

Aus der Klinik für Neurologie  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Neuronale Autoantikörper bei Patienten mit  
malignem Melanom und deren Einfluss auf kognitive Funktion  
und neurologischen Status

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Timo Strönisch  
aus Berlin

Datum der Promotion: 18.09.2020

## Inhaltsverzeichnis

Abstract (Deutsch).....	4
Abstract (English) .....	5
Manteltext.....	7
1 Einleitung .....	7
2 Methodik.....	11
2.1 Studiendesign und Patientenrekrutierung.....	11
2.2 Neuropsychologische Untersuchung.....	12
2.3 Auswertung der neuropsychologischen Rohdaten .....	15
2.4 Definition von kognitiven Defiziten und kognitiver Beeinträchtigung .....	15
2.5 Berechnung der kognitiven Gesamtleistung .....	15
2.6 Serologische Untersuchung auf neuronale Antikörper .....	16
2.7 Statistische Analyse.....	16
3 Ergebnisse .....	17
3.1 Häufigkeit neuronaler Antikörper.....	17
3.2 Neuronale Gewebefärbungen .....	18
3.3 Klinische Charakteristika der Kohorte .....	18
3.3.1 Vergleich der neuropsychologisch untersuchten und nicht untersuchten Patienten .....	19
3.3.2 Charakteristika innerhalb der neuropsychologisch untersuchten Patientengruppe: Vergleich der Antikörper-positiven mit den Antikörper-negativen Patienten.....	19
3.3.3 Logistische Regression: Antikörperstatus in Abhängigkeit vom Alter .....	20
3.4 Neuropsychologische Ergebnisse .....	20
3.4.1 Kognitive Beeinträchtigung und kognitive Defizite in Abhängigkeit vom Antikörperstatus .....	20
3.4.2 Ergebnisse aus den kognitiven Einzeltests und kognitive Gesamtleistung.....	20
3.4.3 Weitere Einflussfaktoren auf die kognitive Funktion.....	21
3.4.4 Multimorbidität und kognitive Beeinträchtigung.....	21
3.4.5 Regressionsmodell der gesamt-kognitiven Leistung .....	22
3.5 Ergebnisse der neurologischen Untersuchung.....	22
4 Diskussion.....	22
4.1 Zusammenfassung der Ergebnisse.....	22
4.2 Pathophysiologie der neuronalen Antikörper und klinische Zusammenhänge: Einordnung der Methodik und der Ergebnisse im Kontext von Voruntersuchungen .....	23
4.3 „Cancer-related cognitive impairment“ bei Patienten mit malignem Melanom ohne Hirnmetastasen: Risikofaktoren und die Rolle neuronaler Antikörper.....	26

4.4 Limitationen und weiterer Forschungsbedarf.....	26
4.5 Klinische Implikationen bei neurologischen und kognitiven Auffälligkeiten .....	27
5 Referenzen.....	29
Eidesstattliche Versicherung .....	33
Ausführliche Anteilserklärung an der erfolgten Publikation .....	34
Auszug aus der Journal Summary List: Oncology Journals .....	35
Publikation.....	36
Supplement der Publikation.....	43
Lebenslauf von Timo Strönisch .....	60
Publikationsliste.....	62
Danksagung .....	63

Erstbetreuer: Prof. Dr. Carsten Finke

Zweitbetreuer: Dr. Frederik Bartels

## Abstract (Deutsch)

### Hintergrund:

Neuronale Autoantikörper können bei klassischen paraneoplastischen neurologischen Syndromen, jedoch auch außerhalb von Tumorerkrankungen auftreten. Sie können gegen intra- oder extrazelluläre Antigene gerichtet sein und unterscheiden sich im Pathomechanismus, der Tumorassoziation und dem Therapieansprechen. Antikörper gegen extrazelluläre neuronale Oberflächenproteine wurden bei einer großen Anzahl von Patienten mit Tumorerkrankungen, einschließlich dem malignem Melanom, gefunden. Ihr Auftreten war dabei mit kognitiven Defiziten assoziiert und es fanden sich insbesondere Antikörper gegen N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptoren (NMDAR) vom IgA- und IgM-Isotyp. Bisher wurden diese Antikörper bei Patienten mit unklassifizierten Demenzen, aber auch bei gesunden Kontrollprobanden und bei anderen neurologischen Erkrankungen beschrieben. Prospektive systematische Untersuchungen über deren Auswirkungen auf kognitive Funktionen liegen bislang nicht vor.

### Methodik:

In dieser Querschnittsstudie sollte an 157 Patienten mit malignem Melanom die Seroprävalenz neuronaler Autoantikörper untersucht werden. Zur Testung auf neuronale Antikörper im Serum wurden Zell-basierte Immunfluoreszenz-Verfahren mit Human-Embryonic-Kidney(HEK)293-Zellen und neuronale Gewebefärbungen verwendet. Ein Teil der Patienten erhielt zudem eine detaillierte neurologische und neuropsychologische Untersuchung, wobei Patienten mit potentiellen Störfaktoren für die kognitive Leistung (Hirnmetastasen, Depression oder Schlaganfall) ausgeschlossen wurden.

### Ergebnisse:

Neuronale Antikörper konnten bei 22,3% der Melanom-Patienten nachgewiesen werden. Insgesamt traten bei 17,8% der Patienten Antikörper gegen neuronale Oberflächenantigene auf. Am häufigsten lagen Antikörper gegen NMDAR vom IgA- und IgM-Isotyp vor (bei insgesamt 15,9%). Antikörper gegen intrazelluläre Antigene fanden sich bei 6,5% der Patienten. Nach den Kriterien der International Cognition and Cancer Task Force (ICCTF) hatten 36,9% der 84 neuropsychologisch getesteten Patienten eine kognitive Beeinträchtigung. Interessanterweise zeigten Antikörper-positive Patienten häufiger eine kognitive Beeinträchtigung gegenüber Antikörper-negativen Patienten (57,1% vs. 30,2%, Odds Ratio: 3,1, 95%CI: 1,1-8,6; p=0,037). Antikörper-positive Patienten wiesen darüber hinaus im Vergleich zu Antikörper-negativen Patienten signifikant häufiger Defizite in kognitiven Untertests sowie einen signifikant geringeren kognitiven Gesamtscore auf. Betroffene kognitive Domänen waren dabei das visuelle Gedächtnis, das Arbeitsgedächtnis

sowie Aufmerksamkeits- und Exekutivfunktion. Ähnliche Ergebnisse folgten aus einer Subgruppenanalyse mit den NMDAR-Antikörper-positiven Patienten. Bei diesen Patienten wurde zusätzlich eine Titer-abhängige Zunahme des Auftretens kognitiver Beeinträchtigungen erkennbar. Eine positive Anamnese für Autoimmunerkrankungen war signifikant häufiger mit einem NMDAR-Antikörper-Nachweis assoziiert. Auch wiesen Patienten unter der Therapie mit dem Immuncheckpoint-Inhibitor Ipilimumab signifikant häufiger neuronale Antikörper auf. Antikörper gegen intrazelluläre Antigene waren dagegen mit Auffälligkeiten in der neurologischen Untersuchung verbunden.

#### Schlussfolgerung:

Zusammenfassend zeigte sich, dass neuronale Antikörper einen möglichen Faktor in der Pathogenese von Tumor-assoziierten kognitiven Defiziten darstellen. Außerdem lässt sich schlussfolgern, dass bei kognitiven und neurologischen Auffälligkeiten bei Melanom-Patienten eine neuronale Antikörperdiagnostik in der diagnostischen Aufarbeitung erwogen werden sollte.

### Abstract (English)

#### Background:

Neuronal autoantibodies can occur in classical paraneoplastic neurologic syndromes with tumors but also without an underlying tumor disease. They can be directed against intracellular or extracellular antigens. Recently, a high frequency of antibodies against extracellular neuronal surface antigens has been identified in a retrospective study of tumor patients including melanoma patients. Antibody occurrence was associated with cognitive deficits. Most frequently detected antibodies were directed against N-methyl-D-aspartate-receptors (NMDAR) and consisted of the IgA and IgM isotypes. Prior to that, these antibodies had been found in patients with unclassified dementias but also in healthy control groups or patients with other neurologic diseases. So far, there are no systematic prospective investigations about their effects on detailed cognitive functions.

#### Methods:

In this cross-sectional study including 157 patients with malignant melanoma the prevalence of neuronal autoantibodies was examined by serum testing using cell-based immunofluorescence assays with human embryonic kidney(HEK)293 cells and neuronal tissue staining. Additionally, a neuropsychological and a neurologic examination was performed in a subgroup of patients. Antibody-positive and antibody-negative patients were compared after exclusion of patients with confounders for the cognitive performance (brain metastases, depression or stroke).

### Results:

Neuronal antibodies were found in 22.3% of melanoma patients. Antibodies against neuronal surface antigens were observed in 17.8% of all patients and mainly consisted of IgA or IgM antibodies against NMDAR (15.9%). Antibodies against intracellular antigens were present in 6.5% of the patients. In the group of the 84 neuropsychologically tested patients 36.9% had cognitive impairment following the International Cognition and Cancer Task Force (ICCTF) criteria. Interestingly, there was a higher risk for cognitive impairment in antibody-positive patients compared to antibody-negative patients (57.1% vs. 30.2%, odds ratio: 3.1, 95%CI: 1.1-8.6; p=0.037). Antibody-positive patients had significantly more deficits in cognitive subtests and a significantly lower composite cognitive score versus antibody-negative patients. Affected cognitive domains included visual memory, working memory, attention and executive function. Similar results were present in a subgroup analysis of the NMDAR-antibody-positive patients. These patients also showed a titer-dependent increase of cognitive impairment. Neuronal antibodies were associated with coexisting autoimmune diseases and a therapy with the checkpoint inhibitor Ipilimumab. On the other hand, antibodies to intracellular antigens were significantly related to deficits in the neurologic exam.

### Conclusion:

In summary, neurologic antibodies seem to contribute to the pathogenesis of cancer-related cognitive impairment. Furthermore, melanoma patients should be tested for neuronal antibodies in the diagnostic workup if there are signs for cognitive or neurologic deficits.

## Manteltext

### 1 Einleitung

Antikörper gegen neuronale Antigene können im Rahmen von paraneoplastischen neurologischen Syndromen (PNS), jedoch auch außerhalb von Tumorerkrankungen auftreten. Sie können eingeteilt werden in Antikörper gegen neuronale Oberflächenstrukturen (neuronal surface antibodies, NSAbs) und Antikörper gegen intrazelluläre Antigene (antibodies against intracellular antigens, AICAbs) [1]. Beim Nachweis von klassischen onkoneuralen AICAbs im Rahmen eines PNS liegt in über 95% der Fälle eine Krebserkrankung vor [2][3]. Zu den AICAbs gehören beispielsweise Anti-Hu-Antikörper oder Anti-Ma1-Antikörper, welche zumeist bei Patienten mit kleinzelligem Bronchialkarzinom auftreten. Bei Patientinnen mit Anti-Yo-Antikörpern liegen wiederum in der Regel ein Mammakarzinom oder andere gynäkologische Tumoren vor [1]. Zu den auftretenden klassischen paraneoplastischen Syndromen (z.B. bei Anti-Hu, Anti-Ma1/Ma2) zählen u.a. die limbische Enzephalitis, die paraneoplastische Hirnstammencephalitis, die paraneoplastische Neuropathie oder die paraneoplastische cerebelläre Degeneration (z.B. bei Anti-Yo, Anti-Ri, Anti-Tr).

NSAbs sind im Gegensatz zu AICAbs nur teilweise mit Tumoren assoziiert. Zu den NSAbs gehören beispielweise die N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptor(NMDAR)-Antikörper vom IgG-Isotyp. Deren Auftreten wurde erstmalig 2005 von Dalmau et al. bei Patientinnen mit Ovarialteratomen und Enzephalitis im Liquor und Serum beschrieben [4]. Dabei ist die Tumorassoziation bei dieser Antikörper-vermittelten Enzephalitis im Vergleich zu klassischen AICAbs seltener und altersabhängig mit einer Häufung der Ovarialteratome zwischen dem 12. und 45. Lebensjahr der betroffenen Frauen (bei circa 50%) [5][6]. Die Entdeckung der NMDAR-Enzephalitis führte in den darauf folgenden Jahren zu einer Expansion des Wissens um autoimmunologisch vermittelte Enzephalitiden [7]. Im Zuge dessen wurden weitere, gegen neuronale Oberflächenproteine gerichtete Antikörper identifiziert, welche sich häufig in Form von spezifischen klinischen Syndromen präsentieren [1]. Die unter den autoimmunen Enzephalitiden am häufigsten vorkommende NMDAR-Enzephalitis folgt einem charakteristischen Verlauf. Zunächst kommt es oft zum Auftreten von Prodromalsymptomen ähnlich einer viralen Infektion. Daraufhin folgen Verhaltensänderungen, Wahnvorstellungen, Halluzinationen, epileptische Anfälle, Dyskinesien, Bewusstseinsminderung, Sprachstörungen sowie autonome und kognitive Dysfunktionen (wie z.B. Gedächtnisstörungen). Die Erkrankung betrifft Frauen viermal häufiger als Männer. Sie tritt in 95% vor dem 45. Lebensjahr auf und betrifft häufig auch Kinder [8]. Die Symptome können unter adäquater immunsuppressiver Therapie vollständig remittieren [9]. Bei einem großen Teil der Patienten können jedoch langfristige kognitive Defizite und auch strukturelle und funktionelle ZNS-Veränderungen

bestehen bleiben [10][11]. Weitere Beispiele für NSAbs mit Tumorassoziationen sind Antikörper gegen Leucine-rich Glioma Inactivated 1 (LG-I1) und Gamma-Aminobuttersäure(GABA)<sub>B</sub>-Rezeptoren. LG-I1-Antikörper, welche im Kontext einer limbischen Enzephalitis mit faziobrachial-dystonen Anfällen auftreten, sind in 5-10% der Fälle mit Thymomen assoziiert [5]. Wiederum kann bei 50% der Patienten mit GABA<sub>B</sub>-Rezeptor-Antikörpern und limbischer Enzephalitis die Diagnose eines kleinzelligen Bronchialkarzinom gestellt werden [5].

Die den neuronalen Antikörpern zugrundeliegenden pathogenen Mechanismen unterscheiden sich zwischen den Patienten mit NSAbs und denen mit AICAbs. Die bei Patienten mit klassischen PNS auftretenden AICAbs zeigen keine direkte pathogene Aktivität, sondern sind vielmehr Surrogatparameter einer T-Zell-vermittelten antineuralen Immunreaktion [1]. Außerdem werden bei Antikörpern gegen intrazelluläre synaptische Antigene wie Amphiphysin oder Glutaminsäure-Decarboxylase 65 (GAD65), welche beim Stiff-person-Syndrom vorkommen, auch direkte zytotoxische Effekte auf neuronale Zellen diskutiert [1]. Die pathogenen Effekte der NSAbs werden hingegen hauptsächlich durch direkte selektive Bindung an die entsprechenden neuronalen Oberflächenstrukturen vermittelt. Dabei kommt es bei IgG-Antikörpern gegen NMDAR nach Bindung und Cross-Linking der Rezeptoren zu einer zellulären Rezeptor-Internalisierung mit konsekutiver Verminderung der NMDAR-vermittelten synaptischen Ströme [12]. Der Effekt ist nach Entfernung der Antikörper reversibel. Dieser Pathomechanismus bedingt eine gestörte synaptische Transmission der ubiquitär im Gehirn vorkommenden NMDAR mit höchster Dichte im Hippocampus [13][14]. Eine Antikörperbedingte Störung der NMDAR-Funktion beeinträchtigt den Mechanismus der Langzeitpotenzierung und hat so Auswirkungen auf Verhalten und kognitive Funktionen wie Lernen und Gedächtnis [15]. Aus der Störung dieser NMDAR-vermittelten Funktionen lassen sich auch die Symptome der NMDAR-Enzephalitis ableiten, deren klinisches Bild Ähnlichkeiten zu Situationen mit NMDAR-Hypofunktion aufweist wie bei Anwendung des NMDAR-Antagonisten Ketamin oder beim Vorliegen einer Schizophrenie [6].

Gegenüber den gut charakterisierten NMDAR-Antikörpern vom IgG-Isotyp werden auch NMDAR-Antikörper vom IgA- und IgM-Isotyp beschrieben, welche beispielsweise bei einem Teil von Patienten mit „slow cognitive impairment“ und unklassifizierten Demenzen nachweisbar sind [16][17][18]. In retrospektiven Studien, welche das Auftreten neuronaler Antikörper bei verschiedenen Demenzformen untersuchten, fielen in den Untergruppen der unklassifizierten Demenzen erhöhte NMDAR-Antikörper-Prävalenzen auf (bei 60%, n=20 [17] bzw. bei 100%, n=11) [18]). Diese Untergruppen zeichneten sich durch einen irregulären Krankheitsverlauf mit subakutem Auftreten der Symptomatik, Symptom-Fluktuation oder schneller -Progression sowie durch Liquorauffälligkeiten wie Pleozytose, gestörter Blut-Hirn-

Schranke oder oligoklonaler Banden aus. Diese Zusammenhänge und weitere atypische Auffälligkeiten in der Bildgebung (begleitende Leukenzephalopathie, fokale oder schnell progressive Atrophie, Glukose-Hypometabolismus ohne Atrophiezeichen) sprachen dabei gegen die Zugehörigkeit zu einer der etablierten Demenzformen. Auch hatten NMDAR-Antikörper-positive Patienten signifikant seltener eine positive Familienanamnese für Demenz [17]. Bei einigen dieser Patienten mit hohem NMDAR-Antikörpertiter war ein positives Ansprechen der klinischen Symptomatik, funktioneller MRT-Parameter (Reduktion der zuvor gesteigerten Konnektivität des default mode network) und der metabolischen Funktion auf eine Immuntherapie zu verzeichnen. In einer weiteren Fallsammlung von Patienten mit „slow cognitive impairment“ unklarer Ätiologie mit vorherrschenden Störungen des Kurzzeitgedächtnisses, der Aufmerksamkeits- und Exekutivfunktionen wurden zugrundeliegende IgA-NMDAR-Antikörper in Serum und Liquor der Patienten beschrieben [16]. Es konnte auch gezeigt werden, dass Serum von Patienten mit dem IgA-Isotyp ebenfalls in der Lage war, NMDAR und weitere synaptische Proteine von der Oberfläche muriner hippocampaler Neurone zu entfernen und NMDAR-vermittelte Membranströme zu hemmen. Auch ergab sich nach Beginn einer immunsuppressiven Therapie eine partielle klinische Remission sowie eine teilweise Verbesserung des cerebralen Glukosemetabolismus. In einer weiteren Studie wurde darüber hinaus beschrieben, dass IgA-, IgM- sowie IgG-NMDAR-Antikörper bei Patienten mit Herpes-Enzephalitis auftreten können, wahrscheinlich als Folge eines Immunmechanismus auf NMDAR-Antigen, welches im Rahmen der viralen Zelllyse freigesetzt wird [19]. In dieser Arbeit wurde auch festgestellt, dass IgM-NMDAR-Antikörper ebenso NMDAR und weitere synaptische Proteine von der neuronalen Membran reduzieren können. Auch Untersuchungen an induzierten humanen kortikalen Neuronen und murinen kortikalen Neuronen konnten eine NMDAR-Internalisierung nach Inkubation mit IgA- und IgM-NMDAR-Antikörper-positivem humanen Serum nachweisen und es fanden sich reduzierte Membranströme über NMDAR in *Xenopus laevis*-Oozyten [20][21]. Eine andere Studie konnten hingegen eine Bindung von IgA- und IgM-NMDAR-Antikörpern an lebende kultivierte Neurone nur bei 4 von 11 positiv getesteten Seren neurologisch erkrankter Patienten detektieren [22]. Es fand sich auch keine Antikörper-bedingte Reduktion der NMDAR-Dichte auf der Dendritenoberfläche. Im Gegensatz zu IgG-NMDAR-Antikörpern bei der NMDAR-Enzephalitis, welche gegen die aminoternale Domäne des NMDAR in der Region N368/G369 gerichtet sind, haben IgA/IgM-NMDAR-Antikörper eine variable Epitop-Spezifität [17][22][23]. In serologischen Untersuchungen an gesunden Probanden zeigten sich NMDAR-Antikörper-Prävalenzen von 2,5% (nur IgM) [24] bis 7,0% (IgA, IgM, IgG) [25], in anderen Untersuchungen an Blutspendern wiederum von 8,5% bis 10,8% der Untersuchten (IgA, IgM, IgG) [20][26]. Bei weiteren Grunderkrankungen wie Schizophrenie, affektiven Störungen und Morbus Parkinson fanden sich Prävalenzen von circa 10% [20][26]. Dem gegenüber wurde in

einer retrospektiven Analyse von Liquor- und Serumproben von 323 Patienten mit Tumorerkrankungen eine erhöhte NMDAR-Antikörper-Prävalenz von 16,7% gefunden [24]. Dabei traten auch überwiegend die IgA- und IgM-Isotypen der NMDAR-Antikörper auf. Insgesamt konnten sogar bei 24,5% dieser Tumorpatienten Antikörper gegen neuronale Antigene festgestellt werden. In der Untergruppe der 7 untersuchten Patienten mit malignem Melanom wiesen 3 Patienten (43%) NMDAR-Antikörper auf. Außerdem war mit dem Nachweis neuronaler Autoantikörper das Auftreten von kognitiven Defiziten verbunden, welche mithilfe von Screening-Tests detektiert wurden (Mini-Mental-Status-Test, MOCA etc.).

Die klinische Relevanz von Serum-NMDAR-Antikörpern vom IgA- und IgM-Isotyp ist bisher allerdings noch unzureichend untersucht. Während Antikörper vom IgG-Isotyp spezifisch für die Anti-NMDAR-Enzephalitis sind [22], bleiben IgA- und IgM-NMDAR-Antikörper nicht auf eine Krankheitsentität oder Patientenpopulation beschränkt. Ihr Auftreten ist u.a. mit höherem Alter, genetischen Polymorphismen, Infektionen (Influenza A) und Tumorerkrankungen assoziiert [20][21][24][27]. Sie können auch koinzidentell im Kontext der NMDAR-Enzephalitis auftreten. IgA-NMDAR-Antikörper können dabei bei Nachweis im Liquor neben IgG-Antikörpern hinweisend auf einen zugrundeliegenden Ovarialtumor sein [28]. IgA/IgM-NMDAR-Antikörper wurden bereits vielfach mit kognitiven Defiziten in Verbindung gebracht, jedoch wurden Patienten mit diesen Antikörpern bisher nicht systematisch kognitiv und neurologisch untersucht. Ziel dieser Arbeit soll es daher sein, bei Patienten mit malignem Melanom in einer Querschnittsstudie die Prävalenz von neuronalen Autoantikörpern einschließlich der Antikörper gegen NMDAR zu ermitteln. Außerdem sollen die Auswirkungen der Antikörper auf kognitive und neurologische Funktionen mittels standardisierter neuropsychologischer und neurologischer Untersuchungen beschrieben werden. Weiterhin sollen die zugrundeliegenden demographischen und klinischen Charakteristika der Patienten, z.B. Vorerkrankungen, Tumorstadien und Tumorthherapie, genauer untersucht werden, um mögliche Risikofaktoren für das Auftreten neuronaler Antikörper zu identifizieren. Es werden dabei nur Patienten ohne mögliche konfundierende Faktoren für eine kognitive Dysfunktion, d.h. relevante neurologische und psychiatrische Vorerkrankungen, Hirnmetastasen oder sedierende Medikation, untersucht.

Weitere Ziele dieser Arbeit sind folgende: (1) Mittels objektiver neuropsychologischer Testung sollen Aussagen über die Häufigkeit von kognitiven Defiziten bei Patienten mit Melanom getroffen werden, da bei diesen bisher nur wenige Untersuchungen der kognitiven Leistung vorliegen. Diese beschränken sich bisher auf Therapiestudien und Studien zur Erfassung der Lebensqualität [29][30][31]. (2) Es sollen mögliche Risikofaktoren für eine kognitive Beeinträchtigung (unabhängig von Hirnmetastasen) identifiziert werden. (3) Das Auftreten von möglichen paraneoplastischen neurologischen Syndromen bei Patienten mit malignem

Melanom soll untersucht werden, da hierzu systematische Übersichtsarbeiten fehlen und nur Fallberichte von Patienten mit cerebellärer Degeneration [32], limbischer Encephalitis [33], Guillain-Barré Syndrom, Melanom-assoziiertes-Retinopathie [34] und chronischer inflammatorischer demyelinisierender Polyneuropathie (CIDP) [35] vorhanden sind. (4) Die Arbeit soll weitere Erkenntnisse hinsichtlich der Pathogenese der krebbsbedingten kognitiven Beeinträchtigung („Cancer-related-cognitive-impairment“ (CRCI)) [36] geben, indem die Rolle neuronaler Antikörper in diesem Zusammenhang diskutiert wird.

## 2 Methodik

### 2.1 Studiendesign und Patientenrekrutierung

Zwischen Februar 2015 und September 2015 wurden 157 Patienten mit malignem Melanom in der dermatologischen Abteilung und der Tumorambulanz der Charité - Universitätsmedizin Berlin nach entsprechender Aufklärung über Zweck, Nutzen, Risiken der Studie, den Datenschutz und nach schriftlichem Einverständnis rekrutiert. Die Studie wurde im Dezember 2014 von der Ethikkommission der Charité bewilligt. Es handelt sich um eine Querschnittsstudie mit einmaliger Patientensichtung, Aufklärung, Blutentnahme und Überprüfung auf Erfüllung von gegebenen Ein- und Ausschlusskriterien für die kognitive Testung. Anschließend erfolgten die neuropsychologische Testung und die neurologische Untersuchung.

Die **Einschlusskriterien** für die Studie umfassten die folgenden Punkte:

- Patienten mit histopathologischem Nachweis eines malignen Melanoms der Stadien 0-IV nach AJCC, 7. Edition [37]

Die rekrutierten Patienten befanden sich im Rahmen der regulären Tumortherapie oder -nachsorge. Es lagen keine Altersbeschränkungen oder Einschränkungen der Rekrutierung in Abhängigkeit vom Tumorstadium oder von der vorangegangenen Therapie vor, um den Zusammenhang der serologischen Antikörperergebnisse mit diesen Faktoren beurteilen zu können.

Als **Ausschlusskriterien** von der kognitiven Untersuchung waren folgende zur Reduktion von Störfaktoren für die kognitive Leistung festgesetzt:

- Vorliegen von Hirnmetastasen
- Erfolgte ZNS-Bestrahlung
- Vorliegen einer neurologischen Vorerkrankung mit potenzieller Auswirkung auf die kognitive Leistung (z.B. Schlaganfall)

- Vorliegen einer relevanten psychiatrischen Vorerkrankung oder Depression. Symptome einer Depression wurden mittels *Beck Depression Inventory - Fast Screen* (BDI-FS; Aaron T. Beck, 1. Auflage, 2013) überprüft und Patienten mit einem Score von  $\geq 4$  Punkten (Cut-off für milde depressive Symptomatik) wurden ausgeschlossen.
- Relevante sedierende Medikation (z.B. Opiate)
- Keine ausreichende Beherrschung der deutschen Sprache (Standardisierung der kognitiven Tests auf Deutsch)

Die Patientenrekrutierung erfolgte nach folgendem Flussschema:

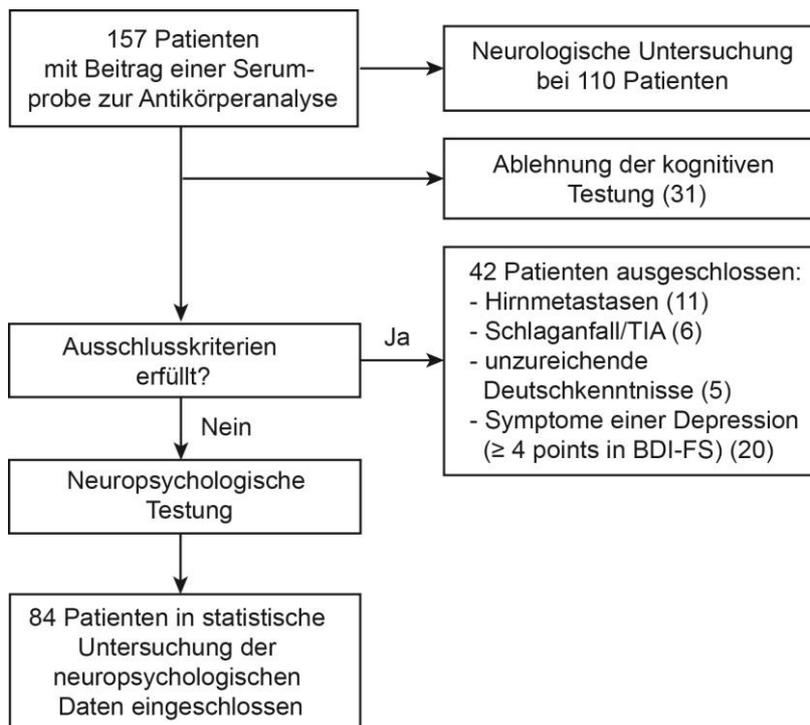


Abb. 1: Flussdiagramm der Patientenrekrutierung

Von den 157 eingeschlossenen Patienten stellten sich 110 der neurologischen Untersuchung zur Verfügung. 31 Patienten lehnten die neuropsychologische Untersuchung ab und 42 Patienten erfüllten die Ausschlusskriterien für eine kognitive Testung. Vor der neuropsychologischen Testung wurden zunächst Patientenstammdaten, Bildungsgrad in Form von Bildungsjahren, Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG), Karnofsky-Index, allgemeine Anamnese, Tumoranamnese, Familienanamnese, Informationen aus durchgeführter Bildgebung (cMRT) und vorausgehende Tumorthherapie erhoben.

## 2.2 Neuropsychologische Untersuchung

Für die kognitive Testung der Patienten wurde eine umfangreiche, im Klinikalltag gebräuchliche, gut standardisierte Testbatterie herangezogen, welche circa 2 Stunden dauerte.

Zur Testung des anterograden Gedächtnisses wurde der *Verbal Learning Memory Test (VLMT)* (Helmstaedter, Lendt, Lux, 2001, 1. Auflage, Version A) verwendet. In diesem Test sollen sich die Patienten in 5 Durchgängen 15 verschiedene, unzusammenhängende Substantive einer Wortliste A einprägen und abrufen. Die erinnerte Wortanzahl nach jeder Runde wird dokumentiert und die addierte Wortzahl aller fünf Durchgänge ergibt den „sum score“. Die Abrufkapazität nach dem ersten Durchgang entspricht dem „immediate recall“, der Lernerfolg nach dem 5. Durchgang dem „best learning“. Nach einmaligem Vortragen und dem Abruf einer Interferenzliste B mit weiteren 15 Wörtern soll ohne wiederholtes Hören der Wortliste A diese erneut abgerufen werden. Dies beurteilt die „Suszeptibilität gegenüber Interferenz“. Nach 30 Minuten erfolgt dann ein erneuter Abruf der Wortliste A („delayed recall“). Außerdem sollen die Patienten in einer Rekognitionsaufgabe aus einer weiteren Wortliste mit 50 Wörtern, in der Wörter der Listen A und B sowie weitere ähnliche Wörter auftreten, nur die Wörter aus Liste A wiedererkennen. Dies spiegelt die Diskriminierbarkeit des Gelernten von neuem ablenkenden Inhalt wieder. Die richtig wiedererkannten Wörter abzüglich falsch-positiv genannter Wörter ergeben den Wert „recognition“ [38].

Der *Rey-Osterrieth Complex Figure (ROCF) Test* (Osterrieth, 1944) wurde zur Untersuchung des visuo-räumlichen Gedächtnisses angewendet. In diesem Test wird eine komplexe geometrische Figur aus vielen Einzelementen von dem Patienten zunächst abgezeichnet. Nach Entfernung der Vorlage wird der Patient nun aufgefordert, die Figur möglichst detailgetreu aus dem Gedächtnis erneut zu zeichnen (Frühabruf). Nach 30 Minuten wird der Patient wiederholt aufgefordert, die Figur zu zeichnen, ohne erneut die Vorlage zu sehen (Spätabruf). Als Bewertungsmaßstab dienen standardisierte Vorlagen, welche den rekonstruierten Figurelementen Punkte zuordnen.

Zur Beurteilung des Kurz- und Arbeitsgedächtnisses wurden die Tests „Zahlenspanne vorwärts“ (*digit span forwards*) und „Zahlenspanne rückwärts“ (*digit span backwards*) aus dem *Wechsler Gedächtnistest - revidierte Fassung (WMS-R)* (Härting et al., 2000) verwendet. Im ersten Test sollen die Patienten vorgelesene, aus 2 bis 8 Ziffern bestehende Zahlenreihen wiederholen. Im zweiten Test sollen aus 2 bis 8 Ziffern bestehende Zahlenreihen dann rückwärts wiedergegeben werden. Damit wird die Leistung des Arbeitsgedächtnisses evaluiert. Abgebrochen wird der Test bei falscher Wiederholung von zwei Zahlenreihen der gleichen Länge und die Anzahl der bearbeiteten Reihen wird dokumentiert.

Für die Beurteilung der Aufmerksamkeitsfunktion diente die computerbasierte *Testbatterie zur Aufmerksamkeitsprüfung (TAP)* (Zimmermann, Fimm, 2012). Es wurden die Untertests „Tonische Alertness“ und „Phasische Alertness“, „Geteilte Aufmerksamkeit“ und zur Beurteilung der Exekutivfunktion der Untertest „Go Nogo“ verwendet. Im Untertest „Tonische Alertness“ sollen die Patienten über mehrere Durchgänge auf ein erscheinendes Kreuz

möglichst schnell per Tastendruck reagieren. Dabei wird die Reaktionszeit gemessen. Im Untertest „Phasische Alertness“ wird den Patienten vor Erscheinen des Kreuzes in variablem Abstand zuvor ein Signalton präsentiert. Bei der Aufgabe „Geteilte Aufmerksamkeit“ sollen die Patienten in einem 4x4-Raster mit darauf wechselnd erscheinenden Kreuzmustern per Kopfdruck reagieren, sobald die Kreuze ein Quadrat bilden. Gleichzeitig soll in dem auditiven Testanteil darauf reagiert werden, wenn der gleiche Ton zweimal hintereinander zu hören ist. Es werden die Reaktionszeiten auf die visuellen und auditiven Stimuli gemessen und die Anzahl der Fehler und der Auslassungen dokumentiert. Der Untertest „Go Nogo“ erfordert von den Patienten das korrekte Wiedererkennen von 2 von 5 hintereinander präsentierten ähnlichen Mustern, wobei auf die Reaktionszeit, Fehleranzahl und Anzahl der Auslassungen als Maßstab für die Exekutivfunktion geachtet wird.

Des Weiteren wurde zur Prüfung der Exekutivfunktion der *Farb-Wort-Interferenztest (Stroop-Test)* (Strauss, Spreen, A Compendium of Neuropsychological Tests: Administration, Norms, and Commentary. New York: Oxford University Press; 2006) angewendet. In diesem Test sind Farbenwörter in jeweils nicht-entsprechenden Farben auf einer Seite gedruckt und die Patienten sollen die gedruckte Farbe anstelle des geschriebenen Farbenwortes nennen. Als Bewertungsmaßstab fungiert die Bearbeitungszeit für den gesamten Bogen. Als weiteren Test für die Bewertung der Exekutivfunktion sowie der Verarbeitungsgeschwindigkeit wurde der *Regensburger Wortflüssigkeitstest* (Aschenbrenner, Tucha, Lange, 2001) durchgeführt, in welchem in einer Minute möglichst viele Tiere genannt werden sollen und die Anzahl gezählt wird.

Als Maßstab für die fluide Intelligenz diente der Subtest 3 des *Leistungsprüfsystems (LPS)* (Horn, 1983). In diesem Test soll in definierter Zeit aus möglichst vielen Figurenreihen mit logischer Anordnung eine jeweils der Sequenz nicht zugehörige Figur identifiziert werden. Das prämorbid bildungsniveau bzw. die kristalline Intelligenz wurden mit dem *Mehrfachwahl-Wortschatz-Intelligenztest, Version A (MWT-A)* (Lehrl, 2005) evaluiert. Die Aufgabe des Tests besteht darin, aus Reihen mit jeweils 5 Wörtern das einzig tatsächlich existierende Wort zu identifizieren. Aus dem MWT-A kann anhand normativer Daten der Intelligenzquotient abgeleitet werden.

Im Anschluss an die kognitive Testung wurde von den Patienten der Fragebogen *Functional Assessment of Chronic Illness Therapy - Fatigue (FACIT-F)* (Cella, Yount, Sorensen, Chartash, Sengupta, Grober, 2005) zur Messung einer vorliegenden Fatigue-Symptomatik bearbeitet, wobei eine höhere Punktzahl für eine geringere Beeinträchtigung steht. Die körperliche und psychische Lebensqualität wurde mit Hilfe des Fragebogens *Short-Form 12 (SF-12)* (Kirchberger, Bullinger, 1998) erhoben, wobei höhere Punktzahlen für bessere Lebensqualität kodieren.

Der Zeitpunkt der neuropsychologischen Testung erfolgte zeitlich vor der Antikörperdiagnostik, wodurch Patient und Untersucher zum Untersuchungszeitpunkt gegenüber den Antikörperergebnissen verblindet waren.

### 2.3 Auswertung der neuropsychologischen Rohdaten

Nach Erhebung und Dokumentation der Rohwerte der Ergebnisse der kognitiven Tests wurden diese mittels Normtabellen der entsprechenden Testsysteme in alterskorrigierte Normwerte umgewandelt. Die Normtabellen sind kommerziell verfügbar und entstammen den Ergebniserhebungen der zur Standardisierung dieser Tests untersuchten gesunden Normkohorten. Entsprechend der Normtabellen wurden beim VLMT, bei der TAP, bei den Zahlenspannen und beim Regensburger Wortflüssigkeitstest die Rohwerte in Prozentränge umgewandelt. Bei der ROCF und beim LPS (Untertest 3) erfolgte die Umwandlung in T-Werte und beim Stroop-Test in C-Werte, wobei bei letzterem die Rohwerte zusätzlich eine Korrektur für den Bildungsgrad erfuhren.

### 2.4 Definition von kognitiven Defiziten und kognitiver Beeinträchtigung

Zur Definition einer kognitiven Beeinträchtigung (cognitive impairment) wurden die Kriterien der International Cancer and Cognition Task Force (ICCTF) angewendet [39]. Eine kognitive Beeinträchtigung entspricht darin dem Vorhandensein von  $\geq 2$  kognitiven Tests mit einem individuellen Testergebnisses unterhalb der 1,5fachen Standardabweichung der Leistung der Normkohorte des Testsystems. Ein Testergebnis unterhalb der 1,5fachen Standardabweichung wird dabei als ein Defizit gewertet und ist äquivalent zu einem Prozentrang von  $<6,7$ , einem T-Wert von  $<35$  und einem C-Wert von  $<2$  [39].

### 2.5 Berechnung der kognitiven Gesamtleistung

Aus den Rohwerten der 22 durchgeführten Tests wurde zudem ein kognitiver Gesamtscore (composite cognitive score) berechnet, indem die Rohwerte z-transformiert und einheitlich skaliert wurden, sodass höhere z-Werte immer eine bessere kognitive Leistung darstellen. Dies gelang durch Multiplikation der Testwerte, bei denen höhere Werte für schlechtere Leistung stehen (wie Bearbeitungs- oder Reaktionszeiten), mit dem Faktor  $-1$ . Die Z-Transformation wurde so durchgeführt, dass der für die Berechnung zugrundeliegende Mittelwert und die Standardabweichung aus der Kohorte der Antikörper-negativen Patienten entstammten. So ergab sich als z-Wert für die Antikörper-negative Gruppe der Mittelwert 0 und der Wert 1 für die Standardabweichung. Dies ermöglichte den direkten Bezug der kognitiven Leistung der Antikörper-positiven Patienten auf die Leistung der Antikörper-negativen Patienten als Kontrollgruppe. Für die Berechnung des kognitiven Gesamtscores und zur Festlegung einer kognitiven Beeinträchtigung wurde der MWT-A nicht mit einbezogen, da dieser Test das prämorbid bildungsniveau und die kristalline Intelligenz abbildet. Der MWT-

A wurde daher zur Evaluation der Vergleichbarkeit hinsichtlich der Vorbildung der Patientengruppen durchgeführt.

## 2.6 Serologische Untersuchung auf neuronale Antikörper

Die Analyse der Serumproben auf neuronale Antikörper erfolgte in Kooperation mit dem Institut für experimentelle Immunologie der Euroimmun AG, Lübeck, Deutschland. Zur Anwendung kam ein etabliertes Detektionsverfahren auf der Grundlage von indirekter Immunfluoreszenz an Biochip-Mosaiken, einem Zell- und Gewebe-basiertem Assay. Hierbei handelt es sich um das aktuelle Standardverfahren für neuronale Antikörperdiagnostik, das auch im klinischen Alltag angewendet wird und bereits in anderen Arbeiten ausführlich beschrieben wurde [3][40]. Dafür werden Human Embryonic Kidney(HEK)293-Zellen mit Plasmiden transfiziert. Die Plasmide enthalten die Gene für die zu exprimierenden neuronalen Antigene, gegen die die im Serum zu detektierenden Antikörper gerichtet sind. Zu diesen Antigenen zählen NMDAR-NR1, GABA-b (GABAR-B1/B2), GABA-a (GABARA1+GABARB3), AQP4, LGI1, CASPR2, MOG, DPPX, IgLON5, AMPA1/2, GRM1, GRM5, DNER, Yo, ZIC4, ARHGAP26, GAD65, GAD67, Amphiphysin, CV2, Hu, Ri, CARPVIII, ITPR1, Homer3, Recoverin, pre-GLRA1b und Ma2. Diese rekombinanten Zellen werden mit Aceton fixiert, getrocknet und auf Reaktionsfelder von Objektträgern platziert. Auf diese Trägerplatte werden außerdem histologische Gefriergewebsschnitte von Affencerebellum, Rattenhippocampus und Rattencerebellum übertragen. Die Reaktionsfelder werden dann mit verschiedenen Verdünnungsstufen des Patientenserums inkubiert (1:10, 1:32, 1:100, 1:320 usw.), gewaschen und mit einem Fluorescein-Isothiocyanat-markierten Ziegen-Anti-Human-Sekundärantikörper gegen IgG, IgM (nur bei NMDAR) oder IgA (nur bei NMDAR) gefärbt. Zur Beurteilung der Antikörper-Bindung dienen nicht-transfizierte HEK293-Zellen als Negativkontrolle. Für die Diagnostik von Antikörpern gegen intrazelluläre Antigene (Amphiphysin, CV2, Ma2, Ri, Yo, Hu, Recoverin, SOX1, Zic4, GAD65, DNER) erfolgte bei positiver Immunfluoreszenz im Zell-basierten Assay oder bei Vorliegen eines charakteristischen Färbungsmusters in der Immunhistochemie zusätzlich ein Immunoblot-Verfahren zur Bestätigung (Euroline, Euroimmun) mittels rekombinanter, auf Teststreifen geblotteter Antigene.

## 2.7 Statistische Analyse

Es wurden zwei unabhängigen Patientengruppen verglichen, d.h. Antikörper-positive Patienten versus Antikörper-negative Patienten. Für stetige Variablen wurden dabei t-Tests angewendet, welche bei Varianzheterogenität (signifikanter Test nach Levene) angepasst wurden. Für kategoriale Daten wurden Pearson's Chi-Quadrat Test oder bei Unterschreiten der kritischen Erwartungswerte in der Kontingenztafel Fisher's exakter Test angewendet. Logistische Regressionsanalysen wurde durchgeführt, um einen Alterseffekt auf das Auftreten von neuronalen Antikörpern zu testen und um den Effekt von Multimorbidität auf die Variable

„kognitive Beeinträchtigung“ zu untersuchen. Zur Konstruktion eines Modells für die Abhängigkeit der gesamt-kognitiven Leistung (composite cognitive score) von unabhängigen Variablen wurde eine multiple lineare Regression mittels Einschussverfahren mit zuvor detektierten Risikofaktoren für kognitive Defizite unter Maximierung von  $R^2$  angewendet.

Neben der Hauptanalyse mit dem Vergleich von Antikörper-positiven gegen Antikörper-negative Patienten wurde eine Subgruppenanalyse von Patienten mit NMDAR-Antikörpern vom IgA- oder IgM-Isotyp versus den Antikörper-negativen Patienten durchgeführt, um den Effekt dieser Antikörper herauszuarbeiten. In dieser Subgruppenanalyse wurden Patienten mit anderen Antikörpern, welche nicht gegen NMDAR gerichtet waren, ausgeschlossen, es sei denn, diese anderen Antikörper lagen koinzidentuell mit NMDAR-Antikörpern vor (bei 2 Patienten: IgA-NMDAR-AK 1:10 + MOG-AK 1:10, IgM-NMDAR-AK 1:10 + GAD65-AK 1:320).

Aufgrund des explorativen Charakters der Arbeit und zur Generierung von neuen Hypothesen wurden die ermittelten p-Werte nicht für multiples Testen korrigiert. Durch die oben beschriebene Ermittlung eines kognitiven Gesamt-Scores und die Definition der kognitiven Beeinträchtigung unter Zusammenschluss aller Einzeltests wird jedoch die Problematik eines erhöhten Fehlers erster Art durch multiples Testen reduziert. Alle statistischen Tests waren zweiseitig und statistische Signifikanz wurde angenommen, wenn  $p < 0,05$  betrug. Die Software zur Durchführung der statistischen Untersuchungen war SPSS Statistics für Windows, Version 22 (IBM Corp., Armonk, NY; USA).

## 3 Ergebnisse

### 3.1 Häufigkeit neuronaler Antikörper

Neuronale Autoantikörper konnten bei 22,3% der Patienten mit Melanom festgestellt werden. 17,8% der Patienten wiesen Antikörper gegen neuronale Oberflächenantigene (NSAbs) auf und 6,5% der Patienten hatten Antikörper gegen intrazelluläre Antigene (AICAbs) (siehe Abb. 2, Seite 18; Tabelle 1 der Publikation, Seite 38). Der größte Anteil der NSAbs hatte NMDAR als Zielantigen und war vorwiegend vom IgA- oder IgM-Isotyp. Bei zwei Patienten wurden IgG-NMDAR Antikörper nachgewiesen, ohne dass das klinische Bild einer Enzephalitis vorlag. Insgesamt waren 15,9% der Patienten positiv für mindestens einen NMDAR-Antikörper. Weitere NSAbs kamen in geringeren Frequenzen vor (darunter Antikörper gegen MOG, pre-GLRA1b und IgLON5) und waren allesamt vom IgG-Isotyp. Zu den detektierten AICAbs zählten Antikörper gegen GAD65, Homer3, Recoverin, ARHGAP26, Amphiphysin, Hu sowie ITPR1. In der Gruppe der neuropsychologisch untersuchten Patienten waren die gefundenen Antikörperhäufigkeiten vergleichbar zu denen in der Gesamtkohorte (siehe Tabelle 1 der Publikation, Seite 38). Die Antikörpertiter lagen im Bereich von 1:10 bis zu 1:10000, wobei Antikörper gegen NMDAR im Titerbereich von 1:10 bis 1:320 auftraten.

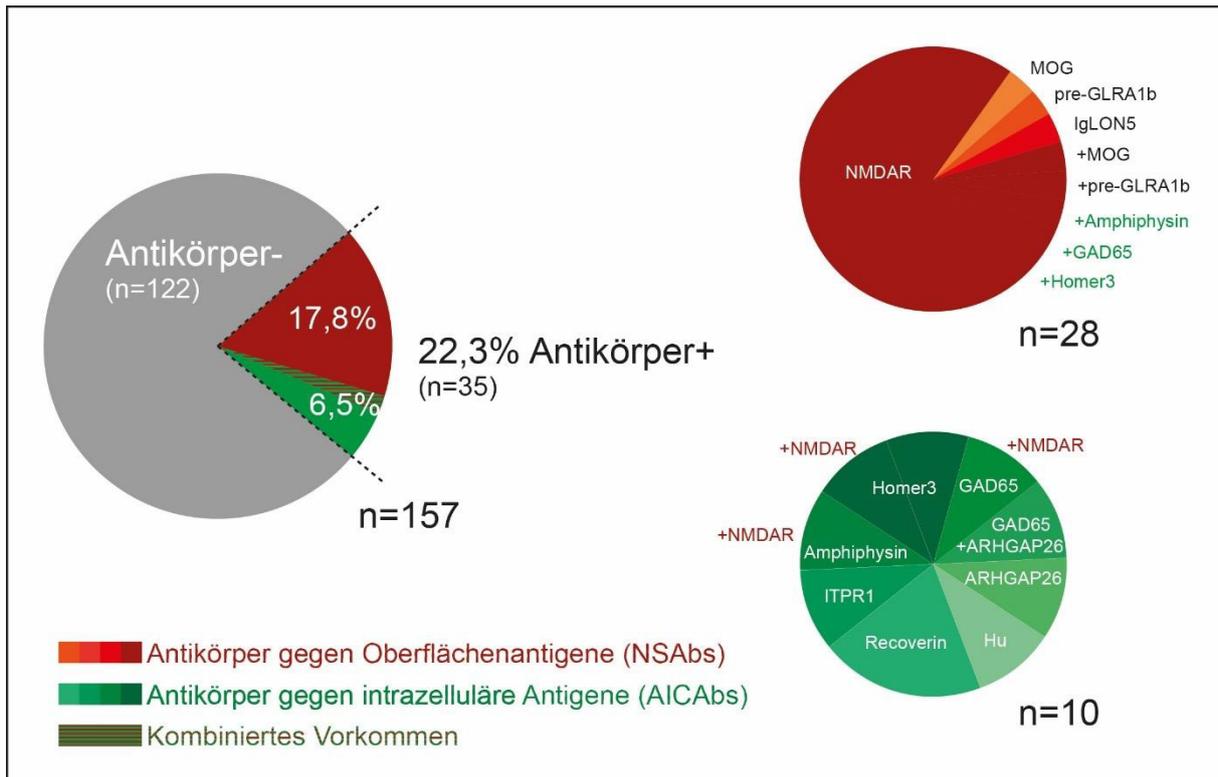


Abb. 2: Antikörperprävalenz in der gesamten Kohorte von Patienten mit malignem Melanom

### 3.2 Neuronale Gewebefärbungen

Bei 10,8% der Serumproben zeigte sich eine positive immunhistochemische Anfärbung von neuronalem Gewebe, darunter Färbungen von Ratten-Hippocampusgewebe (5,1%), Ratten-Cerebellumgewebe (8,3%) und Affen-Cerebellumgewebe (10,2%). Das Vorliegen einer positiven Gewebefärbung war signifikant häufiger mit einem positiven Antikörperstatus verbunden (positive Gewebefärbung bei Antikörper-positiven: 8/35 (22,9%) vs. 9/122 (7,4%) bei Antikörper-negativen, Fisher's exakter Test:  $p=0,026$ ). Dies galt jedoch nur für die Gesamtkohorte und die Patienten mit AICAbs (positive Gewebefärbung bei AICAbs-Positiven: 4/10 (40%) vs. AICAbs-Negative: 13/147: 8,8%,  $p=0,013$ ) und nicht für die Patienten mit NMDAR-Antikörpern (positive Gewebefärbung bei NMDAR-AK-Positiven: 4/25 (16%) vs. NMDAR-AK-Negative: 13/132 (9,8%),  $p=0,479$ ). Bei 9 von 157 (5,7%) Patienten konnte eine positive Gewebesimmunfluoreszenz festgestellt werden, ohne dass ein zugrunde liegender Antikörper im Serum identifiziert wurde.

### 3.3 Klinische Charakteristika der Kohorte

Von besonderem Interesse dieser Studie waren die Identifizierung möglicher Risikofaktoren und Tumorcharakteristika für das Auftreten von neuronalen Antikörpern. Dazu wurden die demographischen und klinischen Daten der Patienten (Alter, Geschlecht, Vorerkrankungen, Tumorcharakteristika (Staging, Lokalisation, Hirnmetastasierung, Tumorhistologie, Tumordinfiltration mit Immunzellen, Eindringtiefe nach Breslow, Mutationsstatus), Tumormarker

und Tumortherapie erhoben und auf einen statistischen Zusammenhang mit dem Antikörper-Auftreten überprüft (siehe Tabelle 1 im Supplement, Seite 43). Ein signifikanter Zusammenhang zeigten sich dabei lediglich zwischen Antikörper-Positivität und einer aktuellen oder zurückliegenden Therapie mit dem Immuncheckpoint-Inhibitor Ipilimumab (siehe Tabelle 1 im Supplement, Seite 43; Abb. 5B im Supplement, Seite 57). In der Subgruppenanalyse zeigte sich darüber hinaus ein signifikant häufigeres anamnestisches Bestehen von Autoimmunerkrankungen bei Patienten mit IgA/IgM-NMDAR-Antikörpern gegenüber Patienten ohne Antikörper (siehe Abb. 5A im Supplement, Seite 57).

### 3.3.1 Vergleich der neuropsychologisch untersuchten und nicht untersuchten Patienten

In Bezug auf Alter, Geschlechterverteilung, Antikörper-Auftreten, Tumortherapie und Vorerkrankungen gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen der neuropsychologisch untersuchten Patientengruppe (n=84) und den nicht neuropsychologisch getesteten Patienten (n=73) (siehe Tabelle 2 im Supplement, Seite 46). Lediglich in der Stadienverteilung lag bei der nicht untersuchten Gruppe signifikant häufiger ein Stadium IV vor, was durch den Ausschluss von Patienten mit Hirnmetastasen von der neuropsychologischen Testung zu erklären ist. Es kann also davon ausgegangen werden, dass die untersuchte Untergruppe einen repräsentativen Teil der Gesamtkohorte abbildet.

### 3.3.2 Charakteristika innerhalb der neuropsychologisch untersuchten Patientengruppe:

#### Vergleich der Antikörper-positiven mit den Antikörper-negativen Patienten

Die Gruppe der Antikörper-positiven Patienten unterschied sich weder signifikant hinsichtlich des Alters, des Bildungsgrades, der Intelligenz noch des Performance-Status (ECOG/Karnofsky) gegenüber den Antikörper-negativen Patienten (siehe Tabelle 3 im Supplement, Seite 48). Weder eine Fatigue-Symptomatik (FACIT-Fatigue) noch eine depressive Symptomatik (BDI-FS) war signifikant unterschiedlich zwischen beiden Gruppen. Aufgrund der Gleichverteilung dieser Faktoren zwischen den beiden Gruppen kann eine dadurch bedingte Abweichung der Ergebnisse der kognitiven Testung ausgeschlossen werden. Auch bezüglich der physischen und psychischen Lebensqualität (SF-12) unterschieden sich Antikörper-positive und -negative Patienten nicht signifikant. Es war jedoch eine signifikant reduzierte physische Lebensqualität bei NMDAR-Antikörper-positiven Patienten im Vergleich zu Antikörper-negativen Patienten erkennbar (siehe Tabelle 3 im Supplement, Seite 48; Abb. 4 im Supplement, Seite 51). Bezüglich der demographischen Daten wie Alter und Geschlecht, den Vorerkrankungen, den Tumor-Eigenschaften, dem -Staging und der -Therapie fanden sich keine signifikanten Abweichungen zwischen den verglichenen Gruppen bis auf ein signifikant häufigeres Auftreten pulmonaler Vorerkrankungen bei Antikörper-positiven Patienten (siehe Tabelle 5 im Supplement, Seite 52).

### 3.3.3 Logistische Regression: Antikörperstatus in Abhängigkeit vom Alter

Die logistische Regressionsanalyse ergab keinen Zusammenhang zwischen Lebensalter und Antikörperstatus ( $\chi^2=0,039$ ,  $p=0,844$ ; Waldstatistik=0,039,  $p=0,844$ , Nagelkerkes  $R^2=0,000$ ), auch nicht bei Patienten mit IgA/IgM-NMDAR-Antikörpern ( $\chi^2=0,471$ ,  $p=0,493$ ; Waldstatistik=0,459,  $p=0,498$ , Nagelkerkes  $R^2=0,006$ ) (siehe Abb. 6 im Supplement, Seite 58).

## 3.4 Neuropsychologische Ergebnisse

### 3.4.1 Kognitive Beeinträchtigung und kognitive Defizite in Abhängigkeit vom Antikörperstatus

Nach Anwendung der ICCTF-Kriterien lag bei 36,9% aller 84 neuropsychologisch untersuchten Melanom-Patienten eine kognitive Beeinträchtigung vor. Bei der Antikörper-positiven Patientengruppe fand sich im Vergleich zu den Antikörper-negativen Patienten signifikant häufiger eine kognitive Beeinträchtigung (57,1% vs. 30,2%;  $p=0,037$ ). Dies entsprach einem 3,1fachen Odds Ratio bzw. einem 1,9fachen relativen Risiko für eine kognitive Beeinträchtigung bei Antikörper-Positivität (siehe Abb. 1A der Publikation, Seite 39). Der gleiche Effekt war auch in der Untergruppe der Patienten mit IgA/IgM-NMDAR-Antikörpern zu beobachten, jedoch aufgrund geringerer Fallzahl ohne statistische Signifikanz (kognitive Beeinträchtigung bei IgA/IgM-NMDAR-AK+: 53,3% vs. AK-: 30,2 %, Odds Ratio: 2,6, relatives Risiko: 1,8,  $p=0,131$ ; siehe Abb. 1A der Publikation, Seite 39). Antikörper-positive Patienten wiesen darüber hinaus insgesamt signifikant häufiger Defizite in kognitiven Untertests auf als Antikörper-negative Patienten (2,2 vs. 1,4 Defizite,  $p=0,045$ , siehe Abb. 1B der Publikation, Seite 39). In der Untergruppe der Patienten mit IgA- oder IgM-NMDAR-Antikörpern konnte zudem ein signifikanter Anstieg der Häufigkeit einer kognitiven Beeinträchtigung mit steigendem Antikörpertiter festgestellt werden (AK-: 30,2%, NMDAR-AK+ 1:10: 28,6%, 1:32: 66,7%, 1:100: 100%,  $p=0,007$ , siehe Abb. 1C der Publikation, Seite 39). Dieser Anstieg konnte schon ab vergleichsweise niedrigen Titern von 1:32 nachgewiesen werden, wobei bei Patienten mit Titern von 1:10 eine kognitive Beeinträchtigung gleichermaßen häufig war wie bei Antikörper-negativen Patienten.

### 3.4.2 Ergebnisse aus den kognitiven Einzeltests und kognitive Gesamtleistung

Die detaillierten Ergebnisse aller kognitiven Einzeltests der Haupt- und Subgruppenanalyse sind der Tabelle 3 des Supplements zu entnehmen (Seite 48). Im Vergleich der Antikörper-positiven mit den Antikörper-negativen Patienten zeigte sich ein signifikant schlechteres Ergebnis im Frühabruf der ROCF als Zeichen für ein gestörtes visuoräumliches Gedächtnis. Eine geringere Zahlenspanne rückwärts war hinweisend auf eine reduzierte Funktion des Arbeitsgedächtnis. Auch wiesen Patienten mit neuronalen Antikörpern im Vergleich signifikant längere Reaktionszeiten bei der visuellen geteilten Aufmerksamkeit auf (siehe Abb. 2 der Publikation, Seite 39). In der Subgruppenanalyse der Patienten mit IgA- oder IgM-NMDAR-Antikörpern waren zusätzlich die Reaktionszeiten in der phasischen Alertness (als Hinweis auf

eine beeinträchtigte Aufmerksamkeitsfunktion) sowie im „Go Nogo“-Test (als Zeichen einer reduzierten Exekutivfunktion) signifikant verlängert (siehe Abb. 2 der Publikation, Seite 39).

Der aus den Untertests berechnete kognitive Gesamtscore (composite cognitive score) war bei Antikörper-positiven Patienten gegenüber Antikörper-negativen Patienten signifikant geringer (AK+:  $-0,38 \pm 0,69$  vs. AK-:  $0,00 \pm 0,56$ ,  $p=0,014$ , siehe Abb. 3A der Publikation, Seite 40). Dies galt ebenso für die Untergruppe der IgA/IgM-NMDAR-Antikörper-positiven Patienten (IgA/IgM-NMDAR-AK+:  $-0,40 \pm 0,71$  vs. AK-:  $0,00 \pm 0,56$ ,  $p=0,023$ , siehe Abb. 3B der Publikation, Seite 40). Insgesamt war die kognitive Leistung der Antikörper-positiven Patienten in 20 von 22 Untertests schlechter als bei den Antikörper-negativen Patienten, was für eine Domänen-übergreifende globale kognitive Beeinträchtigung spricht.

### 3.4.3 Weitere Einflussfaktoren auf die kognitive Funktion

Es wurden Angaben zu Vorerkrankungen bei den Patienten untersucht, welche bereits als Risikofaktoren für eine gestörte kognitive Funktion beschrieben wurden [41][42][43][44]. Informationen zum Tumor-Staging und zur -Therapie, wie eine durchgeführte Chemotherapie oder Immuntherapie, wurden ebenfalls ausgewertet, da diese bereits in Verbindung mit CRCI gebracht wurden [29][45][46][47]. Ergebnisse siehe in Tabelle 1:

Tabelle 1: Risikofaktoren für eine gestörte kognitive Funktion bei Patienten mit Melanom

Potenzieller Risikofaktor	Prozent mit kognitiver Beeinträchtigung		Odds Ratio	Relatives Risiko	p
	Risikofaktor vorhanden				
	Nein	Ja			
Neurologische Vorerkrankung*	31,5 %	72,7 %	5,8	2,3	<b>0,016</b>
Kardiologische Vorerkrankung	32,4 %	56,3 %	2,7	1,7	0,090
Pulmologische Vorerkrankung	32,9 %	75,0 %	6,1	2,3	<b>0,047</b>
Schilddrüsenerkrankung	30,9 %	62,5 %	3,7	2,0	<b>0,024</b>
Autoimmunerkrankung	34,6 %	66,7 %	3,8	1,9	0,187
Arterieller Hypertonus	25,5 %	51,4 %	3,1	2,0	<b>0,020</b>
Diabetes mellitus	34,2 %	80,0 %	7,7	2,3	0,060
S100-cut-off überschritten	34,6 %	100,0 %	/	2,9	<b>0,018</b>
Metastasen (keine Hirnmetastasen)	33,8 %	71,4 %	4,9	2,1	0,095
Entfernte Lymphknotenmetastasen	34,6 %	100,0 %	/	2,9	<b>0,047</b>
Chemotherapie in Anamnese	37,0 %	33,3 %	0,9	0,9	1,000
Immuntherapie in Anamnese	35,5 %	50,0 %	1,8	1,4	0,459

\* Z.n. Meningitis, Z.n. TGA, Restless-legs-Syndrom, Myasthenia gravis, Epilepsie, Meningeom WHO I°, Spinalkanalstenose, BPLS

### 3.4.4 Multimorbidität und kognitive Beeinträchtigung

Zur Quantifizierung von Multimorbidität wurde die Anzahl der anamnestisch angegebenen und dokumentierten Vorerkrankungen summiert („disease count“-Methode) und so ein Multimorbiditäts-Score erstellt [48]. Multimorbidität war nicht signifikant mit dem Auftreten von

Antikörpern assoziiert, unabhängig vom Antikörper-Zielantigen (Multimorbiditäts-Score: AK+:  $2,6 \pm 2,0$  vs. AK-:  $2,4 \pm 2,2$ ;  $p=0,641$ ; NMDAR-AK+:  $2,8 \pm 2,0$  vs. AK-:  $2,4 \pm 2,2$ ;  $p=0,485$ ; AICAbs+:  $2,8 \pm 2,7$  vs. AK:  $2,4 \pm 2,2$ ;  $p=0,591$ ). Jedoch ergab eine logistische Regression mit der stetigen Variable „Multimorbidität“ und der binären Variable „kognitive Beeinträchtigung“, dass Patienten mit mehr Vorerkrankungen häufiger an kognitiver Beeinträchtigung litten ( $B=0,445$ , Waldstatistik=10,07,  $\text{Exp}(B)=1,5$ , 95%-KI:1,19-2,06),  $p=0,002$ ).

### 3.4.5 Regressionsmodell der gesamt-kognitiven Leistung

Mit dem Risikofaktor „neuronale Antikörper“, weiteren Risikofaktoren aus Tabelle 1 sowie dem Faktor „Alter“ als unabhängige Variablen wurde eine multiple Regression zusammen mit der abhängigen Variable „kognitiver Gesamtscore“ (composite cognitive score) als Maß für die gesamt-kognitive Leistung in einem Einschlussverfahren durchgeführt. Bei maximalem  $R^2$  von 0,574 konnte „Antikörper-Positivität“ neben den ebenfalls signifikant beitragenden Einflussfaktoren „Alter“, „arterielle Hypertension“, „S100-Titer“ und „neurologische Vorerkrankungen in Anamnese“ als unabhängiger Risikofaktor für eine schlechtere kognitive Leistung der Patienten beschrieben werden (siehe Tabelle 4 im Supplement, Seite 52). Tumorstadium, Multimorbidität und Chemotherapie verbesserten das Modell nicht signifikant.

### 3.5 Ergebnisse der neurologischen Untersuchung

Im Gruppenvergleich zwischen den Antikörper-positiven und -negativen Patienten konnten in Bezug auf die Häufigkeit neurologischer Symptome in der klinischen Untersuchung keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden (Hirnnervenbefund, Motorik, Sensibilität, Koordination) (siehe Tabelle 6 im Supplement, Seite 56). In einer Subgruppenanalyse der Patienten mit AICAbs wiesen diese in der neurologischen Untersuchung im Vergleich zu Antikörper-negativen signifikant häufiger Symptome einer Polyneuropathie, einer Gangataxie und einer abnormen Okulomotorik auf. In der Untergruppe der NMDAR-Antikörper-positiven Patienten waren gegenüber der Antikörper-negativen Gruppe keine signifikant häufigeren Auffälligkeiten in der neurologischen Untersuchung zu beobachten.

## 4 Diskussion

### 4.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

In dieser Studie konnten bei 22,3% der Patienten mit malignem Melanom neuronale Antikörper im Serum nachgewiesen werden. Der Hauptanteil der Antikörper war gegen NMDAR gerichtet und vom IgA- oder IgM-Isotyp. Dabei war die NMDAR-Antikörper-Prävalenz bei Melanom-Patienten im Vergleich zu Voruntersuchungen mit kognitiv gesunden Kontrollprobanden und Blutspendern erhöht (15,9% vs. 2,5% bzw. 8,5%) [24][26]. Die Prävalenz entsprach derer von vorbeschriebenen Patienten mit verschiedenen Tumorerkrankungen [24]. Interessanterweise

wurde deutlich, dass Patienten mit neuronalen Antikörpern entsprechend den ICCTF-Kriterien ein signifikant erhöhtes Risiko für eine kognitive Beeinträchtigung und für kognitive Defizite gegenüber Antikörper-negativen Patienten aufwiesen. Die betroffenen kognitiven Domänen beinhalteten das visuoräumliche Gedächtnis, das Kurzzeitgedächtnis, die Aufmerksamkeits- und die Exekutivfunktion. Insgesamt schlossen Antikörper-positive Patienten in 20 von 22 kognitiven Tests schlechter ab als Antikörper-negative. Auch der ermittelte kognitive Gesamtscore war signifikant schlechter bei Antikörper-positiven gegenüber den Antikörper-negativen Patienten. Neuronale Antikörper waren dabei in einem multiplen Regressionsmodell ein unabhängiger Risikofaktor für eine schlechtere kognitive Funktion. Patienten mit Störfaktoren für die kognitive Leistung, wie ein stattgehabter Schlaganfall oder eine depressive Symptomatik, wurden in dieser Studie ausgeschlossen. Antikörper-positive Patienten unterschieden sich hier nicht bezüglich einer Fatigue-Symptomatik, Depressivität oder Einschränkung der Lebensqualität von Antikörper-negativen Patienten. Beide Gruppen waren auch in Bezug auf Vorbildung, Vorerkrankungen und Tumorcharakteristika vergleichbar. Die in der Hauptanalyse betrachtete Gesamtgruppe der Antikörper-positiven Patienten wies Antikörper gegen ein heterogenes Antigenprofil auf (n=21). Um Aussagen zu den Effekten der am häufigsten vorkommenden IgA/IgM-NMDAR-Antikörpern treffen zu können, wurde eine Subgruppenanalyse mit den dafür positiven Patienten durchgeführt (n=15). In dieser wurde erkennbar, dass der größte Anteil des Effekts auf die Kognition von dieser Subgruppe getragen wurde, da deren kognitiver Gesamtscore und die überwiegende Anzahl der z-Scores der kognitiven Einzeltests gleich ausfielen wie in der Gesamtgruppe. Außerdem hatte die IgA/IgM-NMDAR-Antikörper-positive Subgruppe ähnliche häufig kognitive Defizite und eine kognitive Beeinträchtigung wie die Gesamtgruppe der Antikörper-positiven Patienten, was jedoch aufgrund der geringeren Fallzahl nicht signifikant wurde. Patienten mit NMDAR-Antikörpern zeigten darüber hinaus eine reduzierte physische Lebensqualität gegenüber Antikörper-negativen Patienten bei gleicher psychischer Gesundheit, wobei die Ursache hierfür unklar bleibt. Bei Patienten mit AICAbs konnten gegenüber Patienten mit NSAbs oder ohne Antikörper häufiger Auffälligkeiten in der neurologischen Untersuchung gefunden werden.

#### 4.2 Pathophysiologie der neuronalen Antikörper und klinische Zusammenhänge:

##### Einordnung der Methodik und der Ergebnisse im Kontext von Voruntersuchungen

Vorausgehende Studien hatten bereits ergeben, dass ein serologischer Antikörpernachweis bei Tumorpatienten mit einem häufigeren Auftreten von kognitiver Beeinträchtigung assoziiert ist [24]. Jedoch beruhen diese Daten auf einer retrospektiven Studie mit Auswertung von kognitiven Screening-Tests. Hier wurden die Patienten hingegen prospektiv rekrutiert und einer umfangreichen standardisierten neuropsychologischen Testung unterzogen. Auch andere Publikationen weisen darauf hin, dass IgA/IgM-NMDAR-Antikörper im Rahmen von „slow cognitive impairment“ [16] und als Ursache unklassifizierter Demenzen auftreten können

[17]. Die hier vorliegende Studie ist dagegen die erste, welche systematisch Störungen in detaillierten kognitiven Teilfunktionen bei Patienten mit IgA/IgM-NMDAR-Antikörpern beschreibt. Bisher bestehen widersprüchliche Ergebnisse zu den pathogenen Effekten der IgA/IgM-NMDAR-Antikörper auf neurophysiologischer Ebene: In vorausgehenden Untersuchungen konnten negative Effekte von IgA/IgM-NMDAR-Antikörpern auf die neuronale NMDAR-Dichte und auf NMDAR-abhängige Membranströme gemessen werden [16][20][21], was dem gut charakterisierten Pathomechanismus von IgG-NMDAR-Antikörpern bei der NMDAR-Enzephalitis entspricht. Dieser Effekt konnte jedoch von anderen Arbeiten für die IgA/IgM-Isotypen an lebenden Neuronen nicht bestätigt werden [22]. Somit stellt sich die Frage, ob IgA/IgM-NMDAR-Antikörper kausal die Kognition beeinflussen oder ob sie nur einen Surrogat-Parameter für eine schlechtere kognitive Leistung darstellen. Für einen direkten pathogenen Effekt spricht in der hier vorliegenden Studie, dass die Häufigkeit einer kognitiven Beeinträchtigung mit erhöhten NMDAR-Antikörpertitern signifikant zunahm. Insgesamt zeigte sich diese Zunahme schon bei vergleichsweise geringen Titern von 1:32, deren zugrunde liegende Relevanz bisher als unklar galt [49]. Bei der Subgruppenanalyse der neuropsychologischen Ergebnisse der Patienten mit NMDAR-Antikörpern wurden die Patienten mit dem IgA- und IgM-Isotyp aufgrund der vergleichbaren pathophysiologischen Effekte in eine Gruppe zusammengefügt. Der Patient mit IgG-NMDAR-Antikörpern, welche einen genauer charakterisierten Pathomechanismus aufweisen, wurde dabei von der Subgruppenanalyse ausgeschlossen, um eine Begrenzung der Aussage auf die Effekte der IgA/IgM-Isotypen zu ermöglichen. Bei Einschluss dieses Patienten in die Subgruppenanalyse zeigten sich jedoch keine relevanten Abweichungen der Ergebnisse im Vergleich zur Analyse mit nur den IgA/IgM-Isotypen (Abb. 1, 2 & 3 im Supplement, Seite 50 & 51).

Bei der hier genutzten Antikörper-Nachweismethode wurden ein Zell-basierter Assay sowie immunhistochemische Gewebefärbungen an Gefriergewebsschnitten verwendet, wobei eine Bestätigung der Reaktion gegen lebende neuronale Zellen nicht erfolgte. Seren von Patienten mit neuronalem Antikörpernachweis färbten in 22,9% neuronales Gewebe von Ratten und Affen in der Immunfluoreszenz an, bei AICA-b-positiven Seren sogar in 40% und bei IgA/IgM-NMDAR-Antikörper-positiven Seren wiederum nur in einem Anteil von 16%. Im Rahmen dieser Studie sind keine Aussagen darüber möglich, ob bei den Patienten eine intakte Blut-Hirn-Schranke vorlag oder ob die nachgewiesenen Antikörper die Blut-Hirnschranke überwinden und an humanes ZNS-Gewebe binden können. Eine Vorarbeit hatte jedoch bereits gezeigt, dass bei Tumorkranken mit neuronalem Antikörpernachweis das Auftreten von kognitiven Defiziten mit einer Störung der Bluthirnschranke verbunden war [24]. Darüber hinaus wäre bei Vorhandensein von IgA/IgM-NMDAR-Antikörpern im Serum auch eine gleichzeitige Negativität im Liquor möglich, da das Gehirn möglicherweise als „Immunopräzipitator“ für die Antikörper wirkt [50]. Unabhängig vom postulierten Pathomechanismus wurde hier deutlich, dass im Zell-

basierten Assay gefundene NSAbs und insbesondere IgA/IgM-NMDAR-Antikörper in Zusammenhang mit klinisch relevanten kognitiven Einschränkungen stehen.

Es stellte sich ebenfalls heraus, dass neuronale Antikörper unabhängig vom Tumorstadium auftraten und auch schon bei lokal begrenzter Erkrankung im frühen Stadium vorhanden sein können. In diesem Zusammenhang erscheint eine Arbeit interessant, in der bei bis zu 33% der dort untersuchten Melanom-Gewebe Mutationen im GRIN2A-Gen nachgewiesen werden konnten [51]. Dieses Gen kodiert für die NMDA-NR2- und NMDAR2C-Untereinheiten des NMDAR. Dabei ist zu beachten, dass hier nachgewiesene Antikörper gegen die NR1-Untereinheit des NMDAR gerichtet sind. Es lässt sich jedoch spekulieren, dass eine mutationsbedingte Rezeptor-Konformationsänderung eine Antikörperformation hervorrufen könnte durch eine aberrante NMDAR-Antigen-Präsentation gegenüber dem Immunsystem. Diesbezüglich wären Untersuchungen aufschlussreich, ob Patienten mit dieser Mutation eine serologische NMDAR-Antikörper-Positivität aufweisen. Es wurden weiterhin Fallberichte veröffentlicht, in denen es bei Patienten im Anschluss an eine Resektion von melanozytären Nävi zur Entwicklung einer NMDAR-Enzephalitis gekommen ist [52]. Dabei wurde eine Freisetzung von antigenem Gewebematerial als Auslöser diskutiert. Dies könnte in Zusammenschau darauf hinweisen, dass es im Rahmen einer Melanom-Erkrankung zu einer Antikörperbildung als Immunreaktion auf die Freisetzung von Antigen-Material kommen könnte. Eine nachfolgende Kreuzreaktion der Antikörper mit neuronalem Gewebe könnte die beschriebenen neurologischen und kognitiven Auswirkungen bedingen.

Von besonderem Interesse dieser Studie war darüber hinaus die Identifizierung möglicher Risikofaktoren und Tumorcharakteristika für das Auftreten von neuronalen Antikörpern. Das Vorhandensein von Antikörpern war dabei nicht abhängig vom Tumorstadium oder dem Vorliegen von Hirnmetastasen. Dies widersprach einer initialen Hypothese, die davon ausging, dass es im Zusammenhang einer Hirnmetastasierung aufgrund einer gestörten Blut-Hirnschranke zu einer vermehrten Exposition des Immunsystems mit neuronalen Antigenen und einer daraus resultierenden Antikörperbildung kommen könnte. In anderen Arbeiten wurde eine steigende Prävalenz von neuronalen Antikörpern mit höherem Alter nachgewiesen, was auf ein altersabhängig vermehrtes Auftreten einer Blut-Hirn-Schrankenstörung zurückgeführt wurde [20][26][53][54]. In der hier vorliegenden Patientenkohorte war das Alter jedoch kein signifikanter Prädiktor für Antikörper-Seropositivität. Dem gegenüber konnte hier als Risikofaktor für den Nachweis von NMDAR-Antikörpern die Assoziation zu vorbestehenden Autoimmunerkrankungen identifiziert werden. Außerdem zeigten sich neuronale Antikörper gehäuft bei Patienten mit Ipilimumab-Therapie. Dies weist auf die Bedeutsamkeit einer autoimmunen Prädisposition für die Antikörperentstehung hin. In diesem Kontext ist ebenso relevant, dass in der Literatur bereits Autoimmunenzephalitiden wie Limbische Enzephalitis

oder Multiple Sklerose unter einer Immuncheckpoint-Therapie beschrieben wurden [55][56]. Auch macht dies deutlich, dass bei Patienten unter Checkpoint-Inhibitor-Therapie bei Bestehen von kognitiven oder neurologischen Auffälligkeiten eine Antikörperdiagnostik erwogen werden sollte. Die Anzahl der hier mit Checkpoint-Inhibitoren behandelten Patienten war jedoch gering und eine Bestätigung dieses Ergebnis an höheren Fallzahlen ist erforderlich.

#### 4.3 „Cancer-related cognitive impairment“ bei Patienten mit malignem Melanom ohne Hirnmetastasen: Risikofaktoren und die Rolle neuronaler Antikörper

Von den eingeschlossenen Patienten wiesen 36,9% eine kognitive Beeinträchtigung auf. In dieser Studie wurden nur wenige Patienten mit einer Chemotherapie behandelt und nur wenige davon kognitiv getestet (n=3). Dabei zeigte sich hier eine zurückliegende Chemotherapie nicht als Risikofaktor für eine schlechtere kognitive Funktion. Die Untersuchung der Chemotherapie-Effekte lag jedoch nicht im Fokus dieser Arbeit. Eine Chemotherapie gilt als zentraler Faktor in der Genese einer krebsbedingten kognitiven Beeinträchtigung (cancer-related cognitive impairment, CRCI) [36]. Andererseits besteht aus Voruntersuchungen ebenso Evidenz darüber, dass ein CRCI bei bis zu 30% der Patienten mit Nicht-ZNS-Tumoren zeitlich schon vor einer systemischen Tumorthherapie wie einer Chemotherapie auftreten kann [45]. Betroffene kognitive Funktionen sind das Gedächtnis, die Aufmerksamkeits- und Exekutivfunktion sowie die Verarbeitungsgeschwindigkeit. Dies deckt sich mit den hier gefundenen Ergebnissen zu den betroffenen kognitiven Domänen. Über die zugrunde liegende Pathogenese bestehen hierzu bisher nur wenige Erkenntnisse [36]. In dieser Hinsicht könnte die Beteiligung neuronaler Antikörper einen neuen Erklärungsansatz für die Entstehung eines CRCI schon vor Beginn einer Tumorthherapie darstellen.

Neben neuronalen Antikörpern wurden hier für eine kognitive Beeinträchtigung bei Melanom-Erkrankung weitere Risikofaktoren identifiziert: Ein erhöhter S100-Titer und vom Primarius entfernte Lymphknotenmetastasen außerhalb des Tumor-Lymphabstromgebietes. Beides deutet auf eine weiter fortgeschrittene Tumorerkrankung hin. Fernmetastasen außerhalb des ZNS waren zwar häufiger mit kognitiver Beeinträchtigung assoziiert, jedoch war dies nicht statistisch signifikant. Weitere signifikante Risikofaktoren für kognitive Beeinträchtigung waren das Vorliegen von Multimorbidität, Schilddrüsenerkrankungen, arteriellem Hypertonus, pulmologischen und neurologischen Vorerkrankungen. Das Auftreten dieser Faktoren im Rahmen der Melanom-Erkrankung sollte folglich den Kliniker gegenüber dem möglichen Vorliegen kognitiver Auffälligkeiten sensibilisieren.

#### 4.4 Limitationen und weiterer Forschungsbedarf

Eine Limitation der hier durchgeführten Studie war, dass subjektive kognitive Einschränkungen, welche oft initial zur Abklärung eines CRCI führen, nicht standardisiert abgefragt wurden. Dies sollte Ziel von weiterführenden Studien sein. Andererseits sind

subjektiv geschilderte kognitive Beschwerden häufig weniger mit der objektiven kognitiven Leistung korreliert, sondern eher mit affektiven Symptomen oder einer Fatigue-Symptomatik, weshalb primär die objektive Testung entscheidend ist [39]. Des Weiteren konnten Subgruppenanalysen der Ergebnisse der kognitiven Tests von Patienten mit anderen NSAbs als NMDAR-Antikörpern oder AICAbs aufgrund der geringen Fallzahlen und der Heterogenität der Antikörper nicht durchgeführt werden. In Zukunft wären weitere Untersuchungen an umfangreicheren Patientenkohorten von Notwendigkeit, um auch die Auswirkungen von hier selten auftretenden Antikörpern einzeln charakterisieren zu können. Unter dieser Voraussetzung wäre es auch möglich, die Effekte der IgA- und IgM-NMDAR-Antikörper-Isotypen einzeln zu beschreiben. Für eine weitere Charakterisierung des Pathomechanismus der Antikörper wäre darüber hinaus in weiterführenden Studien auch die Anwendung funktioneller MRT-Diagnostik an betroffenen Patienten aufschlussreich. Um den Zeitpunkt der Antikörper-Entstehung und den Verlauf des Antikörpertiters in Abhängigkeit vom Krankheitsverlauf, dem Tumorstadium und der Therapie genauer beurteilen zu können, wäre es in Zukunft notwendig, langfristige prospektive Follow-up-Studien mit wiederholter Antikörper-Diagnostik sowie erneuten neuropsychologischen Untersuchungen durchzuführen. Es ließe sich somit weitere Einsicht darüber gewinnen, inwieweit eine Rückkehr zur Antikörper-Negativität oder ein Titerabfall zu einer Verbesserung der kognitiven Funktion führen könnte. Damit wäre eine genauere Aussage über den spezifischen Effekt der neuronalen Antikörper auf die kognitive Funktion möglich. In Zukunft wären außerdem neuropsychologische Untersuchungen in Verbindung mit serologischen Antikörpertestungen auch an anderweitig erkrankten Patienten ohne Tumoren, an anderen Tumorkohorten und an gesunden Kontrollprobanden notwendig. Dies würde weiteren Aufschluss darüber geben, ob sich der hier beschriebene negative Effekt auf die kognitiven Funktionen spezifisch im Rahmen einer Melanom-Erkrankung zeigt oder auch in anderen klinischen Situationen vorhanden ist.

#### 4.5 Klinische Implikationen bei neurologischen und kognitiven Auffälligkeiten

Neben NSAbs waren bei den untersuchten Patienten auch klassische onkoneurale Antikörper bei einem beträchtlichen Patientenanteil nachweisbar. Hierbei konnten in einer Subgruppenanalyse der Patienten mit AICAbs vermehrt neurologische Auffälligkeiten in der klinischen Untersuchung detektiert werden. Dazu zählten Symptome einer Polyneuropathie und Ataxie. Paraneoplastische neurologische Syndrome sind beim malignen Melanom bisher nur in Fallberichten beschrieben und in einer Patientenkohorte der europäischen Datenbank zu PNS wiesen nur 0,4% der eingeschlossenen Patienten ein Melanom als zugrundeliegenden Tumor auf [57]. Keiner der hier eingeschlossenen Patienten hatte zuvor die Diagnose eines PNS erhalten. Dies weist auf die Notwendigkeit hin, bei Auftreten neurologischer Beschwerden oder Auffälligkeiten bei Patienten mit Melanom differentialdiagnostisch das Vorliegen von AICAbs mit zu berücksichtigen und nicht allein Therapie-Nebenwirkungen oder eine

Hirnmetastasierung ursächlich in Betracht zu ziehen. Auch wird im klinischen Alltag im Kontext der Melanom-Erkrankung bislang eine kognitive Beeinträchtigung vornehmlich mit einer potenziellen Hirnmetastasierung und weniger mit einer zugrunde liegenden Antikörper-vermittelten Reaktion in Verbindung gebracht. Hier lag jedoch bei über einem Drittel der Patienten eine objektive kognitive Beeinträchtigung auch schon in frühen Tumorstadien ohne Hirnmetastasierung vor. Daraus lässt sich schlussfolgern, dass es in Hinsicht auf die kognitive Leistung einer vermehrten Aufmerksamkeit bedarf. Bei kognitiven Auffälligkeiten sollte dementsprechend eine weiterführende Antikörperdiagnostik nach Ausschluss weiterer neurologischer Differentialdiagnosen und von Hirnmetastasen durchgeführt werden.

Bei Auftreten von kognitiver Dysfunktion und positivem Nachweis von NSAbs wie den NMDAR-Antikörpern wurde im Gegensatz zu AICAbs bereits ein positives Ansprechen auf eine immunsuppressive Therapie beschrieben [16][17]. Bei den autoimmunen Enzephalitiden mit NSAbs vom IgG-Isotyp kann durch eine immunsuppressive Therapie häufig eine klinische Remission erreicht werden [9]. Daraus resultiert die Frage, ob eine immunsuppressive Therapie auch im Rahmen einer Krebserkrankung bei Nachweis von NSAbs und neu aufgetretenen kognitiven Defiziten infrage käme. Dies würde eine potenzielle Therapiemöglichkeit für CRCl darstellen. Um dies besser beurteilen zu können, wären weitere Untersuchungen an Tumorpatienten insbesondere über den Zeitpunkt des Auftretens und den Verlauf der kognitiven Dysfunktion in Abhängigkeit vom Antikörper-Titer essentiell, um einen kausalen Effekt der Antikörper auf die Kognition nahezulegen. Eine Antikörperdiagnostik im Liquor und Beurteilung der Blut-Hirn-Schranken-Funktion sollten dabei möglichst berücksichtigt werden [27]. Eine immunsuppressive Therapie sollte auch in Zukunft nur nach umfassender Beurteilung der vorhandenen Defizite und der möglichen Komplikationen sowie nach Ausschluss relevanter Differentialdiagnosen erwogen werden.

Zusammenfassend ließen sich bei einem großen Anteil von Patienten mit malignem Melanom kognitive Defizite nachweisen. Dabei stellten neuronale Antikörper bei Melanom-Patienten einen neu identifizierten Faktor in der Pathogenese einer kognitiven Beeinträchtigung dar, wobei dies insbesondere für Antikörper gegen NMDAR-Antikörper vom IgA/IgM-Isotyp galt. Antikörper gegen intrazelluläre Antigene waren hingegen mit Auffälligkeiten in der neurologischen Untersuchung assoziiert. Diese Ergebnisse bedürfen jedoch weiterer Bestätigung durch langfristige prospektive Studien. Bei Melanom-Patienten mit neurologischen oder kognitiven Auffälligkeiten sollte eine Antikörperdiagnostik in Betracht gezogen werden.

## 5 Referenzen

1. Lancaster E, Dalmau J. Neuronal autoantigens-pathogenesis, associated disorders and antibody testing. *Nat Rev Neurol.* 2012;8(7):380–90.
2. Vedeler C, Verschuuren JJGM, Vincent A, Voltz R, Neurological P. Recommended diagnostic criteria for paraneoplastic neurological syndromes. :1135–41.
3. Probst C, Saschenbrecker S, Stoecker W, Komorowski L. Anti-neuronal autoantibodies: Current diagnostic challenges. *Mult Scler Relat Disord.* 2014;3(3):303–20.
4. Vitaliani R, Mason W, Ances B, Zwerdling T, Jiang Z, Dalmau J. Paraneoplastic encephalitis, psychiatric symptoms, and hypoventilation in ovarian teratoma. *Ann Neurol.* 2005;58(4):594–604.
5. Graus F, Titulaer MJ, Balu R, Benseler S, Bien CG, Cellucci T, Cortese I, Dale RC, Leypoldt F, Prüss H, Rae-grant A, Reindl M, Rosenfeld MR, Rostásy K, Saiz A, Venkatesan A, Vincent A, Wandinger K, Waters P, Dalmau J, Mara K, Neurologique H, Radcliffe J. Position Paper A clinical approach to diagnosis of autoimmune encephalitis. 2016;391–404.
6. Dalmau J, Lancaster E, Martinez-Hernandez E, Rosenfeld MR, Balice-Gordon R. Clinical experience and laboratory investigations in patients with anti-NMDAR encephalitis. *Lancet Neurol.* 2011;10(1):63–74.
7. Dalmau J, Tüzün E, Wu HY, Masjuan J, Rossi JE, Voloschin A, Baehring JM, Shimazaki H, Koide R, King D, Mason W, Sansing LH, Dichter M a., Rosenfeld MR, Lynch DR. Paraneoplastic anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis associated with ovarian teratoma. *Ann Neurol.* 2007;61(1):25–36.
8. Florance NR, Davis RL, Lam C, Szperka C, Zhou L, Ahmad S, Campen CJ, Moss H, Peter N, Gleichman AJ, Glaser CA, Lynch DR, Rosenfeld MR, Dalmau J, Author AN. Anti-N-Methyl-D-Aspartate Receptor (NMDAR) Encephalitis in Children and Adolescents NIH Public Access Author Manuscript. *Ann Neurol.* 2009;66(1):11–8.
9. Titulaer MJ, McCracken L, Gabilondo I, Armangué T, Glaser C, Iizuka T, Honig LS, Benseler SM, Kawachi I, Martinez-Hernandez E, Aguilar E, Gresa-Arribas N, Ryan-Florance N, Torrents A, Saiz A, Rosenfeld MR, Balice-Gordon R, Graus F, Dalmau J. Treatment and prognostic factors for long-term outcome in patients with anti-NMDA receptor encephalitis: An observational cohort study. *Lancet Neurol.* 2013;12(2):157–65.
10. Finke C, Kopp UA, Prüss H, Dalmau J, Wandinger KP, Ploner CJ. Cognitive deficits following anti-NMDA receptor encephalitis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2012;83(2):195–8.
11. Finke C, Kopp UA, Scheel M, Pech LM, Soemmer C, Schlichting J, Leypoldt F, Brandt AU, Wuerfel J, Probst C, Ploner CJ, Prüss H, Paul F. Functional and structural brain changes in anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis. *Ann Neurol.* 2013;74(2):284–96.
12. Hughes EG, Peng X, Gleichman AJ, Lai M, Zhou L, Tsou R, Parsons TD, Lynch DR, Dalmau J, Balice-Gordon RJ. Cellular and Synaptic Mechanisms of Anti-NMDA Receptor Encephalitis. *J Neurosci.* 2010;30(17):5866–75.
13. Peer M, Prüss H, Ben-Dayan I, Paul F, Arzy S, Finke C. Functional connectivity of large-scale brain networks in patients with anti-NMDA receptor encephalitis: an observational study. *The Lancet Psychiatry.* 2017;4(10):768–74.
14. Palomero-Gallagher N, Amunts K, Zilles K. Transmitter receptor distribution in the human brain. Toga AW, ed. *Brain Mapping.* Amsterdam: Elsevier; 2015. 261–275 p.
15. Zhang Q, Tanaka K, Sun P, Nakata M, Yamamoto R, Sakimura K, Matsui M, Kato N. Suppression of synaptic plasticity by cerebrospinal fluid from anti-NMDA receptor encephalitis patients. *Neurobiol Dis.* 2012;45(1):610–5.
16. Pruss H, Holtje M, Maier N, Gomez A, Buchert R, Harms L, Ahnert-Hilger G, Schmitz D, Terborg C, Kopp U, Klingbeil C, Probst C, Kohler S, Schwab JM, Stoecker W, Dalmau J, Wandinger KP. IgA NMDA receptor antibodies are markers of synaptic

- immunity in slow cognitive impairment. *Neurology*. 2012;78(22):1743–53.
17. Doss S, Wandinger KP, Hyman BT, Panzer JA, Synofzik M, Dickerson B, Mollenhauer B, Scherzer CR, Ivins AJ, Finke C, Schöls L, Müller vom Hagen J, Trenkwalder C, Jahn H, Höltje M, Biswal BB, Harms L, Ruprecht K, Buchert R, Höglinger GU, Oertel WH, Unger MM, Körtvélyessy P, Bittner D, Priller J, Spruth EJ, Paul F, Meisel A, Lynch DR, Dirnagl U, Endres M, Teegen B, Probst C, Komorowski L, Stöcker W, Dalmau J, Prüss H. High prevalence of NMDA receptor IgA/IgM antibodies in different dementia types. *Ann Clin Transl Neurol*. 2014;1(10):822–32.
  18. Busse M, Kunschmann R, Dobrowolny H, Hoffmann J, Bogerts B, Steiner J, Frodl T, Busse S. Dysfunction of the blood-cerebrospinal fluid-barrier and N - methyl- d - aspartate glutamate receptor antibodies in dementias. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. 2018;268(5):483–92.
  19. Prüss H, Finke C, Höltje M, Hofmann J, Klingbeil C, Probst C, Borowski K, Ahnert-Hilger G, Harms L, Schwab JM, Ploner CJ, Komorowski L, Stoecker W, Dalmau J, Wandinger KP. N-methyl-D-aspartate receptor antibodies in herpes simplex encephalitis. *Ann Neurol*. 2012;72(6):902–11.
  20. Hammer C, Stepniak B, Schneider A, Papiol S, Tantra M, Begemann M, Sirén AL, Pardo LA, Sperling S, Mohd Jofry S, Gurvich A, Jensen N, Ostmeier K, Lühder F, Probst C, Martens H, Gillis M, Saher G, Assogna F, Spalletta G, Stöcker W, Schulz TF, Nave KA, Ehrenreich H. Neuropsychiatric disease relevance of circulating anti-NMDA receptor autoantibodies depends on blood-brain barrier integrity. *Mol Psychiatry*. 2014;19(10):1143–9.
  21. Castillo-Gómez E, Oliveira B, Tapken D, Bertrand S, Klein-Schmidt C, Pan H, Zafeiriou P, Steiner J, Jurek B, Trippe R, Prüss H, Zimmermann WH, Bertrand D, Ehrenreich H, Hollmann M. All naturally occurring autoantibodies against the NMDA receptor subunit NR1 have pathogenic potential irrespective of epitope and immunoglobulin class. *Mol Psychiatry*. 2017;22(12):1776–84.
  22. Hara M, Martinez-Hernandez E, Ariño H, Armangué T, Spatola M, Petit-Pedrol M, Saiz A, Rosenfeld MR, Graus F, Dalmau J. Clinical and pathogenic significance of IgG, IgA, and IgM antibodies against the NMDA receptor. *Neurology*. 2018;90(16):E1386–94.
  23. Gleichman AJ, Spruce LA, Dalmau J, Seeholzer SH, Lynch DR. Anti-NMDA receptor encephalitis antibody binding is dependent on amino acid identity of a small region within the GluN1 amino terminal domain. *J Neurosci*. 2012;32(32):11082–94.
  24. Finke C, Bartels F, Lütt A, Prüss H, Harms L. High prevalence of neuronal surface autoantibodies associated with cognitive deficits in cancer patients. *J Neurol*. 2017;264(9):1–10.
  25. Steiner J, Teegen B, Schiltz K, Bernstein H-G, Stoecker W, Bogerts B. Prevalence of NMDA receptor autoantibodies in peripheral blood: healthy control samples revisited. *JAMA Psychiatry*. 2014;71(7):838–9.
  26. Dahm L, Ott C, Steiner J, Stepniak B, Teegen B, Saschenbrecker S, Hammer C, Borowski K, Begemann M, Lemke S, Rentzsch K, Probst C, Martens H, Wienands J, Spalletta G, Weissenborn K, Stöcker W, Ehrenreich H. Seroprevalence of autoantibodies against brain antigens in health and disease. *Ann Neurol*. 2014 Jul 23;76(1):82–94.
  27. Ehrenreich H. Autoantibodies against the N-Methyl-d-aspartate receptor subunit NR1: Untangling apparent inconsistencies for clinical practice. *Front Immunol*. 2017;8(MAR):1–7.
  28. Desestret V, Chefdeville A, Viacoz A, Bost C, Ducray F, Picard G, Rogemond V, Chaffois MO, Blanc C, Bardel C, Treilleux I, Pascual O, Antoine JC, Delattre JY, Honnorat J. CSF IgA NMDAR antibodies are potential biomarkers for teratomas in anti-NMDAR encephalitis. *Neurology*. 2015;2(6):1–8.
  29. Dunbar-Jacob J, M. Bender C, Zullo T. Cognitive Function and Quality of Life in Interferon Therapy for Melanoma. *Clin Nurs Res*. 2000;9(3):352–63.
  30. Coens C, Suci S, Chiarion-Sileni V, Grob JJ, Dummer R, Wolchok JD, Schmidt H, Hamid O, Robert C, Ascierto PA, Richards JM, Lebbé C, Ferraresi V, Smylie M, Weber JS, Maio M, Bottomley A, Kotapati S, de Pril V, Testori A, Eggermont AMM.

- Health-related quality of life with adjuvant ipilimumab versus placebo after complete resection of high-risk stage III melanoma (EORTC 18071): secondary outcomes of a multinational, randomised, double-blind, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2017;18(3):393–403.
31. Long G V., Atkinson V, Ascierto PA, Robert C, Hassel JC, Rutkowski P, Savage KJ, Taylor F, Coon C, Gilloteau I, Dastani HB, Waxman IM, Abernethy AP. Effect of nivolumab on health-related quality of life in patients with treatment-naïve advanced melanoma: Results from the phase III CheckMate 066 study. *Ann Oncol.* 2016;27(10):1940–6.
  32. Valpione S, Zoccarato M, Parrozzani R, Pigozzo J, Giometto B, Laveder F, Aliberti C, Chiarion-Sileni V. Paraneoplastic cerebellar degeneration with anti-Yo antibodies associated with metastatic uveal melanoma. *J Neurol Sci.* 2013;335(1–2):210–2.
  33. Becquart C, Ryckewaert G, Desmedt E, Defebvre L, Le Rhun E, Mortier L. Encéphalite limbique : une nouvelle manifestation auto-immune paranéoplasique associée au mélanome métastatique ? *Ann Dermatol Venereol.* 2013 Apr 1;140(4):278–81.
  34. Ehmann D, Garg S. Autoimmune retinopathy. *Retin Choroidal Imaging Syst Dis.* 2017;113–23.
  35. Martı PÆS. Chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy associated with metastatic malignant melanoma of unknown primary origin. *J Neurooncol.* 2009;279–81.
  36. Jeffrey S. Wefel, Shelli R. Kesler, Kyle R. Noll SBS, Over. Clinical Characteristics, Pathophysiology, and Management of Noncentral Nervous System Cancer-Related Cognitive Impairment in Adults. *CA CANCER J CLIN.* 2015;65:123–38.
  37. American Cancer Society. Melanoma of the Skin Staging [Internet]. 2009. p. 1. Available from: <https://cancerstaging.org/references-tools/quickreferences/Documents/MelanomaSmall.pdf>
  38. Gary Groth-Marnat. Handbook of psychological assessment. 4th Editio. 2003.
  39. Wefel JS, Vardy J, Ahles T, Schagen SB. International Cognition and Cancer Task Force recommendations to harmonise studies of cognitive function in patients with cancer. 2011;703–8.
  40. Stöcker W, Saschenbrecker S, Rentzsch K, Komorowski L, Probst C. Autoantikörperdiagnostik in der Neurologie mittels nativer und rekombinanter Antigensubstrate. *Nervenarzt.* 2013;84(4):471–6.
  41. McCrimmon RJ, Ryan CM, Frier BM. Diabetes and cognitive dysfunction. *Lancet* (London, England). 2012 Jun 16;379(9833):2291–9.
  42. Iadecola C, Gottesman RF. Neurovascular and Cognitive Dysfunction in Hypertension. *Circ Res.* 2019;124(7):1025–44.
  43. Langa KM, Levine DA. The diagnosis and management of mild cognitive impairment: A clinical review. *JAMA - J Am Med Assoc.* 2014;312(23):2551–61.
  44. Lutsey PL, Chen N, Mirabelli MC, Lakshminarayan K, Knopman DS, Vossel KA, Gottesman RF, Mosley TH, Alonso A. Impaired lung function, lung disease, and risk of incident dementia. *Am J Respir Crit Care Med.* 2019;199(11):1385–96.
  45. Hardy SJ, Krull KR, Wefel JS, Janelsins M. Cognitive Changes in Cancer Survivors. *Am Soc Clin Oncol Educ B.* 2018;(38):795–806.
  46. Ahles TA, Saykin AJ. Candidate mechanisms for chemotherapy-induced cognitive changes. *Nat Rev Cancer.* 2007;7(3):192–201.
  47. Goldberg SB, Gettinger SN, Mahajan A, Chiang AC, Herbst RS, Sznol M, Tsiouris AJ, Cohen J, Vortmeyer A, Jilaveanu L, Yu J, Hegde U, Speaker S, Madura M, Ralabate A, Rivera A, Rowen E, Gerrish H, Yao X, Chiang V, Kluger HM. Pembrolizumab for patients with melanoma or non-small-cell lung cancer and untreated brain metastases: early analysis of a non-randomised, open-label, phase 2 trial. Vol. 17, *The Lancet Oncology.* 2016. p. 976–83.
  48. Huntley AL, Johnson R, Purdy S, Valderas JM, Salisbury C. Measures of Multimorbidity and Morbidity Burden for Use in Primary Care and Community Settings : A Systematic Review and Guide. *Ann Fam Med.* 2012;134–41.

49. Hara M, Martinez-Hernandez E, Ariño H, Armangué T, Spatola M, Petit-Pedrol M, Saiz A, Rosenfeld MR, Graus F, Dalmau J. Clinical and pathogenic significance of IgG, IgA, and IgM antibodies against the NMDA receptor. *Neurology*. 2018;10.1212/WNL.0000000000005329.
50. Castillo-gomez E, Kästner A, Steiner J, Schneider A, Bs BH, Ms GP, Ostehr K, Uhr M, Asif AR, Matzke M, Schmidt U, Bs VP, Hammer C, Schulz TF, Binder L, Stöcker W, Weber F, Dvm HE. The brain as 'immunoprecipitator' of serum autoantibodies against NMDAR1. *Ann Neurol*. 2015;79(1):144–51.
51. Wei X, Walia V, Lin JC, Teer JK, Prickett TD, Gartner J, Davis S, Stemke-Hale K, Davies MA, Gershenwald JE, Robinson W, Robinson S, Rosenberg SA, Samuels Y. Exome sequencing identifies GRIN2A as frequently mutated in melanoma. *Nat Genet*. 2011;43(5):442–8.
52. Yang X, Cui L, Ren H, Qu T, Guan H. Anti-NMDAR encephalitis after resection of melanocytic nevi : report of two cases. *BMC Neurol*. 2015;1–3.
53. Montagne A, Barnes SR, Sweeney MD, Halliday MR, Sagare AP, Zhao Z, Toga AW, Jacobs RE, Liu CY, Amezcua L, Harrington MG, Chui HC, Law M, Zlokovic B V. Blood-Brain barrier breakdown in the aging human hippocampus. *Neuron*. 2015;85(2):296–302.
54. Schneider A, Hammer C, Castillo-Gomez E, Schmidt U, Binder L, Asif AR, Stöcker W, Schulz TF, Weber F, Uhr M, Hettling B, Ehrenreich H, Matzke M, Poggi G, Ostehr K, Pfander V, Kästner A, Steiner J. The brain as immunoprecipitator of serum autoantibodies against N-Methyl-D-aspartate receptor subunit NR1. *Ann Neurol*. 2015;79(1):144–51.
55. Salam S, Lavin T, Turan A. Limbic encephalitis following immunotherapy against metastatic malignant melanoma. *BMJ Case Rep*. 2016;2016(November 2014):10–3.
56. Yshii LM, Hohlfeld R, Liblau RS. Inflammatory CNS disease caused by immune checkpoint inhibitors: Status and perspectives. *Nat Rev Neurol*. 2017;13(12):755–63.
57. Bruno Giometto, MD; Wolfgang Grisold, MD; Roberta Vitaliani, MD, PhD; Francesc Graus M, Jerome Honnorat MGB. Paraneoplastic Neurologic Syndrome in the PNS Euronetwork Database. *Arch Neurol*. 2010;67(3):330–5.

## Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Timo Strönisch, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „*Neuronale Autoantikörper bei Patienten mit malignem Melanom und deren Einfluss auf kognitive Funktion und neurologischen Status*“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem Betreuer, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; [www.icmje.org](http://www.icmje.org)) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass mir die Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis bekannt ist und ich mich zur Einhaltung dieser Satzung verpflichte.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

---

Unterschrift

## Ausführliche Anteilserklärung an der erfolgten Publikation

Publikation (Top-Journal):

Bartels F\*, Stroenisch T\*, Farmer K, Rentzsch K, Kiecker F, Finke C. Neuronal autoantibodies associated with cognitive impairment in melanoma patients. Ann Oncol. 2019; (March):1–7.

\*geteilte Erstautorenschaft

### Beitrag im Einzelnen:

- Patientenrekrutierung über 2 Freisemester
- Aufbau einer Datenbank für die prospektive Studie an Melanom-Patienten, auch für weitere Tumorkohorten
- Erlernen der Methodik der neuropsychologischen Untersuchung
- Erhebung von Patienten-Anamnese, Vorerkrankungen, Daten zu Tumorthherapie und Tumorpathologie, Auswertung der Patientenakten
- Neuropsychologische Testung der Patienten
- Neurologische Untersuchung der Patienten
- Abnahme von Serumproben für die Antikörpertestung und Weiterverarbeitung mittels Zentrifugation und Lagerung.
- Auswertung der erhobenen neuropsychologischen Rohdaten
- Eingabe der Daten in die Datenbank
- Erhebung der Ergebnisse mittels selbstständiger statistischer Auswertung aller erhobenen Daten mittels SPSS (siehe Methodikteil) nach entsprechender Einarbeitung
- Erstellung der Graphiken und Tabellen für die Publikation (Abb. 1-3, Teile der Tabelle 1) und des Supplements (Tabellen 1-6 und Abb. 1-6) mittels Excel und Adobe Illustrator sowie Erstellung der Bild- und Tabellenlegenden.
- Inhaltliche Mitgestaltung des Fließtextes der Publikation
- Korrekturlesen des Manuskripts

---

Unterschrift des Doktoranden

## Auszug aus der Journal Summary List: Oncology Journals

Journal Data Filtered By: **Selected JCR Year: 2018** Selected Editions: SCIE,SSCI  
 Selected Categories: **"ONCOLOGY"** Selected Category Scheme: WoS  
**Gesamtanzahl: 229 Journale**

Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfactor Score
1	CA-A CANCER JOURNAL FOR CLINICIANS	32,410	223.679	0.077370
2	NATURE REVIEWS CANCER	50,529	51.848	0.074080
3	LANCET ONCOLOGY	48,822	35.386	0.146770
4	Nature Reviews Clinical Oncology	9,626	34.106	0.031890
5	JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY	154,029	28.245	0.281750
6	Cancer Discovery	13,715	26.370	0.064810
7	CANCER CELL	36,056	23.916	0.091050
8	JAMA Oncology	9,488	22.416	0.048340
<b>9</b>	<b>ANNALS OF ONCOLOGY</b>	<b>40,751</b>	<b>14.196</b>	<b>0.103620</b>
10	Journal of Thoracic Oncology	16,601	12.460	0.038810
11	Molecular Cancer	11,626	10.679	0.021350
12	JNCI-Journal of the National Cancer Institute	36,790	10.211	0.051650
13	NEURO-ONCOLOGY	11,858	10.091	0.029150
14	LEUKEMIA	24,555	9.944	0.054750
15	SEMINARS IN CANCER BIOLOGY	6,992	9.658	0.010730
16	CLINICAL CANCER RESEARCH	78,171	8.911	0.134870
17	Trends in Cancer	1,420	8.884	0.006040
18	Journal of Hematology & Oncology	5,366	8.731	0.013620
19	Journal for ImmunoTherapy of Cancer	2,716	8.676	0.011350
20	Cancer Immunology Research	5,420	8.619	0.025380
21	CANCER RESEARCH	130,932	8.378	0.123870

## Publikation

Bartels F, Stroenisch T, Farmer K, Rentzsch K, Kiecker F, Finke C. Neuronal autoantibodies associated with cognitive impairment in melanoma patients. *Ann Oncol.* 2019;(March):1–7.

<https://doi.org/10.1093/annonc/mdz083>













## Supplement der Publikation

[https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6551450/bin/mdz083\\_supplementary\\_data.docx](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6551450/bin/mdz083_supplementary_data.docx)

































## Lebenslauf von Timo Strönisch

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.



## Publikationsliste

1. Bartels F\*, Strönisch T\*, Farmer K, Rentzsch K, Kiecker F, Finke C. Neuronal autoantibodies associated with cognitive impairment in melanoma patients. *Ann Oncol.* 2019;(March):1–7. \*Shared first authorship

Impact factor (2018): 14,196

2. Bartels F, Wandrey M, Strönisch T, Farmer K, Tessmer A, Teegen B, Stöcker W, Grohé C, Finke C. Neuronale Autoantikörper und assoziierte kognitive Defizite bei Patienten mit kleinzelligem und nichtkleinzelligem Lungenkarzinom. *Pneumologie.* 2017;71(S 01):V257.

Impact factor (2018): 0,56

## Danksagung

Ich danke herzlich Herrn Prof. Dr. Carsten Finke für die Überlassung des Promotionsthemas, die freundliche und konstruktive Betreuung der Studie für meine Promotionsarbeit sowie für das regelmäßige Durchführen von Journal Clubs und Teamtreffen. Auch möchte ich meinem Zweitbetreuer Dr. Frederik Bartels gerne danken für die immer möglichen Gelegenheiten zur Beratung und das Gespräch. Den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Berlin School of Mind and Brain der Humboldt-Universität Berlin bin ich ebenfalls sehr für die Bereitstellung der Räumlichkeiten und der notwendigen Materialien sowie die IT-Unterstützung dankbar. Zuletzt möchte ich Ana Christina Henckel und meinen Eltern danken für ihre immer währende Unterstützung, das Vertrauen und ihre Liebe.