen der chronisch-entzündlichen Erkrankung angesehen wird [54].

In der Psychiatrie wird die Liquoranalyse hauptsächlich zum Ausschluss organischer Ursachen der psychischen Symptomatik eingesetzt, wenn anamnestisch, klinisch oder aufgrund der Ergebnisse apparativer Diagnostik (z.B.

EEG, bildgebende Verfahren) Hinweise auf entzündliche, degenerative oder neoplastische Veränderungen im ZNS bestehen [55]. Darüber hinaus finden Liquoruntersuchungen, v.a. Bestimmung des Tau-Proteins sowie A β ₁₋₄₂-Peptide, Anwendung in der Diagnostik von Demenzerkrankungen [56].

1.3 Fragestellung

Ätiologie und Pathogenese der Bipolaren Störung sind noch nicht vollständig geklärt und Gegenstand intensiver Forschung. Infektionen durch neurotrope Erreger werden bereits seit Langem mit der Entstehung psychischer Erkrankungen in Zusammenhang gebracht. Serologische Studien kamen bisher zu uneinheitlichen Ergebnissen. Insbesondere erfolgte in bisherigen Studien meist nur die isolierte Bestimmung von Antikörpern gegen neurotrope Erreger im Serum oder Liquor, nicht jedoch die Bestimmung des Antikörperspezifitätsindex. Wie oben gezeigt, ist der Antikörperspezifitätsindex der relevante Marker, um eine intrathekale Infektion bzw. eine polyklonale Stimulation im Rahmen eines Autoimmunprozesses zu belegen. Dies gelingt nicht alleine durch den Nachweis der entsprechenden Antikörper in nur einem Kompartiment (i.e. Serum oder Liquor).

Ziele der vorliegenden Studie waren die Darstellung der liquordiagnostischen Routineparameter sowie die Untersuchung einer möglichen intrathekalen Antikörpersynthese gegen vier ausgewählte neurotrope Erreger (Herpes simplex-Virus, Cytomegalievirus, Epstein-Barr-Virus und Toxoplasma gondii) in einem Patientenkollektiv mit bipolarer affektiver Störung.

Patienten, Material und Methoden

2.1 Probandenkollektiv

2.1.1 Studienpatienten

Für die vorliegende retrospektive Studie wurde ein Kollektiv aus 40 Patientinnen und Patienten zusammengestellt, die in den Jahren 1998 bis 2008 aufgrund einer Bipolaren Störung in der Abteilung für Psychiatrie und Psychotherapie des Universitätsklinikums Freiburg behandelt worden waren. Eingeschlossen wurden Patientinnen und Patienten, bei denen eine manische Episode (ICD-10: F30.-), eine depressive oder manische Episode im Rahmen einer Bipolaren Störung (ICD-10: F31.-) oder einer schizoaffectiven Störung (ICD-10: F25.-) oder eine Zylothymie (ICD-10: F34.0) verschlüsselt worden war. Das Vorliegen einer bipolaren affektiven Erkrankung im weiteren Sinne wurde durch sorgfältiges Studium der Patientenakten retrospektiv verifiziert.

Weiteres Einschlusskriterium war das Vorliegen einer Liquor- und Serumprobe, die im Rahmen der organischen Ausschlussdiagnostik akquiriert worden war. In der Liquordatenbank der Neurologischen Klinik des Universitätsklinikums Freiburg fanden sich Einträge von über 60 Patienten aus dem oben genannten Kollektiv. Liquor- und Serumproben von 52 Patienten waren in ausreichender Menge (ca. 5 ml) bei -80°C eingelagert worden.

Um falsch-positive Befunde bei der Bestimmung erregerspezifischer Antikörperindices zu vermeiden, wurden Patienten ausgeschlossen, deren

Liquores bereits in der klinischen Routinediagnostik pathologische Veränderungen mit Hinweisen auf ein aktives akut-entzündliches Geschehen im ZNS aufwiesen.

<p>Einschlusskriterien</p> <ol style="list-style-type: none">1. Vorliegen einer der folgenden Diagnosen nach ICD-10:<ul style="list-style-type: none">• F25.- Schizoaffective Störungen• F30.- Manische Episode• F31.- Bipolare affektive Störung• F34.0 Zylothymia2. Vorhandensein einer ausreichenden Menge (ca. 5 ml) Liquor und Serum, gelagert bei -80°C, in der Liquorbank des Neurozentrums der Uniklinik Freiburg3. Ausschluss einer infektiösen akut-entzündlichen ZNS-Erkrankung und einer ausgeprägten Blut-Hirnschrankenstörung durch die Routinediagnostik des Liquorlabors der Uniklinik Freiburg <p>Ausschlusskriterien Liquorbefund</p> <ol style="list-style-type: none">1. Zellzahl > 20/µl2. Gesamteiweiß > 1000 mg/l3. Wesentliche Blutbeimengung/ hämolytischer Liquor
--

Tab. 1: Kriterien für Ein- und Ausschluss von Patienten in das Studienkollektiv für eine Untersuchung der Prävalenz einer intrathekalen Antikörpersynthese gegen neurotrope Erreger bei Patienten mit Bipolaren Störungen

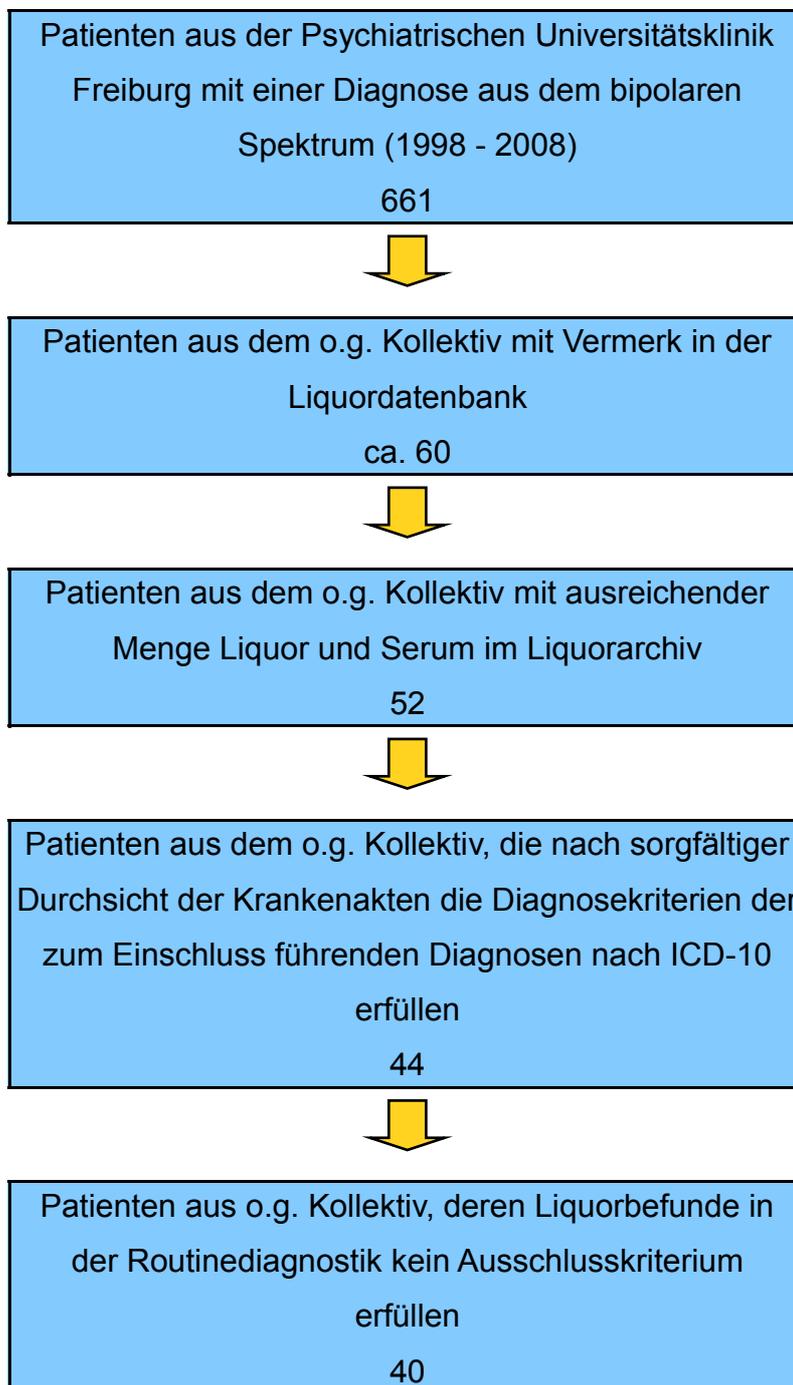


Abb. 1: Auswahl des Studienkollektivs für eine Untersuchung der Prävalenz einer intrathekalen Antikörpersynthese gegen neurotrope Erreger bei Patienten mit Bipolaren Störungen

2.1.2 Kontrollkollektiv

Da die Lumbalpunktion als Standardverfahren zur Gewinnung von Liquorproben eine invasive Maßnahme darstellt, standen für die durchgeführte Studie keine Liquor-/Serum-Paare von gesunden Probanden, also Personen ohne psychiatrische oder neurologische Erkrankung, als Kontrollkollektiv zur Verfügung. Patienten, die unter der Erkrankung Pseudotumor cerebri (PTC, ICD-10 G93.2) leiden, sind jedoch als Kontrollgruppe geeignet: Liquordruckmessungen zeigen erhöhte Werte, ansonsten können keine pathologischen Befunde, insbesondere keine Hinweise auf entzündliche oder neoplastische Veränderungen, erhoben werden. Betroffene klagen über Kopfschmerzen, Sehstörungen bis zum Sehverlust, Ohrgeräusche und Diplopie. Ätiologisch wird von einer Liquorresorptionsstörung ausgegangen, deren Ursache bisher noch als ungeklärt gilt [57]. Es bestehen keine Hinweise auf eine entzündliche, infektiöse oder immunologische Genese der Erkrankung. Bis auf den erhöhten Eröffnungsdruck entspricht der Liquorbefund dem eines neurologisch und psychiatrisch nicht erkrankten Menschen. Lumbalpunktionen zur Liquorgewinnung werden bei diesen Patienten sowohl diagnostisch als auch therapeutisch häufig durchgeführt [58], so dass in der Liquorbank eine größere Anzahl laborchemisch unauffälliger Liquor-/Serum-Paare von an PTC erkrankten Patienten archiviert ist.

Es wurde zufällig ein Kollektiv aus 26 dieser Patienten zusammengestellt, das nachfolgend als „Kontrollgruppe“ bezeichnet wird.

Die Liquor- und Serumproben beider Kollektive wurden während eines

ambulanten oder stationären Aufenthaltes im Universitätsklinikum Freiburg im Rahmen der klinischen Diagnostik gewonnen und bei -80°C gelagert. Alle Patienten hatten schriftlich in die diagnostische Lumbalpunktion eingewilligt. Die Routineparameter Zellzahl im Liquor, Gesamteiweiß im Liquor, Albuminquotient, IgG-Quotient, IgG-Index und oligoklonale Banden in Serum und Liquor wurden im Rahmen der klinischen Diagnostik im Liquorlabor des Neurozentrums der Universitätsklinik Freiburg bestimmt.

Die Studie wurde von der Ethikkommission der Universität Freiburg bewilligt (Antragsnummer: 79/09, positives Votum am 09.03.2009).

2.2 Material

2.2.1 Gebrauchsmaterialien

Zum Nachweis erregerspezifischer Antikörper in Liquor- und Serumproben des Patienten- und des Kontrollkollektivs wurden folgende kommerziell erhältliche ELISA-Kits der Firma virion\serion (Würzburg, Deutschland) verwendet:

- SERION ELISA *classic* Epstein-Barr-Virus EBNA1 IgG
- SERION ELISA *classic* Cytomegalievirus IgG
- SERION ELISA *classic* Herpes simplex virus IgG
- SERION ELISA *classic* Toxoplasma gondii IgG

2.2.2 Geräte

Zur Erleichterung der vielen zur Durchführung der ELISAs nötigen Waschschriffe, stand ein Plattenwaschgerät der Firma TECAN Deutschland, Crailsheim (Tecan 96 well plate washer, Type: Columbus Plus) zur Verfügung.

Die Inkubation der Reagenzien wurde bei 37°C in einem Brutschrank der Firma Heraeus Holding GmbH, Hanau, Deutschland durchgeführt.

Zur Messung der optischen Dichte und zur Auswertung wurde ein Plattenlesegerät der Firma Tecan Deutschland GmbH, Crailsheim (Tecan Microplate Reader, Model: sunrise-basic Tecan) genutzt.

2.3 Methoden

2.3.1 Prinzip der Bestimmung einer intrathekalen Antikörpersynthese mit quantitativen Methoden

Durch die Blut-Hirn- und Blut-Liquor-Schranken wird der Übertritt von Substanzen in den Liquor cerebrospinalis stark eingeschränkt. So liegt die Gesamtproteinkonzentration im Liquor um den Faktor 10^2 bis 10^3 niedriger als im Serum. Antikörper aus dem Blut gelangen überwiegend durch Diffusion in dieses Kompartiment, d.h. die Konzentration einer Substanz im Liquor cerebrospinalis ist immer von ihrer Serumkonzentration abhängig. Perivaskulär befinden sich jedoch auch beim Gesunden intrathekale B-Zell-Cluster, die in der Lage sind, Immunglobuline zu produzieren. Notwendig ist dies bei akuten Infektionen des zentralen Nervensystems, aber auch noch Jahre nach einem infektiösen Geschehen oder im Rahmen von chronisch entzündlichen Prozessen können intrathekal synthetisierte Antikörper nachgewiesen werden [51].

Um eine intrathekale Antikörpersynthese zu untersuchen, ist es nötig, den Anteil der durch Diffusion in den Liquor cerebrospinalis gelangten Immunglobuline zu bestimmen. Als Referenz eignet sich das Protein Albumin, da es nur außerhalb des Liquorraumes produziert wird.

Die Albuminkonzentration wird in am gleichen Tag entnommenen Liquor- und Serumproben eines Patienten bestimmt und der Quotient Q_{Albumin} wird berechnet.

$$Q_{\text{Albumin}} = C_{\text{Albumin im Liquor}} / C_{\text{Albumin im Serum}}$$

Der Liquor-Serum-Albumin-Quotient ist altersabhängig und gilt als Maß für eine eventuell vorliegende „Schrankenfunktionsstörung“, die als Verlangsamung des Liquorflusses aufgefasst wird [59].

Analog zur Bestimmung des Liquor-Serum-Albuminquotienten wird der als Bezugsgröße für die Berechnung des Antikörperspezifitätsindex dienende Quotient der Gesamt-IgG-Konzentration gebildet. Hierfür werden die IgG-Konzentrationen in Liquor und Serum gemessen und der Liquor-Serum-Quotient des Gesamt-IgG berechnet.

$$Q_{\text{Gesamt-IgG}} = C_{\text{Gesamt-IgG im Liquor}} / C_{\text{Gesamt-IgG im Serum}}$$

Eine erhöhte Konzentration an Gesamt-IgG im Liquor kann durch eine Störung der Blut-Hirn- und/oder der Blut-Liquor-Schranke bedingt sein (in diesem Falle wäre ein erhöhter Albuminquotient zu erwarten) oder durch autochthon im ZNS produziertes Gesamt-IgG verursacht werden. Als Hinweis auf eine intrathekale Synthese des Gesamt-IgG gilt der im Liquorlabor routinemäßig bestimmte IgG-Index:

$$IgG\text{-Index} = Q_{\text{Gesamt-IgG}} / Q_{\text{Albumin}}$$

Liegt eine intrathekale Antikörpersynthese vor, z.B. als polyspezifische Antikörpersynthese im Rahmen eines chronisch-entzündlichen Geschehens, fällt $Q_{\text{Gesamt-IgG}}$ zu hoch aus und kann damit nicht mehr als Bezugsgröße für die

Berechnung des Antikörperspezifitätsindex dienen. Damit eine solche polyspezifische intrathekale Antikörpersynthese erkannt und berücksichtigt werden kann, wird der sogenannte Limes-Quotient Q_{lim} berechnet. Dieser Quotient gibt den Anteil der aus dem Plasma stammenden Antikörper ohne polyspezifisch intrathekal synthetisierte Immunglobuline an. Seine Berechnung erfolgt nach einem von Reiber empirisch ermittelten Zusammenhang zwischen Albumin- und Immunglobulinquotient [51]. Ist $Q_{Gesamt-IgG} > Q_{lim}$, so liegt eine polyspezifische intrathekale IgG-Synthese vor.

$$Q_{lim.} = 0,93 \times \sqrt{Q_{Albumin}^2 + 6 \times 10^{-6}} - 1,7 \times 10^{-3}$$

Mit quantitativen Verfahren, wie z.B. der nachfolgend beschriebenen ELISA-Technik, können erregerspezifische Antikörper nachgewiesen werden. Die Antikörperkonzentrationen werden in Serum- und Liquorproben des gleichen Tages in einer Messreihe bestimmt und der Quotient $Q_{spezifisches\ IgG}$ daraus gebildet.

$$Q_{spezifisches\ IgG} = C_{spezifisches\ IgG\ im\ Liquor} / C_{spezifisches\ IgG\ im\ Serum}$$

Um eine intrathekale Synthese der erregerspezifischen Antikörper nachzuweisen bzw. auszuschließen, wird der Antikörperspezifitätsindex (AI) bestimmt [59]. Der AI berechnet sich aus dem erregerspezifischen Liquor-Serum-Quotienten $Q_{spezifisches\ IgG}$ in Bezug auf den Liquor-Serum-Quotienten des Gesamt-IgG.

$$AI = Q_{spezifisches\ IgG} / Q_{Gesamt-IgG}$$

$Q_{\text{Gesamt-IgG}}$ kann nur als Bezugsgröße zur Berechnung des AI gewählt werden, wenn eine polyspezifische intrathekale IgG-Synthese ausgeschlossen wurde. Bei Vorliegen einer solchen Synthese, also wenn $Q_{\text{Gesamt-IgG}} > Q_{\text{lim}}$ ist, wird der erregerspezifische IgG-Quotient auf den errechneten Limes-Quotienten Q_{lim} bezogen:

$$AI = Q_{\text{spezifisches IgG}} / Q_{\text{lim}}$$

Ohne intrathekale Antikörpersynthese stammen alle Immunglobuline, die im Liquor nachzuweisen sind, aus dem Serum und sind durch Diffusion in den Liquorraum gelangt. Da die erregerspezifischen Antikörper und das Gesamt-IgG in gleichem Maße diffundieren, ist das jeweilige Liquor-Serum-Verhältnis gleich. Bei größtmöglicher Messgenauigkeit ist in diesem Fall ein AI von 1 zu erwarten.

Auf Grund methodisch bedingter Toleranzbereiche gilt der Bereich $AI = 0,7$ bis $1,3$ als Normalbereich. Als klinisch relevant gelten Antikörper-Indices $> 1,4$ [51].

$AI = 0,7$ bis $1,3$	Normalbereich
$AI > 1,4$	Antigen-spezifische intrathekale Antikörpersynthese

2.3.2 Prinzip des ELISA

Der quantitative Nachweis von spezifischen Antikörpern gegen die vier neurotrophen Erreger Herpes simplex-Virus 1 und 2, Epstein-Barr-Virus, Cytomegalievirus und Toxoplasma gondii in Liquor und Serum der Studienpatienten wurde mittels ELISA-Technik durchgeführt.

Beim ELISA (Enzyme-linked immunosorbent Assay) werden im Untersuchungsmaterial vorhandene Antikörper spezifisch an auf die ELISA-Platte aufgebracht Antigen gebunden. Nach Auswaschen der übrigen Bestandteile des Untersuchungsmaterials inklusive nicht gebundener, d.h. nicht gegen das spezifische Antigen gerichteter, Antikörper, wird der am Boden der Platte haftende Antigen-Antikörperkomplex mit einem Sekundärantikörper inkubiert, der gegen humanes Immunglobulin gerichtet ist. Nach Ablauf der Inkubationszeit wird übriger, nicht gebundener Sekundärantikörper ausgewaschen. Um gebundene Antigen-Antikörper-Sekundärantikörperkomplexe nachweisen zu können, wurde der Sekundärantikörper mit einem Enzym beladen, welches bei seinem Substrat eine Farbänderung katalysiert. Häufig wird hierfür das Enzym Alkalische Phosphatase mit dem Substrat Para-Nitrophenylphosphat verwendet. Der Farbumschlag kann als Änderung der optischen Dichte gemessen, daraus auf die Menge an gebundenem spezifischen Antikörper geschlossen und die Konzentration des spezifischen Antikörpers im Untersuchungsmaterial berechnet werden.

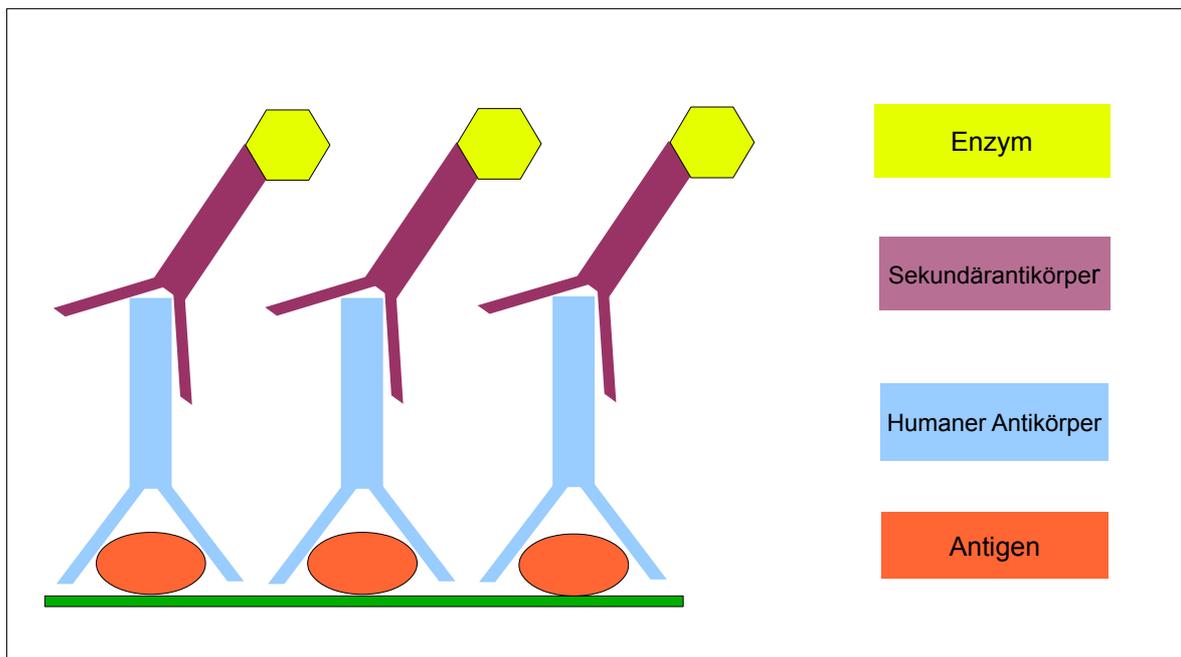


Abb. 2: Prinzip des ELISA

Der Nachweis der spezifischen Antikörper gegen Epstein-Barr-Virus, Herpes simplex-Virus, Cytomegalievirus und Toxoplasma gondii in Liquor und Serum erfolgte in unserer Studie gemäß den Herstellerangaben der ELISA-Kits der Firma virion\serion, Würzburg, Deutschland.

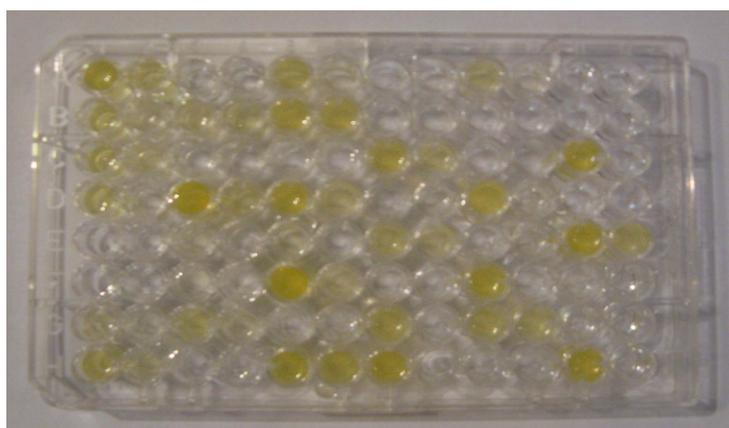


Abb. 3.: ELISA-Platte mit 96 Vertiefungen

Der Antikörperindex wurde nach der von Reiber [51] vorgeschlagenen Formel berechnet.

2.3.3 Statistische Methoden

Die Ergebnisse wurden quantitativ ausgewertet, wofür bei den überwiegend kleinen Fallzahlen der exakte Test nach Fischer verwendet wurde. Es wurden jeweils Vierfeldertafeln zu Grunde gelegt. Für kontinuierliche Variablen wurde der Mann-Whitney-Test angewendet. Das übliche Signifikanzniveau mit der Irrtumswahrscheinlichkeit $\leq 0,05$ wurde angenommen.

Ergebnisse

3.1 Demographische Daten

Es wurden insgesamt 66 Patienten auf das Vorliegen einer intrathekalen Antikörpersynthese gegen vier neurotrope Erreger, Epstein-Barr-Virus, Herpes simplex-Virus 1 und 2, Cytomegalievirus und Toxoplasma gondii, untersucht.

Bei 40 dieser Patienten, im Nachfolgenden „Studienpatienten“ genannt, war eine affektive Erkrankung aus dem Formenkreis der Bipolaren Störungen diagnostiziert worden.

35 der 40 Studienpatienten erfüllten die Diagnosekriterien einer bipolaren affektiven Erkrankung (F31.-) nach ICD-10. Bei 27 dieser Patienten lag eine Bipolare Störung vom Typ I nach DSM-IV vor, bei den übrigen acht wurde Typ II nach DSM-IV diagnostiziert. Ein Rapid Cycling fand sich bei sieben Patienten unseres Studienkollektivs.

Bei vier Studienpatienten waren ausschließlich manische Episoden aufgetreten (F30.1- nach ICD-10). Bei einem Patienten bestand eine schizoaffektive Störung (ICD-10 F25.-).

Das durchschnittliche Alter bei der Erstmanifestation der affektiven Erkrankung lag bei 31,3 Jahren (Standardabweichung \pm 14,8 Jahre).

Eine positive Familienanamnese im Sinne eines Elternteiles, eines Kindes oder Geschwisterkindes mit bekannter affektiver Erkrankung ließ sich bei 25 der 40 Studienpatienten eruieren (62,5 %).

Zum Zeitpunkt der diagnostischen Lumbalpunktion waren 15 der 40 (37,5 %)

Patienten unseres Studienkollektivs mittel- bis schwergradig depressiv. Bei 13 Studienpatienten (32,5 %) lag zu diesem Zeitpunkt eine Manie vor, bei zwei Symptome einer Hypomanie (5,0 %). Affektive Mischzustände fanden sich bei vier der 40 Patienten (10,0 %). Fünf Studienpatienten waren bei der Lumbalpunktion euthym (12,5 %). Bei einem Patienten (2,5 %) liegen keine Informationen über die Affektlage zum Zeitpunkt der Probeentnahme vor.

Bei 21 der 40 Studienpatienten (52,5 %) lag neben der affektiven Störung eine weitere Erkrankung vor. 33 der 40 Studienpatienten (82,5 %) erhielten zum Zeitpunkt der Probeentnahme eine medikamentöse Therapie.

Als Kontrollgruppe dienten 26 Patientinnen und Patienten mit Pseudotumor cerebri, einer nicht-entzündlichen neurologischen Erkrankung. Nebendiagnosen fanden sich zum Zeitpunkt der diagnostischen Lumbalpunktion bei 12 dieser 26 Personen (46,2 %).

Die nachfolgend abgebildete Tabelle 2 gibt die demographischen und klinischen Charakteristika der Studienpatienten und der Kontrollgruppe wieder.

	Patienten mit Bipolarer Störung	Kontrollen (PTC)
Durchschnittsalter, Jahre (SD), zum Zeitpunkt der Probeentnahme	48,3 (± 15,3)	42,8 (± 12,4)
weibliches Geschlecht	n = 25 (62,5 %)	n = 23 (88,5 %)
Durchschnittsalter bei Erstmanifestation, Jahre (SD)	31,3 (± 14,8)	--
positive Familienanamnese für affektive Störungen	n = 25 (62,5 %)	--
Status bei Probeentnahme		
depressiv	n = 15 (37,5 %)	--
manisch	n = 13 (32,5 %)	--
hypomanisch	n = 2 (5 %)	--
gemischt	n = 4 (10 %)	--
euthym	n = 5 (12,5 %)	--
unbekannt	n = 1 (2,5 %)	--
Komorbidität	n = 21 (52,5 %)	n = 12 (46,2 %)
Persönlichkeitsstörungen	n = 0	
Angststörungen	n = 2	
Substanzmissbrauch	n = 6	
Multiple Sklerose	n = 2 (Nr. 17&19)	
Adipositas	n = 1	n = 6
Hypothyreose	n = 5	n = 4
Hashimoto-Thyreoiditis	n = 1 (Nr.22)	n = 1 (Nr.9)
andere *	n = 9	n = 9
Medikation zum Zeitpunkt der Probeentnahme	n = 33 (82,5 %)	n = 13 (50 %)
Antidepressiva	n = 14	n = 1
Antipsychotika	n = 18	--
Antiepileptika	n = 13	n = 3
Lithium	n = 10	--
andere **	n = 13	n = 12
ohne Medikation	n = 3	n = 9
unbekannt	n = 4	n = 4

Tab. 2: Demographische und klinische Daten der 40 Patienten mit Bipolarer Störung und 26 Kontrollen mit Pseudotumor cerebri (PTC), SD: Standardabweichung.

Komorbidität und Medikation der Patienten mit Bipolarer Störung: *leichte kognitive Einschränkung (n = 3), Anorexia nervosa (n = 1), zerebrale Mikroangiopathie (n = 1), Arthritis (n = 1), Tinnitus (n = 1), Lithiumintoxikation (n = 1). **Benzodiazepine, Levothyroxin, Donepezil.

Komorbidität und Medikation Kontrollgruppe: *Diabetes mellitus Typ 2 (n = 2), Restless-Legs-Syndrom (n = 1), zerebrale Mikroangiopathie (n = 1), Colitis ulcerosa (n = 1), Mikroprolaktinom (n = 1), Hypercholesterinämie (n = 1), Osteoporose (n = 1), Depression (n = 1; Nr. 5). **Levothyroxin (n = 6), Acetazolamid (n = 3), Antihypertensiva (n = 5), Analgetika und Muskelrelaxantien (n = 6), orale Kontrazeption (n = 3).

3.2 Ergebnisse aus der Routinediagnostik

3.2.1 CSF-Routineparameter der Patientenkollektive

In die vorliegende Studie wurden nur Patienten eingeschlossen, deren Liquores in der klinischen Routinediagnostik keinen Hinweis auf eine akut-entzündliche ZNS-Erkrankung oder eine wesentliche Schrankenfunktionsstörung zeigten (Zellzahl < 20/μl, Gesamtprotein < 1000 mg/l).

Geringgradige Erhöhungen der Zellzahl (≥ 5) fanden sich bei drei der 40 Studienpatienten (7,5 %) und zwei der 26 Kontrollpersonen (7,7 %). Gesamteiweiß und Albuminquotient, beides Parameter, die auf eine Einschränkung der Blut-Hirn-Schranke hinweisen, waren sowohl bei einigen Studienpatienten (35 % bzw. 15 %) als auch bei Mitgliedern der Kontrollgruppe (30,8 % bzw. 11,5 %) leicht erhöht. Die Unterschiede in den Häufigkeiten einer Zellzahlerhöhung ≥ 5 , einer Erhöhung des Gesamteiweißes (> 450 mg/l) und des Albuminquotienten waren statistisch nicht signifikant (alle $p > 0,467$).

Im Rahmen der klinischen Routinediagnostik wurde im Liquorlabor des Neurozentrums des Universitätsklinikums Freiburg auch der IgG-Index der Liquor- und Serumprobenpaare bestimmt.

Bei vier der 40 Studienpatienten (10 %) lag ein IgG-Index $> 0,7$ als Hinweis auf eine intrathekale IgG-Synthese vor.

Unter den 26 Patienten der Kontrollgruppe fand sich keiner (0 %) mit erhöhtem IgG-Index.

Als sensitiver für das Vorliegen einer humoralen Immunreaktion gilt der Nachweis

oligoklonaler Banden (OKB) in Liquor und Serum. Interessanterweise ließen sich OKB vom Typ 2 nach internationalem Konsensus (OKB im Liquor) [70] bei fünf Studienpatienten (12,5 %) nachweisen, bzw. wurden bei IgG-Index $> 0,8$ angenommen, jedoch bei keinem Patienten des Kontroll-Kollektivs. Auch dieser Unterschied zwischen beiden Kollektiven ist statistisch nicht signifikant, jedoch zeigt sich hier ein Trend zu einem häufigeren Vorkommen von oligoklonalen Banden bzw. erhöhtem IgG-Index, beides Marker für eine intrathekale Antikörpersynthese, bei den Patienten mit Bipolarer Störung im Vergleich zur Kontrollgruppe mit Pseudotumor cerebri (exakter Test nach Fisher $p = 0,074$, nicht signifikant).

Intrathekale IgG-Synthese	Studienpatienten (n)	Kontrollgruppe (n)	gesamt (n)
positiv	5	0	5
negativ	35	26	61
	40	26	66

Tab. 3: Vierfeldertafel: Hinweise auf intrathekale IgG-Synthese in der Routinediagnostik (IgG-Index $> 0,7$ oder OKB im Liquor) der 40 Studienpatienten mit Bipolarer Störung und der 26 Kontrollpersonen.

Den folgenden Tabellen 4 und 5 sind die Routineparameter Zellzahl und Gesamteiweiß sowie die ebenfalls im Liquorlabor bestimmten Parameter Albuminquotient, IgG-Index und OKB des Studien- und des Kontrollkollektivs zu entnehmen.

Studien- patient	Zellzahl /µl	Protein mg/l	Q _{Alb} x10 ⁻³	IgG- Index	OKB im Liquor
1	0	449	4,6	0,57	neg.
2	1	468	6,4	0,81	pos.
3	1	160	1,9	0,44	neg.
4	1	221	2,8	0,53	neg.
5	1	355	4,7	0,57	neg.
6	1	521	6,9	0,36	neg.
7	0	705	7,9	0,61	neg.
8	1	437	7,2	0,51	neg.
9	1	510	8,9	0,44	neg.
10	1	256	4,1	0,43	neg.
11	1	437	6,9	0,48	neg.
12	1	507	7,0	0,47	neg.
13	2	250	3,2	0,63	neg.
14	1	531	9,2	0,47	neg.
15	1	263	3,8	0,86	pos.
16	1	475	8,3	0,45	neg.
17	1	347	4,5	0,62	pos.
18	1	249	2,8	0,44	neg.
19	8	510	4,1	2,89	pos.
20	2	491	7,5	0,47	neg.
21	1	562	6,9	0,49	neg.
22	6	320	4,6	0,47	neg.
23	3	536	6,5	0,48	neg.
24	1	590	6,3	0,51	neg.
25	2	304	3,2	1,34	pos.
26	1	410	6,2	0,49	neg.
27	6	448	5,3	0,45	neg.
28	1	347	4,7	0,42	neg.
29	3	237	3,0	0,52	neg.
30	1	306	4,1	0,46	neg.
31	1	450	7,6	0,44	neg.
32	1	479	6,7	0,45	neg.
33	1	162	4,1	0,21	neg.
34	3	407	6,6	0,50	neg.
35	2	138	2,2	0,47	neg.
36	3	429	7,9	0,49	neg.
37	1	340	5,0	0,51	neg.
38	0	439	4,5	0,48	neg.
39	2	551	8,2	0,51	neg.
40	2	393	5,5	0,52	neg.

Tab. 4: Routineparameter aus der Liquordiagnostik der Patienten mit Bipolarer Störung.

neg.: negativ; OKB: oligoklonale Banden; pos.: positiv, Q_{Alb}: Albuminquotient.
Referenzwerte: Zellzahl < 5/µl; Gesamtprotein < 450 mg/l; Q_{Alb} < 8,0 bei Patienten > 40 Jahre und < 6,5 bei Erwachsenen < 40 Jahre; IgG-Index < 0,8. Werte außerhalb des Normbereichs sind **fettgedruckt**.

Kontrolle Nr.	Zellzahl /µl	Protein mg/l	Q _{Alb} x10 ⁻³	IgG- Index	OKB im Liquor
1	1	351	3,9	0,48	neg.
2	5	354	4,9	0,53	neg.
3	1	169	2,5	0,43	neg.
4	1	545	7,4	0,47	neg.
5	1	456	6,3	0,50	neg.
6	1	295	3,8	0,45	neg.
7	2	635	9,7	0,45	neg.
8	1	441	6,5	0,49	neg.
9	4	821	9,1	0,51	neg.
10	5	453	6,4	0,53	neg.
11	1	692	8,5	0,49	neg.
12	1	324	3,6	0,54	neg.
13	1	382	5,2	0,53	neg.
14	1	515	5,7	0,51	neg.
15	1	<118	1,4	0,59	neg.
16	1	427	6,5	0,49	neg.
17	3	<119	3,2	0,44	neg.
18	1	323	4,4	0,50	neg.
19	2	177	2,5	0,45	neg.
20	1	<119	1,9	0,48	neg.
21	1	187	2,8	0,50	neg.
22	1	162	3,2	0,51	neg.
23	2	204	3,1	0,49	neg.
24	1	523	7,2	0,55	neg.
25	1	159	2,1	0,50	neg.
26	1	265	3,6	0,47	neg.

Tab. 5: Routineparameter aus der Liquordiagnostik der Kontrollgruppe.

neg.: negativ; OKB: oligoklonale Banden; pos.: positiv, Q_{Alb}: Albuminquotient.
Referenzwerte: Zellzahl < 5/µl; Gesamtprotein < 450 mg/l; Q_{Alb} < 8,0 bei Patienten > 40 Jahre und < 6,5 bei Erwachsenen < 40 Jahre; IgG-Index < 0,8. Werte außerhalb des Normbereichs sind **fettgedruckt**.

3.3 Ergebnisse der erregerspezifischen ELISA-Untersuchungen

3.3.1 Seroprävalenz

Im Serum von 20 der 40 Studienpatienten (50 %) ließen sich IgG-Antikörper gegen CMV nachweisen. 21 Patienten (52,5 %) wurden als seropositiv für *Toxoplasma gondii* bestimmt, 36 (90 %) für HSV und 38 (95 %) für EBV. Alle 40 Patienten (100 %) zeigten Serumantikörper der Klasse IgG gegen mindestens einen der vier Erreger (Konzentrationen von IgG gegen die vier neurotrophen Erreger in den Seren der Studienpatienten siehe Tabelle 6).

Serumantikörper gegen CMV lagen bei 17 der 26 Kontrollpatienten (65,4 %) oberhalb des cut-offs. Zehn Kontrollen (38,5 %) wiesen Antikörper gegen *Toxoplasma gondii*, 23 (88,5 %) gegen HSV und 25 (96,2 %) gegen EBV auf.

25 der 26 (96,15 %) PTC-Patienten waren seropositiv gegen mindestens einen der vier Erreger (Konzentrationen von IgG gegen die vier neurotrophen Erreger in den Seren des Kontrollkollektivs siehe Tabelle 7).

Das Studien- und das Kontrollkollektiv unterschieden sich weder hinsichtlich der Seropositivität (siehe Abbildung 4) noch der Antikörperkonzentrationen gegen die vier untersuchten neurotrophen Erreger (siehe Abbildung 5) statistisch signifikant voneinander (alle $p > 0,107$ unter Anwendung des exakten Test nach Fisher bzw. des Mann-Whitney-Tests).

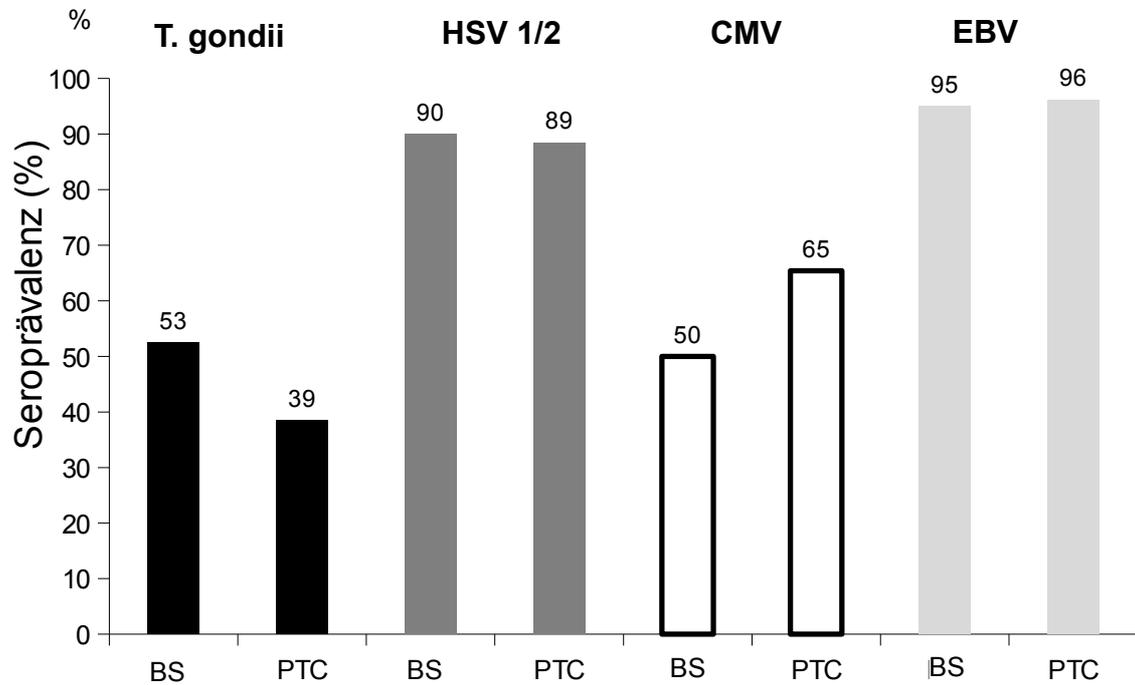


Abb. 4: Prävalenz spezifischer Antikörper (in Prozent) gegen *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*), Herpes simplex-Virus 1 und 2 (HSV 1/2), Cytomegalievirus (CMV) und Epstein-Barr-Virus (EBV) im Serum der 40 Patienten mit bipolaren Störungen (BS) und 26 Kontrollpersonen mit Pseudotumor cerebri (PTC). Unterschiede sind nicht signifikant (alle $p > 0,164$).

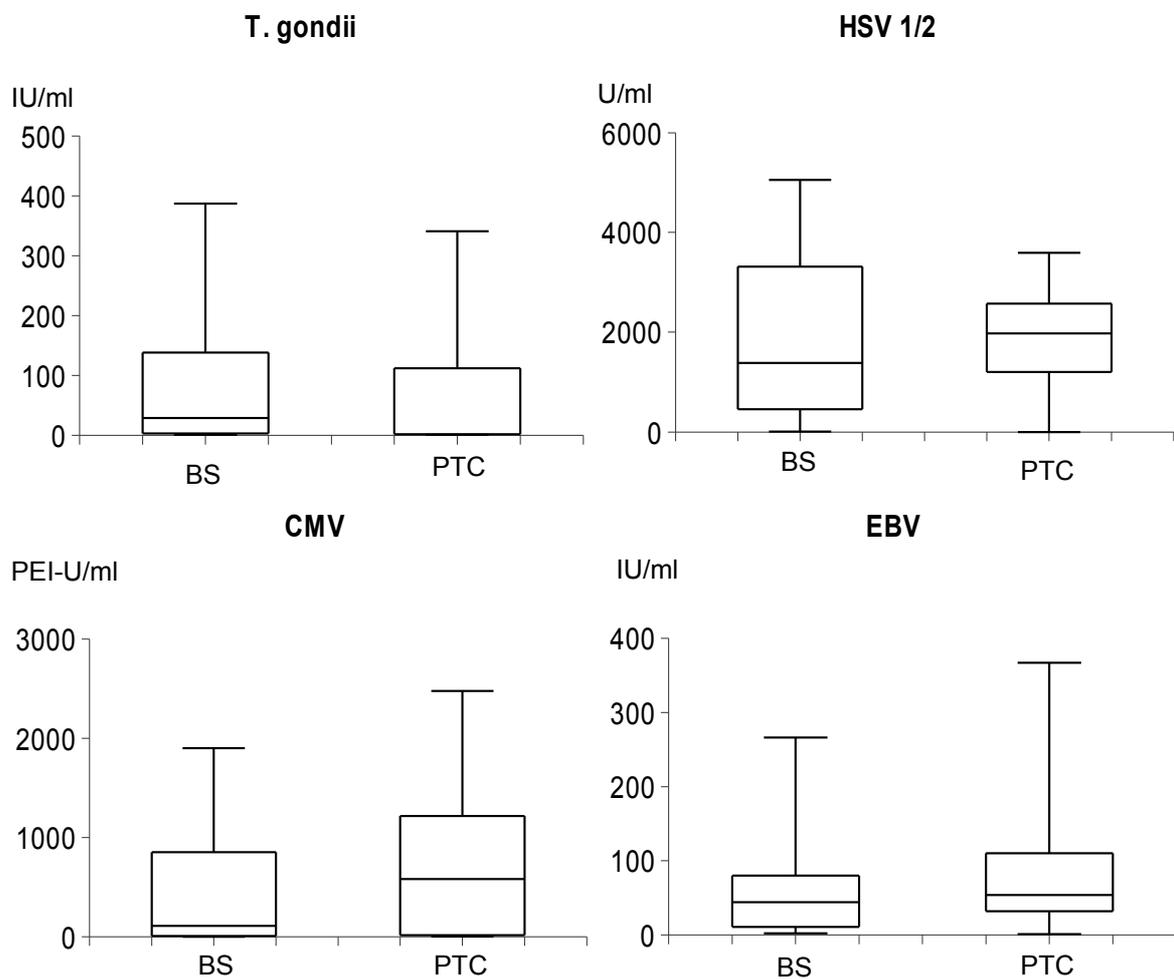


Abb. 5: Serumkonzentration der spezifischen Antikörper gegen *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*), Herpes simplex-Virus 1 und 2 (HSV 1/2), Cytomegalievirus (CMV) und Epstein-Barr-Virus (EBV) im Serum der Patienten mit Bipolarer Störung (BS) und der Kontrollgruppe mit Pseudotumor cerebri (PTC). Die Box umfasst alle Werte zwischen dem ersten (25 %) und dritten Viertel (75 %), die Linie innerhalb der Box stellt den Median dar. Die Enden der senkrechten Linie zeigen jeweils die Minimal- bzw. Maximalwerte. Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede (alle $p > 0,107$).

3.3.2 Antikörperspezifitätsindex

In Liquor- und Serumproben der 40 Studienpatienten wurde die ELISA-Technik zum Nachweis von Antikörpern gegen vier neurotrope Erreger angewendet und der Antikörperspezifitätsindex (AI) als Maß für eine erregerspezifische intrathekale IgG-Synthese berechnet. Ein AI-Wert $> 1,4$ galt als „positiv“. Bei fehlendem Nachweis von erregerspezifischen Antikörpern im Serum und/oder Liquor kann kein AI berechnet werden; eine intrathekale erregerspezifische Antikörpersynthese liegt in diesen Fällen nicht vor.

Drei der 40 Patienten zeigten einen positiven AI gegen zwei der vier Erreger (Studienpatient 8: T. gondii, HSV; Studienpatient 18: CMV, T. gondii; Studienpatient 25: T. gondii, EBV). Für fünf weitere Liquor-Serum-Paare ergaben sich AI-Werte $> 1,4$ für jeweils eine der Virusspezies bzw. Toxoplasma gondii (Studienpatient 3, Studienpatient 27: HSV; Studienpatient 11: EBV, Studienpatient 14, Studienpatient 35: T. gondii). Insgesamt acht der 40 Patienten mit Bipolarer Störung (20 %) zeigten also eine erregerspezifische intrathekale Antikörpersynthese gegen mindestens einen der vier getesteten Erreger. Die errechneten AI-Werte lagen dabei zwischen 1,46 und 5,40.

Im Kontrollkollektiv der 26 Patienten mit Pseudotumor cerebri ergab sich bei einem Liquor-Serum-Paar (3,85 %) ein positiver AI (Kontrollpatient 20: T. gondii, AI = 1,5).

Den folgenden Tabellen 6 und 7 können die Serumkonzentrationen der Antikörper und die Antikörperspezifitätsindices beider Patientenkollektive gegen alle vier Erreger entnommen werden.

Patient-Nr.	T. gondii		HSV 1/2		CMV		EBV	
	Serumkonz. IU/ml	AI	Serumkonz. U/ml	AI	Serumkonz. PEI-U/ml	AI	Serumkonz. U/ml	AI
1	1	-	12	-	5	-	71	0,7
2	1	-	1548	1,4	615	0,7	58	0,8
3	2	-	120	2,0	204	0,8	27	-
4	50	1,4	2400	1,4	8	-	7	-
5	6	-	8	-	4	-	3	-
6	4	-	575	1,2	3	-	84	1,0
7	3	-	22	-	5	-	2	-
8	129	1,5	2055	1,5	5	-	153	1,1
9	4	-	473	1,0	468	0,9	120	1,2
10	2	-	9	-	805	1,0	130	0,9
11	4	-	647	0,7	621	0,8	14	1,7
12	146	1,0	1831	0,9	5	-	45	0,9
13	136	0,9	600	0,5	1070	0,9	254	0,5
14	74	1,6	1967	1,2	13	-	34	1,1
15	4	-	1804	1,4	1187	1,0	70	1,1
16	3	-	4003	1,2	799	1,1	79	1,3
17	3	-	948	1,0	875	1,0	247	0,8
18	149	1,5	2512	1,1	1008	2,0	4	-
19	69	0,9	2912	1,4	639	0,8	266	0,5
20	166	1,3	480	0,9	5	-	35	0,8
21	58	0,9	408	0,7	1483	0,8	53	0,9
22	204	1,0	4292	0,9	14	-	43	1,1
23	3	-	4586	0,7	14	-	8	-
24	158	1,3	2716	1,2	1437	0,9	4	-
25	387	5,4	3740	0,7	7	-	256	4,1
26	31	1,4	3309	0,7	13	-	72	0,8
27	4	-	3517	2,1	5	-	36	-
28	227	1,4	357	0,8	827	0,7	43	-
29	4	-	9	-	1274	0,7	9	-
30	201	1,0	1175	1,3	1849	1,3	7	-
31	160	1,0	3587	0,8	3	-	9	0,9
32	161	1,1	5053	1,0	1568	0,9	13	-
33	3	-	1217	1,4	842	1,0	118	1,0
34	26	1,2	3321	0,6	2	-	2	-
35	70	1,7	631	0,6	4	-	72	-
36	119	1,1	248	-	0	-	73	0,7
37	2	-	1137	1,2	1901	0,8	72	0,8
38	1	-	353	1,2	3	-	22	-
39	2	-	3472	1,0	0	-	148	1,1
40	87	0,9	4099	0,7	538	1,0	11	-

Tab. 6: Serumkonzentration der spezifischen Antikörper und Antikörperspezifitätsindices (AI) gegen *Toxoplasma gondii* (T. gondii), Herpes simplex-Virus Typ 1 und 2 (HSV1/2), Cytomegalievirus (CMV) und Epstein-Barr-Virus (EBV) bei 40 Patienten mit Bipolaren Störungen. Positive AI sind grün hinterlegt.

Kontrolle Nr.	T. gondii		HSV 1/2		CMV		EBV	
	Serumkonz. IU/ml	AI	Serumkonz. U/ml	AI	Serumkonz. PEI-U/ml	AI	Serumkonz. U/ml	AI
1	4	-	5	-	4	-	292	0,7
2	1	-	1203	1,3	523	0,7	191	0,6
3	20	-	1914	0,8	1283	1,2	107	-
4	154	1,2	2485	0,7	6	-	145	0,8
5	3	-	1139	0,9	2100	1,1	126	0,8
6	15	-	12	-	618	0,7	17	-
7	3	-	2515	0,7	602	1,1	41	0,7
8	2	-	315	0,9	331	0,9	51	-
9	179	0,9	3594	0,8	7	-	192	0,7
10	3	-	2750	1,1	1013	1,0	25	-
11	2	-	1490	1,3	581	1,0	111	0,7
12	122	1,0	2375	0,6	696	1,0	31	-
13	341	1,4	1543	0,9	15	-	75	0,7
14	3	-	252	0,7	11	-	86	0,7
15	3	-	2042	0,7	2	-	4	-
16	4	-	1455	-	2149	-	54	1,1
17	81	1,1	1205	1,2	1389	0,8	31	-
18	4	-	2356	0,6	2476	0,7	72	-
19	225	1,1	3418	0,7	2051	0,8	51	-
20	156	1,5	2985	0,7	285	1,0	12	-
21	2	-	3119	0,3	578	0,9	54	-
22	2	-	1561	0,7	960	1,1	34	-
23	1	-	2590	0,7	11	-	367	0,8
24	155	1,2	3577	0,9	19	-	47	0,8
25	2	-	2260	0,7	1556	1,3	66	-
26	1	-	0	-	15	-	1	-

Tab. 7: Serumkonzentration der spezifischen Antikörper und Antikörperindices (AI) der 26 Kontrollpatienten mit PTC gegen *Toxoplasma gondii* (T. gondii), Herpes simplex-Virus Typ 1 und 2 (HSV1/2), Cytomegalievirus (CMV) und Epstein-Barr-Virus (EBV). Positive AI sind grün hinterlegt.

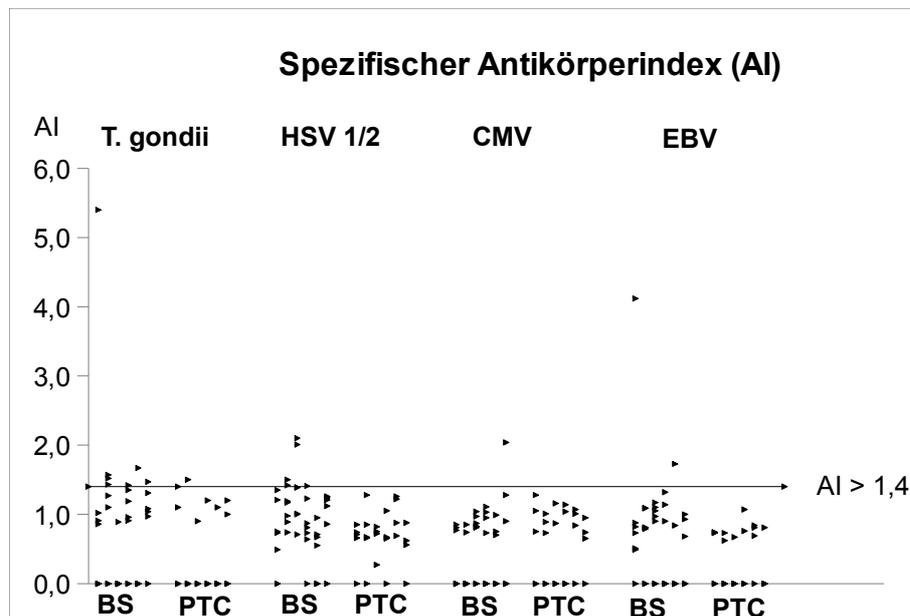


Abb. 6: Spezifischer Antikörperindex (AI) gegen *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*), Herpes simplex-Virus Typ 1 und 2 (HSV1/2), Cytomegalievirus (CMV) und Epstein-Barr-Virus (EBV) bei 40 Patienten mit Bipolaren Störungen (BS) und 26 Kontrollpersonen mit Pseudotumor cerebri (PTC).

Zum Vergleich der erregerspezifischen AI-Werte der beiden Kollektive wurde für jeden Erreger eine Vierfeldertafel erstellt und der exakte Test nach Fisher angewendet. Sie sind im Folgenden aufgeführt. Signifikante Unterschiede ergaben sich nicht.

$AI_{T. gondii}$	Studienpatienten (n)	Kontrollgruppe (n)	gesamt (n)
+	5	1	6
-	35	25	60
	40	26	66

Tab. 8: Vierfeldertafel $AI_{T. gondii}$ bei Studienpatienten und Kontrollgruppe
Exakter Test nach Fisher: $p = 0,231$ (nicht signifikant)

$Al_{HSV\ 1/2}$	Studienpatienten (n)	Kontrollgruppe (n)	gesamt (n)
+	3	0	3
-	37	26	63
	40	26	66

Tab. 9: Vierfeldertafel $Al_{HSV\ 1/2}$ bei Studienpatienten und Kontrollgruppe

Exakter Test nach Fisher: $p = 0,216$ (nicht signifikant)

Al_{CMV}	Studienpatienten (n)	Kontrollgruppe (n)	gesamt (n)
+	1	0	1
-	39	26	65
	40	26	66

Tab. 10: Vierfeldertafel Al_{CMV} bei Studienpatienten und Kontrollgruppe

Exakter Test nach Fisher: $p = 0,606$ (nicht signifikant)

Al_{EBV}	Studienpatienten (n)	Kontrollgruppe (n)	gesamt (n)
+	2	0	2
-	38	26	64
	40	26	66

Tab. 11: Vierfeldertafel Al_{EBV} bei Studienpatienten und Kontrollgruppe

Exakter Test nach Fisher: $p = 0,364$ (nicht signifikant)

Insgesamt acht Studienpatienten und ein Mitglied der Kontrollgruppe zeigten eine erregerspezifische intrathekale Antikörpersynthese gegen mindestens einen der vier getesteten Erreger. Auch dieser Unterschied zwischen den beiden Kollektiven ist statistisch nicht signifikant, jedoch ist eine Tendenz zu einer polyspezifischen Antikörpersynthese in der Gruppe der Studienpatienten zu erkennen.

AI_{positiv} gegen mindestens einen Erreger	Studienpatienten (n)	Kontrollgruppe (n)	gesamt (n)
+	8	1	9
-	32	25	57
	40	26	66

Tab. 12: Vierfeldertafel AI_{positiv} gegen mindestens einen Erreger bei Studienpatienten und Kontrollgruppe

Exakter Test nach Fisher: $p = 0,061$ (nicht signifikant)

3.3.3 Humorale Immunreaktion

Sowohl Antikörperspezifitätsindices über 1,4, als auch IgG-Indices (Gesamt-IgG) > 0,7, eine intrathekale IgG-Fraktion > 10 % und der Nachweis von oligoklonalen Banden im Liquor stellen Hinweise auf eine „humorale Immunreaktion im ZNS“ dar, wie sie von Reiber und Peter beschrieben wurde [51].

In der vorliegenden Untersuchung wiesen vier Studienpatienten (Studienpatient Nr. 2, Nr. 15, Nr. 19 und Nr. 25) einen IgG-Index > 0,7 auf. Bei fünf der Studienpatienten (Studienpatient Nr. 2, Nr. 15 und Nr. 17, Nr. 19 und Nr. 25) ließen sich oligoklonale Banden im Liquor nachweisen bzw. wurden angenommen bei einem IgG-Index > 0,8. Kein Patient der Kontrollgruppe erfüllte die hier genannten Voraussetzungen.

Antikörperspezifitätsindices größer als 1,4 wiesen die acht oben genannten Studienpatienten (Studienpatient Nr. 3, Nr. 8, Nr. 11, Nr. 14, Nr. 18, Nr. 25, Nr. 27 und Nr. 35) auf. Auch bei einem Patienten der Kontrollgruppe (Kontrollgruppen-Nr. 20) wurde ein positiver Antikörperspezifitätsindex nachgewiesen.

Zusammenfassend zeigten somit zwölf Studienpatienten (Studienpatient Nr. 2, Nr. 3, Nr. 8, Nr. 11, Nr. 14, Nr. 15, Nr. 17, Nr. 18, Nr. 19, Nr. 25, Nr. 27 und Nr. 35) mindestens einen der von Reiber und Peter angeführten Hinweise auf eine humorale Immunreaktion im ZNS. Im Kontrollkollektiv erfüllte ein Patient (Kontrollgruppen-Nr. 20) diese Bedingung.

Anhand folgender Vierfeldertafel errechnet sich mit Hilfe des exakten Test nach Fisher ein signifikant häufigeres Auftreten einer humoralen Immunreaktion im Zentralnervensystem bei den Studienpatienten im Vergleich zur Kontrollgruppe.

Humorale Immunreaktion im ZNS	Studienpatienten (n)	Kontrollgruppe (n)	gesamt (n)
+	12	1	13
-	28	25	53
	40	26	66

Tab. 13: Vierfeldertafel: Humorale Immunreaktion im ZNS bei den Studienpatienten mit Bipolarer Störung und der Kontrollgruppe

Exakter Test nach Fisher: $p=0,008$ (signifikant)

Die insgesamt zwölf Patienten des Studienkollektivs, bei denen Hinweise auf eine humorale Immunreaktion des ZNS nachweisbar waren, wurden retrospektiv durch sorgfältige Sichtung der Krankenakten hinsichtlich klinischer Parameter und Befunden der zerebralen Bildgebung charakterisiert. Hierbei ergaben sich keine Auffälligkeiten.

Die Patienten mit Hinweisen auf eine intrathekale Antikörpersynthese

unterschieden sich hinsichtlich ihres Alters bei Erstmanifestation der affektiven Störung, Häufigkeit positiver Familienanamnese für affektive Störungen und Rapid Cycling nicht von den übrigen Patienten des Studienkollektivs ohne Hinweis auf humorale Immunreaktion des ZNS. Bei zwei der Studienpatienten mit Hinweisen auf intrathekale IgG-Synthese (Studienpatienten Nr. 17 und Nr. 19) war in den Krankenakten eine komorbid bestehende Multiple Sklerose dokumentiert. Bei diesen beiden Patienten zeigten sich entsprechend Hinweise auf entzündliche Vorgänge in der zerebralen Bildgebung. Bei den übrigen Patienten waren die MRT-Untersuchungen des Schädels, sofern durchgeführt, unauffällig. Bei vier Patienten mit Hinweisen auf eine humorale Immunreaktion des ZNS (Studienpatienten Nr. 15, Nr. 17, Nr. 18 und Nr. 25) waren Schilddrüsenerkrankungen (Hypothyreose, Hashimoto-Thyreoiditis) dokumentiert.

Im Folgenden werden die klinischen und liquordiagnostischen Parameter aufgeführt:

Die zwölf Studienpatienten, bei denen Hinweise auf eine humorale Immunreaktion im ZNS gefunden wurden, unterschieden sich hinsichtlich ihres Alters bei Erstmanifestation der Bipolaren Störung nicht von den übrigen Patienten des Studienkollektivs.

	Mittelwert	Standardabweichung
Studienpatienten mit Hinweis auf humorale Immunreaktion des ZNS (n = 12)	30,3 Jahre	10,7
Studienpatienten ohne Hinweis auf humorale Immunreaktion des ZNS (n = 26, Daten von zwei Patienten liegen uns nicht vor)	31,8 Jahre	16,5

Tab. 14: Alter bei Erstmanifestation der Bipolaren Störung in einem Kollektiv von 40 Patienten, die in den Jahren 1998 bis 2008 in der Abteilung für Psychiatrie und Psychotherapie der Universitätsklinik Freiburg behandelt wurden.

Mann-Whitney-Test: $p = 0,976$ (nicht signifikant)

Auch hinsichtlich des Vorkommens von Rapid Cycling zeigte sich kein Unterschied zwischen beiden Untergruppen.

Rapid Cycling	Hinweis auf humorale Immunreaktion im ZNS (n)	Kein Hinweis humorale Immunreaktion im ZNS (n)	gesamt (n)
+	2	5	7
-	10	23	33
	12	28	40

Tab. 15: Vorliegen von Rapid Cycling in einem Kollektiv von 40 Patienten mit bipolarer affektiver Störung, die in den Jahren 1998 bis 2008 in der Abteilung für Psychiatrie und Psychotherapie der Universitätsklinik Freiburg behandelt wurden

Exakter Test nach Fisher: $p = 0,654$ (nicht signifikant)

Es zeigte sich ebenfalls keine unterschiedliche Häufigkeit einer positiven Familienanamnese für affektive Erkrankungen zwischen den Studienpatienten mit und ohne Hinweis auf humorale Immunreaktion.

Familien- anamnese	Hinweis auf humorale Immunreaktion im ZNS (n)	Kein Hinweis auf humorale Immunreaktion im ZNS (n)	gesamt (n)
positiv	9	16	25
negativ	3	12	15
	12	28	40

Tab. 16: Vierfeldertafel Vorliegen einer positiven Familienanamnese in einem Kollektiv von 40 Patienten mit Bipolarer Störung.

Exakter Test nach Fischer: $p = 0,241$ (nicht signifikant)

Der folgenden Tabelle 17 sind zusammenfassend die Parameter aus der Routinediagnostik, die im Rahmen der vorliegenden Studie bestimmten Antikörperindices, klinische Parameter, Vor- und Begleiterkrankungen sowie Befunde der zerebralen Bildgebung der zwölf Studienpatienten mit Hinweisen auf eine humorale Immunreaktion im ZNS im Überblick zu entnehmen.

Patient Nr.	Zellzahl / μ l	Gesamtprotein in mg/l	Q _{Albumin} x 10 ⁻³	OKB im Liquor	AI _{CMV}	AI _{T.gondii}	AI _{HSV}	AI _{EBV}	m/w	Alter	FA	RC	Begleit- erkrankungen	cMRT
2	1	468	6,4	positiv	0,74	-	1,42	0,79	m	18	pos			
3	1	160	1,9	negativ	0,83	-	2,01	-	w	32	neg			
8	1	437	7,2	negativ	-	1,52	1,5	1,09	m	20	pos			
11	1	437	6,9	negativ	0,75	-	0,71	1,73	w	34	neg		dissoziative Störung	
14	1	531	9,2	negativ	-	1,57	1,17	1,09	w	27	neg			
15	1	263	3,8	positiv	1,04	-	1,39	1,05	w	19	pos	ja	Hypothyreose	
17	1	347	4,5	positiv	0,99	-	0,95	0,84	w	36	pos		Multiple Sklerose, Hashimoto Thyreoiditis	entzündliche Veränderungen
18	1	249	2,8	negativ	2,04	1,47	1,12	-	w	38	pos	ja	Hypothyreose	
19	8	510	4,1	positiv	0,77	0,91	1,35	0,49	m	31	pos		Multiple Sklerose	entzündliche Veränderungen
25	2	304	3,2	positiv	-	5,4	0,73	4,12	w	43	pos		Hypothyreose, zerebrale Mikroangiopathie	
27	6	448	5,3	negativ	-	-	2,1	-	m	50	pos			
35	2	138	2,2	negativ	-	1,67	0,55	-	w	16	pos			

Tab. 17: Übersicht über liquordiagnostische und klinische Befunde der zwölf Studienpatienten mit Bipolarer Störung, bei denen Hinweise auf eine humorale Immunreaktion des ZNS bestehen. AI: spezifischer Antikörperindex; cMRT: zerebrale Magnetresonanztomographie; CMV: Cytomegalievirus; EBV: Epstein-Barr-Virus; EM: Erstmanifestation; FA: Familienanamnese; HSV: Herpes simplex-Virus; m: männlich; neg: negativ; OKB: Oligoklonale Banden; pos: positiv; Q_{Albumin}: Albuminquotient; RC: Rapid Cycling; w: weiblich

Diskussion

Ätiologie und Pathogenese der Bipolaren Störung sind noch weitgehend unbekannt. Neben einer genetischen Komponente werden unter anderem Infektionen untersucht. Ziel der vorliegenden retrospektiven Studie war der Nachweis einer intrathekalen erregerspezifischen Synthese von Antikörpern gegen die neurotrophen Erreger *Toxoplasma gondii*, Herpes simplex-Virus Typ 1 und 2, Epstein-Barr-Virus und Cytomegalievirus in einem Kollektiv aus 40 Patienten mit Bipolarer Störung und einer Kontrollgruppe, die aus 26 Patienten mit der nicht-entzündlichen neurologischen Erkrankung Pseudotumor cerebri bestand. Hierzu wurden mittels ELISA-Technik die Antikörperspezifitätsindices bestimmt.

4.1 Infektionshypothese der Bipolaren Störung

Eine intrathekale erregerspezifische Antikörpersynthese kann auf eine akute oder eine länger zurückliegende Infektion des zentralen Nervensystems hinweisen. Da die Erreger Herpes simplex-Virus, Cytomegalievirus, Epstein-Barr-Virus und *Toxoplasma gondii* in Anbetracht ihres Neurotropismus, der Fähigkeit zur Latenz und ihrer hohen Prävalenz in der Bevölkerung an der Entwicklung häufiger chronischer psychischer Erkrankungen, wie der Schizophrenie oder der bipolaren Störung, beteiligt sein könnten, und *Toxoplasma gondii* darüber hinaus im Tierversuch Verhaltensänderungen bei infizierten Individuen zu induzieren kann [14], wurden sie für die vorliegende Studie ausgewählt.

Zum Zeitpunkt einer möglichen Infektion, die in Zusammenhang mit der

Entwicklung psychischer Erkrankungen stehen könnte, kommen mehrere Hypothesen in Betracht [14]. Eine erregerspezifische Antikörpersynthese, insbesondere von Antikörpern der Immunglobulinklasse G, kann sowohl bei intrauterinem Erregerkontakt, als auch bei Infektionen in der frühen Kindheit oder im späteren Verlauf des Lebens nachweisbar sein [51].

Für die vorliegende Studie wurden Serum-Proben von 40 an Bipolarer Störung erkrankten Patientinnen und Patienten und 26 Kontrollpersonen auf das Vorliegen von Antikörpern der Immunglobulinklasse G gegen HSV-1 und -2, CMV, EBV und *T. gondii* mittels ELISA-Technik untersucht. Die beiden Kollektive zeigten keinen signifikanten Unterschied hinsichtlich der Seroprävalenz von Antikörpern gegen einen der untersuchten Erreger.

Nachdem jedoch alleine die Seroprävalenz nicht zwischen einer stattgehabten Impfung, einem blande verlaufenden Erregerkontakt, einer systemischen Infektion oder einer Infektion des ZNS unterscheiden kann [51], wurde außerdem das Vorliegen intrathekaler Immunglobuline der Klasse G gegen die gleichen Viren bzw. *T. gondii* geprüft. In der vorliegenden Arbeit wurde damit zum ersten Mal systematisch eine intrathekale erregerspezifische Antikörpersynthese gegen HSV-1 und -2, CMV, EBV und *T. gondii* in einem Kollektiv aus Patienten mit Bipolarer Störung untersucht. Bisherige Untersuchungen zur Infektionshypothese der Bipolaren Störung beschränkten sich auf den Nachweis einer erhöhten Prävalenz der erregerspezifischen Antikörper im Serum oder Liquor und klinische Verlaufsbeobachtungen zum Ansprechen klinischer Symptome psychischer Erkrankungen auf eine supportive Therapie mit Virostatika [14]. Eine Korrelation

kognitiver Defizite als Endophänotyp der Bipolaren Störung mit Serum-Antikörpern gegen HSV gelang in einer früheren Studie unserer Arbeitsgruppe [17].

In der durchgeführten Studie zeigten sich keine Unterschiede hinsichtlich der Serumkonzentrationen der vier untersuchten Antikörper zwischen den Studienpatienten und der Kontrollgruppe. Auch eine intrathekale erregerspezifische Antikörpersynthese ließ sich für keines der vier infektiösen Agenzien bei den bipolar erkrankten Patienten signifikant häufiger nachweisen als bei den Patienten aus dem Kontrollkollektiv.

Bei Erkrankungen des Zentralnervensystems, denen eine infektiös-entzündliche Ursache zu Grunde liegt, wie z.B. bei der Herpes simplex- oder Herpes zoster-Enzephalitis oder der Neuroborreliose, lassen sich noch Jahre bis Jahrzehnte nach der Ausheilung der Symptomatik Serumantikörper und erhöhte erregerspezifische Antikörperindices nachweisen [51]. Bei einem ursächlichen Zusammenhang zwischen einem der Erreger und der Bipolaren Störung wären also eine höhere Seroprävalenz und/oder Prävalenz intrathekaler erregerspezifischer Antikörper gegen das entsprechende Agens im Vergleich zur Kontrollgruppe zu erwarten. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit sprechen damit gegen eine Beteiligung eines der vier Erreger HSV, CMV, EBV und T. gondii an der Ätiologie und Pathogenese der Bipolaren Störung.

4.2 Polyspezifische Antikörpersynthese als Marker für eine humorale Immunreaktion

Erhöhte Antikörperspezifitätsindices gegen Erreger sind jedoch insbesondere im niedrig-positiven Bereich nicht zwingend hinweisend auf Infektionen, sondern können auch im Rahmen einer polyspezifischen intrathekalen Immunstimulation bei Autoimmun-Erkrankungen nachweisbar sein [51].

Bei einer Immunreaktion innerhalb des ZNS machen erregerspezifische Antikörper nur einen geringen Teil der gesamten intrathekal gebildeten Immunglobuline aus. Bei einer HSV-Enzephalitis sind beispielsweise nur 20-30 % der Antikörper im Liquor gegen HSV gerichtet [51]. Diese Heterogenität der Immunantwort wird von einigen Autoren durch die Theorie eines „Immunnetzwerkes“ erklärt, die besagt, dass bei einer Stimulation des Immunsystems durch einen bestimmten Antigen das gesamte Netzwerk involviert wird, was zur so genannten „polyspezifischen Immunantwort“ führt [51]. Eine intrathekale humorale Immunantwort weist also nicht zwingend auf eine spezifische infektiöse Ursache der aktuellen Symptomatik hin, sondern kann durch verschiedene Prozesse bedingt sein: Sie kann durch eine akut-entzündliche Erkrankung ausgelöst werden, bei der dann allerdings auch eine erhöhte Zellzahl oder ein erhöhter Albuminquotient im Liquor zu erwarten wären. Auch bei länger zurückliegenden Infektionen des ZNS, die mit der aktuellen Symptomatik nicht in direktem Zusammenhang stehen, können teilweise noch Jahre lang intrathekal synthetisierte Antikörper nachweisbar sein. Zuletzt können auch chronisch-entzündliche Autoimmunprozesse eine intrathekale humorale

Immunaktivierung induzieren, bei der Antikörper gegen mehrere unterschiedliche Antigene nachgewiesen werden können. Die intrathekale Synthese von polyspezifischen Antikörpern wird in diesem Falle nicht durch Infektion des ZNS durch das jeweilige Agens ausgelöst, sondern die erregerspezifischen Immunglobuline können auch in Abwesenheit des korrespondierenden Antigens nachweisbar sein [51], sofern das Immunsystem früher mit Antigen, z.B. im Sinne einer stillen Feiung oder Impfung, Kontakt hatte. Als klinisch relevantes Beispiel hierfür gilt die sogenannte MRZ-Reaktion, die bei der Multiplen Sklerose auftritt. Bei dieser chronisch-entzündlichen Erkrankung des Zentralnervensystems weisen 84 – 94 % der Patienten eine intrathekale Antikörpersynthese gegen mindestens einen der neurotrophen Erreger Masern-, Röteln- oder Varizella-Zoster-Virus auf, ohne dass diese Erreger ursächlich in die Pathogenese dieser Erkrankung involviert sind [54].

In der vorliegenden Arbeit wurde neben dem Nachweis der Antikörperspezifitätsindices für jeden einzelnen Erreger auch das Vorliegen einer intrathekalen Antikörpersynthese gegen mindestens eines der vier Agenzien als eine polyspezifische Reaktion betrachtet. Für die Bedingung „Al positiv für mindestens einen der vier Erreger“ zeigte sich zwar ebenfalls kein statistisch signifikantes Ergebnis, jedoch trotz kleinem Studienkollektiv ein deutlicher Trend zu einer polyspezifischen intrathekalen Synthese von Immunglobulinen. Denkbar wäre eine polyspezifische intrathekale Antikörpersynthese im Rahmen eines immunologischen Prozesses, wie es bei der Multiplen Sklerose bekannt ist. Die vorliegende Studie liefert also einen weiteren Hinweis auf eine mögliche Rolle des

Immunsystems in der Pathogenese der Bipolaren Störung.

In anderen Untersuchungen wurden neben Antikörpern, die gegen infektiöse Agenzien gerichtet sind, auch unterschiedliche weitere Immunglobuline im Serum von an Bipolarer Störung erkrankten Menschen nachgewiesen. So fanden sich zum Beispiel Antikörper gegen Nahrungsmittelbestandteile wie Casein [48] oder Gluten [49] im Serum von bipolaren Patienten. Severance und Kollegen postulieren, dass immunologische Auffälligkeiten ein signifikanter Bestandteil der Pathogenese komplexer psychischer Erkrankungen sein könnten. Sie wiesen erhöhte Titer von IgG-Serumantikörpern gegen Kuhmilchcasein im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen nach. Sie stellten außerdem fest, dass das Immunsystem der bipolaren Patienten auf andere Epitope reagierte als das der nicht-erkrankten Kontrollpersonen. Eine generelle Aktivierung des Immunsystems durch eine unspezifische polyklonale Stimulation von B-Gedächtniszellen durch T-Helferzellen wird von den Autoren als mögliche Erklärung ihrer Ergebnisse genannt [48].

In der Literatur gibt es zudem Berichte über das Vorliegen von Schilddrüsenautoantikörpern bei Patienten mit Bipolarer Störung [60, 61]. Padmos et al. wiesen darüber hinaus eine erhöhte Prävalenz unterschiedlicher organspezifischer Autoantikörper, so z.B. Anti-TPO-AK, Anti-H/K-ATPase-AK und Anti-GAD65-AK, bei an Bipolaren Störungen Erkrankten nach [62].

Die Assoziation der schweren psychischen Erkrankung mit weiteren nicht-erregerspezifischen Antikörpern könnte ebenfalls darauf hinweisen, dass nicht das Antigen selbst, gegen das sich die Immunglobuline richten, sondern ein

generalisierter Immunprozess eine Rolle in der Ätiopathogenese der Bipolaren Störung spielt.

Neben den im Rahmen dieser Studie bestimmten erregerspezifischen Antikörperindices weisen auch weitere Parameter, v.a. oligoklonale Banden im Liquor, die in der klinischen Routinediagnostik bei den Patienten unserer Studienpopulation bestimmt wurden, auf eine intrathekale Immunglobulinsynthese hin. Bei insgesamt zwölf der hier untersuchten Studienpatienten wurden im Liquor cerebrospinalis entweder ein Antikörperspezifitätsindex $> 1,4$ oder oligoklonale Banden nachgewiesen. Nur ein Patient aus dem Kontroll-Kollektiv erfüllte diese Bedingungen. Die vorliegende Studie weist damit nach dem Vorschlag Reibers [51] eine humorale Immunreaktion im Zentralnervensystem der Patienten mit Bipolarer Störung nach. Dies bestärkt die Hypothese einer unspezifischen Immunaktivierung in der Pathophysiologie der Bipolaren Störung.

Überlegungen, welche eine Rolle des Immunsystems innerhalb der Pathogenese psychischer Erkrankungen wie der Bipolaren Störung in Betracht ziehen, werden durch weitere Befunde gestützt. So berichten Eaton et al. über eine Assoziation der immunologischen Erkrankungen Guillain-Barré-Syndrom, Morbus Crohn und Autoimmun-Hepatitis mit einem erhöhten Risiko für die Bipolare Störung [41].

Neben diesen Befunden, die eine Rolle des Immunsystems in der Ätiologie und Pathogenese der Bipolaren Störung nahelegen, gelang es einigen Arbeitsgruppen Veränderungen der Immunregulation bei Erkrankten direkt nachzuweisen [31-33, 36-38, 45-47]. Esther M. Kniijf und Kollegen zeigten, dass sich der pro-inflammatorische Zustand der Monozyten bipolarer Patienten im Vergleich zu

gesunden Probanden verändert darstellte, was sich durch eine verminderte IL-1 β -vermehrte IL-6-Produktion ausdrückte [46]. Söderlund fand IL-1 β vermehrt im Liquor euthymer Patienten mit Bipolarer Störung und schließt daraus, dass IL-1 β eine pathophysiologische Rolle bei der Bipolaren Störung zukommen könnte [32]. Auch Ortiz-Dominguez et al. untersuchten Zytokinmuster bei der manisch-depressiven Erkrankung. Patienten wiesen hier im Vergleich zu gesunden Probanden signifikante Unterschiede in den Serumkonzentrationen verschiedener Zytokine, z.B. IL-1 β , -2, -4, -6 und TNF- α , auf. Dabei unterschieden sich die Zytokinmuster von zum Untersuchungszeitpunkt manischen von denen depressiver Patienten. Die Auffälligkeiten der Zytokine zeigten sich unabhängig von Medikation, klinischen und demographischen Variablen und waren auch in euthymen Phasen nachweisbar [47]. Erhöhte Werte für C-reaktives Protein im Serum von Patienten mit Bipolarer Störung korrelierten in einer Untersuchung von Dickerson et al. mit kognitiven Defiziten [38]. Auch eine abnorme Aktivierung des T-Zell-Systems und monozytärer Phagozyten bei der Bipolaren Störung wurde gezeigt [36, 37, 45]. Breunis et al. fanden eine höhere Anzahl aktivierter T-Zellen und erhöhte Spiegel des löslichen Interleukin-2-Rezeptors (sIL-2R) im Serum bipolarer Patienten im Vergleich zum Serum gesunder Probanden. Erhöhte B-Zell-Zahlen bei Bipolarer Störung und Depression wurden über die stimulierende Wirkung der ebenfalls erhöhten Interleukine IL-1 β und IL-6 erklärt [45]. Darüber hinaus lassen auch Berichte über eine Steroidresistenz von Immunzellen bipolar Erkrankter [63] und immunmodulatorische Effekte von Lithium und anderen Medikamenten, die in der Behandlung der Bipolaren Störung Anwendung finden

[44, 64], einen Zusammenhang zwischen immunologischen Vorgängen und der psychischen Erkrankung, wie er durch die Ergebnisse der vorliegenden Studie gestützt wird, annehmen.

4.3 Charakterisierung der Patienten mit Auffälligkeiten im Liquor

Bei insgesamt zwölf der 40 Patienten aus dem Studienkollektiv ließen sich entweder Antikörperindices $\geq 1,4$ oder oligoklonale Banden als Hinweise auf eine intrathekale Immunglobulinsynthese nachweisen. Durch sorgfältige Durchsicht der Krankenakten wurde retrospektiv nach Parametern gesucht, die diese Patienten von den übrigen Studienpatienten ohne Hinweise auf intrathekale IgG-Synthese unterscheiden. Dabei zeigten sich keine Auffälligkeiten in demographischer oder klinischer Hinsicht.

Bei zwei der Studienpatienten (Studienpatient Nr.17 und Nr.19) ließ sich der klinischen Dokumentation entnehmen, dass neben der Bipolaren Störung auch eine Multiple Sklerose diagnostiziert worden war. Typisch für diese Erkrankung waren bei diesen beiden Patienten auch oligoklonale Banden und damit eine intrathekale Immunglobulinsynthese nachweisbar. In der zerebralen Bildgebung zeigten sich bei diesen beiden Patienten entzündliche Veränderungen (peri- und paraventrikuläre Marklagerherde), wie bei der Enzephalomyelitis disseminata zu erwarten. Die cMRT-Befunde der übrigen Patienten mit Bipolarer Störung und Hinweisen auf eine humorale Immunreaktion im ZNS waren, soweit vorhanden, unauffällig. Eine intrathekale Antikörpersynthese gegen die von uns getesteten Erreger war bei keinem der beiden Patienten mit Bipolarer Störung und Multipler

Sklerose nachweisbar.

Die Koinzidenz der beiden Erkrankungen Multiple Sklerose und bipolare affektive Störung wurde bereits vielfach untersucht. Epidemiologische Beobachtungen gehen von einem etwa zwei- bis dreifach häufigeren Auftreten der Bipolaren Störung bei Multiple Sklerose-Kranken als in der Allgemeinbevölkerung aus [65-67]. Ursachen für diese Assoziation konnten bisher nicht belegt werden. Unklar ist, ob beispielsweise neurogenetische, neuroanatomische oder psychodynamische Mechanismen dabei eine Rolle spielen [67, 68].

4.4 Limitationen

Wenngleich in der vorliegenden Arbeit im Vergleich zur alleinigen Seroprävalenz von Antikörpern gegen neurotrope Erreger bei Patienten mit Bipolarer Störung erstmals die Bestimmung des erregerspezifischen Antikörperindex verwendet wurde, ist die Aussagekraft der Studie insbesondere durch ihren retrospektiven Charakter limitiert.

Die Lumbalpunktion zur Gewinnung von Liquor stellt ein invasives Verfahren dar. Es erschien ethisch nicht vertretbar, es eigens für unsere Studie anzuwenden, weshalb auf in der Liquorbank des Neurozentrums der Universitätsklinik Freiburg archivierte Liquor- und Serum-Probenpaare zurückgegriffen wurde. Die Liquoranalyse gehört jedoch in der Praxis nicht zur Standarddiagnostik der Bipolaren Störung. Da sie meist bei ungewöhnlichem klinischen Verlauf, auffällig hohem oder niedrigem Alter bei Erstmanifestation, unklarer Diagnose oder Therapieresistenz zum Ausschluss „organischer Ursachen“ eingesetzt wird,

repräsentiert die Studienpopulation nicht die Mehrheit der Patienten, die an bipolarer affektiver Störung leiden. Somit kann ein „selection bias“ des hier untersuchten Patientenkollektivs nicht ausgeschlossen werden. In unserem Kollektiv aus 661 Patienten, die in den Jahren 1998 – 2008 mit einer Diagnose aus dem bipolaren Spektrum in der Abteilung für Psychiatrie und Psychotherapie der Universitätsklinik Freiburg behandelt wurden, wurden jedoch bei immerhin etwa 10 % (etwa 60 Patienten) und damit einem recht hohen Anteil der Patienten diagnostische Lumbalpunktionen durchgeführt.

Da die Mehrzahl der Studienpatienten (32 der 40 Patienten) zum Zeitpunkt der Lumbalpunktion psychopharmakologisch behandelt wurde, kann darüber hinaus ein Einfluss der Medikation auf die Ergebnisse der Studie nicht ausgeschlossen werden, insbesondere da einige der häufig in der Behandlung der Bipolaren Störung eingesetzten Medikamente immunologische Vorgänge beeinflussen [46, 64] und auch der Replikation von *Toxoplasma gondii* entgegenwirken können [18]. Die für den Nachweis der erregerspezifischen Antikörper gegen Epstein-Barr-Virus und *Toxoplasma gondii* in Liquor und Serum verwendeten ELISA-Kits „virion serion ELISA classic EBNA-1“ und „virion serion ELISA classic *Toxoplasma gondii*“ sind vom Hersteller nicht für die Liquordiagnostik und die Bestimmung des Antikörperspezifitätsindex validiert. In mehrfachen Nachbestimmungen erwiesen sich die vorliegenden Ergebnisse jedoch als reliabel.

4.5 Ausblick

Die Ergebnisse unserer Studie widersprechen Theorien, die eine direkte Rolle infektiöser Agenzien bei der Entwicklung der Bipolaren Störung vermuten. Sie liefert jedoch Hinweise auf eine mögliche Beteiligung immunologischer Vorgänge in der Pathogenese der Erkrankung. Der sich in unserer Studie ergebende Trend zu einer polyspezifischen Antikörpersynthese könnte durch weitere prospektive Untersuchungen an größeren Patientenkollektiven bestätigt werden. Dabei erscheint auch der Nachweis von Antikörpern und Bestimmung des Antikörper-Index gegen weitere neurotrope Erreger mit hoher Prävalenz in der Bevölkerung, insbesondere gegen Masern-, Mumps- und Varicella zoster-Viren, wie sie bereits in der Routinediagnostik der Multiplen Sklerose eingesetzt werden, sinnvoll. Um ein „selection bias“ als wichtige Limitation, die die Aussagekraft unserer Studie einschränkt, zu vermeiden, sollten Folgestudien möglichst ein prospektives Design aufweisen und Patienten einschließen, die hinsichtlich Symptomatik, Verlauf und Alter bei Erstmanifestation die Mehrzahl der Patienten mit Bipolarer Störung repräsentieren. Liquor- und Serumproben sollten möglichst rasch nach Erstmanifestation bzw. Erstdiagnose der Erkrankung gewonnen werden. Um mögliche Hinweise auf eine Immunaktivierung zu erfassen, sollte die Routineuntersuchung inkl. Nachweis oligoklonaler Banden vollständig durchgeführt werden. Auch das Hinzuziehen von Befunden aus der zerebralen Bildgebung wäre interessant, um eine mögliche Korrelation einer intrathekalen Antikörpersynthese mit Auffälligkeiten im cMRT zu untersuchen.

Wegen eines möglichen Einflusses der Medikation auf eine intrathekale

Antikörpersynthese, sollten Patienten in Folgestudien nach Möglichkeit zum Zeitpunkt der Probeentnahme keine Medikamente erhalten.

Sollten weitere Untersuchungen die existierenden und auch von uns gezeigten Hinweise auf humorale autoimmunologische Prozesse innerhalb der Pathogenese der Bipolaren Störung bestätigen, könnten sich hierdurch auch therapeutische Konsequenzen ergeben: Medikamente mit immunmodulatorischem Wirkprinzip könnten eine mögliche neue Behandlungsstrategie darstellen (35, 69).

Zusammenfassend spricht die vorliegende retrospektive Studie gegen eine ursächliche Beteiligung der neurotrophen Erreger Herpes simplex-Virus Typ 1 und 2, Cytomegalievirus, Epstein-Barr-Virus und Toxoplasma gondii an der Pathogenese der Bipolaren Störung. Sie zeigt dagegen einen klaren Trend zu einer polyspezifischen intrathekalen Antikörpersynthese. Unter Einbezug der innerhalb der klinischen Routinediagnostik nachgewiesenen oligoklonalen Banden ergab sich ein signifikant häufigeres Auftreten einer humoralen Immunreaktion bei den 40 Patienten mit Bipolarer Störung im Vergleich zur Kontrollgruppe, die aus 26 Patienten mit der nicht-entzündlichen Erkrankung Pseudotumor cerebri bestand. Unsere Ergebnisse liefern daher einen weiteren Hinweis auf eine mögliche Autoimmunpathogenese der Erkrankung.

Zusammenfassung

Ätiologie und Pathogenese der Bipolaren Störung sind noch weitgehend unbekannt, eine multifaktorielle Genese wird angenommen. Unter anderem werden eine mögliche Beteiligung infektiöser Agenzien sowie immunologischer Vorgänge diskutiert. In der vorliegenden retrospektiven Studie wurden erstmals Liquor- und Serumproben von 40 Patienten mit Bipolarer Störung auf das Vorliegen einer spezifischen intrathekalen Antikörpersynthese gegen vier neurotrope Erreger, die mit der Ätiopathogenese der Erkrankung in Verbindung gebracht wurden (HSV 1/2, CMV, EBV, T. gondii), untersucht. Als Kontrollkollektiv dienten 26 Patienten mit Pseudotumor cerebri. Antikörperspezifitätsindices gegen die vier genannten Erreger wurden mittels ELISA bestimmt.

Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede sowohl hinsichtlich der Prävalenzen von Serum-Antikörpern als auch in Hinblick auf das Vorhandensein von positiven Antikörperspezifitätsindices gegen die vier ausgewählten Erreger. Diese Befunde sprechen gegen eine ursächliche Beteiligung der untersuchten Agenzien an der Ätiopathogenese der Bipolaren Störung. Es zeigt sich dagegen ein Trend zu einer polyspezifischen intrathekalen Antikörpersynthese bei den Studienpatienten. Unter Einbezug von oligoklonalen Banden aus der Routinediagnostik zeigt sich ein signifikant häufigeres Vorkommen einer humoralen Immunreaktion des ZNS bei den Patienten mit Bipolarer Störung. Unsere Studie liefert damit einen Hinweis auf eine mögliche Autoimmunpathogenese der Bipolaren Störung.

Literaturverzeichnis

- [1] Vieta E, Langosch JM, Figueira ML, Souery D, Blasco Colmenares E, Medina E, Moreno-Manzanaro M, Gonzalez MA, Bellivier F. Clinical management and burden of bipolar disorder: results from a multinational longitudinal study (WAVE-bd). *Int J Neuropsychopharmacol*. 2013 Sep;16(8):1719-32
- [2] Ebert D. *Psychiatrie systematisch*, 7. Auflage, 2008: 234-235
- [3] Hilty D, Brady K, Hales R. A Review of Bipolar Disorder Among Adults. *Psychiatr Serv*. 1999 Feb;50(2):201-13
- [4] Shih R, Belmonte P, Zandi P. A review of the evidence from family, twin and adoption studies for a genetic contribution to adult psychiatric disorders. *Int Rev Psychiatry*. 2004 Nov;16(4):260-83.
- [5] Gershon E. Bipolar Illness and Schizophrenia as Oligogenic Diseases: implications for the Future. *Biol Psychiatry*. 2000 Feb 1;47(3):240-4
- [6] Egeland J, Gerhard D, Pauls D, Sussex J, Kidd K, Allen C, Hostetter A, Housman D. Bipolar affective disorders linked to DNA markers on chromosome 11. *Nature*. 1987 Feb 26-Mar 4;325(6107):783-7
- [7] Escamilla M., Zavala J. Genetics of bipolar disorder. *Dialogues Clin Neurosci*. 2008;10(2):141-52
- [8] Gershon E, Alliey-Rodriguez N, Liu C. After GWAS: Searching for Genetic Risk for Schizophrenia and Bipolar Disorder. *Am J Psychiatry*. 2011 Mar;168(3):253-6
- [9] Glatt SJ, Cohen OS, Faraone SV, Tsuang MT. Dysfunctional Gene Splicing as a Potential Contributor to Neuropsychiatric Disorders. *Am J Med Genet B*

Neuropsychiatr Genet. 2011 Jun;156B(4):382-92

[10] Etain B, Henry C, Bellivier F, Mathieu F, Leboyer M. Beyond genetics: childhood affective trauma in bipolar disorder. *Bipolar Disord*. 2008 Dec;10(8):867-76

[11] Rush AJ. Toward an Understanding of Bipolar Disorder and its Origin. *J Clin Psychiatry*. 2003;64 Suppl 6:4-8; discussion 28

[12] Rutten BP, Mill J. Epigenetic Mediation of Environmental Influences in Major Psychotic Disorders. *Schizophr Bull*. 2009 Nov;35(6):1045-56

[13] Yolken RH, Torrey EF. Viruses, Schizophrenia, and Bipolar Disorder. *Clin Microbiol Rev*. 1995 Jan;8(1):131-45.

[14] Yolken RH, Torrey EF. Are some cases of psychosis caused by microbial agents? A review of the evidence. *Mol Psychiatry* 2008 May;13(5):470-9

[15] Tedla Y, Shibre T, Ali O, Tadele G, Woldeamanuel Y, Asrat D, Aseffa A, Mihret W, Abebe M, Alem A, Medhin G, Habte A. Serum antibodies to *Toxoplasma gondii* and Herpesviridae family viruses in individuals with schizophrenia and bipolar disorder: a case-control study. *Ethiop Med J*. 2011 Jul;49(3):211-20.

[16] Hamdani N, Daban-Huard C, Lajnef M, Richard JR, Delavest M, Godin O, Le Guen E, Vederine FE, Lépine JP, Jamain S, Houenou J, Le Corvoisier P, Aoki M, Moins-Teisserenc H, Charron D, Krishnamoorthy R, Yolken R, Dickerson F, Tamouza R, Leboyer M. Relationship between *Toxoplasma gondii* infection and bipolar disorder in a French sample. *J Affect Disord*. 2013 Jun;148(2-3):444-8.

[17] Gerber SI, Krienke UJ, Biedermann NC, Grunze H, Yolken RH, Dittmann S, Langosch JM. Impaired functioning in euthymic patients with bipolar disorder--

HSV-1 as a predictor. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2012 Jan 10;36(1):110-6.

[18] Jones-Brando L, Torrey EF, Yolken R. Drugs used in the treatment of schizophrenia and bipolar disorder inhibit the replication of *Toxoplasma gondii*. *Schizophr Res*. 2003 Aug 1;62(3):237-44.

[19] Pearce BD, Kruszon-Moran D, Jones JL. The relationship between *Toxoplasma gondii* infection and mood disorders in the third National Health and Nutrition Survey. *Biol Psychiatry*. 2012 Aug 15;72(4):290-5.

[20] Mortensen PB, Pedersen CB, McGrath JJ, Hougaard DM, Nørgaard-Petersen B, Mors O, Børghlum AD, Yolken RH. Neonatal antibodies to infectious agents and risk of bipolar disorder: a population-based case-control study. *Bipolar Disord*. 2011 Nov-Dec;13(7-8):624-9.

[21] Hamdani N, Doukhan R, Picard A, T Amouza R, Leboyer M. A bipolar disorder patient becoming asymptomatic after adjunctive anti-filariasis treatment: a case report. *BMC Psychiatry*. 2013 Mar 13;13:81.

[22] Webster JP, Lamberton PH, Donnelly CA, Torrey EF. Parasites as causative agents of human affective disorders? The impact of anti-psychotic, mood-stabilizer and anti-parasite medication on *Toxoplasma gondii*'s ability to alter host behaviour. *Proc Biol Sci*. 2006 Apr 22;273(1589):1023-30

[23] Dickerson FB, Boronow JJ, Stallings C, Origoni AE, Cole S, Krivogorsky B, Yolken RH. Infection with herpes simplex virus type 1 is associated with cognitive deficits in bipolar disorder. *Biol Psychiatry*. 2004 Mar 15;55(6):588-93.

[24] Dickerson FB, Boronow JJ, Stallings C, Origoni AE, Cole S, Leister F,

Krivogorsky B, Yolken RH. The catechol O-methyltransferase Val158Met polymorphism and herpes simplex virus type 1 infection are risk factors for cognitive impairment in bipolar disorder: additive gene-environmental effects in a complex human psychiatric disorder. *Bipolar Disord*. 2006 Apr;8(2):124-32.

[25] Torrey EF, Yolken RH, Winfrey CJ. Cytomegalovirus antibody in cerebrospinal fluid of schizophrenic patients detected by enzyme immunoassay. *Science*. 1982 May 21;216(4548):892-4.

[26] Carter CJ. Susceptibility genes are enriched in those of the HSV-1/host interactome in psychiatric and neurological disorders. *Pathog Dis*. 2013 Aug 3

[27] Hemachudha T, Ugolini G, Wacharapluesadee S, Sungkarat W, Shuangshoti S, Laothamatas J. Human rabies: neuropathogenesis, diagnosis, and management. *Lancet Neurol*. 2013 May;12(5):498-613

[28] Torrey EF, Miller J, Rawlings R, Yolken RH. Seasonality of births in schizophrenia and bipolar disorder: a review of the literature. *Schizophr Res*. 1997 Nov 7;28(1):1-38

[29] Parboosing R, Bao Y, Shen L, Schaefer CA, Brown AS. Gestational Influenza and Bipolar Disorder in Adult Offspring. *JAMA Psychiatry*. 2013 Jul;70(7):677-85

[30] Chen CH, Suckling J, Lennox BR, Ooi C, Bullmore ET. A quantitative meta-analysis of fMRI studies in bipolar disorder. *Bipolar Disord*. 2011 Feb;13(1):1-15

[31] Hamdani N, Tamouza R, Leboyer M. Immuno-inflammatory markers of bipolar disorder: a review of evidence. *Front Biosci (Elite Ed)*. 2012 Jan 1;4:2170-82.

[32] Söderlund J, Olsson SK, Samuelsson M, Walther-Jallow L, Johansson C, Erhardt S, Landén M, Engberg G. Elevation of cerebrospinal fluid interleukin-1 β in

bipolar disorder. *J Psychiatry Neurosci*. 2011 Mar;36(2):114-8

[33] Jakobsson J, Stridsberg M, Zetterberg H, Blennow K, Ekman CJ, Johansson AG, Sellgren C, Landén M. Decreased cerebrospinal fluid secretogranin II concentrations in severe forms of bipolar disorder. *J Psychiatry Neurosci*. 2013 Jul;38(4):E21-6.

[34] Leboyer M, Soreca I, Scott J, Frye M, Henry C, Tamouza R, Kupfer DJ.v. Can bipolar disorder be viewed as a multi-system inflammatory disease? *J Affect Disord*. 2012 Dec 1;141(1):1-10.

[35] Nery FG, Monkul ES, Hatch JP, Fonseca M, Zunta-Soares GB, Frey BN, Bowden CL, Soares JC. Celecoxib as an adjunct in the treatment of depressive or mixed episodes of bipolar disorder: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Hum Psychopharmacol*. 2008 Mar;23(2):87-94.

[36] Drexhage RC, Hoogenboezem TH, Versnel MA, Berghout A, Nolen WA, Drexhage HA. The activation of monocyte and T cell networks in patients with bipolar disorder. *Brain Behav Immun*. 2011 Aug;25(6):1206-13.

[37] Drexhage RC, Knijff EM, Padmos RC, Heul-Nieuwenhuijzen Lv, Beumer W, Versnel MA, Drexhage HA. The mononuclear phagocyte system and its cytokine inflammatory networks in schizophrenia and bipolar disorder. *Expert Rev Neurother*. 2010 Jan;10(1):59-76.

[38] Dickerson F, Stallings C, Origoni A, Vaughan C, Khushalani S, Yolken R. Elevated C-reactive protein and cognitive deficits in individuals with bipolar disorder. *J Affect Disord*. 2013 May 17.

[39] Suvisaari J, Mantere O. Inflammation theories in psychotic disorders: a critical

review. *Infect Disord Drug Targets*. 2013 Jun 5;13(1):59-70.

[40] Rege S, Hodgkinson SJ. Immune dysregulation and autoimmunity in bipolar disorder: Synthesis of the evidence and its clinical application. *Aust N Z J Psychiatry*. 2013 Aug 1. [Epub ahead of print]

[41] Eaton WW, Pedersen MG, Nielsen PR, Mortensen PB. Autoimmune diseases, bipolar disorder, and non-affective psychosis. *Bipolar Disord*. 2010 Sep;12(6):638-46

[42] Knijff EM, Breunis MN, van Geest MC, Kupka RW, Ruwhof C, de Wit HJ, Nolen WA, Drexhage HA. A relative resistance of T cells to dexamethasone in bipolar disorder. *Bipolar Disord*. 2006 Dec;8(6):740-50

[43] Watson S, Gallagher P, Ritchie JC, Ferrier IN, Young AH. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis function in patients with bipolar disorder. *Br J Psychiatry*. 2004 Jun;184:496-502

[44] Goldstein BI, Kemp DE, Soczynska JK, McIntyre RS. Inflammation and the Phenomenology, Pathophysiology, Comorbidity, and Treatment of Bipolar Disorder: A Systematic Review of the Literature. *J Clin Psychiatry*. 2009 Aug;70(8):1078-9

[45] Breunis MN, Kupka RW, Nolen WA, Suppes T, Denicoff KD, Leverich G, Post RM, Drexhage HA. High numbers of circulating activated T cells and raised levels of Serum IL-2 Receptor in Bipolar Disorder. *Biol Psychiatry*. 2003 Jan 15;53(2):157-65

[46] Knijff EM, Breunis MN, Kupka RW, de Wit HJ, Ruwhof C, Akkerhuis GW, Nolen WA, Drexhage HA. An imbalance in the production of IL-1 β and IL-6 by

monocytes of bipolar patients: restoration by lithium treatment. *Bipolar Disord.* 2007 Nov;9(7):743-53

[47] Ortiz-Dominguez A, Hernandez ME, Berlanga C, Gutierrez-Mora D, Moreno J, Heinze G, Pavon L. Immune variations in bipolar disorder: phasic differences. *Bipolar Disord.* 2007 Sep;9(6):596-60

[48] Severance EG, Dupont D, Dickerson FB, Stallings CR, Orioni AE, Krivogorsky B, Yang S, Haasnoot W, Yolken RH. Immune activation by casein dietary antigens in bipolar disorder. *Bipolar Disord.* 2010 Dec; 12(8):834-4

[49] Dickerson F, Stallings C, Orioni A, Vaughan C, Khushalani S, Alaedini A, Yolken R. Markers of gluten sensitivity and celiac disease in bipolar disorder. *Bipolar Disord.* 2011 Feb;13(1):52-8

[50] Health and Public Policy Committee, American College of Physicians. The Diagnostic Spinal Tap. *Ann Intern Med.* 1986 Jun;104(6):880-6

[51] Reiber H, Peter JB. Cerebrospinal fluid analysis: disease-related data patterns and evaluation programs. *J Neurol Sci.* 2001 Mar 1;184(2):101-22

[52] Ganrot K, Laurell CB. Measurement of IgG and Albumin Content of Cerebrospinal Fluid, and Its Interpretation. *Clin Chem.* 1974 May;20(5): 571-3

[53] Polman CH, Reingold SC, Edan G, Filippi M, Hartung HP, Kappos L, Lublin FD, Metz LM, McFarland HF, O'Connor PW, Sandberg-Wollheim M, Thompson AJ, Weinshenker BG, Wolinsky JS. Diagnostic Criteria for Multiple Sclerosis: 2005 Revisions to the „McDonald Criteria“. *Ann Neurol.* 2005 Dec;58(6):840-6

[54] Reiber H, Ungefehr S, Jacobi C. The intrathecal, polyspecific and oligoclonal immune response in multiple sclerosis. *Mult Scler.* 1998 Jun;4(3):111-7

-
- [55] Berger M. (Hrsg.) Psychische Erkrankungen. 4. Auflage 2012; S.75
- [56] Berger M. (Hrsg.) Psychische Erkrankungen. 4. Auflage 2012; S.239
- [57] Dhungana S, Sharrack B, Woodroffe N. Idiopathic intracranial hypertension. *Acta Neurol Scand.* 2010 Feb;121(2):71-82
- [58] Friedman DI, Jacobson DM. Idiopathic Intracranial Hypertension. *J Neuroophthalmol.* 2004 Jun;24(2):138-45
- [59] Serion ELISA classic, Liquordiagnostik
- [60] Kupka RW, Nolen WA, Post RM, McElroy SL, Altshuler LL, Denicoff KD, Frye MA, Keck PE Jr, Leverich GS, Rush AJ, Suppes T, Pollio C, Drexhage HA. High rate of autoimmune thyroiditis in bipolar disorder: lack of association with lithium exposure. *Biol Psychiatry.* 2002 Feb 15;51(4):305-11
- [61] Haggerty JJ Jr, Evans DL, Golden RN, Pedersen CA, Simon JS, Nemeroff CB. The presence of antithyroid antibodies in patients with affective and nonaffective psychiatric disorders. *Biol Psychiatry.* 1990 Jan 1;27(1):51-60
- [62] Padmos RC, Bekris L, Knijff EM, Tiemeier H, Kupka RW, Cohen D, Nolen WA, Lernmark WA, Drexhage HA. A high prevalence of organ-specific autoimmunity in patients with bipolar disorder. *Biol Psychiatry.* 2004 Oct 1;56(7):476-82
- [63] Kupka RW, Breunis MN, Knijff E, Ruwhof C, Nolen WA, Drexhage HA. Immune activation, steroid resistancy and bipolar disorder. *Bipolar Disord.* 2002;4 Suppl 1: 73-74
- [64] Rowse AL, Naves R, Cashman KS, McGuire DJ, Mbana T, Raman C, De Sarno P. Lithium Controls Central Nervous System Autoimmunity through Modulation of IFN- γ Signaling. *PloS One* 2012: 7(12): e52658

- [65] Iacovides A, Andreoulakis E. Bipolar disorder and resembling special psychopathological manifestations in multiple sclerosis: a review. *Curr Opin Psychiatry* 2011 Jul; 24(4):336-40
- [66] Schiffer RB, Wineman NM, Weitkamp LR. Association Between Bipolar Affective Disorder and Multiple Sclerosis. *Am J Psychiatry*. 1986 Jan;143(1):94-5
- [67] Marrie RA, Fisk JD, Yu BN, Leung S, Elliott L, Caetano P, Warren S, Evans C, Wolfson C, Svenson LW, Tremlett H, Blanchard JF, Patten SB; CIHR Team in the Epidemiology and Impact of Comorbidity on Multiple Sclerosis. Mental comorbidity and multiple sclerosis: validating administrative data to support population-based surveillance. *BMC Neurol*. 2013 Feb 6;13:16.
- [68] Kosmidis MH, Bozikas VP, Giannouli V, Karavatos A, Fokas K. Familial comorbidity of bipolar disorder and multiple sclerosis: genetic susceptibility, coexistence or causal relationship? *Behav Neurol*. 2012;25(4):341-9.
- [69] McNamara RK, Lotrich FE. Elevated immune-inflammatory signaling in mood disorders: a new therapeutic target? *Expert Rev Neurother*. 2012 Sep;12(9):1143-1161.
- [70] Andersson M, Alvarez-Cermeno J, Bernardi G, Cogato I, Fredman P, Frederiksen J, Fredrikson S, Gallo P, Grimaldi LM, Grønning M. Cerebrospinal fluid in the diagnosis of multiple sclerosis: A consensus report. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1994;57:897-902

Publikationen

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit wurden bereits an folgender Stelle veröffentlicht:

Andres, Tamara; Stich, Oliver; Gross, Claus; Gerber, Sonja; Rauer, Sebastian; Langosch, Jens. Prevalence of Intrathecal Antibody Synthesis against Neurotropic Agents in Patients with Bipolar Disorder. 28. AGNP-Symposium, München, 19.09.2013, Poster A5

Danksagung

Ich bedanke mich herzlich bei Herrn PD Dr. Jens Langosch für das Überlassen des Themas und seine hervorragende Betreuung und Unterstützung.

Herrn Prof. Dr. Mathias Berger danke ich für die Möglichkeit der Promotion in seiner Klinik.

Bei Herrn PD Dr. Oliver Stich möchte ich mich für die Übernahme der Zweitkorrektur, für seine Ermutigung und seine wertvollen Hinweise bedanken.

Herrn Prof. Sebastian Rauer gilt mein Dank, da ich für unsere Studie auf seine Liquorbank zurückgreifen und seine Laborräume nutzen durfte.

Dr. Claus M. Gross danke ich für die hilfreiche Betreuung während meiner Doktorarbeit und in gleichem Maße für meine ersten Einblicke in das schöne Fach der Psychiatrie.

Auch Dr. Sonja Gerber, die mir mit Rat und Tat zur Seite stand, möchte ich Danke sagen.

Dem Team des Liquorlabors im Neurozentrum der Uniklinik Freiburg und den ehemaligen Mit-Doktoranden Sarah Perera und Jacob Kluge danke ich für die Unterstützung während der Zusammenstellung der Patientenkollektive und der praktischen Arbeit.

Meine lieben Eltern, liebe Raphaela, lieber Michael: Ihr habt mich hierher begleitet.

Euch danke ich für alles!

Lebenslauf

Die Seiten 79 und 80 (Lebenslauf) enthalten persönliche Daten. Sie sind deshalb nicht Bestandteil der Online-Veröffentlichung.

Die Seiten 79 und 80 (Lebenslauf) enthalten persönliche Daten. Sie sind deshalb nicht Bestandteil der Online-Veröffentlichung.