

Aus dem
CharitéCentrum 15 für Neurologie, Neurochirurgie und Psychiatrie
Klinik für Neurologie mit Experimenteller Neurologie
Direktor: Prof. Dr. med. Matthias Endres

Habilitationsschrift

Untersuchungen zu Biomarkern im Liquor und Serum bei neuroimmunologischen und neurovirologischen Erkrankungen

zur Erlangung der Lehrbefähigung
für das Fach Neurologie

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät
Charité-Universitätsmedizin Berlin

Von

Dr. med. Carolin Otto

Eingereicht:	September 2022
Dekan:	Prof. Dr. med. Axel R. Pries
1. Gutachterin:	Prof. Dr. Brigitte Wildemann
2. Gutachter:	Prof. Dr. Markus Otto

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	6
1.1.	Neuroimmunologische Erkrankungen: Multiple Sklerose (MS)	7
1.2.	Neuroimmunologische Erkrankungen: Neurosarkoidose	9
1.3.	Die Rolle von Biomarkern bei neuroimmunologischen und neurovirologischen Erkrankungen	11
1.4.	Techniken der Liquordiagnostik bei neuroimmunologischen und neurovirologischen Erkrankungen: Untersuchung intrathekalen Antikörpersynthesen mittels Bestimmung antiviraler Antikörperindices und der spezifischen Fraktion (Fs)	12
1.4.1.	Intrathekale Antikörperproduktionen	12
1.4.2.	Intrathekale Immunantworten gegen das Epstein-Barr Virus (EBV)	14
1.5.	Immunantworten gegen SARS-CoV-2 nach Impfungen unter B-Zell depletierender Behandlung bei Patientinnen und Patienten mit MS	16
1.6.	Fragestellungen dieser Arbeit	18
2.	Eigene Arbeiten	20
2.1.	The fraction of varicella zoster virus-specific antibodies among all intrathecally- produced antibodies discriminates between patients with varicella zoster virus reactivation and multiple sclerosis	20

2.2.	Frequent intrathecal production of antibodies to the viral capsid antigen of Epstein-Barr virus in patients with central nervous system post-transplant lymphoproliferative disorder	25
2.3.	Multiple sclerosis is rare in Epstein-Barr virus seronegative children with central nervous system inflammatory demyelination	36
2.4.	Analysis of soluble interleukin-2 receptor as CSF biomarker for neurosarcoidosis	43
2.5.	Preserved T cell responses to SARS-CoV-2 in anti-CD20 treated multiple sclerosis	55
3.	Diskussion	66
3.1.	Biomarker neuroimmunologischer und neurovirologischer Erkrankungen	66
3.2.	Intrathekale Immunglobulin Synthese und antivirale Antikörperindices	68
3.2.1.	Unterscheidung einer polyspezifischen und einer virusspezifischen intrathekalen Antikörperproduktion mit Hilfe der spezifischen Fraktion Fs	70
3.2.2.	Intrathekale Immunantworten gegen das Epstein-Barr Virus (EBV)	72
3.3.	Die Rolle des Epstein-Barr Virus (EBV) bei der MS	75
3.4.	Löslicher Interleukin-2 Rezeptor (sIL-2R) im Liquor als Biomarker der Neurosarkoidose	78
3.5.	Zelluläre und humorale Immunantworten gegen SARS-CoV-2 bei MS Patientinnen und Patienten mit B-Zell depletierender Behandlung	81

4.	Zusammenfassung	84
5.	Literaturverzeichnis	87
6.	Danksagung	94
7.	Eidesstattliche Erklärung	95

Abkürzungsverzeichnis

ADEM	Akute disseminierte Enzephalomyelitis
AI	Antikörperindex
CIS	Klinisch isoliertes Syndrom
DNA	desoxyribonucleic acid
EBNA-1	Epstein-Barr- Virus nukleäres Antigen 1
EBV	Epstein-Barr- Virus
Fs	spezifische Fraktion
GBS	Guillain-Barré-Syndrom
HSV	Herpes simplex Virus
IgA	Immunglobulin A
IgM	Immunglobulin M
IgG	Immunglobulin G
IM	Infektiöse Mononukleose
LMP-1	Latentes Membranprotein 1
MOG	Myelin Oligodendrozyten Glykoprotein
MRZ-Reaktion	Masern-Röteln-Zoster-Reaktion
MS	Multiple Sklerose
NMO	Neuromyelitis Optica
OKB	Oligoklonale Banden
ON	Optikusneuritis
PCNS-PTLD	Primäre Posttransplantations-Lymphoproliferative Erkrankung des ZNS
PPMS	Primär progrediente Multiple Sklerose
RRMS	Schubförmig remittierende Multiple Sklerose
SARS-CoV-2	Schweres akutes Atemnotsyndrom Coronavirus 2
sIL -2R	Löslicher Interleukin-2 Rezeptor
SSPE	Subakut sklerosierende Panenzephalitis
TM	Transverse Myelitis
VCA	Virales Capsid Antigen
VZV	Varizella Zoster Virus
ZNS	zentrales Nervensystem

1. Einleitung

Im Folgenden sollen zunächst wichtige neuroimmunologische Krankheitsbilder beschrieben werden. Dabei gehe ich im Einzelnen auf die Multiple Sklerose (MS) und die Neurosarkoidose ein. Darauf aufbauend soll die Rolle von Biomarkern in der Diagnostik und Beurteilung von Krankheitsaktivität bei neuroimmunologischen und neurovirologischen Erkrankungen gezeigt werden. Darüber hinaus werden kurz Grundprinzipien der Liquordiagnostik dargestellt, insbesondere die Untersuchung von intrathekalen Antikörpersynthesen mittels Reiber Diagrammen sowie die Bestimmung antiviraler Antikörperindices und der spezifischen Fraktion, die relevant in der Diagnostik neuroimmunologischer und neurovirologischer Erkrankungen erscheinen.

Abschließend soll die humorale und zelluläre Immunantwort nach SARS-CoV-2 Impfungen bei Patientinnen und Patienten mit MS unter einer B-Zell depletierenden Behandlung charakterisiert werden.

1.1. Neuroimmunologische Erkrankungen: Multiple Sklerose (MS)

Bei der Multiplen Sklerose (MS) handelt es sich um eine chronisch-entzündliche, immunvermittelte Erkrankung des zentralen Nervensystems (ZNS). Die MS ist die häufigste neurologische Erkrankung, die im jüngeren Erwachsenenalter zu bleibenden neurologischen Ausfallerscheinungen führt (Compston and Coles, 2008). Oft beginnt die Erkrankung mit einem erstmaligen demyelinisierenden klinischen Ereignis, dem sog. klinisch isolierten Syndrom (CIS), häufig in Form einer Optikusneuritis (ON) oder transversen Myelitis (TM). In 85% der Fälle verläuft die Erkrankung als schubförmig-remittierende MS (RRMS), in 15 % als primär chronisch progrediente Multiple Sklerose (PPMS) (Miller et al., 2012). Bei der MS kommt es zu fokalen Entzündungsreaktionen im ZNS (MS-Läsionen), welche mit einer Demyelinisierung und Neurodegeneration einhergehen (Hemmer et al., 2015, Brandao et al., 2020). Mittlerweile existiert eine Vielzahl von MS spezifischen Immuntherapien, die eine klinische und kernspintomographische Kontrolle der Erkrankung erlauben. Insbesondere die Depletion von B-Zellen durch eine Therapie mit monoklonalen Antikörpern (Ocrelizumab, Rituximab und Ofatumumab) gegen das CD20-Oberflächenmolekül auf B-Zellen (Anti-CD20 Therapien/B-Zell depletierende Therapien) stellt eine effektive Behandlungsmöglichkeit der MS dar (Greenfield and Hauser, 2018).

Schlüsselbefunde im Liquor bei der MS sind eine milde bis mäßige lymphozytäre Pleozytose von bis zu 50 Zellen/ μ l sowie eine intrathekale Synthese von Immunglobulin (Ig)G, welche sich bei >90% der Patientinnen und Patienten findet (Cross and Waubant, 2011). Die intrathekale Antikörperproduktion ist nicht gegen ein einzelnes Zielantigen gerichtet, sondern stellt eine polyspezifische Immunreaktion dar, die aus einer polyklonalen intrathekalen B-Zell-Stimulation resultiert (Otto et al., 2011, Reiber et al., 1998).

Im Rahmen dieser polyklonalen intrathekalen B-Zell-Stimulation findet sich im Liquor von ca. 90% der Patientinnen und Patienten mit MS auch eine intrathekale IgG-Synthese gegen virale Antigene, am häufigsten gegen das Masern (M)-, Röteln (R)- und Varizella-Zoster- (Z) Virus, die sogenannte MRZ-Reaktion (Jarius et al., 2017, Reiber et al., 1998). Diese lässt

sich anhand des Antikörperindex (AI) bestimmen (Reiber and Peter, 2001), wobei AI-Werte $\geq 1,5$ eine intrathekale Antikörperproduktion anzeigen (Reiber and Lange, 1991). Darüber hinaus weisen ca. 20% der Patientinnen und Patienten mit MS auch eine intrathekale IgM-Synthese auf, die mit künftiger Krankheitsaktivität bei Patientinnen und Patienten mit früher MS assoziiert ist (Pfuhl et al., 2019).

Trotz wissenschaftlicher Fortschritte bleibt die Ätiologie der MS weiterhin unklar. Es besteht jedoch kein Zweifel daran, dass die MS durch ein Zusammenspiel von genetischen und Umweltfaktoren entsteht (Ascherio and Munger, 2007a, Willer et al., 2003, Ascherio and Munger, 2007b, Gale and Martyn, 1995). Die MS weist insbesondere eine starke Assoziation mit einer Epstein-Barr-Virus (EBV) Infektion auf. Praktisch alle Patientinnen und Patienten mit MS sind EBV-seropositiv (Abrahamyan et al., 2020, Nourbakhsh et al., 2021) und eine symptomatische EBV-Erstinfektion (infektiöse Mononukleose) geht mit einem ca. 2-fach erhöhten Risiko für eine MS einher (Ascherio and Munger, 2007a, Ruprecht, 2020, Bjornevik et al., 2022).

Die Diagnosestellung der MS erfolgt auf der Grundlage von klinischen, bildgebenden und liquordiagnostischen Befunden (Thompson et al., 2018), wobei bisher keine spezifischen diagnostischen Biomarker existieren. Wichtige Differentialdiagnosen der MS stellen die Neuromyelitis Optica (NMO) mit Nachweis von Aquaporin-4-IgG Antikörpern, die Myelin-Oligodendrozyten-Glykoprotein (MOG) IgG-Antikörper assoziierte Enzephalomyelitis und die Neurosarkoidose dar.

1.2. Neuroimmunologische Erkrankungen: Neurosarkoidose

Bei der Sarkoidose handelt es sich um eine granulomatöse Systemerkrankung, die histopathologisch durch nicht-verkäsende epitheloidzellige Granulome charakterisiert ist (Wengert et al., 2013, Joseph and Scolding, 2009). Das typische Manifestationsalter liegt, ähnlich wie bei der MS, zwischen dem 20. und 40. Lebensjahr (Joseph and Scolding, 2009). Die Erkrankung kann sich in allen Organen manifestieren, am häufigsten betroffen sind die Lungen und die Lymphknoten. Eine Beteiligung des ZNS (Neurosarkoidose) tritt in 5-15% der Fälle auf (Hoitsma et al., 2004). Die variable und sehr breite klinische und bildgebende Präsentation einer Neurosarkoidose, kann ihre Diagnosestellung erschweren. Diagnostische Kriterien wurden initial von Zajicek und Kollegen formuliert (Zajicek et al., 1999), wobei mittlerweile aktualisierte Diagnosekriterien von einer Expertengruppe für Neurosarkoidose definiert wurden (Stern et al., 2018). Ein wichtiges diagnostisches Kriterium bildet der klassische Liquorbefund. In bis zu 60% findet sich eine lymphomonozytäre Pleozytose (Fritz et al., 2016), die auch mit kernspintomographischer (diffuse leptomenigeale Kontrastmittelaufnahme) und klinischer Krankheitsaktivität korreliert (Wengert et al., 2013).

Bisher existieren keine spezifischen diagnostischen Biomarker für die Neurosarkoidose. Untersucht wurde in verschiedenen Arbeiten zur systemischen Sarkoidose allerdings der lösliche Interleukin-2 Rezeptor (sIL-2R), ein Marker für T-Zell Aktivität. Dabei handelt es sich um einen heterotrimeren Rezeptor, der aus einer α -Untereinheit (CD25), einer β -Untereinheit (CD122) sowie einer γ -Untereinheit (CD132) besteht. Im Rahmen der T-Zell Aktivierung kommt es zur proteolytischen Abspaltung des extrazellulären Anteils der α -Untereinheit. Dieser stellt den sIL-2R dar. Erhöhte Serum sIL-2R Werte lassen sich bei der systemischen Sarkoidose nachweisen und sind mit radiologischer Krankheitsaktivität und dem Therapieansprechen assoziiert (Ramos-Casals et al., 2019). Darüber hinaus fanden sich in einer kleineren Fallserie erhöhte sIL-2R Werte im Liquor bei Patientinnen und Patienten mit einer Neurosarkoidose, als möglicher Marker für Krankheitsaktivität und Therapieansprechen (Petereit et al., 2010). Dennoch ist der sIL-2R nicht spezifisch für die (Neuro)sarkoidose,

sondern ebenfalls erhöht bei der (Neuro)tuberkulose, der rheumatoiden Arthritis oder dem systemischen Lupus erythematoses (Petereit et al., 2010, Ramos-Casals et al., 2019).

1.3. Die Rolle von Biomarkern bei neuroimmunologischen und neurovirologischen Erkrankungen

Die Diagnostik sowie die Überwachung von Krankheitsaktivität und Therapieansprechen spielen eine zentrale Rolle in der Betreuung und Versorgung von Patientinnen und Patienten mit neuroimmunologischen Erkrankungen, wie der MS und der Neurosarkoidose. Wichtig ist hierbei auch die Abgrenzung neuroimmunologischer Erkrankungen voneinander sowie gegenüber neurovirologischen Erkrankungen, die in variablem Ausmaß zu neurologischen Symptomen führen können.

Ein übergeordnetes längerfristiges Ziel zur Verbesserung der Diagnostik und Therapie neuroimmunologischer und neurovirologischer Erkrankungen ist daher die Etablierung von Markern, sog. Biomarkern. Unter Biomarkern versteht man charakteristische Parameter, die valide, zuverlässig und einfach in einem Medium bestimmt werden können (Ziemssen et al., 2019, Sahab et al., 2007, Biomarkers Definitions Working, 2001) und v.a. diagnostischen Zwecken dienen. Ideale Biomarker ermöglichen zudem eine Überwachung von Krankheitsaktivität (Comabella and Montalban, 2014) und Therapieansprechen (Biomarkers Definitions Working, 2001). Klassischerweise handelt es sich um molekulare Parameter aus dem Feld der Immunologie und Neurobiologie, aber auch kernspintomographische Befunde können Biomarker darstellen. Man unterscheidet diagnostische, prognostische und prädiktive Biomarker sowie Biomarker zur Beurteilung von Krankheitsaktivität und Therapieansprechen (Ziemssen et al., 2019). Eine wesentliche Voraussetzung bildet dabei eine hohe Sensitivität und Spezifität (Paul et al., 2019).

1.4. Techniken der Liquordiagnostik bei neuroimmunologischen und neurovirologischen Erkrankungen: Untersuchung intrathekaler Antikörpersynthesen mittels Bestimmung antiviraler Antikörperindices und der spezifischen Fraktion (Fs)

1.4.1. Intrathekale Antikörperproduktion

Die Bestimmung der intrathekalen Antikörperproduktion mit Hilfe des Als stellt einen wichtigen unterstützenden diagnostischen Marker neuroimmunologischer und neurovirologischer Erkrankungen dar (Jacobi et al., 2007). Die Berechnung des Als erfolgt mit Hilfe der Formel $AI = \frac{(IgG_{spec}Liquor/IgG_{spec}Serum)}{(IgG_{Gesamt}Liquor/IgG_{Gesamt}Serum)} = \frac{(Quotient\ Liquor/Serum\ spezifisches\ IgG)}{Quotient\ Liquor/Serum\ Gesamt\ IgG} = Q_{spec}/Q_{IgG..}$ Ein AI Wert $\geq 1,5$ gilt als erhöht und zeigt eine intrathekale Antikörperproduktion an (Reiber and Lange, 1991).

Wie eingangs erwähnt finden sich bei der MS erhöhte Antikörperindices gegen Masern-, Röteln- und Varizella-Zoster Virus (MRZ-Reaktion). Diese stellt eine polyspezifische intrathekale Immunantwort dar. Im Gegensatz dazu sind erhöhte Als, die sich im Rahmen von akuten Infektionen und Reaktivierungen von Viren im ZNS nachweisen lassen, Ausdruck einer virusspezifischen intrathekalen Immunantwort. Klinisch führen auch Infektionen und Reaktivierungen von Viren im ZNS zu variablen neurologischen Komplikationen wie z.B. Meningitis, Meningoenzephalitis, Myelitis, Zerebellitis und stellen daher u.U. relevante Differentialdiagnosen neuroimmunologischer Erkrankungen dar (Gilden et al., 2000, Baldwin and Cummings, 2018). Mit Hilfe der AI Bestimmung allein ist aber eine Unterscheidung zwischen einer virusspezifischen und polyspezifischen intrathekalen Immunantwort nicht möglich. Die einzige bisher bekannte Methode, die diese Unterscheidung erlaubt, ist die Bestimmung der virusspezifischen intrathekalen Antikörper Fraktion (Fs) (Jacobi et al., 2007, Conrad et al., 1994, Quentin and Reiber, 2004). Dabei handelt es sich um den prozentualen Anteil der virusspezifischen intrathekal synthetisierten IgG Antikörper an der Gesamtheit der intrathekal produzierten IgG Antikörper (Jacobi et al., 2007). Mit Hilfe dieser Methode konnte gezeigt werden, dass Patientinnen und Patienten mit einer Herpes-simplex Virus (HSV)

Enzephalitis eine etwa 60-fach höhere virusspezifische Anti-HSV Fs aufweisen, als Patientinnen und Patienten mit einer MS. In Analogie dazu ergab die Untersuchung der Masern-spezifischen Fs bei Patientinnen und Patienten mit einer subakut sklerosierenden Panenzephalitis (SSPE), einer sehr seltenen spät manifestierenden neurologischen Komplikation einer Masern Infektion (Conrad et al., 1994), 40-fach höhere virusspezifische Anti-Masern Fs Werte im Vergleich zu Patientinnen und Patienten mit MS.

1.4.2. Intrathekale Immunantworten gegen das Epstein-Barr Virus (EBV)

Wie eingangs berichtet existieren starke und konsistente epidemiologische Hinweise auf eine Assoziation von EBV mit der MS. Im Hinblick auf mögliche Mechanismen, durch die EBV bei der MS eine Rolle spielen könnte, geht eine Theorie von einer direkten ZNS Infektion durch das Virus oder EBV infizierter B-Zellen aus, die zu einer EBV-spezifischen Immunantwort und konsekutiven Schädigung des umgebenden Hirngewebes führt (Serafini et al., 2004, Cepok et al., 2005).

Vor diesem Hintergrund untersuchten wir eine mögliche intrathekale EBV-IgG Antikörpersynthese bei Patientinnen und Patienten mit einem CIS oder einer MS mittels Bestimmung von EBV AIs und der EBV spezifischen Fraktion (Fs). Hierbei zeigte sich, dass es bei der MS nur überraschend selten zu einer intrathekalen Synthese von EBV-Antikörpern kommt und intrathekal synthetisierte EBV-Antikörper, falls vorhanden, Teil der polyspezifischen Immunantwort bei Patientinnen und Patienten mit MS sind (Otto et al., 2011). Im Gegensatz dazu konnten wir in einer Kontrollgruppe von Patientinnen und Patienten mit Nachweis einer Reaktivierung von EBV im ZNS eine 40-fach höhere Anti-EBV Fs im Vergleich zu Patientinnen und Patienten mit MS nachweisen.

Eine Erkrankung, die ebenfalls mit EBV assoziiert ist, stellt die Posttransplantations-Lymphoproliferative Erkrankung (PTLD) dar. Dabei handelt es sich um eine seltene Komplikation einer dauerhaften immunsuppressiven Therapie nach soliden Organtransplantationen und Stammzelltransplantationen (Kempf et al., 2013). In bis zu 15% der Fälle kommt es zu einer primären Posttransplantations-Lymphoproliferativen Erkrankung des zentralen Nervensystems (PCNS-PTLD) (Buell et al., 2005). Ähnlich wie die MS spricht das PCNS-PTLD gut auf eine Behandlung mit monoklonalen Antikörpern gegen CD20 (Rituximab) an (Evens et al., 2013, Cavaliere et al., 2010).

Histopathologisch lässt sich in bis zu 94% EBV nachweisen (Evens et al., 2013). Die Diagnosestellung erfolgt in der Regel durch eine Hirnbiopsie. Darüber hinaus kann das Einbeziehen klassischer Liquorbefunde die Diagnosestellung stützen, wobei bisher keine

systematischen Untersuchungen zu Markern im Liquor oder zur intrathekalen Antikörpersynthese gegen EBV als Biomarker eines PCNS-PTLD vorlagen.

1.5. Immunantworten gegen SARS-CoV-2 nach Impfungen unter B-Zell depletierender Behandlung bei Patientinnen und Patienten mit MS

Wie eingangs dargestellt, hat sich die sog. B-Zell depletierende Therapie in Form von Ocrelizumab, Rituximab und Ofatumumab als effektive Behandlungsmethode der MS etabliert. Verschiedene Arbeiten konnten jedoch mittlerweile belegen, dass das Risiko für einen schweren Verlauf einer Infektion mit dem schweren akuten Atemnotsyndrom Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) unter einer Anti-CD20 Therapie und Kortisonpulsstherapie erhöht ist (Sormani et al., 2021a, Louapre et al., 2020, Sormani et al., 2021b, Salter et al., 2021). Zudem können SARS-CoV-2 Infektionen klinische Krankheitsschübe der MS auslösen (Correale et al., 2006, Buljevac et al., 2002).

Mittlerweile existieren zudem zahlreiche Arbeiten, die das Vorkommen von neurologischen Manifestationen durch Infektionen mit dem SARS-CoV-2 Virus beschreiben (Harapan and Yoo, 2021, Wan et al., 2021, Gasmi et al., 2021, Hosseini et al., 2021). Betroffen dabei sind sowohl das periphere, als auch das zentrale Nervensystem in Form von (Meningo)enzephalitiden, dem Guillain-Barré-Syndrom (GBS) und zerebrovaskulären Ereignissen wie zerebralen Ischämien, Blutungen und Hirnvenenthrombosen. Darüber hinaus finden sich auch entzündliche Manifestationen des ZNS wie die akute disseminierte Enzephalomyelitis (ADEM) (Siracusa et al., 2021), eine entzündliche, multifokale Demyelinisierung des ZNS (Esposito et al., 2015, Wolf and Alvarez, 2021).

Umso wichtiger erscheint die Durchführung der SARS-CoV-2 Impfung von Patientinnen und Patienten mit MS, die eine B-Zell depletierende Therapie erhalten (Wolf and Alvarez, 2021). Aus vorangegangenen Untersuchungen ist jedoch bekannt, dass die humoralen Impfantworten unter einer Anti-CD20 Therapie reduziert sind (Bar-Or et al., 2020, Luna et al., 2020, Sormani et al., 2021a, Wolf and Alvarez, 2021). Dies konnte mittlerweile auch konsistent in verschiedenen Arbeiten zu SARS-CoV-2 Impfungen bestätigt werden (Boekel et al., 2021, Achiron et al., 2021a, Brill et al., 2021, Apostolidis et al., 2021). Dennoch konnte nachgewiesen werden, dass eine erhaltene Immunantwort der SARS-CoV-2 spezifischen T-

Zellen, auch bei negativen SARS-CoV-2 Antikörpern ausgebildet wird (Brill et al., 2021, Apostolidis et al., 2021, Wolfel et al., 2020, Gadani et al., 2021, Sabatino et al., 2022, Tortorella et al., 2022).

1.6. Fragestellungen dieser Arbeit

In der vorliegenden kumulativen Habilitationsschrift wurden verschiedene Biomarker im Liquor und Blut bei Patientinnen und Patienten mit neuroimmunologischen und neurovirologischen Erkrankungen untersucht. Dabei widmete ich mich der Untersuchung der intrathekalen IgG Synthese gegen das Varizella-Zoster Virus (VZV) bei der MS und im Rahmen einer Infektion/Reaktivierung von VZV im ZNS. Mit Hilfe der Berechnung der virusspezifischen Anti-VZV Fraktion (Fs) konnten wir eine polyspezifische intrathekale IgG Synthese gegen VZV im Rahmen der MS von einer virusspezifischen intrathekalen Antikörperproduktion gegen VZV bei Infektionen/Reaktivierungen des Virus im ZNS unterscheiden.

Darauf aufbauend wurde untersucht, ob Patientinnen und Patienten mit Nachweis von EBV im ZNS im Rahmen eines PCNS-PTLD eine virusspezifische intrathekale Antikörpersynthese in Form eines erhöhten Als gegen EBV aufweisen. Dabei konnten wir zeigen, dass der Nachweis erhöhter VCA-IgG- und VCA-IgA Als als Biomarker in dieser Patientenkohorte im Einzelfall zur Unterstützung der Diagnose beitragen kann.

Zur weiteren Charakterisierung der Rolle von EBV bei der MS bestimmten wir in einer EBV-seronegativen pädiatrischen Kohorte (n = 25) mit der Diagnose MS erneut Serum IgG Antikörperlevel gegen EBNA-1 und VCA und reevaluierten anhand klinischer, liquordiagnostischer und kernspintomographischer Befunde die Diagnose. Dabei erwies sich die Diagnose der MS lediglich bei vier Patientinnen und Patienten als wahrscheinlichste Diagnose. Dies verdeutlicht, dass eine EBV-Seronegativität einen Marker für die Abwesenheit einer MS darstellt.

Im Weiteren bestimmten wir den sIL-2R im Liquor als möglichen Biomarker der Neurosarkoidose und untersuchten eine intrathekale sIL-2R Synthese. Dabei konnten wir erhöhte sIL-2R Werte im Liquor bei der Neurosarkoidose nachweisen, wohingegen diese bei der MS nicht festzustellen waren. Mit Hilfe des sIL-2R erscheint also eine Unterscheidung zwischen einer MS und einer Neurosarkoidose möglich.

In einer abschließenden Arbeit bestimmten wir die humorale und zelluläre Immunantwort gegen das Virus nach SARS-CoV-2 Impfungen bei Patientinnen und Patienten mit MS, die eine B-Zell depletierende Behandlung erhalten. Dabei konnten wir zeigen, dass sich trotz verminderter SARS-CoV-2 IgG Level, Avidität und Funktionalität der Antikörper nach Impfungen eine erhaltene SARS-CoV-2 virusspezifische T-Zell Antwort findet.

2. Eigene Arbeiten

2.1. The fraction of varicella zoster virus-specific antibodies among all intrathecally-produced antibodies discriminates between patients with varicella zoster virus reactivation and multiple sclerosis

Otto C, Hofmann J, Finke C, Zimmermann M, Ruprecht K. Fluids and Barriers of the CNS 2014; 11: 3. <https://doi.org/10.1186/2045-8118-11-3>

Es ist bekannt, dass VZV zu einer akuten Infektion des ZNS mit neurologischen Symptomen führen kann, aber auch Reaktivierungen im ZNS sind möglich. In beiden Fällen kommt es zu einer virusspezifischen intrathekalen Antikörpersynthese gegen VZV, die sich in Form eines erhöhten VZV-AIs nachweisen lässt. Aber auch im Rahmen einer MS finden sich bei ca. 60% der Patientinnen und Patienten erhöhte VZV AIs. Diese wurden als Ausdruck einer polyspezifischen intrathekalen Immunantwort angesehen, hierfür lagen jedoch keine formalen Beweise vor. Durch die Bestimmung der spezifischen Fraktion (Fs), dem prozentualen Anteil der intrathekal produzierten, virusspezifischen VZV IgG Antikörper an der Gesamtheit der intrathekal gebildeten IgG Antikörper, ist eine Unterscheidung zwischen einer polyspezifischen und einer virusspezifischen intrathekalen Immunantwort gegen VZV möglich. Wir konnten in der aktuellen Arbeit zeigen, dass Patientinnen und Patienten mit einer Infektion oder Reaktivierung von VZV im ZNS im Vergleich zu Patientinnen und Patienten mit einem CIS oder einer MS im Median 35-fach höhere Anti-VZV Fs Werte aufweisen. Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass durch die Bestimmung der Anti-VZV Fs zwischen einer MS und einer VZV-Infektion/Reaktivierung im ZNS unterschieden werden kann. Die Ergebnisse dieser Arbeit sprechen klar dafür, dass erhöhte VZV-AIs bei der MS einen Teil der polyspezifischen intrathekalen Immunantwort darstellen, während erhöhte VZV-AIs bei VZV-Infektionen/Reaktivierung aus einer gezielt gegen VZV gerichteten intrathekalen Antikörpersynthese resultieren.

2.2. Frequent intrathecal production of antibodies to the viral capsid antigen of Epstein-Barr virus in patients with central nervous system post-transplant lymphoproliferative disorder

Otto C, Radbruch H, Wilken D, Lietzow T, Steinhagen K, Grage-Griebenow G, von Brünneck A-C, Jarius S, Hofmann J, Pache F, Ruprecht K. J Neuroimmunol. 2022 Jun 2; 369:577902.

<https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2022.577902>

Bei einer primären Posttransplantations-Lymphoproliferativen Erkrankung des zentralen Nervensystems (PCNS-PTLD) handelt es sich um eine seltene Erkrankung, die typischerweise im Rahmen einer chronischen immunsuppressiven Therapie nach Organtransplantation auftritt. Es besteht ein starker Zusammenhang zwischen PCNS-PTLDs und dem Epstein-Barr Virus. In einer vorangegangenen Arbeit konnten wir zeigen, dass sich bei Patientinnen und Patienten mit einer EBV Reaktivierung im ZNS erhöhte EBV-AIs, als Ausdruck einer intrathekalen Antikörpersynthese gegen das Virus, nachweisen lassen (Otto et al., 2011). In der aktuellen Arbeit haben wir daher in einer Kohorte von 9 Patientinnen und Patienten mit einem PCNS-PTLD die VCA-IgG-, IgA- und EBNA-1-IgG AIs im Vergleich zu 20 Patientinnen und Patienten mit nicht-entzündlichen neurologischen Erkrankungen untersucht. Dabei konnten wir erhöhte VCA-IgG AIs (78%), VCA-IgA AIs (67%) und erhöhte EBNA-1-IgG AIs (22%) bei Patientinnen und Patienten mit einem PCNS-PTLD, als Ausdruck einer intrathekalen Immunantwort gegen EBV, nachweisen. In der Kontrollgruppe zeigten sich keine erhöhten EBV-AIs.

Darüber hinaus konnten wir erstmals typische Liquorbefunde bei Patientinnen und Patienten mit PCNS-PTLD beschreiben, welche eine milde bis moderate lymphozytäre Pleozytose (Median 27 Zellen/ μ l) sowie eine häufige intrathekale Immunglobulin Synthese (IgG, 78%; IgA, 56%; IgM, 56%) umfassen.

Der aktuelle Goldstandard zur Diagnosesicherung eines PCNS-PTLD stellt weiterhin die Hirnbiopsie dar. Die Ergebnisse unserer Arbeit deuten aber darauf hin, dass die Bestimmung

der EBV-Als im Einzelfall einen hilfreichen, zusätzlichen Biomarker in der Diagnose von PCNS-PTLDs darstellen könnte.

2.3. Multiple Sclerosis is rare in Epstein-Barr Virus-seronegative children with central nervous system inflammatory demyelination

Nourbakhsh B, Cordano Ch, Asteggiano C, Ruprecht K, **Otto C**, Rutatangwa A, Lui A, Hart J, Flanagan E, James J, Waubant E. Ann Neurol 2021; 89:1234-1239.

<https://doi.org/10.1002/ana.26062>

Den wichtigsten infektiösen Risikofaktor für die Entwicklung einer Multiplen Sklerose stellt EBV dar. Während die Seroprävalenz für EBV bei Erwachsenen mit einer MS bei praktisch 100% liegt, zeigte sich in Untersuchungen von Kindern mit einer MS ein Anteil von bis zu 15% EBV-seronegativen Kindern. Dies könnte einerseits dafürsprechen, dass EBV kein notwendiger Faktor für die Entstehung einer kindlichen MS ist, andererseits stellt sich die Frage, ob die beschriebenen EBV-seronegativen Kinder mit einer MS tatsächlich überhaupt eine MS hatten. In einer Kohorte von 25 EBV seronegativen Kindern mit der Vordiagnose einer MS reevaluierten und bestätigten wir die Befunde mittels eines CLIA für EBNA-1-IgG und VCA-IgG Antikörper sowie eines EBV-IgG Immunoblots. Im Rahmen einer weiteren Reevaluation der klinischen, kernspintomographischen und liquordiagnostischen Befunde sowie der ergänzenden Bestimmung von IgG Antikörpern gegen das Myelin-Oligodendrozyten- Glykoprotein (MOG) im Serum konnte schließlich nur bei 4/25 Patientinnen und Patienten die Diagnose der Multiplen Sklerose bestätigt werden. Bei 11/25 (44%) fanden sich vielmehr MOG-AK im Serum, so dass diese Kinder keine MS, sondern eine MOG-AK assoziierte Enzephalomyelitis hatten. Die Ergebnisse dieser Arbeit sprechen dafür, dass eine Seronegativität für EBV einen Biomarker für die Abwesenheit einer MS darstellt. Die Diagnose einer MS sollte bei EBV seronegativen Personen, insbesondere Kindern, kritisch überprüft werden. Eine wichtige Differentialdiagnose stellt dabei die MOG-Antikörper-assozierte Enzephalomyelitis dar.

2.4. Analysis of soluble interleukin-2 receptor as CSF biomarker for neurosarcoidosis

Otto C*, Wengert O*, Unterwalder N, Meisel Ch, Ruprecht K. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm* 2020; 7: e725. <https://doi.org/10.1212/NXI.0000000000000725>

*geteilte Erstautorenschaft

Bei der Sarkoidose handelt es sich um eine granulomatöse Systemerkrankung, die in 5-15% der Fälle auch zu einer Beteiligung des zentralen Nervensystems (Neurosarkoidose) führt. Aufgrund der z.T. heterogenen klinischen und kernspintomographischen Präsentation der Erkrankung, kann die Diagnosestellung mitunter herausfordernd sein. Der lösliche sIL-2R im Serum stellt einen Marker für Krankheitsaktivität bei der systemischen Sarkoidose dar. In der vorliegenden Arbeit haben wir den sIL-2R im Liquor bei Patientinnen und Patienten mit einer Neurosarkoidose, viralen/bakteriellen Meningitiden, der Neurotuberkulose, der Multiplen Sklerose, dem GBS und zerebralen Lymphomen bestimmt. 115 Patientinnen und Patienten mit nicht-entzündlichen neurologischen Erkrankungen dienten als Kontrollen. Durch die Bildung von sIL-2R Liquor/sIL-2R Serum Quotienten (QsIL-2R), die gegen den Albuminquotienten Qalb (Albumin Liquor/Albumin Serum) aufgetragen wurden, konnten wir sog. Reiber-Diagramme erstellen und die intrathekale Synthese des sIL-2 Rezeptors untersuchen. Darüber hinaus etablierten wir den sIL-2R Index (QsIL-2R/Qalb) als Marker einer intrathekalen sIL-2R Synthese. Dabei konnten wir feststellen, dass sich erhöhte sIL-2R Werte im Liquor und eine intrathekale Synthese bei ca. 50% der Patientinnen und Patienten mit einer Neurosarkoidose nachweisen lassen. Zudem zeigt sich eine Assoziation mit klinischen, kernspintomographischen und klassischen liquordiagnostischen Markern für Krankheitsaktivität. Festzuhalten bleibt aber auch, dass der sIL-2R im Liquor nicht spezifisch für die Neurosarkoidose ist, sondern sich auch erhöht zeigt bei viralen und bakteriellen Meningitiden, der Neurotuberkulose und zerebralen Lymphomen. Im Gegensatz dazu weisen Patientinnen und Patienten mit einer MS und einem GBS keine erhöhten sIL-2R Werte im Liquor auf.

Der sIL-2R im Liquor kann somit im Einzelfall einen hilfreichen Baustein in der Diagnostik und Krankheitsaktivität der Neurosarkoidose darstellen, dessen Bestimmung die Unterscheidung zwischen einer Neurosarkoidose und einer MS erleichtert.

2.5. Preserved T cell responses to SARS-CoV-2 in anti CD20 treated multiple sclerosis

Schwarz T*, **Otto C***, Jones TC, Pache F, Schindler P, Niederschweiberer M, Schmidt FA, Drosten Ch, Corman VM, Ruprecht K. Multiple Sclerosis Journal 2022, Vol. 28(7) 1041-1050
<https://doi.org/10.1177/13524585221094478>.

*geteilte Erstautorenschaft

Eine mittlerweile breit eingesetzte Behandlungsmethode der MS stellt die B-Zell-depletierende Therapie mit Ocrelizumab/Rituximab und Ofatumumab dar. Verschiedene Arbeiten konnten zeigen, dass Infektionen mit dem SARS-CoV-2 Virus unter dieser Therapie z.T. schwer verlaufen können. Zudem zeigt sich unter einer B-Zell depletierenden Behandlung eine reduzierte Antikörperantwort nach Impfungen im Allgemeinen, sowie speziell auch nach SARS-Cov-2 Impfungen. Vor diesem Hintergrund untersuchten wir in unserer Kohorte von 222 mit Ocrelizumab/Rituximab behandelten Patientinnen und Patienten mit MS die humorale und zelluläre Immunantwort gegen SARS-CoV-2 nach SARS-CoV-2 Impfungen. Dabei konnten wir reduzierte IgG und IgA Antikörper Level gegen das SARS-CoV-2 Spike Protein sowie eine reduzierte Neutralisationsfähigkeit und Avidität der Antikörper bei Anti-CD20 behandelten Patientinnen und Patienten im Vergleich zu Gesunden und Anti-CD20 therapienaiven Patientinnen und Patienten mit MS nachweisen. Dennoch fand sich in der Gruppe der behandelten Patientinnen und Patienten eine robuste T-Zell Antwort gegen SARS-CoV-2, vergleichbar zur gesunden Kontroll-Kohorte sowie therapienaiven Patientinnen und Patienten mit MS. Unsere Untersuchungen zeigten zudem eine Zunahme der SARS-CoV-2 Antikörper Level, der Avidität und der Neutralisationsfähigkeit mit zunehmendem Abstand der letzten Anti-CD20 Behandlung zur Impfung. Diese Befunde verdeutlichen, dass im Einzelfall, während einer stabilen Krankheitsphase, Behandlungsintervalle verlängert und Impfungen möglichst spät (≥ 4 Monate) nach dem letzten Behandlungszyklus verabreicht werden sollten.

3. Diskussion

3.1. Biomarker neuroimmunologischer und neurovirologischer Erkrankungen

Die Diagnostik, Abgrenzung wichtiger Differentialdiagnosen, sowie die Überwachung von Krankheitsaktivität und Therapieansprechen ist ein essentieller Bestandteil der Versorgung von Patientinnen und Patienten mit neuroimmunologischen und neurovirologischen Erkrankungen. Marker, die einfach, schnell und zuverlässig im Blut und Liquor zu bestimmen sind, sog. Biomarker, können hierbei eine wichtige und hilfreiche Rolle spielen. Die Etablierung von Biomarkern ist Gegenstand intensiver Forschung der letzten Jahrzehnte, insbesondere seit den 1980er Jahren. Dennoch existieren aktuell lediglich ca. 100 Biomarker, die im klinischen Alltag relevant erscheinen (Sobsey et al., 2020). Idealerweise ist mit Hilfe der Bestimmung von Biomarkern eine Unterscheidung zwischen der Anwesenheit und Abwesenheit einer bestimmten Erkrankung bzw. die Abgrenzung zu anderen Erkrankung möglich (Ziemssen et al., 2019).

Wichtige Eigenschaften von Biomarkern sind die leichte und zuverlässige Bestimmbarkeit mit einer hohen Spezifität und Sensitivität (Paul et al., 2019). Klassische und einfach zugängliche Medien sind dabei das Blut und der Liquor. Eine peripher venöse Blutentnahme stellt eine einfache, schnelle und sichere Methode der Materialgewinnung dar und hat insgesamt ein ausgesprochen niedriges Komplikationsrisiko. Zudem ist eine Messung von Parametern zu verschiedenen Zeitpunkten zur Überwachung von Krankheitsaktivität und Therapieansprechen möglich (Ziemssen et al., 2019). Dem Gegenüber repräsentiert der Liquor jedoch genauer die Veränderungen im ZNS (Ziemssen et al., 2019) und dessen Untersuchung erscheint daher insbesondere relevant für neuroimmunologische und neurovirologische Erkrankungen.

In der Regel versteht man unter Biomarkern insbesondere Proteine, die sich im Serum oder Liquor messen lassen. Aber auch bildgebende Befunde können als Marker der Diagnostik und zur Beurteilung von Krankheitsaktivität und Therapieansprechen herangezogen werden (Ziemssen et al., 2019). Zur Evaluierung von Biomarkern sind gut charakterisierte Kohorten

von Patientinnen und Patienten mit einer gesicherten Diagnose und einer entsprechend hohen Fallzahl notwendig. Anhand der Funktion von Biomarkern unterscheidet man diagnostische und prognostische/prädiktive Biomarker sowie Marker für Krankheitsaktivität und Therapieansprechen (Ziemssen et al., 2019).

3.2. Intrathekale Immunglobulin Synthese und antivirale Antikörperindices

Einen wichtigen diagnostischen Biomarker der MS stellt die intrathekale IgG Synthese dar, bestimmt durch den Nachweis oligoklonaler Banden (OKBs) im Liquor. Dieser Parameter fand bereits 1983 Eingang in die Diagnostik der MS und stellt somit den ersten Biomarker der MS dar (Poser et al., 1983, Ziemssen and Ziemssen, 2005). Mittlerweile sind die OKBs Bestandteil der aktualisierten Diagnosekriterien der MS von 2017 (Thompson et al., 2018). Eine intrathekale IgG Synthese lässt sich auch anhand von Reiber-Diagrammen bestimmen. Dabei wird der IgG Liquor/IgG Serum Quotient (QIgG) gegen den Liquor Albumin/Serum Albumin Quotienten (QAlb) aufgetragen (Reiber and Peter, 2001). Albumin wird ausschließlich in der Leber gebildet und dessen Nachweis im Liquor zeigt demnach eine Funktionsstörung der Blut-Hirn-Schranke an. Vor diesem Hintergrund bildet der QAlb einen Marker für die Intaktheit der Blut-Hirn-Schranke. Durch die Reiber-Diagramme, die auch für IgA und IgM vorliegen, kann eine intrathekale IgG-Synthese von einer vermehrten IgG-Diffusion aus der Peripherie im Rahmen einer Schrankenfunktionsstörung differenziert werden (Reiber and Peter, 2001).

Die intrathekale IgG Synthese bei der MS ist aber nicht gegen ein Antigen gerichtet, sondern Teil einer polyspezifischen intrathekalen Immunantwort, die auch gegen Viren, klassischerweise gegen Masern (M), Röteln (R) und Varizella- Zoster (Z), bekannt als MRZ Reaktion, gerichtet ist. Diese kann nachgewiesen werden durch erhöhte antivirale Antikörperindices (Reiber and Lange, 1991) und stellt aktuell den spezifischsten laborchemischen Biomarker der MS dar (Jarius et al., 2017).

Die Bestimmung von AIs zum Nachweis einer antiviralen intrathekalen Antikörpersynthese ist ein wichtiger diagnostischer Marker neuroimmunologischer Erkrankungen wie der MS und neurovirologischer Erkrankungen, wie der Herpes-simplex (HSV) Enzephalitis. Mit Hilfe der AI Analyse ist die Unterscheidung einer virusspezifischen von einer polyspezifischen

intrathekalen Antikörperproduktion jedoch nicht möglich, denn erhöhte AIs lassen sich in beiden Fällen nachweisen.

3.2.1. Unterscheidung einer polyspezifischen und einer virusspezifischen intrathekalen Antikörperproduktion mit Hilfe der spezifischen Fraktion Fs

In der ersten hier dargestellten Arbeit konnte gezeigt werden, dass mit Hilfe der Berechnung der spezifischen intrathekal produzierten Fraktion Fs, also dem prozentualen Anteil der virusspezifischen intrathekal gebildeten IgG Antikörper an der Gesamtheit der intrathekal gebildeten IgG Antikörper, die Unterscheidung zwischen einer polyspezifischen und einer virusspezifischen intrathekalen Immunantwort möglich ist. Mit den von uns gewonnenen Ergebnissen konnten wir erstmal eine VZV-spezifische intrathekale Antikörperantwort bei Patientinnen und Patienten mit einer Infektion bzw. Reaktivierung von VZV im ZNS demonstrieren. Diese weisen im Vergleich zu Patientinnen und Patienten mit einem CIS und einer Multiplen Sklerose eine 35-fach höhere spezifische Anti-VZV Fs auf. Während es bei den Fs Werten beider Gruppen keine Überschneidungen gab, fanden sich hinsichtlich der AI Werte deutliche Überlappungen. Diese Befunde stehen im Einklang mit Berichten über eine 20-60fach höhere Anti-HSV, Anti Masern- und Anti EBV Fs Rate bei Patientinnen und Patienten mit einer HSV-Enzephalitis, einer subakut sklerosierenden Panenzephalitis bzw. einer EBV Replikation im ZNS im Vergleich zu Patientinnen und Patienten mit MS (Jacobi et al., 2007, Otto et al., 2011). Es ist bekannt, dass auch im Rahmen von einer HSV-Enzephalitis erhöhte VZV-AIs nachgewiesen werden können. Jacobi und Kollegen widmeten sich diesem Befund und konnten herausarbeiten, dass Anti-VZV Fs Werte, die bei Patientinnen und Patienten mit einer HSV- Enzephalitis bestimmt wurden, im Bereich derer von Patientinnen und Patienten mit CIS/MS lagen (Jacobi et al., 2007). Dies unterstreicht, dass es sich bei den deutlich erhöhten Anti-VZV Fs Werten im Rahmen einer Infektion oder Reaktivierung des ZNS mit VZV von im Median 45%, um eine virusspezifische intrathekale Antikörpersynthese handelt.

Generell lagen die von uns in der aktuellen Arbeit bestimmten Anti-VZV Fs Werte bei der MS in den gleichen Bereichen wie die Fs Werte für Anti-EBV, Anti- VZV, Anti-HSV, Anti-Masern und Anti-Röteln in vorangegangenen Arbeiten (Otto et al., 2011, Jacobi et al., 2007).

Dies und die Befunde einer deutlich erhöhten Anti-VZV Fs bei Patientinnen und Patienten mit einer VZV Infektion/Reaktivierung im ZNS unterstreichen, dass die bei der MS intrathekal gebildeten VZV-Antikörper, die sich im Rahmen der MRZ Reaktion nachweisen lassen, einen Teil der polyspezifischen Immunantwort bei der MS darstellen.

Eine Limitation unserer Arbeit bilden die kleinen Fallzahlen der jeweiligen Kohorten, so dass zukünftige Untersuchungen mit einer höheren Patientenzahl wünschenswert erscheinen.

Mit der Bestimmung der virusspezifischen Fs konnten wir nun aber einen möglichen ergänzenden Biomarker zur Unterscheidung neuroimmunologischer und neurovirologischer Erkrankungen herausarbeiten.

3.2.2. Intrathekale Immunantworten gegen das Epstein-Barr Virus (EBV)

Unsere Untersuchungen zur intrathekalen antiviralen Antikörpersynthese im Rahmen einer Infektion/Reaktivierung von VZV im ZNS sowie von Jacobi und Kollegen bei der HSV Enzephalitis (Jacobi et al., 2007) verdeutlichen aber dennoch, dass der Nachweis dieser Herpesviren im ZNS mit einer intrathekalen virusspezifischen Antikörperproduktion einhergeht, die anhand erhöhter AIs bestimmt werden kann (Reiber and Lange, 1991). So konnten wir in einer kleinen Patientengruppe mit Nachweis einer EBV Reaktivierung im ZNS, bestätigt durch das Vorhandensein von EBV-DNA im ZNS, erhöhte EBV-AIs nachweisen (Otto et al., 2011). Eine Erkrankung, die in >90 % der Fälle mit EBV assoziiert und regelhaft durch den Nachweis von EBV DNA oder EBV Antigenen wie das Virale Capsid Antigen (VCA), Epstein-Barr Virus nukleäres Antigen 1 (EBNA-1) und Latentes Membranprotein 1 (LMP-1) im ZNS gekennzeichnet ist, stellt das PCNS-PTLD dar (Zimmermann et al., 2021, Evens et al., 2013).

In einer kleinen Kohorte von 9 Patientinnen und Patienten mit dieser sehr seltenen Erkrankung konnten wir erhöhte VCA-IgG AIs bei 7/9 (78%) und VCA-IgA AIs 6/9 (67%) Patienten nachweisen. In der Kontrollgruppe fanden sich keine erhöhten EBV AIs. Diese Ergebnisse sprechen für eine intrathekale humorale Immunantwort gegen EBV bei Patientinnen und Patienten mit PCNS-PTLD.

Auch konnten wir nachweisen, dass der einzige Patient ohne histologischen Nachweis von EBV im ZNS keine erhöhten VCA-IgG und VCA-IgA AIs aufwies. Diese Beobachtung unterstreicht wiederum die Bedeutung erhöhter VCA-IgG und -IgA AIs bei Patientinnen und Patienten mit PCNS-PTLD als Marker eines EBV-assoziierten PCNS-PTLD.

Darüber hinaus gelang erstmals eine ausführliche Charakterisierung der Liquorbefunde von Patientinnen und Patienten mit einem PCNS-PTLD, wobei sich insbesondere eine häufige intrathekale IgG-, IgM- und IgA- Synthese, die sich in Form einer Zwei-Klassenreaktion oder Drei-Klassenreaktion in 67 % manifestierte, zeigte. Wie eingangs bereits dargestellt, finden sich aber auch bei entzündlichen ZNS Erkrankungen wie der MS, für die ebenfalls eine

Assoziation mit dem Epstein-Barr-Virus belegt ist (Ruprecht, 2020, Bjornevik et al., 2022) oder der ADEM sowie bei ZNS Infektionen wie z.B. der Neuroborreliose intrathekale Synthesen verschiedener Immunglobulinklassen. Vor diesem Hintergrund erscheint die vergleichende Analyse klassischer Liquorbefunde alleine in der differentialdiagnostischen Zuordnung dieser Erkrankungen zu einem PCNS-PTLD nicht ausreichend.

Die Diagnose eines PNCS-PTLD stellt also im Einzelfall eine Herausforderung dar, insbesondere da auch eine klinische und kernspintomographische Unterscheidung zu relevanten Differentialdiagnosen wie der zerebralen Toxoplasmose, zerebralen Lymphomen anderen Ursprungs oder entzündlichen Erkrankungen wie der MS oder einer ADEM schwierig sein kann (White et al., 2019, Pickhardt and Wippold, 1999).

Auch im Rahmen von anderen immunvermittelten, entzündlichen Erkrankungen des ZNS sind VCA-IgG AIs untersucht worden. Dabei ergab sich der Nachweis erhöhter VCA-IgG AI Werte in wesentlich geringerer Ausprägung bei Patientinnen und Patienten mit MS (4,3%) (Ruprecht et al., 2018) und bei Autoimmunenenzephalitiden in 4/27 (15%) Fällen (Schwenkenbecher et al., 2021).

Den bisherigen Goldstandard zur Diagnosesicherung eines PCNS-PTLD bildet die Hirnbiopsie. Die Ergebnisse unserer Arbeit geben aktuell Hinweise darauf, dass die Bestimmung der VCA-IgG- und VCA-IgA AIs im Einzelfall jedoch einen hilfreichen zusätzlichen diagnostischen Biomarker eines PCNS-PTLD darstellt und im Einzelfall, bspw. bei bestehenden Kontraindikationen, eine Hirnbiopsie ersetzen könnte. Die Lumbalpunktion stellt ein Standardverfahren zur Diagnostik in der Neurologie dar. Sie erfolgt gemäß einer standardisierten Vorgehensweise und entsprechend der klinischen Leitlinie und ist mit einem geringen klinischen Risiko verbunden.

Leider lagen uns keine Serum/Liquor Proben, die im Krankheitsverlauf gewonnen wurden vor, um die genannten Parameter longitudinal, als mögliche Marker des Therapieansprechens oder des klinischen Krankheitsverlaufs evaluieren zu können. Weitere Limitationen stellen das retrospektive Design sowie die kleine Fallzahl dar. Dennoch muss

festgehalten werden, dass es sich um eine sehr seltene Erkrankung handelt und die Verfügbarkeit von Serum/Liquor Paaren zur systemischen Analyse eine Rarität darstellt. Weiterhin handelt es sich bei unserer Arbeit um die erste systematische Untersuchung von klassischen Liquorbefunden und EBV-Als bei Patientinnen und Patienten mit einem PCNS-PTLD.

3.3. Die Rolle des Epstein-Barr Virus (EBV) bei der MS

Auch die MS weist eine starke Assoziation mit dem Epstein-Barr Virus auf (Ruprecht, 2020) und eine symptomatische Erstinfektion mit dem Virus, eine infektiöse Mononukleose (IM), geht mit einem 2-fach erhöhten Risiko einher eine MS zu entwickeln (Handel et al., 2010). Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass eine EBV Infektion der Entwicklung einer MS vorausgeht und EBV-seronegative Personen, die später eine MS entwickelten, im Durchschnitt 3,8-5,6 Jahre zuvor serokonvertierten (Levin et al., 2010, Bjornevik et al., 2022). Im Jahr 1980 berichteten Sumaya und Kollegen erstmals über eine erhöhte Rate einer EBV-Seropositivität bei Patientinnen und Patienten mit MS im Vergleich zu Kontrollen (Sumaya et al., 1980) und mittlerweile existiert auf der Grundlage weiterer zahlreicher Fall-Kontroll-Studien ein breiter wissenschaftlicher Konsens über eine EBV-Seroprävalenz von nahezu 100% bei Patientinnen und Patienten mit MS (Jacobs et al., 2020, Almohmeed et al., 2013, Abrahamyan et al., 2020).

Aber auch erhöhte EBV Titer ließen sich bei der MS nachweisen (Sumaya et al., 1980, Larsen et al., 1985, Lunemann et al., 2010). Anti-EBNA-complex (EBNA-c) Titer ≥ 320 gehen darüber hinaus mit einem 30 fach- höheren Risiko eine MS zu entwickeln einher im Vergleich zu Titern < 20 (Munger et al., 2011). Obwohl z.T. heterogene Studienergebnisse vorliegen (Wandinger et al., 2000), konnte eine Korrelation von EBV Titern mit Krankheitsaktivität oder Behinderungsgrad nicht nachgewiesen werden (Munger et al., 2015, Giess et al., 2017). Dies unterstreicht, dass die Bedeutung der Bestimmung der EBV-Serologie v.a. in der Diagnostik liegt und nicht in der Überwachung und Beurteilung des klinischen Verlaufs.

Im Vergleich zu Patientinnen und Patienten mit MS liegt die EBV-Seroprävalenz in der Normalbevölkerung mit 90- 95% in einem ähnlich hohen Bereich (Sumaya et al., 1980), dennoch kann die Bestimmung der EBV Serologie bei diagnostischen Unsicherheiten zusätzlich herangezogen werden. Entscheidend dabei ist, dass dies im Rahmen eines klinisch begründeten Verdachts durchgeführt wird und die Diagnosestellung als Zusammenspiel aus klinischen, kernspintomographischen, liquordiagnostischen und

serologischen Befunden erfolgt. Zudem können die anamnestischen Angaben über eine infektiöse Mononukleose in der Adoleszenz hilfreich sein.

Arbeiten bei pädiatrischen Patientinnen und Patienten mit MS bestätigen Raten einer EBV-Seropositivität von bis zu 98,6% (Jacobs et al., 2020, Pohl et al., 2006). In Kontrast hierzu liegen aber auch Befunde einer Rate seronegativer pädiatrischer Patientinnen und Patienten mit MS von bis zu 15% vor (Waubant et al., 2011).

Dabei stellt sich die Frage, ob es sich um falsch negative Befunde handeln könnte oder die MS eine Fehldiagnose darstellt und eine andere chronisch entzündliche ZNS Erkrankung zugrunde liegt. Um dies genauer zu beleuchten untersuchten wir in einer Kohorte von 25 EBV-seronegativen pädiatrischen Patientinnen und Patienten mit der Diagnose einer MS EBNA-1- und VCA-IgG Antikörper im Blut. Mit Hilfe eines EBNA-1- und VCA-IgG CLIAs und dem EBV-IgG Westernblot ließ sich die Seronegativität bestätigen (Nourbakhsh et al., 2021). Bei 11 von 25 Patientinnen und Patienten (44%) konnten schließlich MOG IgG-Antikörper ursächlich für eine MOG-Antikörper assoziierte Enzephalomyelitis nachgewiesen werden. In einer weiteren klinischen, liquordiagnostischen und kernspintomographischen Re-evaluation aller Befunde, ließ sich lediglich in 4 Fällen EBV seronegativer pädiatrischer Patientinnen und Patienten die Diagnose der MS als wahrscheinlichste Ursache bestätigen.

Aus der dargestellten Erläuterung wird deutlich, dass eine negative EBV-Serologie einen Biomarker für die Abwesenheit einer MS darstellt.

In entsprechenden Fällen sollte daher die Diagnose kritisch hinterfragt und überprüft werden (Deuschle et al., 2013). Insbesondere bei Kindern mit einem ersten demyelinisierenden Ereignis kann die Diagnosestellung schwierig sein und lediglich in 15-45% lässt sich die Diagnose der MS letztlich bestätigen (Gordon-Lipkin and Banwell, 2017). Zudem handelt es sich um eine besonders vulnerable Patientengruppe für die die Entscheidung und Konsequenz einer längerfristigen Immuntherapie von hoher Relevanz ist.

Eine weitere Kernaussage unserer Arbeit liegt in dem Nachweis eines Anteils von 44% einer MOG-Antikörper assoziierten Enzephalomyelitis bei EBV seronegativen pädiatrischen Patientinnen und Patienten mit initialer Verdachtsdiagnose einer MS. Aus bisherigen Arbeiten zu dieser Erkrankung ist bekannt, dass MOG-Antikörper im Serum teilweise nur vorübergehend nachweisbar sind (Jarius et al., 2018, Waubant et al., 2011). Vor diesem Hintergrund kann möglicherweise ein noch höherer Anteil MOG-Antikörper positiver Patientinnen und Patienten an den EBV-seronegativen Patientinnen und Patienten postuliert werden.

3.4. Löslicher Interleukin-2 Rezeptor (sIL-2R) im Liquor als Biomarker der Neurosarkoidose

Eine relevante Differentialdiagnose der Multiplen Sklerose stellt die Neurosarkoidose dar. Die Etablierung von Biomarkern für diagnostische Zwecke, die einfach und zuverlässig im Serum und Liquor bestimmt werden können und eine Unterscheidung zwischen einer MS und einer Neurosarkoidose erlauben, erscheint somit wünschenswert.

Aus früheren Arbeiten ist bekannt, dass sich erhöhte sIL-2R Werte im Serum bei der systemischen Sarkoidose finden, die ebenfalls mit der radiologischen Krankheitsaktivität und dem Therapieansprechen (Reduktion unter Kortison- und Infliximab Therapie) korrelieren (Ramos-Casals et al., 2019). Darüber hinaus besteht eine mögliche Assoziation mit klinischer Krankheitsaktivität, der Krankheitsprogression und der Notwendigkeit einer Langzeit-Therapie (Ramos-Casals et al., 2019). Jedoch ist der sIL-2R im Serum nicht spezifisch und findet sich u.a. erhöht bei Infektionen mit dem humanen Immundefizienz Virus (HIV), der Tuberkulose, der Sklerodermie und dem systemischen Lupus erythematoses. In einer Kohorte von 11 Patientinnen und Patienten mit einer Neurosarkoidose untersuchten Petereit und Kollegen erstmals den sIL-2R im Liquor als potentiellen Biomarker bei dieser neuroimmunologischen Erkrankung (Petereit et al., 2010). Dabei konnten sie erhöhte sIL-2R Werte im Liquor bei der Neurosarkoidose nachweisen, welche zudem mit Krankheitsaktivität und dem Therapieansprechen assoziiert waren.

Unsere aktuelle Arbeit stellt eine Weiterentwicklung der Untersuchung des sIL-2R im Liquor als möglichen Biomarker der Neurosarkoidose dar (Otto et al., 2020). Dabei konnten wir zunächst in einer Kohorte von Patientinnen und Patienten mit nicht-entzündlichen neurologischen Erkrankungen, die als Kontrollen dienten, Normwerte für sIL-2R im Serum und Liquor etablieren. Im nächsten Schritt konnten wir zeigen, dass ca. 50 % der Patientinnen und Patienten mit einer Neurosarkoidose erhöhte sIL-2R Werte im Liquor aufwiesen.

Darauf aufbauend untersuchten wir eine mögliche intrathekale Synthese des sIL-2R. Dabei erfolgte über die Bildung von sIL-2R Liquor/sIL-2R-Serum Quotienten (QsIL-2R), die gegen die jeweiligen Albuminquotienten (QAlb) aufgetragen wurden, die Erstellung von Reiber-Diagrammen. Zudem berechneten wir den sIL-2 R Index (QsIL-2R/QAlb). Erst hierdurch konnte zwischen einer intrathekalen Synthese und einer Funktionsstörung der Blut-Hirn-Schranke unterschieden werden. Hierüber ließ sich eine intrathekale Synthese des sIL-2R bei ca. 50 % der Patientinnen und Patienten mit einer Neurosarkoidose nachweisen. Aber auch im Rahmen viraler und bakterieller Meningitiden, der Neurotuberkulose und ZNS Lymphomen konnte eine intrathekale Synthese des sIL-2R aufgezeigt werden.

Bemerkenswert erscheint, dass bei Patientinnen und Patienten mit einer MS keine erhöhten sIL-2R Werte im Liquor nachweisbar waren, so dass der sIL-2R im Liquor einen Biomarker zur Abgrenzung einer MS und einer Neurosarkoidose darstellen könnte.

Weiterhin ist bekannt, dass klassische Liquorparameter wie Zellzahl, Laktat, Gesamtprotein und Albuminquotient mit der kernspintomographischen Krankheitsaktivität in Form einer diffusen leptomeningealen Kontrastmittelaufnahme bei der Neurosarkoidose korrelieren (Wengert et al., 2013, Shah et al., 2009). In der aktuellen Arbeit konnten wir zeigen, dass der sIL-2R im Liquor mit klinischen, kernspintomographischen und klassischen liquordiagnostischen Markern für Krankheitsaktivität bei der Neurosarkoidose korreliert (Otto et al., 2020). Die Befunde sprechen für eine Rolle des sIL-2R als Biomarker für Krankheitsaktivität bei der Neurosarkoidose.

Unsere Ergebnisse bestätigen die Befunde der vorangegangenen Arbeit von Petereit und Kollegen in einer größeren Patientenkohorte und Vergleichsgruppen (Petereit et al., 2010). Durch die detaillierte Untersuchung einer möglichen intrathekalen sIL-2R Synthese und Etablierung des sIL-2R Index konnten die Analysen weiter vertieft und spezifiziert werden. Dabei ließ sich die Bedeutung des sIL-2R als zusätzlicher Biomarker der Diagnostik und Beurteilung von Krankheitsaktivität bei der Neurosarkoidose bestätigen. Zudem konnten wir

zeigen, dass durch die Bestimmung des sIL-2R im Liquor eine Unterscheidung zwischen einer Neurosarkoidose und einer MS möglich ist.

Dennoch ist der Nachweis erhöhter sIL-2R im Liquor nicht spezifisch für die Neurosarkoidose sondern findet sich auch bei viralen und bakteriellen Meningitiden, der Neurotuberkulose und ZNS-Lymphomen.

Eine wesentliche Limitation der Untersuchung bleibt der retrospektive Charakter. Darüber hinaus sollten die Befunde in größeren Patientenkohorten bestätigt und bei anderen entzündlichen und infektiologischen Erkrankungen wie bspw. der Neurotuberkulose detaillierter untersucht werden.

3.5. Zelluläre und humorale Immunantworten gegen SARS-CoV-2 bei MS

Patientinnen und Patienten mit B-Zell depletierender Behandlung

Wie eingangs erwähnt handelt es sich bei der MS um eine chronische Erkrankung, für die mittlerweile effektive Behandlungsmöglichkeiten zur Verfügung stehen. Eine zentrale Rolle dabei spielt aktuell die Depletion von B Zellen durch monoklonale Antikörper, die gegen das Oberflächenmolekül CD20 auf B Zellen gerichtet ist (Anti-CD20 Therapie). Hierunter können jedoch Infektionen, insbesondere mit dem SARS-CoV-2 Virus schwerer verlaufen (Sormani et al., 2021a, Louapre et al., 2020, Salter et al., 2021, Sormani et al., 2021b). Zudem ist unter der genannten Therapie die Antikörperantwort nach Impfungen abgeschwächt (Bar-Or et al., 2020), so auch nach Impfungen gegen das SARS-CoV-2 Virus (Achiron et al., 2021a, Boekel et al., 2021). In der aktuellen Arbeit konnten wir zeigen, dass die SARS-CoV-2 Antikörper Level, die Avidität und die Funktionalität der Antikörper im Hinblick auf neutralisierende Effekte in der Gruppe von Patientinnen und Patienten mit MS, die eine Anti-CD20 Therapie erhalten, reduziert sind im Vergleich zu Anti-CD 20 behandlungsnaiven Patientinnen und Patienten mit MS und gesunden Kontrollen (Schwarz et al., 2022).

Nachdem nachgewiesen werden konnte, dass die neutralisierenden Antikörper einen Schutz vor symptomatischer SARS-CoV-2 Infektion darstellen (Khoury et al., 2021), spricht der Nachweis einer verminderten neutralisierenden Funktion der SARS-CoV-2 Antikörper für einen beeinträchtigten humoralen Immunschutz nach Impfung. Da auch die Avidität der nachgewiesenen SARS-CoV-2 Antikörper reduziert war, verdeutlicht dies eine beeinträchtigte B-Zell Reifung im Rahmen einer Anti CD20 Therapie. Die genauen Mechanismen sind unklar, aber dies und die reduzierte Anzahl neutralisierender Antikörper könnte für die verminderte humorale Immunantwort nach SARS-CoV-2 Impfung mit verantwortlich sein und lässt sich auf andere Impfungen übertragen (Bar-Or et al., 2020).

Die Ergebnisse dieser Arbeit reihen sich ein in eine Reihe gleichartiger Untersuchungen (Boekel et al., 2021, Achiron et al., 2021b, Brill et al., 2021, Apostolidis et al., 2021) zu

humoralen Immunantworten nach SARS-CoV-2 Impfungen bei Anti-CD20 behandelten Patientinnen und Patienten mit MS.

Interessanterweise war ein Anstieg der SARS-CoV-2 Antikörper Level, der Neutralisationsfähigkeit und der Avidität mit zunehmendem Abstand der letzten Anti-CD20 Behandlung zur zweiten SARS-CoV-2 Impfung zu verzeichnen. Dies lässt sich am wahrscheinlichsten durch die Re-Popularisierung der B-Zellen erklären. Dieser Befund erscheint insofern klinisch relevant, als dass er hilfreich für die Planung der Zeitpunkte von Impfungen ist. Diese sollten möglichst lang nach dem letzten Behandlungszyklus (≥ 4 Monate) terminiert sein. Im Einzelfall, während einer stabilen Krankheitsphase, kann auch eine Verlängerung des Infusionsintervalls von üblicherweise 6 auf bspw. 9 Monate erwogen werden. Im Allgemeinen erweist sich die Verlängerung von Infusionsintervallen B-Zell depletierender Behandlungen als zunehmend angewandtes Therapieregime (Boremalm et al., 2021) und gewinnt vor dem Hintergrund der aktuellen Corona Pandemie und des Impfmanagements mehr Bedeutung (Rolfes et al., 2021).

Vor dem Hintergrund dieser Befunde kann postuliert werden, dass eine Serokonversion nach Impfung einen Marker für eine B-Zell Rekonstitution darstellt (Phillips, 2022). Im Umkehrschluss würde dies bedeuten, dass bei fehlender Impfantwort der Effekt der Anti-CD20 Therapie weiterhin sehr stark ausgeprägt ist und dies einen Marker für die Wirkung der B-Zell depletierenden Therapie bildet.

Entscheidender Befund unserer Arbeit ist der Nachweis einer erhaltenen SARS-CoV-2 spezifischen T-Zell Antwort nach Impfung von Anti-CD20 behandelten Patientinnen und Patienten mit MS. Diese fand sich auf einem vergleichbaren Level derjenigen von gesunden Kontrollen und Anti-CD20 therapienaiven Patientinnen und Patienten mit MS.

Dies impliziert eine erhaltene T-Zell Immunantwort im Rahmen einer B-Zell depletierenden Behandlung. Da eine frühe T-Zell Antwort nach SARS-CoV-2 Infektion entscheidend für einen milden Krankheitsverlauf ist (Steiner et al., 2021, Tan et al., 2021), stellt dieser Befund einen klinisch hochrelevanten Aspekt dar. Verschiedene unlängst erschienene Arbeiten zu

diesem Thema kamen zu gleichen Ergebnissen (Brill et al., 2021, Apostolidis et al., 2021, Sabatino et al., 2022, Tortorella et al., 2022, Gadani et al., 2021) mit Nachweis einer T-Zell Antwort gegen SARS-CoV-2 bei ca. 90-100% der Patientinnen und Patienten mit MS und COVID-19 Impfung. Insbesondere da neue SARS-CoV-2 Varianten v.a. die humorale Immunantwort umgehen (Geers et al., 2021), aber dennoch von SARS-CoV-2 spezifischen T Zellen erkannt werden, erscheint dies klinisch relevant. Weiterhin ergibt sich die therapeutische Konsequenz einer Impfpflicht gegen SARS-CoV-2 allgemein für Anti-CD20 behandelte Patientinnen und Patienten mit MS sowie für Booster-Impfung(en).

Limitationen der Studie sind der observationale Charakter und das Fehlen von Daten zu absoluten Lymphozytenzahlen und zur B-Zell Differenzierung, um deren Einfluss auf die Impfungen zu evaluieren. Darüber hinaus wäre eine längere Follow Up Zeit, insbesondere zur Evaluierung der Stabilität der Antikörper- und T-Zell-Antwort über die Zeit wünschenswert. Ein weiterer Aspekt wäre die Evaluierung der humoralen und zellulären Immunantwort nach der dritten SARS-CoV-2 Impfung.

Zusammengefasst aber bilden die humoralen und zellulären Immunantworten gegen SARS-CoV-2 nach Impfungen ebenso im übergeordneten Sinn Biomarker zur indirekten Evaluierung der B-Zell- und T-Zell Funktion und Reifung. Deren Beurteilung erscheint insbesondere im Rahmen der Corona Pandemie und dem Behandlungsmanagement der Anti-CD20 behandelten Patientinnen und Patienten mit MS wichtig und hilfreich.

4. Zusammenfassung

Bei der Multiplen Sklerose (MS) handelt es sich um eine chronisch-entzündliche, demyelinisierende Erkrankung des zentralen Nervensystems. Sie stellt die häufigste neurologische Erkrankung dar, die in jungem Erwachsenenalter zu bleibenden Behinderungen führt. Trotz intensiver wissenschaftlicher Bestrebungen bleibt die Ätiologie aktuell weiterhin unklar. Die Diagnosestellung erfolgt auf der Grundlage der klinischen, kernspintomographischen und liquordiagnostischen Befunde. Obwohl in den vergangenen Jahren zahlreiche Arbeiten zur Untersuchung möglicher Biomarker bei der MS erschienen sind, konnten bis heute keine spezifischen Marker identifiziert werden. Am wichtigsten hinsichtlich relevanter Umweltfaktoren, erscheint die Assoziation mit einer Infektion durch das Epstein-Barr- Virus (EBV). Die Seroprävalenz für EBV beträgt nahezu 100% und eine EBV-Seronegativität stellt einen Marker für die Abwesenheit einer MS dar.

Ein weiterer Schlüsselbefund bei der MS ist die intrathekale IgG Synthese. Eine intrathekale EBV-IgG Produktion bei der MS findet sich jedoch selten und stellt dann einen Teil der polyspezifischen Immunantwort bei der MS dar. Dazu zählt auch die intrathekale Synthese gegen die Viren wie Masern (M), Röteln (R) und Varizella- Zoster (Z), die sog. MRZ-Reaktion, die sich anhand erhöhter antiviraler Antikörperindices (AIs) nachweisen lässt. Im Gegensatz dazu findet man bei akuten Infektionen und Reaktivierungen von Viren im ZNS eine virusspezifische intrathekale Antikörperproduktion. Während der Antikörperindex nicht in der Lage ist, zwischen beiden Formen zu unterscheiden, wird dies ermöglicht durch die Bestimmung des prozentualen Anteils der virusspezifischen, intrathekal synthetisierten IgG Antikörper an der Gesamtheit der intrathekal gebildeten IgG Antikörper, die sog. spezifische Fraktion (Fs). Auf diese Weise konnten wir zeigen, dass es im Rahmen einer Infektion/Reaktivierung von VZV im ZNS zu einer virusspezifischen intrathekalen Antikörpersynthese kommt.

Ebenfalls als virusspezifisch zu werten, sind erhöhte VCA-IgG und VCA-IgA Als bei Patientinnen und Patienten mit einer EBV-assoziierten primären Posttransplantations-Lymphoproliferativen Erkrankung des zentralen Nervensystems (PCNS-PTLD). Dabei handelt es sich um eine seltene Komplikation einer immunsuppressiven Behandlung nach Organtransplantationen. In >90% der Fälle lässt sich eine EBV-Assoziation histopathologisch nachweisen und die Diagnosesicherung erfolgt in der Regel durch eine Hirnbiopsie. Erhöhte VCA-IgG- und VCA-IgA Als stellen Biomarker der Erkrankung dar, deren wenig invasive Bestimmung im Einzelfall eine diagnostische Hilfe bilden kann.

Mittlerweile steht eine Reihe effektiver und sicherer Behandlungsmöglichkeiten der MS zur Verfügung. Insbesondere die Depletion von B-Zellen durch die monoklonalen Anti-CD20 Antikörper Ocrelizumab/Rituximab macht einen großen Anteil aus. Unter diesen Therapien kommt es jedoch zu einer reduzierten Antikörperantwort nach Impfungen und u.U. zu einem schweren Verlauf einer SARS-CoV-2 Infektion. In unseren Untersuchungen zeigte sich, dass die SARS-CoV-2 Antikörper Level, die Funktionalität und die Avidität nach SARS-CoV-2 Impfungen reduziert waren im Rahmen einer Anti-CD20 Therapie. Dennoch konnte eine erhaltene T-Zell-Antwort auf vergleichbarem Niveau mit gesunden Kontrollen und Anti-CD20 therapienaiven MS Patientinnen und Patienten nachgewiesen werden.

Eine wichtige Differentialdiagnose der MS stellt die Neursarkoidose dar. Wir konnten erhöhte Werte des löslichen Interleukin-2 Rezeptors (sIL-2R) im Liquor sowie eine intrathekale sIL-2R Synthese bei ca. 50% der Patientinnen und Patienten mit einer Neurosarkoidose nachweisen. Dieser Befund ist aber nicht spezifisch für die Neurosarkoidose, sondern findet sich auch bei viralen/bakteriellen Meningitiden, der Neurotuberkulose und ZNS Lymphomen. Im Gegensatz hierzu waren diese Ergebnisse bei Patientinnen und Patienten mit einer MS nicht nachweisbar, so dass der sIL-2R im Liquor einen differentialdiagnostisch relevanten Biomarker bei der Neurosarkoidose darstellt und eine Abgrenzung gegenüber der MS ermöglichen könnte. Darüber hinaus bestand eine Assoziation des sIL-2R im Liquor mit klinischen, kernspintomographischen und klassischen liquordiagnostischen Markern für

Krankheitsaktivität der Neurosarkoidose, so dass dieser ebenfalls einen Biomarker für Krankheitsaktivität bei der Neurosarkoidose darstellt.

5. Literaturverzeichnis

- Abrahamyan, S., Eberspacher, B., Hoshi, M. M., Aly, L., Luessi, F., Groppa, S., Klotz, L., Meuth, S. G., Schroeder, C., Gruter, T., Tackenberg, B., Paul, F., Then-Bergh, F., Kumpfel, T., Weber, F., Stangel, M., Bayas, A., Wildemann, B., Heesen, C., Zettl, U., Warnke, C., Antony, G., Hessler, N., Wiendl, H., Bittner, S., Hemmer, B., Gold, R., Salmen, A., Ruprecht, K., German Competence Network Multiple, S. & Other Members Of The, K. T. A. A. C. I. T. S. 2020. Complete Epstein-Barr Virus Seropositivity In A Large Cohort Of Patients With Early Multiple Sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 91, 681-686.
- Achiron, A., Mandel, M., Dreyer-Alster, S., Harari, G., Dolev, M., Menascu, S., Magalashvili, D., Flechter, S., Givon, U., Guber, D., Sonis, P., Zilkha-Falb, R. & Gurevich, M. 2021a. Humoral Immune Response In Multiple Sclerosis Patients Following Pfizerbnt162b2 Covid19 Vaccination: Up To 6 Months Cross-Sectional Study. *J Neuroimmunol*, 361, 577746.
- Achiron, A., Mandel, M., Dreyer-Alster, S., Harari, G., Magalashvili, D., Sonis, P., Dolev, M., Menascu, S., Flechter, S., Falb, R. & Gurevich, M. 2021b. Humoral Immune Response To Covid-19 Mrna Vaccine In Patients With Multiple Sclerosis Treated With High-Efficacy Disease-Modifying Therapies. *Ther Adv Neurol Disord*, 14, 17562864211012835.
- Almohmeed, Y. H., Avenell, A., Aucott, L. & Vickers, M. A. 2013. Systematic Review And Meta-Analysis Of The Sero-Epidemiological Association Between Epstein Barr Virus And Multiple Sclerosis. *Plos One*, 8, E61110.
- Apostolidis, S. A., Kakara, M., Painter, M. M., Goel, R. R., Mathew, D., Lenzi, K., Rezk, A., Patterson, K. R., Espinoza, D. A., Kadri, J. C., Markowitz, D. M., C, E. M., Mexhitaj, I., Jacobs, D., Babb, A., Betts, M. R., Prak, E. T. L., Weiskopf, D., Grifoni, A., Lundgreen, K. A., Gouma, S., Sette, A., Bates, P., Hensley, S. E., Greenplate, A. R., Wherry, E. J., Li, R. & Bar-Or, A. 2021. Cellular And Humoral Immune Responses Following Sars-Cov-2 Mrna Vaccination In Patients With Multiple Sclerosis On Anti-Cd20 Therapy. *Nat Med*, 27, 1990-2001.
- Ascherio, A. & Munger, K. L. 2007a. Environmental Risk Factors For Multiple Sclerosis. Part I: The Role Of Infection. *Ann Neurol*, 61, 288-99.
- Ascherio, A. & Munger, K. L. 2007b. Environmental Risk Factors For Multiple Sclerosis. Part Ii: Noninfectious Factors. *Ann Neurol*, 61, 504-13.
- Baldwin, K. J. & Cummings, C. L. 2018. Herpesvirus Infections Of The Nervous System. *Continuum (Minneap Minn)*, 24, 1349-1369.
- Bar-Or, A., Calkwood, J. C., Chognot, C., Evershed, J., Fox, E. J., Herman, A., Manfrini, M., Mcnamara, J., Robertson, D. S., Stokmaier, D., Wendt, J. K., Winthrop, K. L. & Traboulsee, A. 2020. Effect Of Ocrelizumab On Vaccine Responses In Patients With Multiple Sclerosis: The Veloce Study. *Neurology*, 95, E1999-E2008.
- Biomarkers Definitions Working, G. 2001. Biomarkers And Surrogate Endpoints: Preferred Definitions And Conceptual Framework. *Clin Pharmacol Ther*, 69, 89-95.
- Bjornevik, K., Cortese, M., Healy, B. C., Kuhle, J., Mina, M. J., Leng, Y., Elledge, S. J., Niebuhr, D. W., Scher, A. I., Munger, K. L. & Ascherio, A. 2022. Longitudinal Analysis Reveals High Prevalence Of Epstein-Barr Virus Associated With Multiple Sclerosis. *Science*, 375, 296-301.
- Boekel, L., Steenhuis, M., Hooijberg, F., Besten, Y. R., Van Kempen, Z. L. E., Kummer, L. Y., Van Dam, K. P. J., Stalman, E. W., Vogelzang, E. H., Cristianawati, O., Keijzer, S., Vidarsson, G., Voskuyl, A. E., Wieske, L., Eftimov, F., Van Vollenhoven, R., Kuijpers, T. W., Van Ham, S. M., Tas, S. W., Killestein, J., Boers, M., Nurmohamed, M. T., Rispen, T. & Wolbink, G. 2021. Antibody Development After Covid-19 Vaccination In Patients With Autoimmune Diseases In The Netherlands: A Substudy Of Data From Two Prospective Cohort Studies. *Lancet Rheumatol*, 3, E778-E788.
- Boremalm, M., Sundstrom, P. & Salzer, J. 2021. Discontinuation And Dose Reduction Of Rituximab In Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis. *J Neurol*, 268, 2161-2168.

- Brandao, W. N., De Oliveira, M. G., Andreoni, R. T., Nakaya, H., Farias, A. S. & Peron, J. P. S. 2020. Neuroinflammation At Single Cell Level: What Is New? *J Leukoc Biol*, 108, 1129-1137.
- Brill, L., Rechtman, A., Zveik, O., Haham, N., Oiknine-Djian, E., Wolf, D. G., Levin, N., Raposo, C. & Vaknin-Dembinsky, A. 2021. Humoral And T-Cell Response To Sars-Cov-2 Vaccination In Patients With Multiple Sclerosis Treated With Ocrelizumab. *Jama Neurol*, 78, 1510-1514.
- Buell, J. F., Gross, T. G., Hanaway, M. J., Trofe, J., Roy-Chaudhury, P., First, M. R. & Woodle, E. S. 2005. Posttransplant Lymphoproliferative Disorder: Significance Of Central Nervous System Involvement. *Transplant Proc*, 37, 954-5.
- Buljevac, D., Flach, H. Z., Hop, W. C., Hijdra, D., Laman, J. D., Savelkoul, H. F., Van Der Meche, F. G., Van Doorn, P. A. & Hintzen, R. Q. 2002. Prospective Study On The Relationship Between Infections And Multiple Sclerosis Exacerbations. *Brain*, 125, 952-60.
- Cavaliere, R., Petroni, G., Lopes, M. B., Schiff, D. & International Primary Central Nervous System Lymphoma Collaborative, G. 2010. Primary Central Nervous System Post-Transplantation Lymphoproliferative Disorder: An International Primary Central Nervous System Lymphoma Collaborative Group Report. *Cancer*, 116, 863-70.
- Cepok, S., Zhou, D., Srivastava, R., Nessler, S., Stei, S., Bussow, K., Sommer, N. & Hemmer, B. 2005. Identification Of Epstein-Barr Virus Proteins As Putative Targets Of The Immune Response In Multiple Sclerosis. *Journal Of Clinical Investigation*, 115, 1352-1360.
- Comabella, M. & Montalban, X. 2014. Body Fluid Biomarkers In Multiple Sclerosis. *Lancet Neurol*, 13, 113-26.
- Compston, A. & Coles, A. 2008. Multiple Sclerosis. *Lancet*, 372, 1502-17.
- Conrad, A. J., Chiang, E. Y., Andeen, L. E., Avolio, C., Walker, S. M., Baumhefner, R. W., Mirzayan, R. & Tourtellotte, W. W. 1994. Quantitation Of Intrathecal Measles Virus Igg Antibody Synthesis Rate: Subacute Sclerosing Panencephalitis And Multiple Sclerosis. *J Neuroimmunol*, 54, 99-108.
- Correale, J., Fiol, M. & Gilmore, W. 2006. The Risk Of Relapses In Multiple Sclerosis During Systemic Infections. *Neurology*, 67, 652-9.
- Cross, A. H. & Waubant, E. 2011. Ms And The B Cell Controversy. *Biochim Biophys Acta*, 1812, 231-8.
- Deuschle, K., Hofmann, J., Otto, C., Bellmann-Strobl, J., Scherner, O., Klumbies, K., Schneider, E., Broddack, J., Paul, F. & Ruprecht, K. 2013. Are There Epstein-Barr Virus Seronegative Patients With Multiple Sclerosis? *Mult Scler*, 19, 1242-3.
- Esposito, S., Di Pietro, G. M., Madini, B., Mastrolia, M. V. & Rigante, D. 2015. A Spectrum Of Inflammation And Demyelination In Acute Disseminated Encephalomyelitis (Adem) Of Children. *Autoimmun Rev*, 14, 923-9.
- Evens, A. M., Choquet, S., Kroll-Desrosiers, A. R., Jagadeesh, D., Smith, S. M., Morschhauser, F., Leblond, V., Roy, R., Barton, B., Gordon, L. I., Gandhi, M. K., Dierickx, D., Schiff, D., Habermann, T. M. & Trappe, R. 2013. Primary Cns Posttransplant Lymphoproliferative Disease (Ptd): An International Report Of 84 Cases In The Modern Era. *Am J Transplant*, 13, 1512-22.
- Fritz, D., Van De Beek, D. & Brouwer, M. C. 2016. Clinical Features, Treatment And Outcome In Neurosarcoidosis: Systematic Review And Meta-Analysis. *Bmc Neurol*, 16, 220.
- Gadani, S. P., Reyes-Mantilla, M., Jank, L., Harris, S., Douglas, M., Smith, M. D., Calabresi, P. A., Mowry, E. M., Fitzgerald, K. C. & Bhargava, P. 2021. Discordant Humoral And T Cell Immune Responses To Sars-Cov-2 Vaccination In People With Multiple Sclerosis On Anti-Cd20 Therapy. *Ebiomedicine*, 73, 103636.
- Gale, C. R. & Martyn, C. N. 1995. Migrant Studies In Multiple Sclerosis. *Prog Neurobiol*, 47, 425-48.
- Gasmi, A., Tippairote, T., Mujawdiya, P. K., Gasmi Benahmed, A., Menzel, A., Dadar, M. & Bjorklund, G. 2021. Neurological Involvements Of Sars-Cov2 Infection. *Mol Neurobiol*, 58, 944-949.

- Geers, D., Shamier, M. C., Bogers, S., Den Hartog, G., Gommers, L., Nieuwkoop, N. N., Schmitz, K. S., Rijsbergen, L. C., Van Osch, J. A. T., Dijkhuizen, E., Smits, G., Comvalius, A., Van Mourik, D., Caniels, T. G., Van Gils, M. J., Sanders, R. W., Oude Munnink, B. B., Molenkamp, R., De Jager, H. J., Haagmans, B. L., De Swart, R. L., Koopmans, M. P. G., Van Binnendijk, R. S., De Vries, R. D. & Geurtsvankessel, C. H. 2021. Sars-Cov-2 Variants Of Concern Partially Escape Humoral But Not T-Cell Responses In Covid-19 Convalescent Donors And Vaccinees. *Sci Immunol*, 6.
- Giess, R. M., Pfuhl, C., Behrens, J. R., Rasche, L., Freitag, E., Khalighy, N., Otto, C., Wuerfel, J., Brandt, A. U., Hofmann, J., Eberspacher, B., Bellmann-Strobl, J., Paul, F. & Ruprecht, K. 2017. Epstein-Barr Virus Antibodies In Serum And Dna Load In Saliva Are Not Associated With Radiological Or Clinical Disease Activity In Patients With Early Multiple Sclerosis. *Plos One*, 12, E0175279.
- Gilden, D. H., Kleinschmidt-Demasters, B. K., Laguardia, J. J., Mahalingam, R. & Cohrs, R. J. 2000. Neurologic Complications Of The Reactivation Of Varicella-Zoster Virus. *N Engl J Med*, 342, 635-45.
- Gordon-Lipkin, E. & Banwell, B. 2017. An Update On Multiple Sclerosis In Children: Diagnosis, Therapies, And Prospects For The Future. *Expert Rev Clin Immunol*, 13, 975-989.
- Greenfield, A. L. & Hauser, S. L. 2018. B-Cell Therapy For Multiple Sclerosis: Entering An Era. *Ann Neurol*, 83, 13-26.
- Handel, A. E., Williamson, A. J., Disanto, G., Handunnetthi, L., Giovannoni, G. & Ramagopalan, S. V. 2010. An Updated Meta-Analysis Of Risk Of Multiple Sclerosis Following Infectious Mononucleosis. *Plos One*, 5.
- Harapan, B. N. & Yoo, H. J. 2021. Neurological Symptoms, Manifestations, And Complications Associated With Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (Sars-Cov-2) And Coronavirus Disease 19 (Covid-19). *J Neurol*, 268, 3059-3071.
- Hemmer, B., Kerschensteiner, M. & Korn, T. 2015. Role Of The Innate And Adaptive Immune Responses In The Course Of Multiple Sclerosis. *Lancet Neurol*, 14, 406-19.
- Hoitsma, E., Faber, C. G., Drent, M. & Sharma, O. P. 2004. Neurosarcoidosis: A Clinical Dilemma. *Lancet Neurol*, 3, 397-407.
- Hosseini, N., Nadjafi, S. & Ashtary, B. 2021. Overview Of Covid-19 And Neurological Complications. *Rev Neurosci*, 32, 671-691.
- Jacobi, C., Lange, P. & Reiber, H. 2007. Quantitation Of Intrathecal Antibodies In Cerebrospinal Fluid Of Subacute Sclerosing Panencephalitis, Herpes Simplex Encephalitis And Multiple Sclerosis: Discrimination Between Microorganism-Driven And Polyspecific Immune Response. *J Neuroimmunol*, 187, 139-46.
- Jacobs, B. M., Giovannoni, G., Cuzick, J. & Dobson, R. 2020. Systematic Review And Meta-Analysis Of The Association Between Epstein-Barr Virus, Multiple Sclerosis And Other Risk Factors. *Mult Scler*, 26, 1281-1297.
- Jarius, S., Eichhorn, P., Franciotta, D., Petereit, H. F., Akman-Demir, G., Wick, M. & Wildemann, B. 2017. The Mrz Reaction As A Highly Specific Marker Of Multiple Sclerosis: Re-Evaluation And Structured Review Of The Literature. *J Neurol*, 264, 453-466.
- Jarius, S., Paul, F., Aktas, O., Asgari, N., Dale, R. C., De Seze, J., Franciotta, D., Fujihara, K., Jacob, A., Kim, H. J., Kleiter, I., Kumpfel, T., Levy, M., Palace, J., Ruprecht, K., Saiz, A., Trebst, C., Weinschenker, B. G. & Wildemann, B. 2018. Mog Encephalomyelitis: International Recommendations On Diagnosis And Antibody Testing. *J Neuroinflammation*, 15, 134.
- Joseph, F. G. & Scolding, N. J. 2009. Neurosarcoidosis: A Study Of 30 New Cases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 80, 297-304.
- Kempf, C., Tinguely, M. & Rushing, E. J. 2013. Posttransplant Lymphoproliferative Disorder Of The Central Nervous System. *Pathobiology*, 80, 310-8.
- Khoury, D. S., Cromer, D., Reynaldi, A., Schlub, T. E., Wheatley, A. K., Juno, J. A., Subbarao, K., Kent, S. J., Triccas, J. A. & Davenport, M. P. 2021. Neutralizing Antibody Levels Are Highly Predictive Of Immune Protection From Symptomatic Sars-Cov-2 Infection. *Nat Med*, 27, 1205-1211.

- Larsen, P. D., Bloomer, L. C. & Bray, P. F. 1985. Epstein-Barr Nuclear Antigen And Viral Capsid Antigen Antibody Titers In Multiple Sclerosis. *Neurology*, 35, 435-8.
- Levin, L. I., Munger, K. L., O'reilly, E. J., Falk, K. I. & Ascherio, A. 2010. Primary Infection With The Epstein-Barr Virus And Risk Of Multiple Sclerosis. *Ann Neurol*, 67, 824-30.
- Louapre, C., Collongues, N., Stankoff, B., Giannesini, C., Papeix, C., Bensa, C., Deschamps, R., Creange, A., Wahab, A., Pelletier, J., Heinzlef, O., Labauge, P., Guilloton, L., Ahle, G., Goudot, M., Bigaut, K., Laplaud, D. A., Vukusic, S., Lubetzki, C., De Seze, J., Covisep, I., Derouiche, F., Tourbah, A., Mathey, G., Theaudin, M., Sellal, F., Dugay, M. H., Zephir, H., Vermersch, P., Durand-Dubief, F., Francoise, R., Androdias-Condemine, G., Pique, J., Codjia, P., Tilikete, C., Marcaud, V., Lebrun-Frenay, C., Cohen, M., Ungureanu, A., Maillart, E., Beigneux, Y., Roux, T., Corvol, J. C., Bordet, A., Mathieu, Y., Le Breton, F., Boulos, D. D., Gout, O., Gueguen, A., Moulignier, A., Boudot, M., Chardain, A., Coulette, S., Manchon, E., Ayache, S. S., Moreau, T., Garcia, P. Y., Kumaran, D., Castelnovo, G., Thouvenot, E., Taithe, F., Poupart, J., Kwiatkowski, A., Defer, G., Derache, N., Branger, P., Biotti, D., Ciron, J., Clerc, C., Vaillant, M., Magy, L., Montcuquet, A., Kerschen, P., Coustans, M., Guennoc, A. M., Brochet, B., Ouallet, J. C., Ruet, A., Dulau, C., Wiertlewski, S., Berger, E., Buch, D., Bourre, B., Pallix-Guiot, M., Maurousset, A., Audoin, B., Rico, A., Maarouf, A., Edan, G., Papassin, J. & Videt, D. 2020. Clinical Characteristics And Outcomes In Patients With Coronavirus Disease 2019 And Multiple Sclerosis. *Jama Neurol*, 77, 1079-1088.
- Luna, G., Alping, P., Burman, J., Fink, K., Fogdell-Hahn, A., Gunnarsson, M., Hillert, J., Langer-Gould, A., Lycke, J., Nilsson, P., Salzer, J., Svenningsson, A., Vrethem, M., Olsson, T., Piehl, F. & Frisell, T. 2020. Infection Risks Among Patients With Multiple Sclerosis Treated With Fingolimod, Natalizumab, Rituximab, And Injectable Therapies. *Jama Neurol*, 77, 184-191.
- Lunemann, J. D., Tintore, M., Messmer, B., Strowig, T., Rovira, A., Perkal, H., Caballero, E., Munz, C., Montalban, X. & Comabella, M. 2010. Elevated Epstein-Barr Virus-Encoded Nuclear Antigen-1 Immune Responses Predict Conversion To Multiple Sclerosis. *Ann Neurol*, 67, 159-69.
- Miller, D. H., Chard, D. T. & Ciccarelli, O. 2012. Clinically Isolated Syndromes. *Lancet Neurol*, 11, 157-69.
- Munger, K. L., Fitzgerald, K. C., Freedman, M. S., Hartung, H. P., Miller, D. H., Montalban, X., Edan, G., Barkhof, F., Suarez, G., Radue, E. W., Sandbrink, R., Kappos, L., Pohl, C. & Ascherio, A. 2015. No Association Of Multiple Sclerosis Activity And Progression With Ebv Or Tobacco Use In Benefit. *Neurology*, 85, 1694-701.
- Munger, K. L., Levin, L. I., O'reilly, E. J., Falk, K. I. & Ascherio, A. 2011. Anti-Epstein-Barr Virus Antibodies As Serological Markers Of Multiple Sclerosis: A Prospective Study Among United States Military Personnel. *Mult Scler*, 17, 1185-93.
- Nourbakhsh, B., Cordano, C., Asteggiano, C., Ruprecht, K., Otto, C., Rutatangwa, A., Lui, A., Hart, J., Flanagan, E. P., James, J. A. & Waubant, E. 2021. Multiple Sclerosis Is Rare In Epstein-Barr Virus-Seronegative Children With Central Nervous System Inflammatory Demyelination. *Ann Neurol*, 89, 1234-1239.
- Otto, C., Oltmann, A., Stein, A., Frenzel, K., Schroeter, J., Habel, P., Gartner, B., Hofmann, J. & Ruprecht, K. 2011. Intrathecal Ebv Antibodies Are Part Of The Polyspecific Immune Response In Multiple Sclerosis. *Neurology*, 76, 1316-21.
- Otto, C., Wengert, O., Unterwalder, N., Meisel, C. & Ruprecht, K. 2020. Analysis Of Soluble Interleukin-2 Receptor As Csf Biomarker For Neurosarcoidosis. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm*, 7.
- Paul, A., Comabella, M. & Gandhi, R. 2019. Biomarkers In Multiple Sclerosis. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 9.
- Petereit, H. F., Reske, D., Tumani, H., Jarius, S., Markus Leweke, F., Voitalla, D., Pfister, H. W. & Rubbert, A. 2010. Soluble Csf Interleukin 2 Receptor As Indicator Of Neurosarcoidosis. *J Neurol*, 257, 1855-63.
- Pfuhl, C., Grittner, U., Giess, R. M., Scheel, M., Behrens, J. R., Rasche, L., Pache, F. C., Wenzel, R., Brandt, A. U., Bellmann-Strobl, J., Paul, F., Ruprecht, K. & Oechtering, J.

2019. Intrathecal Igm Production Is A Strong Risk Factor For Early Conversion To Multiple Sclerosis. *Neurology*, 93, E1439-E1451.
- Phillips, R. 2022. B Cells: Deplete, Repopulate, Vaccinate. *Nat Rev Rheumatol*, 18, 126.
- Pickhardt, P. J. & Wippold, F. J., 2nd 1999. Neuroimaging In Posttransplantation Lymphoproliferative Disorder. *Ajr Am J Roentgenol*, 172, 1117-21.
- Pohl, D., Krone, B., Rostasy, K., Kahler, E., Brunner, E., Lehnert, M., Wagner, H. J., Gartner, J. & Hanefeld, F. 2006. High Seroprevalence Of Epstein-Barr Virus In Children With Multiple Sclerosis. *Neurology*, 67, 2063-5.
- Poser, C. M., Paty, D. W., Scheinberg, L., Mcdonald, W. I., Davis, F. A., Ebers, G. C., Johnson, K. P., Sibley, W. A., Silberberg, D. H. & Tourtellotte, W. W. 1983. New Diagnostic Criteria For Multiple Sclerosis: Guidelines For Research Protocols. *Ann Neurol*, 13, 227-31.
- Quentin, C. D. & Reiber, H. 2004. Fuchs Heterochromic Cyclitis: Rubella Virus Antibodies And Genome In Aqueous Humor. *Am J Ophthalmol*, 138, 46-54.
- Ramos-Casals, M., Retamozo, S., Siso-Almirall, A., Perez-Alvarez, R., Pallares, L. & Brito-Zeron, P. 2019. Clinically-Useful Serum Biomarkers For Diagnosis And Prognosis Of Sarcoidosis. *Expert Rev Clin Immunol*, 15, 391-405.
- Reiber, H. & Lange, P. 1991. Quantification Of Virus-Specific Antibodies In Cerebrospinal Fluid And Serum: Sensitive And Specific Detection Of Antibody Synthesis In Brain. *Clin Chem*, 37, 1153-60.
- Reiber, H. & Peter, J. B. 2001. Cerebrospinal Fluid Analysis: Disease-Related Data Patterns And Evaluation Programs. *J Neurol Sci*, 184, 101-22.
- Reiber, H., Ungefehr, S. & Jacobi, C. 1998. The Intrathecal, Polyspecific And Oligoclonal Immune Response In Multiple Sclerosis. *Mult Scler*, 4, 111-7.
- Rolfes, L., Pawlitzki, M., Pfeuffer, S., Nelke, C., Lux, A., Pul, R., Kleinschnitz, C., Kleinschnitz, K., Rogall, R., Pape, K., Bittner, S., Zipp, F., Warnke, C., Goeraci, Y., Schroeter, M., Ingwersen, J., Aktas, O., Klotz, L., Ruck, T., Wiendl, H. & Meuth, S. G. 2021. Ocrelizumab Extended Interval Dosing In Multiple Sclerosis In Times Of Covid-19. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm*, 8.
- Ruprecht, K. 2020. The Role Of Epstein-Barr Virus In The Etiology Of Multiple Sclerosis: A Current Review. *Expert Rev Clin Immunol*, 16, 1143-1157.
- Ruprecht, K., Wildemann, B. & Jarius, S. 2018. Low Intrathecal Antibody Production Despite High Seroprevalence Of Epstein-Barr Virus In Multiple Sclerosis: A Review Of The Literature. *J Neurol*, 265, 239-252.
- Sabatino, J. J., Jr., Mittl, K., Rowles, W. M., Mcpolin, K., Rajan, J. V., Laurie, M. T., Zamecnik, C. R., Dandekar, R., Alvarenga, B. D., Loudermilk, R. P., Gerungan, C., Spencer, C. M., Sagan, S. A., Augusto, D. G., Alexander, J. R., Derisi, J. L., Hollenbach, J. A., Wilson, M. R., Zamvil, S. S. & Bove, R. 2022. Multiple Sclerosis Therapies Differentially Affect Sars-Cov-2 Vaccine-Induced Antibody And T Cell Immunity And Function. *Jci Insight*, 7.
- Sahab, Z. J., Semaan, S. M. & Sang, Q. X. 2007. Methodology And Applications Of Disease Biomarker Identification In Human Serum. *Biomark Insights*, 2, 21-43.
- Salter, A., Fox, R. J., Newsome, S. D., Halper, J., Li, D. K. B., Kanellis, P., Costello, K., Bebo, B., Rammohan, K., Cutter, G. R. & Cross, A. H. 2021. Outcomes And Risk Factors Associated With Sars-Cov-2 Infection In A North American Registry Of Patients With Multiple Sclerosis. *Jama Neurol*, 78, 699-708.
- Schwarz, T., Otto, C., Jones, T. C., Pache, F., Schindler, P., Niederschweiberer, M., Schmidt, F. A., Drost, C., Corman, V. M. & Ruprecht, K. 2022. Preserved T Cell Responses To Sars-Cov-2 In Anti-Cd20 Treated Multiple Sclerosis. *Mult Scler*, 28, 1041-1050.
- Schwenkenbecher, P., Skripuletz, T., Lange, P., Durr, M., Konen, F. F., Mohn, N., Ringelstein, M., Menge, T., Friese, M. A., Melzer, N., Malter, M. P., Hausler, M., Thaler, F. S., Stangel, M., Lewerenz, J., Suhs, K. W. & German Network For Research On Autoimmune, E. 2021. Intrathecal Antibody Production Against Epstein-Barr, Herpes Simplex, And Other Neurotropic Viruses In Autoimmune Encephalitis. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm*, 8.

- Serafini, B., Rosicarelli, B., Magliozzi, R., Stigliano, E. & Aloisi, F. 2004. Detection Of Ectopic B-Cell Follicles With Germinal Centers In The Meninges Of Patients With Secondary Progressive Multiple Sclerosis. *Brain Pathol*, 14, 164-74.
- Shah, R., Roberson, G. H. & Cure, J. K. 2009. Correlation Of Mr Imaging Findings And Clinical Manifestations In Neurosarcoidosis. *Ajnr Am J Neuroradiol*, 30, 953-61.
- Siracusa, L., Cascio, A., Giordano, S., Medaglia, A. A., Restivo, G. A., Pirrone, I., Saia, G. F., Collura, F. & Colomba, C. 2021. Neurological Complications In Pediatric Patients With Sars-Cov-2 Infection: A Systematic Review Of The Literature. *Ital J Pediatr*, 47, 123.
- Sobsey, C. A., Ibrahim, S., Richard, V. R., Gaspar, V., Mitsa, G., Lacasse, V., Zahedi, R. P., Batist, G. & Borchers, C. H. 2020. Targeted And Untargeted Proteomics Approaches In Biomarker Development. *Proteomics*, 20, E1900029.
- Sormani, M. P., De Rossi, N., Schiavetti, I., Carmisciano, L., Cordioli, C., Moiola, L., Radaelli, M., Immovilli, P., Capobianco, M., Trojano, M., Zaratin, P., Tedeschi, G., Comi, G., Battaglia, M. A., Patti, F., Salvetti, M. & Musc-19 Study, G. 2021a. Disease-Modifying Therapies And Coronavirus Disease 2019 Severity In Multiple Sclerosis. *Ann Neurol*, 89, 780-789.
- Sormani, M. P., Salvetti, M., Labauge, P., Schiavetti, I., Zephir, H., Carmisciano, L., Bensa, C., De Rossi, N., Pelletier, J., Cordioli, C., Vukusic, S., Moiola, L., Kerschen, P., Radaelli, M., Theaudin, M., Immovilli, P., Casez, O., Capobianco, M., Ciron, J., Trojano, M., Stankoff, B., Creange, A., Tedeschi, G., Clavelou, P., Comi, G., Thouvenot, E., Battaglia, M. A., Moreau, T., Patti, F., De Seze, J., Louapre, C., Musc & Covisep Study, G. 2021b. Dmts And Covid-19 Severity In Ms: A Pooled Analysis From Italy And France. *Ann Clin Transl Neurol*, 8, 1738-1744.
- Steiner, S., Schwarz, T., Corman, V. M., Sotzny, F., Bauer, S., Drosten, C., Volk, H. D., Scheibenbogen, C. & Hanitsch, L. G. 2021. Reactive T Cells In Convalescent Covid-19 Patients With Negative Sars-Cov-2 Antibody Serology. *Front Immunol*, 12, 687449.
- Stern, B. J., Royal, W., 3rd, Gelfand, J. M., Clifford, D. B., Tavee, J., Pawate, S., Berger, J. R., Aksamit, A. J., Krumholz, A., Pardo, C. A., Moller, D. R., Judson, M. A., Drent, M. & Baughman, R. P. 2018. Definition And Consensus Diagnostic Criteria For Neurosarcoidosis: From The Neurosarcoidosis Consortium Consensus Group. *Jama Neurol*, 75, 1546-1553.
- Sumaya, C. V., Myers, L. W. & Ellison, G. W. 1980. Epstein-Barr Virus Antibodies In Multiple Sclerosis. *Arch Neurol*, 37, 94-6.
- Tan, A. T., Linster, M., Tan, C. W., Le Bert, N., Chia, W. N., Kunasegaran, K., Zhuang, Y., Tham, C. Y. L., Chia, A., Smith, G. J. D., Young, B., Kalimuddin, S., Low, J. G. H., Lye, D., Wang, L. F. & Bertoletti, A. 2021. Early Induction Of Functional Sars-Cov-2-Specific T Cells Associates With Rapid Viral Clearance And Mild Disease In Covid-19 Patients. *Cell Rep*, 34, 108728.
- Thompson, A. J., Banwell, B. L., Barkhof, F., Carroll, W. M., Coetzee, T., Comi, G., Correale, J., Fazekas, F., Filippi, M., Freedman, M. S., Fujihara, K., Galetta, S. L., Hartung, H. P., Kappos, L., Lublin, F. D., Marrie, R. A., Miller, A. E., Miller, D. H., Montalban, X., Mowry, E. M., Sorensen, P. S., Tintore, M., Traboulsee, A. L., Trojano, M., Uitdehaag, B. M. J., Vukusic, S., Waubant, E., Weinshenker, B. G., Reingold, S. C. & Cohen, J. A. 2018. Diagnosis Of Multiple Sclerosis: 2017 Revisions Of The Mcdonald Criteria. *Lancet Neurol*, 17, 162-173.
- Tortorella, C., Aiello, A., Gasperini, C., Agrati, C., Castilletti, C., Ruggieri, S., Meschi, S., Matusali, G., Colavita, F., Farroni, C., Cuzzi, G., Cimini, E., Tartaglia, E., Vanini, V., Prosperini, L., Haggiag, S., Galgani, S., Quartuccio, M. E., Salmi, A., Repele, F., Altera, A. M. G., Cristofanelli, F., D'abramo, A., Bevilacqua, N., Corpolongo, A., Puro, V., Vaia, F., Capobianchi, M. R., Ippolito, G., Nicastrì, E., Goletti, D. & Group, I. C.-V. S. 2022. Humoral- And T-Cell-Specific Immune Responses To Sars-Cov-2 Mrna Vaccination In Patients With Ms Using Different Disease-Modifying Therapies. *Neurology*, 98, E541-E554.

- Wan, D., Du, T., Hong, W., Chen, L., Que, H., Lu, S. & Peng, X. 2021. Neurological Complications And Infection Mechanism Of Sars-Cov-2. *Signal Transduct Target Ther*, 6, 406.
- Wandinger, K., Jabs, W., Siekhaus, A., Bubel, S., Trillenberger, P., Wagner, H., Wessel, K., Kirchner, H. & Hennig, H. 2000. Association Between Clinical Disease Activity And Epstein-Barr Virus Reactivation In Ms. *Neurology*, 55, 178-84.
- Waubant, E., Mowry, E. M., Krupp, L., Chitnis, T., Yeh, E. A., Kuntz, N., Ness, J., Chabas, D., Strober, J., McDonald, J., Belman, A., Milazzo, M., Gorman, M., Weinstock-Guttman, B., Rodriguez, M., Oksenberg, J. R., James, J. A. & Network, U. S. P. M. 2011. Common Viruses Associated With Lower Pediatric Multiple Sclerosis Risk. *Neurology*, 76, 1989-95.
- Wengert, O., Rothenfusser-Korber, E., Vollrath, B., Bohner, G., Scheibe, F., Otto, C., Hofmann, J., Angstwurm, K. & Ruprecht, K. 2013. Neurosarcoidosis: Correlation Of Cerebrospinal Fluid Findings With Diffuse Leptomeningeal Gadolinium Enhancement On Mri And Clinical Disease Activity. *J Neurol Sci*, 335, 124-30.
- White, M. L., Moore, D. W., Zhang, Y., Mark, K. D., Greiner, T. C. & Bierman, P. J. 2019. Primary Central Nervous System Post-Transplant Lymphoproliferative Disorders: The Spectrum Of Imaging Appearances And Differential. *Insights Imaging*, 10, 46.
- Willer, C. J., Dyment, D. A., Risch, N. J., Sadovnick, A. D., Ebers, G. C. & Canadian Collaborative Study, G. 2003. Twin Concordance And Sibling Recurrence Rates In Multiple Sclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 100, 12877-82.
- Wolf, A. & Alvarez, E. 2021. Covid-19 Vaccination In Patients With Multiple Sclerosis On Disease-Modifying Therapy. *Neurol Clin Pract*, 11, 358-361.
- Wolfel, R., Corman, V. M., Guggemos, W., Seilmaier, M., Zange, S., Muller, M. A., Niemeyer, D., Jones, T. C., Vollmar, P., Rothe, C., Hoelscher, M., Bleicker, T., Brunink, S., Schneider, J., Ehmann, R., Zwirgmaier, K., Drosten, C. & Wendtner, C. 2020. Virological Assessment Of Hospitalized Patients With Covid-2019. *Nature*, 581, 465-469.
- Zajicek, J. P., Scolding, N. J., Foster, O., Rovaris, M., Evanson, J., Moseley, I. F., Scadding, J. W., Thompson, E. J., Chamoun, V., Miller, D. H., McDonald, W. I. & Mitchell, D. 1999. Central Nervous System Sarcoidosis--Diagnosis And Management. *Qjm*, 92, 103-17.
- Ziemssen, T., Akgun, K. & Bruck, W. 2019. Molecular Biomarkers In Multiple Sclerosis. *J Neuroinflammation*, 16, 272.
- Ziemssen, T. & Ziemssen, F. 2005. The Role Of The Humoral Immune System In Multiple Sclerosis (Ms) And Its Animal Model Experimental Autoimmune Encephalomyelitis (Eae). *Autoimmun Rev*, 4, 460-7.
- Zimmermann, H., Nitsche, M., Pott, C., Reinke, P., Babel, N., Hermann, R. M., Hauser, I. A., Hahn, D., Ritgen, M., Pietschmann, C., Klapper, W., Anagnostopoulos, I., Trappe, R. U., German, P. S. G. & German Lymphoma, A. 2021. Reduction Of Immunosuppression Combined With Whole-Brain Radiotherapy And Concurrent Systemic Rituximab Is An Effective Yet Toxic Treatment Of Primary Central Nervous System Post-Transplant Lymphoproliferative Disorder (Pcns-Ptld): 14 Cases From The Prospective German Ptld Registry. *Ann Hematol*, 100, 2043-2050.

6. Danksagung

An erster Stelle möchte ich mich bei Prof. Dr. Klemens Ruprecht bedanken, für seine kontinuierliche, wertschätzende und sehr konstruktive Begleitung und Unterstützung. Hierdurch wurde meine Begeisterung für die wissenschaftliche Arbeit geweckt und wesentlich geprägt.

Darüber hinaus möchte ich mich herzlich bei Prof. Dr. Jörg Hofman bedanken für die Einführung in die wissenschaftliche Arbeit und experimentelle Forschung auf dem Gebiet der Virologie sowie für seine langjährige Unterstützung und stetige Präsenz.

Herrn Prof. Dr. Matthias Endres danke ich für die Möglichkeit meine klinischen und wissenschaftlichen Fertigkeiten an der Neurologischen Klinik, Universitätsmedizin Berlin zu vertiefen.

Schließlich danke ich meiner Familie für die uneingeschränkte Unterstützung und den beständigen Rückhalt.

7. Eidesstattliche Erklärung

Erklärung

§ 4 Abs. 3 (k) der HabOMed der Charité

Hiermit erkläre ich, dass

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde,
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern/Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden,
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

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.

Berlin, den

Dr. Carolin Otto