

AUS DER KLINIK FÜR GYNÄKOLOGIE
DER MEDIZINISCHEN FAKULTÄT CHARITÉ – UNIVERSITÄTSMEDIZIN BERLIN

DISSERTATION

**SEROPRÄVALENZ VON ANTI-N-METHYL-D-ASPARTAT-REZEPTOR-ANTIKÖRPERN
BEI FRAUEN MIT OVARIELLEN TERATOMEN**

ZUR ERLANGUNG DES AKADEMISCHEN GRADES DOCTOR MEDICINAE (DR. MED.)

VORGELEGT DER MEDIZINISCHEN FAKULTÄT CHARITÉ – UNIVERSITÄTSMEDIZIN BERLIN

VON

ISABEL MARION TREBESCH AUS HOUSTON

Datum der Promotion: 26. Februar 2016

Für meine Eltern

Inhaltsverzeichnis

Abstrakt	vi
Abstract	vii
1. Einleitung	1
1.1. Enzephalitiden bei Patientinnen mit Teratomen	1
1.2. NMDA-Rezeptor	1
1.3. NMDA-Rezeptor-Antikörper	3
1.4. Teratome	4
1.4.1. Teratome des Ovars	5
1.5. NMDA-Rezeptor-Enzephalitis	6
1.5.1. Vorkommen und Risikogruppen	6
1.5.2. Tumorassoziation	7
1.5.3. Klinik	7
1.5.4. Diagnostik	9
1.5.4.1. Humorale Diagnostik	9
1.5.4.2. Bildgebende Diagnostik	9
1.5.4.3. Elektrophysiologische Diagnostik	10
1.5.5. Therapie	11
1.5.6. Differentialdiagnose	12
1.5.7. Pathogenese	12
1.6. Zielsetzung der Studie	14
2. Patientinnenkollektiv, Material und Methoden	16
2.1. Patientinnenkollektiv	16
2.2. Material	16
2.3. Methode	17
2.3.1. Testsystem	17
2.3.2. Transfektion:	18
2.3.3. Verdünnung	19
2.3.4. Benetzung der Biochips mit Serumproben	19
2.3.5. Inkubation	20

2.3.6. Spülung	20
2.3.7. Markierung mittels Fluoresceinisothiocyanat-Antikörpern	20
2.3.8. Spülung	22
2.3.9. Auftragen des Eindeckmediums	22
2.3.10. Fluoreszenzmikroskopie	22
2.3.11. Auswertung der Fluoreszenzmikroskopie	23
2.4. Statistik	23
3. Ergebnisse	25
3.1. Studienteilnehmerinnen	25
3.2. Alter der Studienteilnehmerinnen	26
3.3. Cancer-Antigen 125	26
3.4. Tumorgröße	26
3.5. Neurologische Untersuchung	26
3.6. Operative Ergebnisse	26
3.7. Histologische Untersuchung	26
3.8. Antikörpernachweis	27
3.8.1. NMDA-IgA-Antikörper	28
3.8.2. GAD65-Antikörper	28
4. Diskussion	29
4.1. Teratome und deren neurologische Bedeutung für Patienten	29
4.2. Fehlende neurologische Symptome bei Patientinnen mit Teratomen	30
4.3. Neuronales Gewebe	30
4.4. Permeabilität der Blut-Hirn-Schranke	31
4.5. Prodromalsymptome	32
4.6. Lymphozyteninfiltration in ovariellen Gewebe als ein Mosaikstein hinsichtlich der virusinduzierten Pathogenese	32
4.7. Fehlende Antikörper-Titer bei Patientinnen mit Teratom	32
4.8. Fehlender Antikörpernachweis bei Patientinnen mit Teratomen und anderen Pathologien des Ovars	33
4.9. Differentialdiagnostische Erwägungen	33
4.10. GAD 65 Antikörper	37
4.11. IgA-NMDA-Rezeptor-Antikörper	37

4.12. Fehlende Untersuchung von NMDA-Autoantikörpern im Liquor _____	39
4.13. Ovarpathologien und das folgende operative Prozedere _____	39
4.14. Fertilitätserhalt bei minimal-invasivem operativem Vorgehen _____	41
5. Zusammenfassung _____	42
6. Literaturverzeichnis _____	44
7. Abkürzungen, Abbildungen, Tabellen- und Diagrammverzeichnis _____	54
Abkürzungen _____	54
Abbildungen _____	56
Tabellen _____	57
8. Eidesstattliche Versicherung _____	58
9. Lebenslauf _____	59
10. Publikation _____	61
11. Danksagung _____	62

Abstrakt

Seroprävalenz von Anti-N-methyl-D-Aspartat-Rezeptor-Antikörpern bei Frauen mit ovariellen Teratomen

Isabel Marion Trebesch

Einleitung:

Im Jahr 2007 wurden Anti-N-Methyl-D-Aspartat (NMDA)-Rezeptor-Antikörper als Verursacher von Enzephalitiden erkannt. Bei der Untersuchung von Patienten mit NMDA-Rezeptor-Enzephalitis wurde eine hohe Inzidenz von Teratomen bei diesen Patienten gefunden. In der Literatur wurde beschrieben, dass die Entfernung der Teratome mit einer Verbesserung der neurologischen Symptome einhergeht und zur Remission führt. In dieser Studie wurden neurologisch asymptomatische Individuen, die an einem ovariellen Teratom litten auf NMDA-Rezeptor-Antikörper gescreent.

Methodik:

20 Patientinnen, die an einem Teratom des Eierstocks litten und die keine neurologischen Symptome aufwiesen, wurden in diese prospektive Studie eingeschlossen. Die Patientinnen wurden mit Patientinnen mit anderen Ovarpathologien und mit gesunden Probandinnen verglichen. Präoperativ wurden die Patientinnen gynäkologisch und neurologisch untersucht, es wurde ein transvaginaler Ultraschall durchgeführt und die NMDA-Rezeptor-Antikörper gemessen.

Ergebnisse:

Keine der Patientinnen noch die gesunden Probandinnen litten unter neurologischen Symptomen. Eine komplette Tumorentfernung konnte bei allen Patientinnen laparoskopisch erfolgen. Weder bei den Patientinnen mit ovariellen Teratomen oder anderen Ovarpathologien noch bei den gesunden Probandinnen konnten NMDA-Rezeptor-Antikörper nachgewiesen werden.

Schlussfolgerung:

Wir konnten zeigen, dass neurologisch asymptomatische Patientinnen mit ovariellen Teratomen keine NMDA-Autoantikörper im Blut aufweisen. Das Screening neurologisch asymptomatischer Patientinnen mit ovariellen Teratomen auf NMDA-Rezeptor-Antikörper ist daher nicht indiziert.

Abstract

Seroprevalence of anti-N-methyl-D-aspartate receptor antibodies in women with ovarian teratoma

Isabel Marion Trebesch

Introduction:

In 2007, N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor antibodies were detected as a cause of encephalitis in patients. Examining patients with NMDA-receptor encephalitis a high incidence of teratoma in these patients could be found. It was described in literature that removing these teratomas helps to improve neurological symptoms and leads to remission. In our study neurologically asymptomatic individuals suffering from ovarian teratoma were screened for anti-NMDA-receptor antibodies.

Methods:

20 patients suffering from ovarian teratoma without neurological symptoms were included in this prospective study. Patients were pair matched to patients with other benign ovarian disease and healthy controls. Preoperatively, patients had a gynecological and neurological examination, transvaginal sonography, and measurement of NMDA-receptor antibodies.

Results: None of the patients neither the healthy controls presented neurological symptoms. Complete tumor removal was performed successfully in all patients by laparoscopy. No NMDA-receptor antibodies were found in patients with teratoma or with other ovarian diseases nor in healthy controls.

Conclusion: We could show that neurologically asymptomatic patients with ovarian teratomas do not express autoantibodies in their blood. Screening of neurologically asymptomatic patients with ovarian teratoma for NMDA- receptor antibodies is therefore not indicated.

1. Einleitung

1.1. Enzephalitiden bei Patientinnen mit Teratomen

Bei Patientinnen mit Teratomen lassen sich gehäuft Enzephalitiden beobachten. 2007 wurden erstmals Patientinnen mit Ovarialteratom beschrieben, die an einer Enzephalitisform litten, deren Auslöser gegen den N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptor (NMDAR) gerichtete Antikörper waren (Dalmau et al. 2007). Da seither aus immer mehr Fachdisziplinen zahlreiche Fälle dieser Erkrankung geschildert werden, ist anzunehmen, dass es ein zuvor unterdiagnostiziertes und nicht seltenes Krankheitsbild darstellt. Die NMDA-Rezeptor-Enzephalitis ist eine schwere und reversible, jedoch potenziell tödlich verlaufende Erkrankung. Die genaue Pathogenese der Erkrankung ist unklar und Gegenstand zahlreicher Studien. Die Krankheit zeichnet sich durch ein mehrere, stereotype Stadien verlaufendes Bild aus: Gedächtnisstörungen, Verlust kognitiver Fähigkeiten und / oder psychotische Symptome gehen über in ein Stupor-ähnliches Stadium mit teils choreatischen Bewegungen, bei dem es zu epileptischen Anfällen kommen kann. Störungen im Hirnstamm, welcher verantwortlich für die Regulation der Atmung oder des Kreislaufs ist, bedingen die Entwicklung zu einem potentiell lebensbedrohlichen Zustand (Prüss et al. 2010). Therapeutisch ist bei Nachweis eines Tumors die operative Entfernung desselben notwendig. Anschliessend folgt die immunmodulatorische Therapie, die bei negativer Tumorsuche ausschließlich erfolgt (Dalmau et al. 2007). An NMDA-Rezeptor -Enzephalitis erkranken häufig Frauen im gebärfähigen Alter, bei denen Ovarialteratome nachgewiesen werden können, so dass eine Assoziation vermutet wird. Ursächlich ist anzunehmen, dass sich Antikörper gegen den zellwandständigen NMDA- Rezeptor bilden, der auch im Teratomgewebe exprimiert wird. Möglicherweise wird die Antikörperbildung durch einen viralen Infekt getriggert oder aber bereits sezernierte NMDA-Antikörper können aufgrund eines Virusinfekts plötzlich die Bluthirnschranke überwinden. Dennoch häufen sich Berichte über Patientinnen und Patienten, teils auch im Kindesalter, bei denen die Tumorsuche erfolglos blieb und bei denen offensichtlich ein anderer Auslöser die Antikörperbildung bedingen muss (Dalmau et al. 2007).

1.2. NMDA-Rezeptor

Der NMDA-Rezeptor ist ein zellwandständiger, ionotroper Rezeptor, ein Glutamat-getriggertes Kationenkanal, der eine wesentliche Rolle im Zentralnervensystem höherer Organismen spielt. Die Bedeutung der NMDA-Rezeptoren liegt nicht in der eigentlichen synaptischen Übertragung sondern in der langsamen Modulierung der Signalkaskaden an Synapsen, Dendriten und Neuronen. Man könnte den Rezeptor auch als Mediator der postsynaptischen Erregungen

1. Einleitung

bezeichnen. Ionotrope Rezeptoren, auch Ionophoren genannt, übertragen rasche elektrophysiologische Signale: die Bindung der Liganden an den Rezeptor und der Durchlauf von Ionen durch den Ionophor findet innerhalb eines Moleküls statt. Die durch den Neurotransmitter Glutamat aktivierbaren ionotropen Rezeptoren des Zentralnervensystems (ZNS) können in drei Gruppen eingeteilt werden: den Kainat-, den AMPA- und den NMDA-Rezeptor. Sie sind jeweils nach ihrem charakteristischen Agonisten benannt. Unter den Glutamatrezeptoren hat der NMDA-Rezeptor die höchste Affinität zu Glutamat. Seinen Namen erhielt der NMDA-Rezeptor aufgrund seiner Aktivierbarkeit und konsekutiven Öffnung durch die synthetische Aminosäure N-Methyl-D-Aspartat (NMDA). Natürliche Liganden sind die Aminosäure Glyzin und Glutamat. Am NMDA-Rezeptor finden sich Bindungsstellen für Glutamat und Glyzin, wenn es zur Bindung dieser beiden Agonisten an ihrer Rezeptoruntereinheit und zur gleichzeitigen, spannungsabhängigen Membrandepolarisation kommt, wird der Rezeptor aktiviert. Dieser Vorgang verläuft im Vergleich zu den anderen Glutamatrezeptoren langsamer ab. Die Kanalpore wird extrazellulär von Magnesiumionen (Mg^{2+}) verschlossen, durch Änderung der Spannung wird die Magnesium-Blockade aufgehoben, Natrium und Kalzium können in die Zelle hinein-, Kalium herausströmen - es kommt somit zum exzitatorischen postsynaptischen Potential (Blanke et al. 2009). Martinez belegte, dass Auto-Antikörper gegen den NMDA-Rezeptor einen Verlust an Ionen-Kanal-Aktivität verursachen (Martinez-Martinez et al. 2013). Der NMDA-Rezeptor wird auch als „molekularer Koinzidenzdetektor“ bezeichnet. Er ist wesentlich für das Gedächtnis, für Lernprozesse und die Neuroplastizität. Durch den Kalziumeinstrom kommt es zum intrazellulären Anstieg der Ca^{2+} , dies führt zu Signalkaskaden und zur Aktivierung mehrerer intrazellulärer Prozesse, die zur Langzeitpotenzierung oder aber zur Langzeitdepression führen - essentiell für die Bahnung im Gehirn.

Die Zusammensetzung des Rezeptors ist in dem Desoxyribonukleinsäure (DNA) -Aufbau variabel, was zerebrale Heterogenität vermuten lässt. Zudem ist der NMDA-Rezeptor ein aus verschiedenen Untereinheiten aufgebautes Heteromer. Der tetramerische Komplex besteht aus den extrazellulären Untereinheiten NR1 und NR2. Die NR1 Untereinheit bindet Glyzin, die NR2 Untereinheit Glutamat; zur Funktionsfähigkeit ist die Präsenz beider Untereinheiten erforderlich. Da acht verschiedene Spleiße der NR1- und vier verschiedene Formen der NR2- Untereinheiten (NR2a, NR2B, NR2C und NR2D) vorkommen, ergeben sich mannigfaltige Kombinationsmöglichkeiten (Dalmau et al. 2011). Die verschiedenen Isoformen der NMDA-Rezeptoren finden sich im gesamten zentralen Nervensystem, die höchste Dichte an NMDA-Rezeptoren findet sich jedoch im präfrontalen Cortex, im Hypothalamus sowie im limbischen

1. Einleitung

System, insbesondere im Hippocampus und in den Amygdala. Die neuronale Plastizität des erwachsenen Gehirns, die Synapsogenese und damit die Gehirnentwicklung, sind an die Funktion dieses Rezeptors gekoppelt, ebenso die Frequenzierung der Atmung und der Bewegungen. Aufgrund dieser Erkenntnisse ist verständlich, dass eine Fehlfunktion des NMDA-Rezeptors zu ausgeprägten Funktionsstörungen des Gehirns und zu kognitiven Defiziten führt.

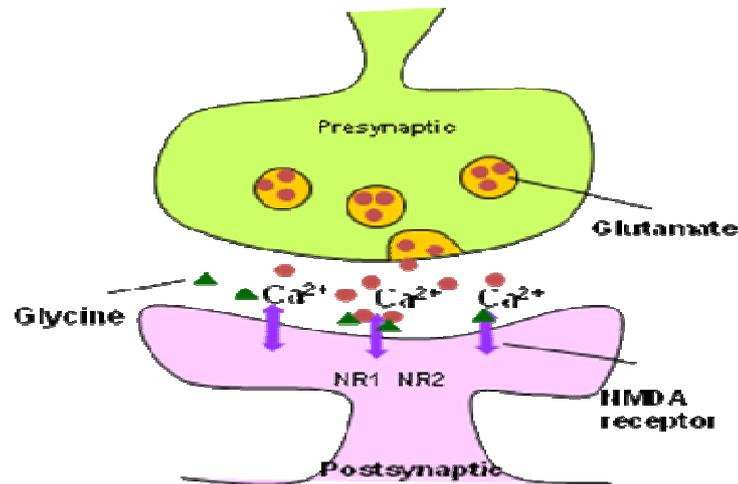


Abbildung 1: Prä- und postsynaptische Zelle mit Induktionsmechanismus des Langzeitpotentials. Durch ausreichende Depolarisierung der postsynaptischen Zelle erfolgt eine spannungsabhängige Aufhebung der blockierten Magnesiumfreisetzung der NMDA-Rezeptoren. Der hierauf folgende Kalziumeinstrom führt zur Langzeitpotenzierung, die eine Proteinsynthese in der Synapse zur Folge hat. (Quelle: Amaya Encinas)

1.3. NMDA-Rezeptor-Antikörper

Vitaliani wies im Jahr 2005 erstmals bei Patienten mit der damals noch sogenannten „paraneoplastischen limbischen Enzephalitis“ Antikörper nach, die sich gegen Zellwandstrukturen von Nervenzellen im Hippocampus richten. Es bestand die Vermutung, es handele sich um ein rein Tumor-assoziiertes Leiden (Vitaliani et al. 2005). 2007 gelang Dalmau der Nachweis von anti-NMDA-Rezeptor-Antikörpern sowohl im Serum, als auch in Liquorflüssigkeit. Die Antikörper reagierten mit der NR2B-Untereinheit des NMDA-Rezeptors, in geringerem Maße auch mit der NR2A-Untereinheit, deren Expression hauptsächlich im Frontalhirn und im Hippocampus lokalisiert ist. Die Antigen-Antikörper-Reaktivität stellt sich nur bei Vollständigkeit des Heteromers ein, nicht aber gegen einzelne Untereinheiten (Dalmau et al. 2007). Weitere Erkenntnisse brachten Studien der letzten Jahre. Es handelt sich bei den NMDA-Rezeptor-Antikörpern um Antikörper der Klasse Immunglobuline (Ig) G 1 bis 3 (Dalmau et al. 2011). Die Antikörperkonzentration ist im Liquor an NMDA-Rezeptor-Enzephalitis-Erkrankter höher als im Serum, auch wenn die Unversehrtheit der Blut-Hirn-Schranke bewiesen werden konnte. Dies gibt zu der Vermutung Anlass, es gebe eine intrathekale

1. Einleitung

Antikörperproduktion. Bei Tumornachweis, das heißt bei der paraneoplastischen Enzephalitis-Form, konnten höhere Antikörperkonzentrationen gemessen werden im Vergleich zu Patienten, die nicht an Tumoren litten. Die Ausprägung der Symptome und die Schwere der Erkrankung korreliert mit der Antikörperkonzentration in Liquor und Serum. Bei Patienten mit letalem Ausgang beobachtet man vergleichsweise hohe Antikörpertiter im Liquor. Die Besserung der neurologischen Symptome geht mit einem Abfall der Antikörpertiter einher, Patienten mit nur leichten klinischen Symptomen weisen die niedrigsten Antikörperspiegel auf. Das von Antikörpern erkannte Epitop liegt neueren Erkenntnissen zufolge im extrazellulären Anteil der NR1-Untereinheit des Rezeptors (Dalmau et al. 2011). Die Lokalisation und Dichte der NMDA-Rezeptoren an der synaptischen Oberfläche nimmt mit steigenden NMDA-Antikörpertitern ab. Es handelt sich hierbei um einen reversiblen Prozess, der Antikörper vermittelt stattfindet. Sinkt der Antikörperspiegel, steigt auch die Zahl der NMDA-Rezeptoren erneut an. NMDA-Rezeptoren werden selektiv über Endozytose in die Synapse aufgenommen. Es gibt keine Hinweise auf eine Veränderung der Position und der Reduktion des Vorkommens anderer Glutamaterezeptoren, Anzahl der Synapsen oder deren Proteine, Verzweigungen oder auf die Induktion des Zelltods unter dem Einfluss von Anti-NMDA-Rezeptor-Antikörpern (Dalmau et al. 2011).

1.4. Teratome

Teratome sind gut- oder bösartige Keimzelltumoren, die überwiegend Anteile aller drei Keimblätter (Mesoderm, Ektoderm und Entoderm) enthalten. Teratome entstehen aus pluripotenten, versprengten Keimzellen, sie entstammen einer einzelnen Keimzelle nach der ersten oder zweiten Meiose, der Reduktionsteilung (Linder et al. 1976). Die altersadjustierte Inzidenz für Teratome beträgt 0,4/100.000 Einwohner. Der Chromosomensatz reifer Teratome des Ovars ist gewöhnlich 46, XX (Schmidt et al. 2007). Bei unreifen Teratomen zeigt sich häufig ein Mischbild des Chromosomensatzes mit unterschiedlichen Karyotypen, auch chromosomaler Heteromorphismus genannt (Ohama et al. 1985). Die klinischen und epidemiologischen Unterschiede der Teratome sind durch das Geschlecht des Patienten, die Lokalisation des Tumors, die Histologie und das Alter bei Diagnosestellung bedingt. Am häufigsten sind Teratome im Bereich des Kreuz- und Steißbeins zu finden, gefolgt von Teratomen im Eierstock und in den Hoden. Selten treten Teratome im Retroperitoneum, im Mediastinum, im Hals und im Zentralnervensystem auf. Die histologische Einteilung erfolgt nach der WHO Klassifikation von 2003 und je nach Anteil der unreifen Komponenten. In Teratomen lassen sich histologisch Haut und deren Anhangsgebilde, Fettgewebe, Knochen,

1. Einleitung

Zähne, Knorpel, Schleimhaut, glatte Muskulatur sowie Nerven- Gastrointestinal- und Schilddrüsengewebe nachweisen. Die Klassifikation der Teratome erfolgt in reif, unreif oder monodermal, das heißt benigne oder maligne oder von nur einem Keimblatt abgeleitet (Tavassoli et al. 2003). Gonzalez-Crussi etablierte zur Einteilung ein Grading, hiernach sind die reifen Teratome mit Grad 0 am Häufigsten (54,5%) gefolgt von unreifen mit Grad 1-3 (45,5%). Bei 7,8% der Teratome kann eine Unreife Grad 3 gesehen werden, wobei das Vorhandensein einer bösartigen Dottersackkomponente in direkter Beziehung zum Unreife Grad steht (Gonzalez-Crussi 1982; Harms et al. 2006). Eine weitere Kategorisierung der Teratome ist makroskopisch möglich, in zystisch und solide.

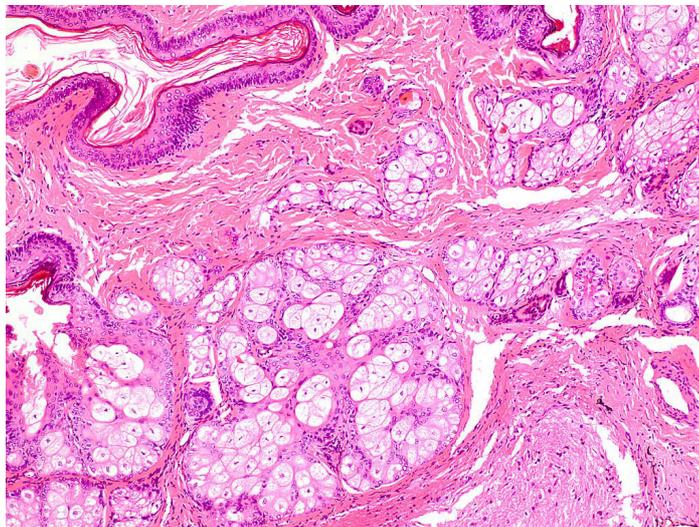


Abbildung 2: Histopathologisches Bild eines Teratoms in Hämatoxylin-Eosin-Färbung in 200 µm Auflösung. (Quelle: Frau Dr. med. Barbara Ingold-Heppner, Fachärztin für Pathologie, Charité)

1.4.1. Teratome des Ovars

Teratome sind die häufigsten Keimzelltumore des Ovars. Gutartige Teratome machen etwa 20% aller Ovarialtumore aus und manifestieren sich größtenteils zwischen dem 2.-5. Lebensjahrzehnt, das heißt im reproduktiven Alter. Selten treten sie bei Kindern oder postmenopausal auf. Meist treten Teratome einseitig auf. Ein bilaterales Auftreten wird in 10-15% der Fälle beobachtet. Nur 2- 3% der Teratome des Ovars sind maligne (Schmidt et al. 2007).

Die Breite der Manifestation reicht von gutartigen Zufallsbefunden in der Größenordnung von Millimetern bis zu großen, rasch wachsenden und metastasierenden malignen Tumoren. Symptomatisch führen ovarielle Teratome häufig zu abdominellen Schmerzen, einer Bauchumfangszunahme und selten werden uterine Blutungen beschrieben. Die Prognose und Therapie ist wesentlich an das Lebensalter der Patientin, an den Reife Grad, das Tumorstadium

1. Einleitung

und an das Vorhandensein eines malignen Dottersacks gekoppelt. Bei reifen Teratomen ist eine operative Entfernung ausreichend. Empfehlenswert ist die laparoskopische Entfernung. Der minimal-invasive Ansatz ist im Vergleich zu einer Laparotomie hinsichtlich der postoperativen Schmerzintensität und auch der Rekonvaleszenzdauer von Vorteil (Mais et al. 2003; Briones-Landa et al. 2010). Unreife Teratome werden zusätzlich chemotherapeutisch behandelt. Bei Kindern sollten Teratome mit Dottersackkomponente ebenfalls mit einer Chemotherapie behandelt werden (Schmidt et al. 2007).

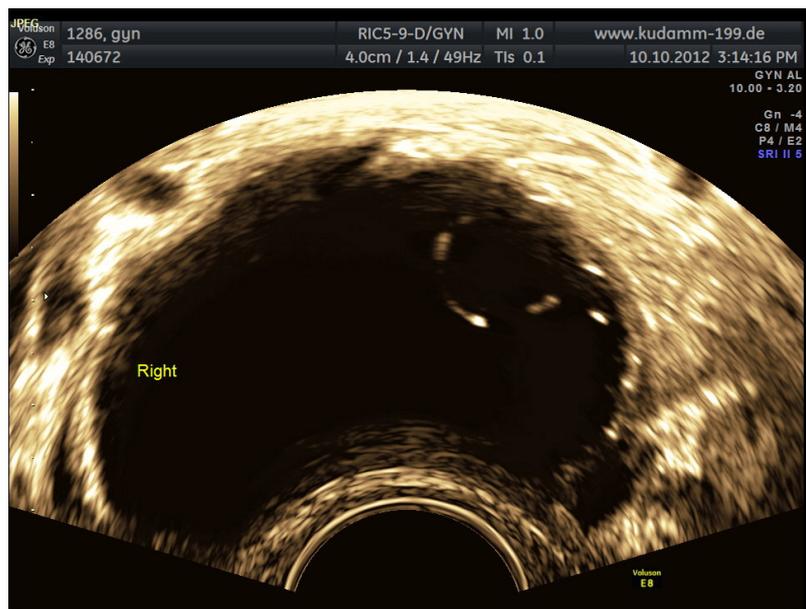


Abbildung 3: Typisches Ultraschallbild eines ovariellen Teratoms, 8,9 cm Durchmesser (Quelle: Frau Dr. med. Julia Lange, Praxis Kurfürstendamm 199, 10719 Berlin)

1.5. NMDA-Rezeptor-Enzephalitis

1.5.1. Vorkommen und Risikogruppen

Bei der Anti-NMDA-Rezeptor-Enzephalitis handelt es sich um eine Gehirnentzündung, bei der Antikörper gegen Oberflächenproteine des NMDA-Rezeptors gebildet werden. Bezüglich der Prävalenz können bisher nur wenige Aussagen getroffen werden. In einer Studie zeigte sich eine Seroprävalenz von über 10 Prozent bei gesunden Individuen und wie auch bei psychiatrischen und dementen Patienten (Hammer et al. 2013). In einer Screening-Studie zeigten sich lediglich bei 3% der untersuchten 600 Studienteilnehmer NMDAR-Antikörper, jedoch waren von allen getesteten Autoantikörpern die NMDA-Rezeptor-Antikörper am Häufigsten (Sadalage et al. 2013). Es ist zu vermuten, dass die Erkrankung früher häufig unentdeckt blieb. Seit 2007 wurden ca. 500 Fälle publiziert. Prüss konnte in einer Studie zeigen, dass 1% der Patienten im Alter von

1. Einleitung

18 bis 35 Jahren, die intensivmedizinische Behandlung benötigten, an einer NMDA-Rezeptor-Enzephalitis erkrankt war (Prüss et al. 2010). In einer englischen Studie konnten bei 4 Prozent der Patienten mit Enzephalitis NMDA-Antikörper nachgewiesen werden (Granerod et al. 2010). Das Durchschnittsalter bei Erkrankung ist 23 Jahre, das Altersspektrum geht von 23 Monaten bis 76 Jahren; Florance präsentierte ein Patientenspektrum, bei dem 40% der an NMDA-Rezeptor-Enzephalitis Erkrankten Kinder im Alter zwischen 23 Monaten und 18 Jahren waren (Florance et al. 2009). Auffällig ist eine Häufung von Erkrankten aus nicht kaukasischen Ethnien (Florance et al. 2009; Irani et al. 2010 und Gable et al. 2009). Asiatische Patienten sind gefolgt von und afrikanischen Patienten häufiger von einer mit Teratom assoziierten NMDA-Rezeptor-Enzephalitis betroffen als Kaukasier oder Hispanics (Titulaer et al. 2013).

1.5.2. Tumorassoziation

Anfänglich bestand die Annahme, die Erkrankung sei rein paraneoplastisch, das heißt sie trete ausschließlich bei Patienten mit Teratomen oder anderen Tumorentitäten auf. Diese Beschreibung wurde in den folgenden Jahren revidiert. Anti-NMDA-Rezeptor-Enzephalitiden treten auch ohne Nachweis eines Tumors auf und zwar je nach Studienlage bei 26 beziehungsweise 42 bis zu 90 Prozent der Patienten (Dalmau et al. 2011; Florance et al. 2009; Waxman et al. 2005). In diesen Fällen handelt es sich um reine Autoimmunerkrankungen. Teilweise werden aktuell Verlaufskontrollen bei genesenen Patienten durchgeführt, diese beinhalten eine Tumorsuche. In den meisten Fällen wurde ein Tumor erst nach Diagnosesicherung gefunden, teilweise konnte der Tumornachweis erst nach Ausheilung der NMDA-Enzephalitis erbracht werden. Die Frage nach dem Prozentsatz von Tumorassoziation ist sicher noch nicht endgültig geklärt.

1.5.3. Klinik

Das klinische Bild wird von einer ganzen Bandbreite vorwiegend neurologischer und psychiatrischer Symptome gezeichnet, deren Ausprägung die Schwere der Erkrankung bedingt. Die Krankheit verläuft in Phasen. Bei beinahe 3/4 der Patienten kommt es zunächst zum wenige Tage bis maximal 2 Wochen andauernden Prodromalstadium mit Übelkeit, Erbrechen, Kopfschmerzen, Fieber, Husten, Schnupfen oder Durchfällen (Prüss et al. 2010; Iizuka et al. 2009). Dieses Prodromalstadium gibt zur Vermutung Anlass, die NMDA-Enzephalitis sei eine Infekt-getriggerte Erkrankung. Erstaunlicherweise fanden sich in einer Studie bei 40% der Patienten IgM Antikörper gegen Mykoplasmen- welcher Zusammenhang sich in späteren Studien hierzu finden lassen wird und ob beispielsweise eine Kreuzreaktivität eine Rolle spielt, ist aktuell nicht beantwortbar (Gable et al. 2009). Die psychiatrischen Folgesymptome in

1. Einleitung

unterschiedlicher Ausprägung und Zusammensetzung wie Wahn, Unruhe, Schlaflosigkeit, Halluzinationen, Paranoia, Größenwahn, Hypersexualität und Hyperreligiösität kennzeichnen die psychotische Phase und führen meist primär zur psychiatrischen Evaluation und folgenden stationären Aufnahme. Auch Sprach- und Gedächtnisstörungen und stereotype Bewegungsstörungen können dieses Stadium auszeichnen. (Dalmau et al. 2011; Florance et al. 2009; Prüss et al. 2010). Aufgrund des größtenteils jungen Alters der Patienten steht als Verdachtsdiagnose häufig eine drogeninduzierte Psychose im Raum (Prüss et al. 2010). Im Anschluss steht eine Phase verminderter Ansprechbarkeit, beispielsweise gekennzeichnet durch Mutismus und fehlende Reaktion auf Ansprache und visuelle Reize oder durch Echolalie, Echopraxie, Katalepsie oder Katatonie. Möglich ist hier ein Alternieren oder aber ein Übergang in die hyperkinetische Phase: Es kann zu Dystonie, Ophistotonus, abnormen, oft choreatischen Bewegungsmustern des Körpers, Dyskinesien der Gesichts- und Augenmuskulatur und der Zunge kommen. Auch stetige Kaubewegungen, Grimassieren und Lippenlecken sind typische Symptome dieses Stadiums. Häufig sind fokale oder generalisierte Krampfanfälle; es kann zum Status epilepticus kommen (Kirkpatrick et al. 2011; Johnson et al. 2010).

Potentiell lebensbedrohlich wirkt sich die autonome Instabilität aus, die Rückschlüsse auf synaptische Störungen im Hirnstamm zulässt: Hyper- oder Hypotension, Brady- oder Tachykardie, Hyperthermie, Hyperhidrose, Harninkontinenz und Ptyalismus. (Dalmau et al. 2011; Florance et al. 2009; Prüss et al. 2010; Seki et al. 2008; González-Valcárcel et al. 2010). Viele Patienten entwickeln eine zentrale Hypoventilation und werden, teils über Monate hinweg, beatmungspflichtig. Die Hyperkinesien können ebenso über einen langen Zeitraum bestehen. Die Zeitspanne der letzten Phase der allmählichen Besserung kann sich über Tage, Wochen, Monate oder sogar Jahre hinziehen (Iizuka et al. 2008). Die klinischen Verläufe differieren stark, die Gründe hierfür sind noch unklar. Beschrieben sind Rückfallquoten von 20 bis 29 Prozent, das Risiko für einen Rückfall lag höher, wenn die Patienten keine immunmodulierende Therapie erhalten hatten (Irani et al. 2010). Ein Viertel der Patienten leiden dauerhaft an schweren Folgeschäden, häufig neuropsychiatrischer Natur (Dalmau et al. 2011). Bei als Vollremissionen eingestuften Fällen konnte Finke bei unauffälligem neurologischen Status noch nach Jahren kognitive Defizite nachweisen (Finke et al. 2011). Signifikant bessere kognitive Outcomes zeigten sich bei Patienten, die frühzeitig Immuntherapie erhalten hatten. Die Mortalitätsraten der NMDA-Enzephalitis liegen um 4 Prozent (Dalmau et al. 2011; Irani et al. 2010; Gabilondo et al. 2011).

1. Einleitung

1.5.4. Diagnostik

Die Diagnosesicherung fußt auf der charakteristischen Klinik und dem Nachweis von Antikörpern gegen den NMDA-Rezeptor in Serum oder Liquor. Untermuert wird die Diagnose von Befunden des EEGs, der MRTs und der Lumbalpunktion.

1.5.4.1. Humorale Diagnostik

Mit Hilfe von zerebralen Gewebeschnitten (beispielsweise Hippocampus der Ratte und Kleinhirn des Affen) und rekombinanten transfizierten Zellen kann man ein Screening auf der Suche nach unterschiedlichen Autoimmunantikörpern durchführen. Der Nachweis von NMDA-Rezeptor-Antikörpern erfolgt mittels indirekten Immunfluoreszenztests, es handelt sich hierbei um eine sehr sensitive Untersuchungsmethode (Stöcker et al. 2013). Die Validität dieser Methode konnte nachgewiesen werden (Suh-Lailam et al. 2013). Es ist zum Ausschluss anderer autoimmuner Enzephalitiden erforderlich, auf weitere neurologische Autoimmunantikörper zu testen. Die Sensitivität wurde durch Erweiterung des Testumfangs als leicht variabel beschrieben wird aber für ein rasches Screening empfohlen (Sadalage et al. 2013). Periodische Wiederholungen von Antikörperuntersuchung in Serum und Liquor erlauben Rückschlüsse auf Therapieerfolge oder den Verlauf der Erkrankung (Dalmau et al. 2011). Die Höhe der Antikörper-Titer korreliert mit der Schwere der Erkrankung, ist jedoch unabhängig bezüglich des Ansprechens auf Therapie (Suh-Lailam et al. 2013). Zu Beginn der Erkrankung ist der Liquor bei 20% der Patienten unauffällig, im Verlauf zeigen sich bei der Mehrheit der Patienten Auffälligkeiten in dem Lumbalpunktat. Liquoruntersuchungen beschreiben eine milde lymphozytische Pleozytose, normale Glukosewerte, schwach erhöhte Proteinkonzentrationen sowie bei 6 von 10 Patienten liquorspezifische oligoklonale Banden und legen meistens eine intrathekale Antikörperbildung nahe. Im Serum konnte der Nachweis von NMDA-Rezeptor-Antikörpern nach immunmodulatorischen Verfahren oder nach Diagnoseverzögerung teils nicht erbracht werden, bei seronegativen Patienten konnten jedoch Antikörper im Liquor nachgewiesen werden (Dalmau et al. 2008; Dalmau et al. 2011).

1.5.4.2. Bildgebende Diagnostik

Bildmorphologisch fallen in der Magnetresonanztomographie (MRT) meist schwache fokale T2 oder FLAIR Signalverstärkungen auf. Diese können im Hippocampus, in frontobasalen Cortex, im Hirnstamm oder im medianen Temporallappen auftreten. In den betroffenen Arealen kann es zur Anreicherung von Kontrastmittel kommen. Es kann zu einer frontotemporal betonten Hirnatrophie kommen, die sich im Laufe der Jahre zurückbilden kann. Diese tritt nur bei etwa der Hälfte der Patienten auf, bei den anderen Patienten sind die MRT-Untersuchungen des

1. Einleitung

Kopfes unauffällig (Iizuka et al. 2010). Die Positronen-Emissions-Tomographie scheint bei NMDA-Rezeptor-Enzephalitis eine sensitivere diagnostische Bildgebung zu sein. Die bildmorphologischen Befunde sind dennoch variabel: in der akuten Erkrankungsphase kann sich ein zerebraler Hypermetabolismus zeigen. Bei Patienten, die einen Rückfall erleiden, konnte teils eine Verringerung des Gehirnstoffwechsels im Cortex nachgewiesen werden, insbesondere im Temporallappen. Die Positronen-Emissionstomographie ist gegenüber der MRT eine bessere Methode um einen neoplastischen Prozess auszuschließen (Pillai et al. 2010; Padma et al. 2011). Trotz ausgeprägter Symptome und langer Erkrankungsdauer ist die Bildgebung insgesamt wenig aussagekräftig. Bei allen Patienten sollte eine Tumorsuche, insbesondere nach einem Keimzelltumor erfolgen. Zur Tumorsuche sollte eine Ultraschalluntersuchung des Beckens und des Abdomens erfolgen, gegebenenfalls auch eine Magnetresonanztomographie oder Computertomographie bzw. eine Positronen-Emissions-Tomographie. Bei Frauen sollte ein transvaginaler, bei Männern ein testikulärer Ultraschall durchgeführt werden. Auch nach erfolgreicher Therapie und kompletter Remission sollte ein jährliches bildgebendes Tumorscreening erfolgen (Dalmau et al. 2011).

1.5.4.3. Elektrophysiologische Diagnostik

Im Elektroenzephalogramm (EEG) von NMDAR-Enzephalitis Patienten kann eine unspezifische Verlangsamung oder eine ungeordnete Aktivität beobachtet werden, wobei die abnormen Bewegungen, Krampfanfälle und auch der komatöse Status keinem wegweisenden elektroenzephalographischen Korrelat zugeordnet werden konnten. Eine generalisierte Verlangsamung der Deltawellen oder der langsamen Thetawellen haben bis zu 80% der Patienten (Irani et al. 2010). Schmitt konnte elektroenzephalographisch bei annähernd einem Drittel der untersuchten Personen ein einzigartiges Muster nachweisen, „extreme delta brushes“ genannt (Schmitt et al. 2012). Auch Graus sieht bei 30 Prozent der Patienten diese spezifischen elektroenzephalographischen Veränderungen (Graus et al. 2012). Diese weisen eine Ähnlichkeit zu EEG Wellen bei Frühgeborenen auf (Schmitt et al. 2012). Der Begriff δ -Brush bezeichnet „langsame Wellen von 0,3-1,5 Hertz mit Auflagerungen von rhythmischen Frequenzen von 10-25 Hertz“. Normalerweise findet man diese Delta Brushes im EEG von Frühgeborenen, er gilt auch als neonataler Normalbefund (Noachtar et al. 1999). Bei Nachweis von „Delta Brushes“ ergab sich bei Patienten mit NMDA-Rezeptor-Enzephalitis eine längere Krankenhausverweildauer sowie eine Tendenz zu einem schlechteren Rankin-Score (Schmitt et al. 2012). Die langsame, rhythmische Aktivität der Deltawellen im EEG, die in der katatonen Phase häufig vorherrscht, könnte auch Ausdruck eines Status epilepticus sein (Kirkpatrick et al.

1. Einleitung

2011). Die teilweise monatelang andauernden beschriebenen Status epileptici sind therapierefraktär und Antiepileptika zeigen keine Wirkung (Johnson et al. 2010). Myrna empfiehlt vor Beginn der antiepileptischen Medikation aufgrund der ohne elektroenzephalographisches Korrelat auftretenden stereotypen Bewegungen eine EEG-Untersuchung, die zeitgleich auf Video aufgezeichnet wird (Myrna et al. 2011). Als Erstsymptom treten epileptische Krampfanfälle, ob generalisierter oder fokaler Natur, häufiger bei Männern auf (Titulaer et al. 2014).

1.5.5. Therapie

Das therapeutische Management der NMDA-Rezeptor-Enzephalitis ist experimentell, es gibt hierzu keine Leitlinien. Bei paraneoplastischer Genese steht die operative Entfernung des Tumors an erster Stelle. Immuntherapie ist wirksam und notwendig, unabhängig davon, ob eine zugrunde liegende Tumorerkrankung besteht. Therapeutisch erprobt sind immunmodulatorischen Maßnahmen wie die zeitgleiche intravenöse Gabe von Immunglobulinen und Methylprednisolon, diese kommen aktuell am Häufigsten zur Anwendung (First-Line-Therapie). Wenn diese Ansätze greifen, empfehlen Dalmau eine anhaltende Immunsuppression weiterzuführen, meist mit Azathioprin oder Mycophenolat-Mofetil (MMF) (Dalmau et al. 2011). Bei Nichtansprechbarkeit wird als Second-Line-Therapie der zügige Einsatz des monoklonalen Anti-CD-20-Antikörpers Rituximab und/ oder des Zytostatikums Cyclophosphamid empfohlen, gefolgt von monatlichen Cyclophosphamid Gaben bis hin zur weitgehenden Rückbildung der Symptome (Dalmau et al. 2011; Sansing et al. 2007; Suzuki et al. 2008; Kashyape et al. 2011). Die klinische Wirkung von Rituximab beruht auf einem Abfall von B Zellen, es verhindert zudem deren Reifung zu Antikörper sezernierenden Zellen. Die Depletion von B-Gedächtniszellen im peripheren Blut und im lymphatischen Gewebe und/oder im Zentralnervensystem wirkt mutmaßlich zurückstellend auf das Immunsystem (Ikeguchi et al. 2012). Dies zeigte sich auch bei anderen immunvermittelten Entzündungen des Gehirns und könnte für die Wirksamkeit der Second-Line-Therapie mit Rituximab verantwortlich sein (Hauser et al. 2008). Bei erneutem Therapieversagen sollten andere Immunsuppressiva in Erwägung gezogen werden, bei Ansprechbarkeit wird ebenfalls eine Unterdrückung des Immunsystems mit MMF oder Azathioprin über den Zeitraum von einem Jahr nahegelegt (Dalmau et al. 2011; Sansing et al. 2007; Suzuki et al. 2008; Kashyape et al. 2011).

Auch therapeutischer Plasmaaustausch wird erfolgreich eingesetzt, wobei hier insbesondere der frühe Beginn der Plasmapherese erfolgsversprechend zu sein scheint. Die Ergebnisse einer retrospektiven Studie legen nahe, daß sich bei Patienten, die der Plasmapherese zugeführt

1. Einleitung

wurden, bevor sie intravenös Immunglobuline erhielten, eine erhebliche Verbesserung im Krankheitsverlauf zeigte (Pham et al. 2011). Bei verzögerter Diagnosesicherung und/ oder bei negativer Tumorsuche war der Einsatz der Second-Line-Therapie häufiger erforderlich. Beschrieben wird, dass eine Reduktion der NMDA-Serumantikörper nach Immuntherapie mit einer Besserung der Klinik korreliert (Irani et al. 2010). Viele Patienten benötigen mechanische Beatmung und intensivmedizinische Überwachung über einen langen Zeitraum. Empfehlenswert erscheint zudem langfristige physikalische Therapie (Sansing et al. 2007). In einigen Fällen von Status epilepticus bei NMDA-Enzephalitis ist die Elektrokonvulsionstherapie erfolgreich eingesetzt worden (Braakman et al. 2010).

1.5.6. Differentialdiagnose

Differentialdiagnostisch sollten weitere Enzephalitiden autoimmuner und/ oder paraneoplastischer Genese sowie infektiöse Gehirnentzündungen in Betracht gezogen werden. Die Diagnosen „neuaufgetretene Epilepsie“, „Enzephalitis ohne Erregernachweis“ und „subakute Psychose“ sollten als Differentialdiagnose eine NMDA-Rezeptor-Enzephalitis in Erwägung ziehen und gegebenenfalls Anlass zur Bestimmung der Antikörper gegen NMDA-Rezeptoren sowie weiterer neuronaler Autoimmunantikörper sein (Prüss et al. 2010; Barry et al. 2011; González-Valcárcel et al. 2010). Das Gebiet der autoimmunen Enzephalitiden, seien sie nun paraneoplastisch induziert oder nicht, ist ein stetig wachsendes.

1.5.7. Pathogenese

Die Pathogenese der NMDA-Rezeptor-Enzephalitis ist nicht geklärt. Ein möglicher Erklärungsansatz liegt im Zusammenhang mit dem beschriebenen gleichzeitigen Auftreten von Keimzelltumoren. Aufgrund der Assoziation von Teratomen und Fällen von limbischer Enzephalitis wurde die Anti-NMDA-Rezeptor-Enzephalitis entdeckt. Möglicherweise ist in diesen paraneoplastischen Fällen eine Voraussetzung zur Antikörperbildung das Vorliegen von Ektoderm oder unreifem oder reifem Nervengewebe innerhalb des Keimzelltumors. Das Ektoderm stellt die embryonale Vorstufe des Nervensystems dar. Tüzün konnte nachweisen, daß in allen der 11 untersuchten Teratome von Patienten mit NMDA-Enzephalitis nicht nur Nervengewebe zu finden war, sondern daß auch NMDA-Rezeptoren in unterschiedlichem Ausmaß exprimiert wurden. Bei zwei von drei neurologisch gesunden Patientinnen mit ovariellen Teratomen ohne NMDAR-Antikörper konnte jedoch ebenfalls der Nachweis von NMDA-Rezeptoren im Teratomgewebe erbracht werden (Tüzün et al. 2009). Auch Tachibana wies die reichliche Expression von mehreren Glutamatrezeptoren, darunter auch der NMDA-Rezeptor, in ovariellen Teratomen nach und zwar sowohl in reifem als auch in unreifem

1. Einleitung

Nervengewebe. Jedoch auch im Ovar von gesunden Kontrollpatientinnen scheinen NMDA-Rezeptoren exprimiert zu werden, Tachibana konnte eine schwache Reaktivität mit Anti-NR-2B-Antikörpern sowie mit weiteren Antikörpern gegen Glutamat-Rezeptoren aufzeigen (Tachibana et al. 2013). Tabata untermauert diese Nachweise mit seiner Studie: bei allen 22 eingeschlossenen Patienten mit Teratomen zeigte sich neuronales Gewebe sowie die NMDA-Rezeptor-Untereinheit. Bei den zudem an Anti-NMDA-Rezeptor Enzephalitis erkrankten Individuen war die Lymphozyten-Infiltration des Teratoms im Bereich des neuronalen Gewebes dichter und durch antikörperproduzierende B-Lymphozyten charakterisiert (Tabata et al. 2013). Diese Beobachtungen decken sich mit den histopathologischen Untersuchungen von Dabner (Dabner et al. 2012) und untermauern die Hypothese der Antigen-präsentierenden Funktion des Nervengewebes im Teratom bei der paraneoplastischen Form der NMDA-Rezeptor-Enzephalitis. NMDA- Antikörper verursachen im Zentralnervensystem und in beträchtlichem Maße im Hippocampus eine Antikörpertiter-abhängige, spezifische und reversible Verminderung der Dichte an NMDA-Rezeptoren. Auf diese Weise werden die NMDA-Rezeptor-vermittelten Reaktionen in den Synapsen eingeschränkt, was zu den beschriebenen typischen Symptomen der NMDAR-Enzephalitis führt (Hughes et al. 2010). So lassen sich auch die unterschiedlichen Ausprägungen der Symptome bei den Betroffenen, als auch die Phasen der Erkrankung sowie die Abhängigkeit von den Antikörpertitern verstehen. Es gibt diverse Erklärungsansätze für die Pathogenese der NMDAR-Enzephalitis. Man nimmt an, dass sowohl die Autoimmunerkrankung wie auch die paraneoplastische NMDAR-Enzephalitis durch einen Virusinfekt getriggert werden. Beschrieben worden sind auch Fälle von Enzephalitiden, die durch Herpes simplex verursacht wurden, bei denen die Patienten später auch an NMDA-Rezeptor-Enzephalitis erkrankten (Desena et al. 2014). Für einen viralen Auslöser spricht auch, dass bei vielen Patienten auftretende Prodromalstadium mit Fieber und weiteren Symptomen einer Erkältung. Hier könnte beispielsweise eine virusinduzierte Entzündungsreaktion im Teratom oder im Ovar eine vermehrte Expression von NMDA-Rezeptoren im Teratom oder im Ovar und nachfolgend die Antikörperproduktion auslösen. Dagegen spricht, dass bezüglich der Menge an Nervengewebe wie auch bezüglich des Grades an Entzündungszellen im epithelialen oder mesenchymalem Gewebe des Teratoms keine Unterschiede zwischen den Patientinnen mit einem Teratom und denen mit Teratom und NMDA-Rezeptor-Enzephalitis bestanden (Tachibana et al. 2012). Es könnte sein, dass ovarielle Teratome, die große Anteile an Nervengewebe beinhalten, mit einem höheren Risiko für den Ausbruch einer NMDA-Rezeptor-Enzephalitis behaftet sind gegenüber Teratomen, die wenig Ektoderm abstammendes Gewebe aufweisen.

1. Einleitung

Möglicherweise ist auch eine virusbedingte erhöhte Durchlässigkeit der Blut-Hirn-Schranke pathognomonisch für die NMDAR-Enzephalitis. Es gibt Hinweise, dass eine genetische Variante und eine durchgemachte Influenza A Infektion prädisponierende Faktoren für die Erkrankung sind. Ebenso scheint eine zeitweise beeinträchtigte Blut-Hirn-Schranke beispielsweise nach Traumata oder nach Geburtskomplikationen den Ausbruch einer NMDA-Rezeptor-Enzephalitis zu triggern (Hammer et al. 2013). Die jahrzehntelang vertretene Hypothese, die Blut-Hirn-Schranke sei für Antikörper nicht passierbar, widerlegte Poduslo bereits 1994. Er konnte zeigen, dass der IgG-Spiegel definierter Antikörper im Liquor ungefähr einem Prozent seiner Menge im Plasma entspricht. IgG stellt Poduslo zufolge sogar beinahe 10% der Proteinmenge im Liquor gesunder Probanden dar, er geht von einem „dynamischen Gleichgewicht“ der Antikörper-Spiegel im Liquor vs. Plasma aus (Poduslo et al. 1994). Im Rahmen entzündlicher Prozesse wird die Blut-Hirn-Schranke für Proteine, das heißt auch für Antikörper durchlässiger. Der dahinterliegende Mechanismus ist bisher nicht geklärt. Denkbar ist zudem eine Antikörperproduktion durch liquorständige B- oder Plasmazellen (Martinez-Martinez et al. 2013). In zahlreichen Studien wurde bewiesen, daß es im Rahmen von autoimmunen Ionenkanal-Erkrankungen zum Passieren von Antikörpern der Blut-Hirn-Schranke kommt.

1.6. Zielsetzung der Studie

Antikörper-Titer bei Patienten mit Teratomen mit NMDA-Rezeptor-Enzephalitis sind höher bei klinischem Vollbild und postoperativ und nach immunmodulatorischer Therapie sinkend (Dalmau et al. 2011). Die Bedeutung von Antikörper-Titern bei Patientinnen mit Teratomen ohne neurologische Symptome ist unklar. Bisher gab es keine Studien, die Patientinnen mit Teratomen auf die Prävalenz von NMDA-Rezeptor-Antikörpern hin untersucht hätten. Teratome finden sich bei zystischen Veränderungen der Ovarien in einem sehr hohen Prozentsatz. Sie sind die häufigsten benignen gynäkologischen Veränderungen der Ovarien. Die Frage war, ob sich bei Patientinnen mit Teratomen Antikörper gegen NMDA-Rezeptoren nachweisen lassen und ob sie daher ein erhöhtes Risiko für NMDAR-Enzephalitis tragen. In unserer Studie sollte auch geklärt werden, ob diese Patientinnen eine, eventuell bis dato unentdeckte, neurologische Symptomatik aufweisen. Damit soll eine Risikoeinschätzung bezüglich einer Anti-NMDA-Rezeptor-Enzephalitis erfolgen und die Frage beantwortet werden, ob das Screening von Patientinnen mit sonographisch auffälligen Ovarpathologien auf Anti-NMDA-Rezeptor-Antikörper sinnvoll ist.

1. Einleitung

Unserer Studie lag die folgende Hypothese zugrunde:

Bei Patientinnen mit Teratomen lassen sich signifikant häufiger NMDA-Rezeptor-Antikörper nachweisen im Vergleich zu gesunden Probandinnen oder zu Patientinnen mit anderen Ovarialpathologien, dadurch ist die Bestimmung von NMDA-Rezeptoren-Antikörpern als Screeningmethode sinnvoll. In dieser prospektiven Fall-Kontroll-Studie sollten drei Patientinnenkollektive untersucht werden: Patientinnen mit Teratomen, Patientinnen mit anderen Ovarialpathologien und gesunde Probandinnen. Patientinnen mit Indikation zur operativen Therapie von Teratomen wurde präoperativ Blutproben (Serum) abgenommen, welches auf Anti-NDMA-Rezeptor-Antikörper untersucht wurde. Gleichzeitig wurde bei Patientinnen und gesunden Probandinnen ein neurologischer Status erhoben.

2. Patientinnenkollektiv, Material und Methoden

2.1. Patientinnenkollektiv

Zwischen Oktober 2011 und Dezember 2012 wurden 35 Frauen in die Studie eingeschlossen. Die Studienteilnehmerinnen lassen sich wie folgt in 3 Gruppen aufteilen: Gruppe A: 20 Patientinnen mit Teratomen des Ovars, Gruppe B: 11 Patientinnen mit anderen gutartigen Ovarpathologien und Gruppe C: 4 gesunde weibliche Kontrollen. Alle Patientinnen wurden in dem oben genannten Zeitraum in der Abteilung für Gynäkologie der Universitätsklinik Charité in Berlin operiert. Alle Frauen gaben nach ausführlicher mündlicher und schriftlicher Aufklärung ihr Einverständnis zur Studienteilnahme mit ihrer Unterschrift. Die Ethikkommission der Charité genehmigte die Durchführung der Studie. Die Daten wurden prospektiv erhoben. Ein Einschluss erfolgte, wenn die körperliche Untersuchung und / oder weitere bildgebende Diagnostik (beispielsweise ein transvaginaler Ultraschall) einen ovariellen Tumor vermuten ließ. Präoperativ erfolgten unmittelbar erneut ein transvaginaler Ultraschall sowie die Blutentnahme. Bei allen Patientinnen erfolgte die Entfernung der Ovarpathologie minimal-invasiv. Alle Studienteilnehmerinnen wurden bezüglich vorangehender oder aktueller neurologischer und gynäkologischer Symptome befragt, es erfolgte eine Erhebung der Anamnese. Die klinisch untersuchenden Ärzte waren Fachärzte für Gynäkologie oder Neurologie. Die Studie erfolgte verblindet. Der Durchführende der Laboruntersuchungen wurde nicht darüber informiert, ob die Serumprobe einer gesunden Probandin, einer Patientin mit einem Eierstockteratom oder einer Patientin mit einer anderen Erkrankung des Ovars zuzuordnen war. Die entnommenen Serumproben der bezüglich neurologischer Symptome asymptomatischen Studienteilnehmerinnen wurden auf NMDA Rezeptor Antikörper der Gruppe Immunglobuline G und auf weitere neuronalen Autoimmunantikörper untersucht. Die Patientinnen mit Teratomen des Ovars wurden mit Patientinnen, die andere gutartige ovarielle Pathologien aufwiesen, ebenso wie mit den gesunden Kontrollen verglichen.

2.2. Material

a) Speziell für die Studie entwickelte Objektträger, mit BIOCHIP bestückt, beschichtet jeweils mit NMDAR-NR1a-, NMDAR-NR1a/NR2b-, AMPAR-GluR1/GluR2, DPPX-IF1-, DPPX-IF2-, GABAR-B1/B2-, LGI1-, CASPR2-, GLRA1b-, GRM1-, GRM5-, MOG-, Tr/DNER-, AQP4-, GAD65-, GAD67-, ZIC-, ARHGAP26-, Yo-, Amphiphysin-, Hu-, Ri-, Ma1-, Ma2-, CV2-, Sox-1-, Recoverin- transfizierten und nicht-transfizierten Zellen, EUROIMMUN

2. Patientinnenkollektiv, Material und Methoden

b)Positive Kontrolle: humaner Anti-Glutamatrezeptor vom Typ NMDA, gebrauchsfertig, EUROIMMUN

c)Negative Kontrolle: humaner Autoantikörper-negativ, gebrauchsfertig, EUROIMMUN

d)Fluorescein-markierte Anti-Human Immunglobuline G der Ziege, gebrauchsfertig, EUROIMMUN

e)Tween® 20 (Polysorbat 20), nichtionisches Detergens, Merck Chemicals

f)Herstellung von Phosphatgepufferter Salzlösung Tween® 20 (PBS Tween® 20), pH-Wert 7,2:

-8 Gramm NaCl,

-0,2 Gramm KCl

-1,44 Gramm Na₂HPO₄

-0,24 Gramm KH₂PO₄

-2 ml Tween® 20

Oben genannte Substanzen in 800 ml destilliertem H₂O lösen und mit destilliertem H₂O auf einen Liter Volumen auffüllen.

g) Glycerol- Eindeckmedium, EUROIMMUN

h) Reagenzträger für Objektträger, EUROIMMUN

i) Deckgläser (23 mm x 62 mm), EUROIMMUN

j)Mikroskopie: Objektiv mit 40-facher Vergrößerung, Anregungsfilter: 488 nm, Farbteiler 510 nm, Sperrfilter: 520 nm

Lichtquelle: EUROIMMUN-LED

Standardchemikalien wurden von der Firma Merck Chemicals (Darmstadt) bezogen.

2.3. Methode

Es erfolgte eine Aufarbeitung der Serumproben mittels indirektem Immunfluoreszenztest mit Hilfe der BIOCHIPS-TITERPLANE®- Technik, die von Euroimmun in Lübeck entwickelt worden ist (Stöcker et al. 2013).

2.3.1. Testsystem

Es handelt sich um ein Testsystem zur in vitro Analyse von menschlichen Antikörpern im Plasma, Serum oder Liquor. Diese Biochips werden auch zu kommerziellen Zwecken standardisiert hergestellt, was bei der Herstellung der Gewebe und transfizierten Zellen aufgrund der Massenproduktion die Variabilität reduziert. Der Gebrauch von Biochips erlaubt eine individuelle Zusammenstellung der zu testenden Substrate mit zeitgleichem Testdurchlauf. Es handelt sich um eine einfach durchzuführende und im Vergleich zu anderen Methoden der Antikörperdiagnostik zeitsparende Methode. In drei Schritten, zunächst mittels zweifacher

2. Patientinnenkollektiv, Material und Methoden

Inkubation, dann mittels Mikroskopie, können Autoantikörper aus Patientenproben durch Bindung an Antigene auf der Biochip-Platte nachgewiesen werden.

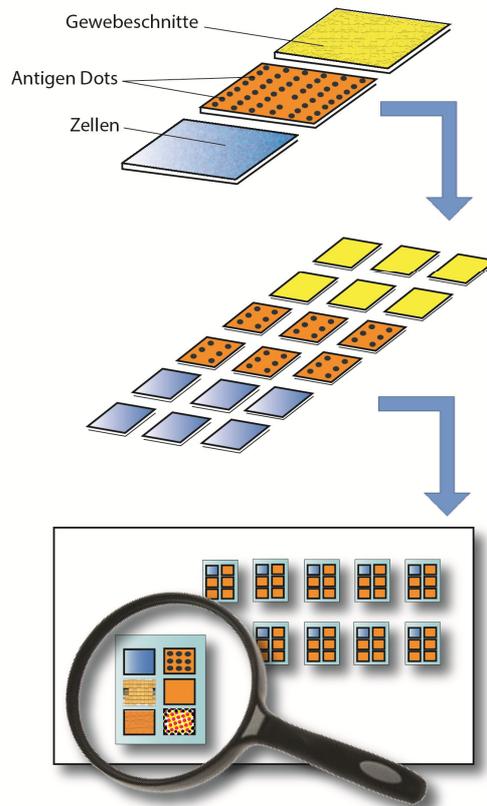


Abbildung 4: Aufbau eines Objektträgers mit Biochips, die gefrorene Gewebeschnitte vom Kleinhirn des Affen, vom Hippocampus der Ratte sowie rekombinante Zellsubstrate beinhalten.

(Quelle: Tatjana Trebesch)

2.3.2. Transfektion:

Die rekombinanten Zellsubstrate stellen das Antigensubstrat dar und wurden durch Antikörper vermittelte Transfektion hergestellt. Die Transfektion beinhaltet das Einschleusen von DNA in eukaryotische Zellen. Biochemisch wird ein Konjugat hergestellt, das in hohem Maße an die DNA bindet. Mittels zellulärer Transportmechanismen gelangt das Konjugat in die Lysosomen und von dort in den Zellkern. Bei der Antikörper-vermittelten Transfektion wiederum stellt das Konjugat ein Antikörper gegen ein spezifisches Membranprotein dar. Rekombinante Zelllinien wurden mit Expressionskonstrukten gegen diverse Proteinstrukturen transfiziert. Das Expressionskonstrukt für die Anti-NMDA-Rezeptor-Enzephalitis war die Rezeptor-Untereinheit NR1. Weitere ausgesuchte Proteinstrukturen sind das mögliche Ziel diverser Autoantikörper, die differentialdiagnostisch bei anderen autoimmunen Enzephalitiden in Frage kommen. Mit Hilfe dieser Methode kann eine standardisierte immunologische Analyse durchgeführt werden.

2.3.3. Verdünnung

Vorab erfolgte die Vorbereitung der Serumproben, wobei eine Verdünnung mit PBS-Tween Puffer im Verhältnis 1: 10 durchgeführt wurde, d. h. es wurden jeweils 100 µl PBS-Tween und 11,1 µl unverdünnte Probe gründlich gemischt.

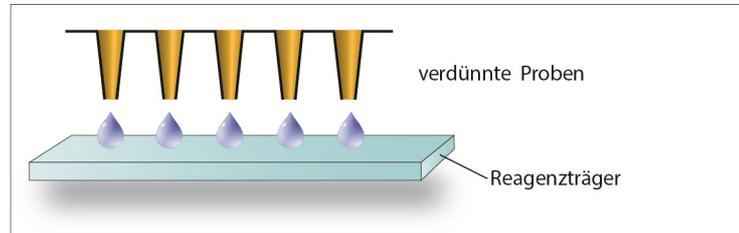


Abbildung 5: Auftragen der verdünnten Serumproben (Quelle: Tatjana Trebesch)

Diese verdünnten Serumproben wurden auf einen Reagenzträger mit Vertiefungen unter Vermeidung von Luftblasenbildung pipettiert. Pro Feld wurden 60 µl Testsubstanz der Serumprobe aufgetragen. In jeden Test-Durchlauf wurden positive und negative Kontrollen eingeschlossen. Die Serumproben der Kontrollen wurden vor Gebrauch erneut durchmischt.

2.3.4. Benetzung der Biochips mit Serumproben

Objekträger mit Euroimmun Biochips, die gefrorene Gewebeschnitte (Kleinhirn des Affen und Hippocampus der Ratte) sowie Euroimmun Biochips, die rekombinante Zellsubstrate (NMDAR-NR1a, NMDAR-NR1a/NR2b, AMPAR-GluR1/GluR2, DPPX-IF1, DPPX-IF2, GABAR-B1/B2, LGI1, CASPR2, GLRA1b, GRM1, GRM5, MOG, Tr/DNER, AQP4, GAD65, GAD67, ZIC, ARHGAP26, Yo, amphiphysin, Hu, Ri, Ma1, Ma2, CV2, Sox-1, recoverin) enthalten, wurden mit Serumproben benetzt.

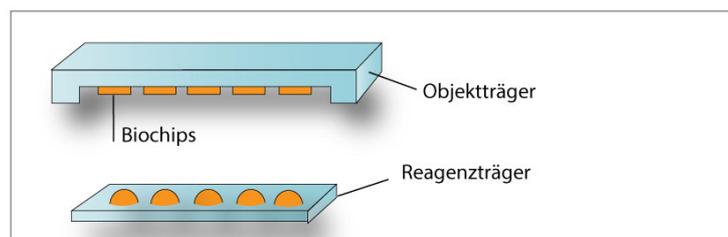


Abbildung 6: Benetzung der Biochips mit Serumproben (Quelle: Tatjana Trebesch)

Die Objekträger waren gebrauchsfertig und wurden bei Raumtemperatur geöffnet und in der folgenden Viertelstunde inkubiert. Bei Proben, die Antikörper der Gruppen Immunglobuline A, G oder M enthielten, banden diese Antikörper an die Antigene.

2.3.5. Inkubation

Um die immunologische Analyse zu standardisieren, war der Zeitpunkt, an dem die Biochip Mosaiken mit der flüssigen Substanz auf den Reagenzträgern in Verbindung gebracht wurden, für alle Serumproben der Gleiche.

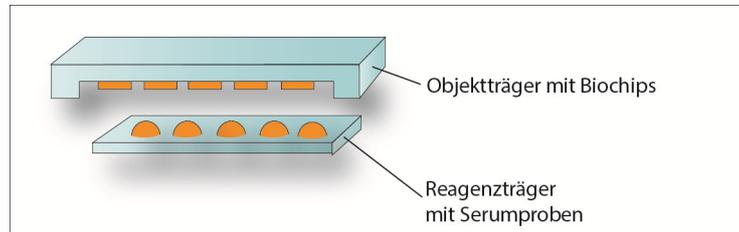


Abbildung 7: Inkubation der Biochips mit Serumproben (Quelle: Tatjana Trebesch)

Die mit Patientenserum benetzten Biochip Objektträger wurden in den verschiedenen Verdünnungen bei Raumtemperatur über 30 Minuten inkubiert. Es erfolgt eine Reaktion der NMDA-Antikörper oder anderer Autoantikörper mit den transfizierten Zellen des Testsubstrats.

2.3.6. Spülung

Hiernach wurden sie mit PBS Tween Puffer überspült und weitere 5 Minuten bei Raumtemperatur in ebendiesem Puffer getaucht.

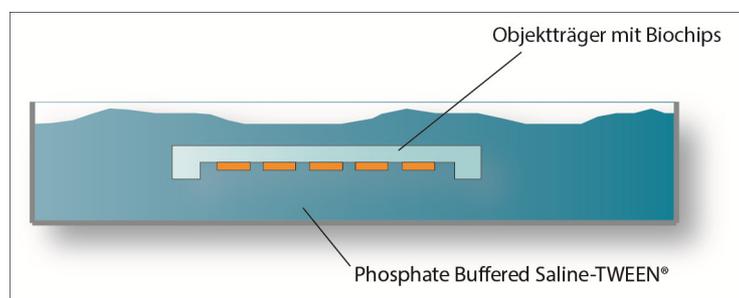


Abbildung 8: Spülung des Biochip-Objektträgers mit PBS-Tween-Puffer (Quelle: Tatjana Trebesch)

2.3.7. Markierung mittels Fluoresceinisothiocyanat-Antikörpern

Der Nachweis der nun gebundenen Antikörper erfolgt durch Hinzugabe von mit dem Fluorescein verwandten Reaktivfarbstoff Fluoresceinisothiocyanat (FITC)-gekennzeichneten Ziegen-Anti-Human Antikörper der Gruppe IgG, IgA and IgM der Firma Euroimmun. Dieses Antiserum wurde vor Gebrauch durchgemischt. Auf jedes Feld des Reagenzträgers wurde erneut 60µl markierten Antiserums mit Pipette aufgetragen.

2. Patientinnenkollektiv, Material und Methoden

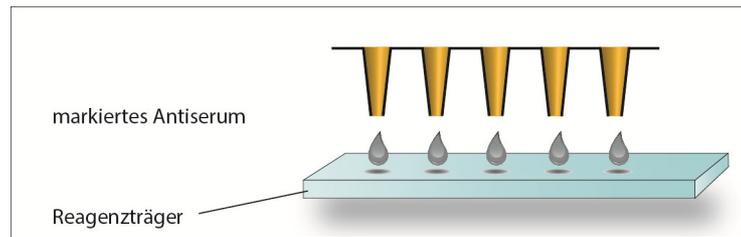


Abbildung 9: Markierung mit mittels Fluoresceinisothiocyanat-Antikörpern (Quelle: Tatjana Trebesch)

Erneut wurde der Reagenzträger in die Vertiefungen des Objektträgers gelegt, so dass eine zeitgleiche Benetzung der Biochips erfolgte. Eine standardisierte Inkubation wurde bei Raumtemperatur über 30 Minuten durchgeführt. Von diesem Zeitpunkt wurde eine direkte Sonnenlichteinstrahlung auf die Objektträger vermieden.

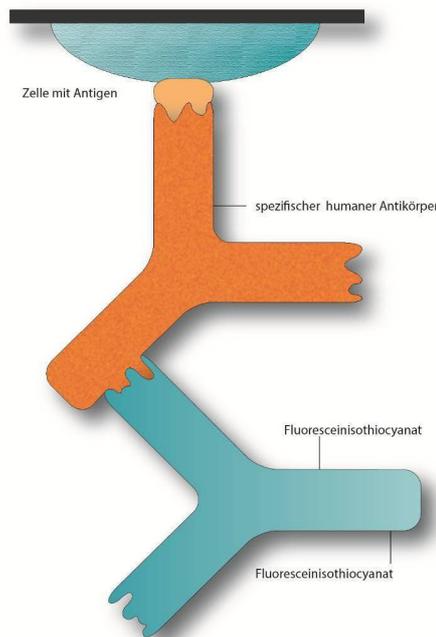


Abbildung 10: Prinzip der Antikörper-vermittelten Markierung mit Fluoresceinisothiocyanat (Quelle: Tatjana Trebesch)

2.3.8. Spülung

Erneut erfolgte ein Spülvorgang des Objektträgers, hierzu wurde der Objektträger mit Phosphatpuffer PBS Tween® abgespült und dann über 5 Minuten in den Phosphatpuffer eingetaucht.

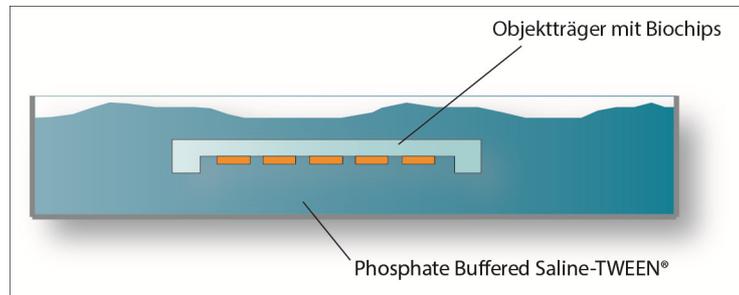


Abbildung 11: Spülung des Biochip-Objektträgers mit PBS-Tween-Puffer (Quelle: Tatjana Trebesch)

2.3.9. Auftragen des Eindeckmediums

20 µl Glycerin wurden auf Deckgläser pipettiert und nach Abtrocknen des Objektträgers mit einem Papier aus Zellstoff wurden diese auf die mit Glycerin betropften Deckgläser gelegt. Auf diese Weise wurden die mit Biochips bestückten Objektträger zeitgleich mit der Immersionsflüssigkeit umschlossen.

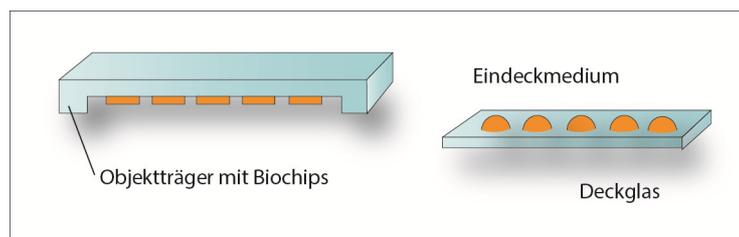


Abbildung 12: Auftragen des Eindeckmediums (Quelle: Tatjana Trebesch)

2.3.10. Fluoreszenzmikroskopie

Die Objektträger wurden mittels Fluoreszenzmikroskopie unter 40-facher Vergrößerung untersucht. Bei positiver Reaktion wird eine zytoplasmatische Fluoreszenz sichtbar, wobei die Zellkerne nur wenig Farbstoff annehmen.

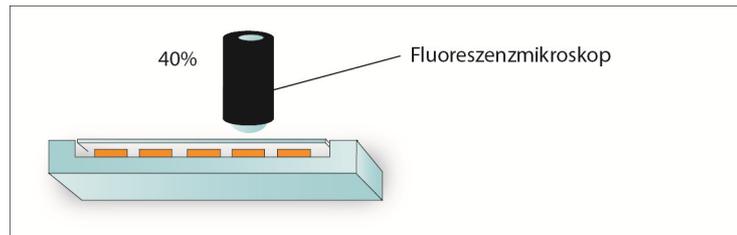


Abbildung 13: Fluoreszenzmikroskopie in 40-facher Vergrößerung (Quelle: Tatjana Trebesch)

2.3.11. Auswertung der Fluoreszenzmikroskopie

Die Proben wurden je nach Ausmaß der Oberflächen-Immunofluoreszenz und im Vergleich mit nicht-transfizierten Zellen und Kontrollproben als negativ oder positiv beurteilt. Die Endpunkt Titer bezogen sich auf die letzte Verdünnung, die einen messbaren Fluoreszenzgrad zeigte. Ausgangspunkt für Positivität war ein Titer von 1:10, zeigte sich bei einem Titer von 1:10 keine Reaktivität, wurde die Probe als negativ beurteilt.

2.4. Statistik

Die Fallzahlschätzung der vorliegenden Untersuchung wurde mit nQuery Advisor 3.0 durchgeführt. Dieser Fallzahlschätzung lag die Annahme zugrunde, dass für die vorliegende Arbeit von 20 Patientinnen mit Teratomen und von 20 Patientinnen bzw. Probandinnen ohne Teratome (20 gesunde Probandinnen und 20 Patientinnen mit anderen Ovarpathologien) Serumproben und Gewebeproben gewonnen werden könnten. In diesem Fall sollte mittels eines Chi-Quadrat-Tests und einem zweiseitigen Signifikanzniveau von 0,05 und einer Power von 80% die Hypothese, dass es zwischen den beiden Gruppen einen signifikanten Unterschied im Auftreten von NMDA-Rezeptor-Antikörpern gibt, bestätigt werden. Es wurde bei der Fallzahlschätzung davon ausgegangen, dass sich in der Gruppe der 20 Probandinnen bzw. Patientinnen mit anderen Ovarpathologien nur bei höchstens einer Frau NMDA-Rezeptor-Antikörper nachweisen lassen, während das in der Gruppe der Patientinnen mit Teratomen bei mindestens 4 Frauen der Fall sein sollte. Die gewonnenen Daten wurden mittels nQuery Advisor 3.0 ausgewertet. Zur biometrischen Auswertung wurden statistische Verfahren der deskriptiv-explorativen Datenanalyse angewandt. Die Darstellung der Ergebnisse erfolgte in Abhängigkeit vom Messniveau der jeweiligen Variablen mit Hilfe der gängigen deskriptiven Maßzahlen (z.B. Mittelwert, Median, Minimum, Maximum, etc.) bzw. durch Häufigkeitsaufzählungen (prozentuale und absolute Häufigkeiten). Zur Veranschaulichung eines Merkmals in mehreren Gruppen wurden Kreuztabellen erstellt. Zum Vergleich eines oder mehrerer Merkmale wurden

2. Patientinnenkollektiv, Material und Methoden

paarige Balkendiagramme eingesetzt. Um die Patientinnenkollektive eindeutig voneinander abzugrenzen, wurden verschiedene Farben eingesetzt. Eine graphische Darstellung erfolgte teils durch Balkendiagramme.

3. Ergebnisse

3.1. Studienteilnehmerinnen

Anti-NMDA-Rezeptor-Antikörper von 20 Frauen mit ovariellen Teratomen, von 11 Patientinnen mit benignen oder malignen ovariellen Tumoren und von 4 gesunden Kontrollen wurden bestimmt. Alle Patientinnen wurden aufgrund einer unklaren Tumormasse am Ovar vorstellig. Bei allen Frauen wurden eine gynäkologische Untersuchung sowie ein transvaginaler Ultraschall durchgeführt.

Diagramm 1: Verteilung der Studienteilnehmerinnen

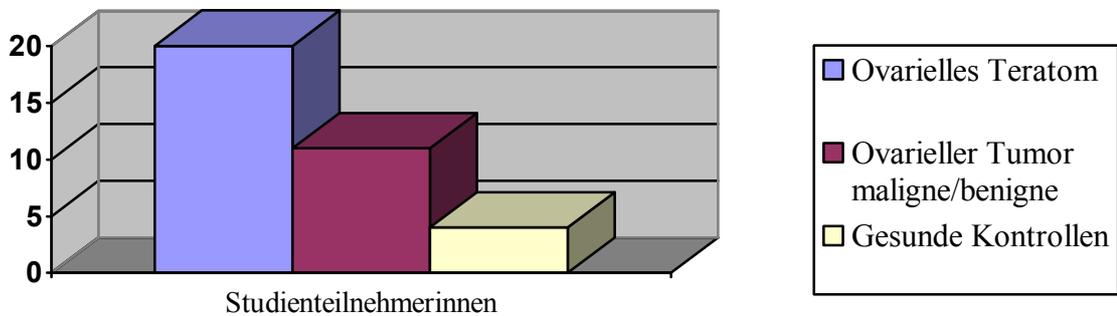
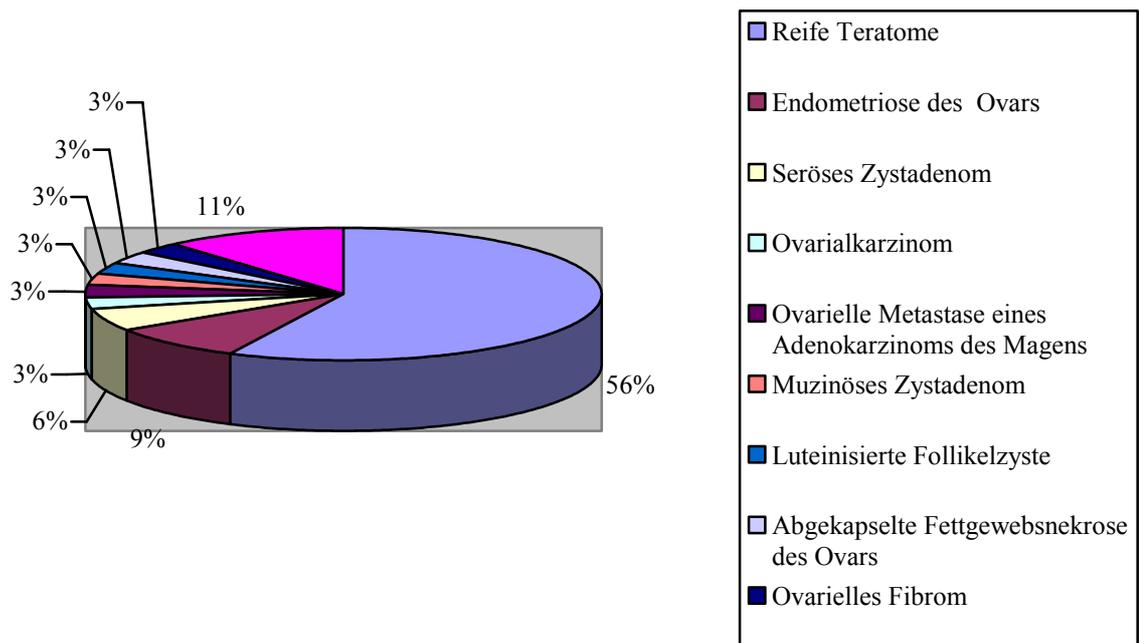


Diagramm 2: Prozentuale Verteilung der verschiedenen Ovarialpathologien und gesunder Kontrollen im Gesamtkollektiv der Studienteilnehmerinnen



3. Ergebnisse

3.2. Alter der Studienteilnehmerinnen

Die Studienteilnehmerinnen waren zwischen 23 und 70 Jahren alt. Das Durchschnittsalter der Frauen lag bei 37 Jahren.

3.3. Cancer-Antigen 125

Der Tumormarker Cancer-Antigen 125 (CA-125) kann bei Frauen mit ovariellen Pathologien erhöht sein. CA-125 wurde bei 29 (83%) der Studienteilnehmerinnen bestimmt, davon litten 18 (51%) an einem Teratom des Ovars, 8 (23%) an einer anderen ovariellen Pathologie und 3 der auf CA-125 getesteten Studienteilnehmerinnen waren gesund. Bei keiner Studienteilnehmerin zeigte sich eine Erhöhung des Ca-125 Wertes, im Mittel lag der Ca-125-Wert bei 26 kIU/ml.

3.4. Tumorgröße

Die an Teratomen leidenden Patientinnen hatten eine mittlere Tumorgröße von 4,5 cm (2-12cm). Die 11 Frauen mit benignen ovariellen Pathologien wurden hinsichtlich des Alters und der Tumorgröße mit der Gruppe der Patientinnen mit Teratomen gematched. Die Tumorgröße bei den Patientinnen mit ovariellen Veränderungen lag im Mittel bei 5,5 cm (3 bis 14cm).

3.5. Neurologische Untersuchung

Bei keiner der Studienteilnehmerinnen fand sich ein pathologischer Befund bei der präoperativen neurologischen Untersuchung. Keine der Patientinnen und kein Individuum der Kontrollgruppe litten an neurologischen Symptomen. Alle Patientinnen wurden Nachuntersuchungen zugeführt, die mittlere Zeitspanne dieser Nachuntersuchungen betrug 13 Monate (6-20 Monate). Für neurologische Auffälligkeiten oder Symptome ergab sich im Zeitraum der Nachuntersuchungen bei keiner der Patientinnen ein Hinweis.

3.6. Operative Ergebnisse

Alle Tumore konnten laparoskopisch und ovarerhaltend vollständig entfernt werden. Bei keiner der Patientinnen ereigneten sich prä-, intra- oder postoperative Komplikationen.

3.7. Histologische Untersuchung

Die histopathologische Untersuchung ergab bei 20 Patientinnen ein Teratom. Davon waren alle 20 Teratome reif Grad 0 nach der Grading-Einteilung von Gonzalez-Crussi. Eine weitere Kategorisierung der Teratome erfolgte makroskopisch: 11 der reifen Teratome waren solide, 9 der reifen Teratome zystisch. Die histologische Untersuchung der Ovarialpathologien ergab bei

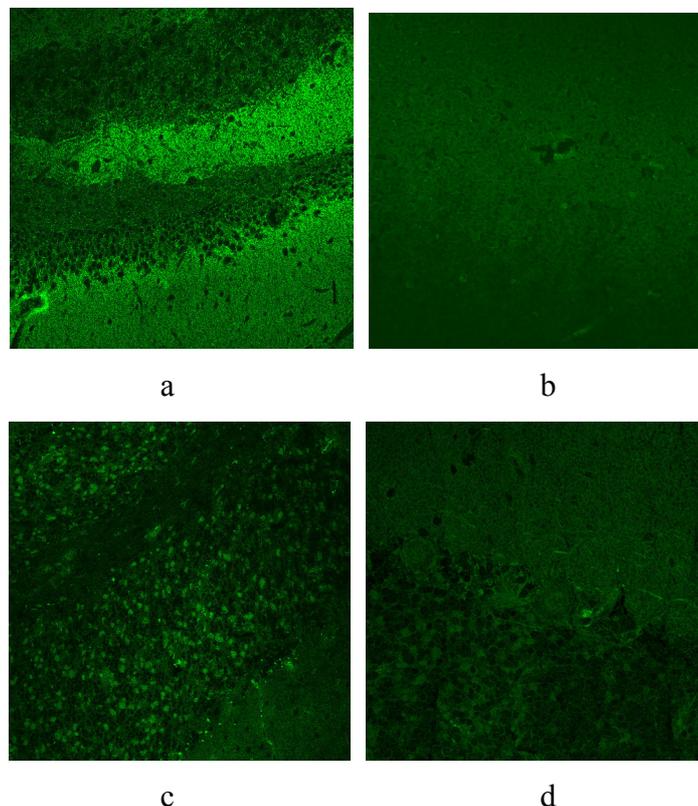
3. Ergebnisse

drei Patientinnen eine Endometriose des Ovars, bei zwei Patientinnen ein seröses Zystadenom, bei einer Patientin ein muzinöses Zystadenom, bei einer Patientin eine luteinisierte Follikelzyste, bei einer Patientin eine abgekapselte Fettgewebsnekrose des Ovars, bei einer Patientin ein ovarielles Fibrom, bei einer Patientin ein Ovarialkarzinom sowie bei einer Patientin eine ovarielle Metastase eines Adenokarzinom des Magens.

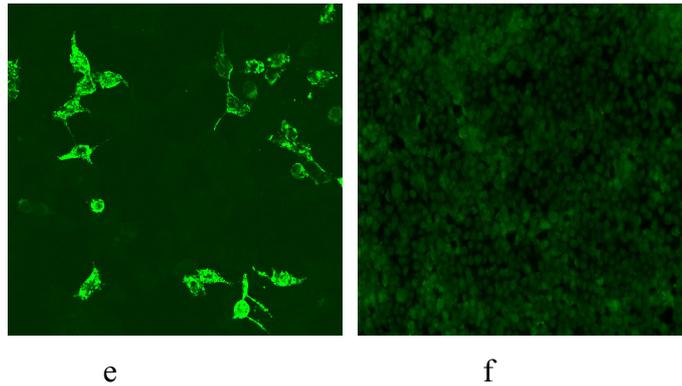
3.8. Antikörperrnachweis

Die Untersuchung auf Anti-NMDA-Rezeptor-IgG-Antikörper wurde durch die indirekte Immunofluoreszenz-Technik von Euroimmun durchgeführt. IgG-Antikörper gegen NMDA-Rezeptor konnte weder bei einer Frau mit ovariellem Teratom noch bei einer Patientin mit anderer Ovarpathologie noch bei einer gesunden Kontrolle nachgewiesen werden.

Abbildung 14: Beispiel eines Nachweises von Antikörpern gegen NMDA-Rezeptoren mittels indirekter Immunofluoreszenz. Das Patientenserum wurde hier auf Hippocampus der Ratte (a, b), auf Affen Kleinhirn (c, d), auf HEK239 Zellen, die mit NMDA-Rezeptor transfiziert wurden (e) sowie auf Kontroll-transfizierte Zellen (f) aufgetragen. Gebundene Antikörper wurden durch FITC-markierte sekundäre Anti-humane IgG-Antikörper detektiert. NMDA-positive-Patienten-Antikörper banden spezifisch an Ratten Hippocampus, Kleinhirn des Affen und HEK293 Zellen, die NMDA-Rezeptor exprimieren, jedoch nicht an Kontroll-transfizierte HEK293 Zellen (f). NMDA-negative Proben auf Ratten Hippocampus und Affen Kleinhirn (b,f).
(Quelle: Frau Dr. Bianca Teegen)



3. Ergebnisse



3.8.1. NMDA-IgA-Antikörper

Bei einer Patientin mit Teratom konnten NMDA-Antikörper der Klasse IgA in der Verdünnung 1:32 nachgewiesen werden. Auffälligkeiten bei der neurologischen Untersuchung imponierten bei dieser Patientin weder bei der Erst- noch bei den Folgeuntersuchungen.

3.8.2. GAD65-Antikörper

Bei einer Patientin mit benignem Zystadenom des Ovars konnten GAD65-Antikörper nachgewiesen werden, die Probe zeigte eine starke Reaktion mit dem Zytoplasma von Purkinje Zellen. Die Patientin litt an keinerlei neurologischer Symptomatik, auch in den nachfolgenden Untersuchungen konnten keine neurologischen Auffälligkeiten, wie beispielsweise eine Ataxie oder ähnliches gefunden werden.

Tabelle 1: Antikörpernachweise mittels Immunofluoreszenz bei Studienteilnehmerinnen

Studienteilnehmerinnen	N	Anti-NMDA NR1/NR2 Antikörper	GAD65-Antikörper	NMDA IgA Antikörper Verdünnung 1:32
Patientinnen mit Teratom	20	0	0	1
Patientinnen mit anderen Ovarialpathologien	11	0	1	0
Gesunde Probandinnen	4	0	0	0

4. Diskussion

Die Anti-NMDA-Rezeptor-Enzephalitis ist eine Erkrankung mit einer Assoziation zu ovariellen Teratomen. Obwohl für diese Krankheit eine Antikörper-vermittelte, auf die NR2-Untereinheit des NMDA-Rezeptors zielende Pathogenese vermutet wird, ist man dieser bisher nicht auf den Grund gekommen. Das Ziel unserer Studie war zu analysieren, ob Anti-NMDA-Rezeptor-Antikörper bei Patientinnen mit Eierstock-Teratomen oder anderen ovariellen Pathologien auftreten, ohne mit neurologischen Auffälligkeiten vergesellschaftet zu sein. Keine der Patientinnen mit Teratomen oder anderen ovariellen Tumoren wiesen Anti-NMDA-Rezeptor-Antikörper der Klasse IgG auf. Dennoch liefern unsere Daten einen wichtigen Beitrag zum weiteren Verständnis über die NMDAR-Enzephalitis.

4.1. Teratome und deren neurologische Bedeutung für Patienten

Paraneoplastische Syndrome des Gehirns und Nervensystems sind ein seltenes Phänomen, aufgrunddessen überrascht es nicht, daß die Assoziation von NMDA-Rezeptor-Enzephalitis und Teratomen erst 2007 beschrieben wurde (Dalmau et al. 2007). Die seither publizierten Fälle über NMDAR-Enzephalitis sind so zahlreich, dass die Vermutung, es handele sich um ein in seiner Prävalenz unterschätztes Krankheitsbild, statthaft ist. Ein Kausalzusammenhang beim gleichzeitigen Auftreten von ovariellen Teratomen mit neurologischen Symptomen wurde früher nicht erkannt oder als Fallbeschreibung meist akzidentell gewertet (Aydiner et al. 1998; Kawaguchi et al. 1988; Nokura et al. 1997 und Taylor et al. 1999). Wotzke vermutete einzelne neuropsychiatrische Symptome bei Patientinnen mit Teratomen sozusagen als Vorboten der NMDA-Rezeptor-Enzephalitis. (Wotzke, 2011). Die neurologischen und psychiatrischen Symptome einer NMDA-Rezeptor-Enzephalitis sind mannigfaltig. Beschrieben sind mildere Verlaufsformen mit Symptomen wie beispielsweise Cephalgie, Zunahme des Tonus und der Rigidität, fokale Epilepsie und orofaziale Dyskinesie bis hin zum klinischen Vollbild mit ihren unter 1.5.3 beschriebenen unterschiedlichen Phasen und deren Symptome (Dalmau et al. 2011; Florance et al. 2009; Prüss et al. 2010; Seki et al. 2008; González-Valcárcel et al 2010). Mittels Fragebogen konnten Teratom-Patientinnen und Kontrollen mit anderen Ovarialpathologien bezüglich des Auftretens psychiatrischer und neurologischer Symptome Auskunft geben. Wotzke konnte darlegen, dass für Patientinnen mit Teratom kein erhöhtes Risiko besteht an neuropsychiatrischen Symptomen zu leiden oder an NMDA-Rezeptor-Enzephalitis zu erkranken (Wotzke, 2011).

4.2. Fehlende neurologische Symptome bei Patientinnen mit Teratomen

Unsere Studiengruppe wurde präoperativ von neurologischen Fachärzten untersucht. Bei allen unseren Studienteilnehmerinnen war die körperliche neurologische Untersuchung unauffällig. Es ergab sich kein Hinweis auf das Vorliegen auch nur diskreter neuropathologischer Veränderungen, zumindest hinsichtlich einer klinischen Apparenz. Das Ziel mittels eines Fragebogens Patientinnen mit NMDAR-Enzephalitis aus einem Kollektiv von Patientinnen mit Teratom zu erkennen konnte von Wotzke nicht erreicht werden. Patientinnen mit Teratomen dieser Studie hatten kein erhöhtes Risiko an NMDA-Rezeptor-Enzephalitis zu erkranken und wiesen gegenüber der Kontrollgruppe nicht vermehrt neurologische oder psychiatrische Symptome auf. Wotzke legte in ihrer Arbeit den Fokus jedoch auf die Selbsteinschätzung der Patientinnen, eine objektive neurologische Untersuchung erfolgte in dieser Studie nicht (Wotzke, 2011). Dennoch decken sich ihre qualitativen Daten mit unseren quantitativen Daten. Dies lässt die Schlussfolgerung zu, dass das alleinige Vorhandensein eines Teratoms bei Patientinnen nicht zu neuropsychiatrischen Symptomen führt, sondern dass bei diesen auch die NMDAR-Antikörperbildung vorerst unterbleibt.

4.3. Neuronales Gewebe

Teratome enthalten meist aus dem Ektoderm stammendes Nervengewebe mit Expression von NMDA-Rezeptoren in der Zellwand, was als ein Mosaikstein bezüglich der Assoziation mit der NMDA-Rezeptor-Enzephalitis gesehen wird. Nervengewebe konnte 2008 in allen untersuchten Teratomen der Fälle von NMDA-Rezeptor-Enzephalitis mit Neoplasmen nachgewiesen werden. (Dalmau et al. 2008). Eine Prämisse der Produktion von Antikörpern gegen den NMDA-Rezeptor kann das Vorhandensein von neuronalem Gewebe sein. Die Präsenz von Nervengewebe in allen untersuchten Teratomen und den unterschiedlichen Anteil an Expression von NMDA-Rezeptoren in Teratomen konnte 2009 belegt werden (Tüzün et al. 2009). Dennoch bleibt darauf hinzuweisen, dass auch bei Patientinnen mit Teratomen, die nicht an NMDA-Enzephalitis litten, NMDA-Rezeptoren im Teratom nachgewiesen werden konnten (Tüzün et al. 2009; Tachibana et al. 2010). Die Expression von NMDA-Rezeptoren in den Oozyten von Ovarien gesunder Kontrollen könnte zu der Entschlüsselung der Pathogenese der NMDA-Rezeptor-Enzephalitis bei Patienten ohne Tumore beitragen. Das Vorhandensein der NMDA-Rezeptor Expression in Tumoren oder im Ovar erklärt jedoch nicht, wie es zur Auslösung der Antikörperproduktion kommt.

4.4. Permeabilität der Blut-Hirn-Schranke

Bei inflammatorischen zerebralen Prozessen kommt es zu einem zeitweiligen Anstieg der Permeabilität der Blut-Hirn-Schranke. Die Gründe hierfür sind bisher nicht vollständig erfasst. Hier ist ein weiterer Ansatzpunkt auf der Suche der Ätiologie der NMDA-Rezeptor-Enzephalitiden aber auch weiterer autoimmuner und paraneoplastischer Enzephalitiden. Passagere Läsionen an der Blut-Hirn-Schranke beispielsweise posttraumatisch, postpartal oder postinfektiös (beispielsweise im Anschluss an eine Herpes-Enzephalitis) begünstigen offenbar die Produktion von NMDAR-Antikörpern (Hammer et al. 2013; Desena et al. 2014). In zahlreichen Studien konnte bewiesen werden, daß Antikörper im Rahmen von autoimmunen Ionenkanal-Erkrankungen die Blut-Hirn-Schranke passieren. Dennoch konnte Diamond nachweisen, dass die Haptid-induzierten NMDA-Rezeptor-Antikörper bei Mäusen nur dann Symptome hervorriefen, wenn vorab auch die Blut-Hirn-Schranke beeinträchtigt wurde (Diamond et al. 2009). Martinez postuliert eine hirntypische unterschiedliche Durchlässigkeit der Blut-Hirn-Schranke für Antikörper sowie für Plasmazellen, so dass die Ausprägung der Krankheit, hier „Phänotyp des Antikörper-Effekts“ genannt, von dem Ort des Überwindens der Blut-Hirn-Schranke, von der Permeabilität der Blut-Hirn-Schranke erhöhenden Faktoren sowie von hirntypischen spezifischen Antikörper-Transportern abhängen könnte (Martinez-Martinez et al. 2013). Dies ist ein weiterer Baustein, der zum Verständnis der so unterschiedlichen Krankheitsverläufe der Anti-NMDA-Rezeptor-Enzephalitis beitragen könnte. Melzer geht davon aus, dass im Rahmen von paraneoplastischen oder nicht paraneoplastischen neuronalen Autoimmunerkrankungen aktivierte zytotoxische CD8 T-Zellen und Plasmazellen und deren Antikörper die Blut-Hirn-Schranke auf para- und transzellulären Wegen überwinden. Sicher erscheint ihm, dass bei dieser Krankheitsentität Nervenzellen das Ziel genauer angepasster Immunantworten sind, seien sie nun T-Zell- oder Antikörper-vermittelt. Einen Unterschied sieht er zwischen der spezifischen Antikörper-Antigen-Erkennung bei Autoantikörpern gegen zellwandständige Proteinen wie beispielsweise die Ionophoren und den CD8-T-Zell-Reaktionen auslösenden Antikörpern gegen intrazelluläre Proteine, deren Produktion vermutlich durch den MHC-II-Komplex antigenpräsentierender Zellen an der Zelloberfläche ausgelöst wird (Melzer et al. 2013). Die zellvermittelte Immunreaktion ist, wie auch die hierdurch ausgelösten Symptome Antigen- unspezifisch. Dies würde auch das schlechtere Ansprechen auf immunmodulatorische Therapie der Autoimmunerkrankungen gegen intrazellulär lokalisierte Proteine erklären.

4.5. Prodromalsymptome

Patienten mit NMDA-Rezeptor-Enzephalitis leiden vor Ausbruch der Enzephalitis anamnestischen Erhebungen zufolge häufig unter Fieber oder anderen grippeähnlichen Symptomen, dies erweckt die Vorstellung, dass die folgenden immunologischen Prozesse durch eine Infektion ausgelöst wurden, beispielsweise durch eine Antikörper-Produktion begünstigende verstärkte Immunantwort und/ oder durch Erhöhung der Permeabilität der Blut-Hirn-Schranke (Prüss et al. 2010). Umgekehrt könnte das Ausbleiben solcher immunstimulierender Abläufe bei unseren Patienten mit Teratomen die Abwesenheit nachweisbarer Anti-NMDA-Antikörper erklären. Unsere Patienten zeigten sich asymptomatisch bezüglich neurologischer Auffälligkeiten. Demzufolge erscheint ein Screening auf Anti-NMDA-Rezeptor-Antikörper bei Patienten mit Teratomen nur in den Fällen indiziert, bei denen es zu neurologischen Symptomen kommt oder wenn Prodromalsymptome einer Anti-NMDA-Rezeptor Enzephalitis identifiziert werden können.

4.6. Lymphozyteninfiltration in ovariellen Gewebe als ein Mosaikstein hinsichtlich der virusinduzierten Pathogenese

Interessant hinsichtlich der virusinduzierten Pathogenese der paraneoplastischen Form der NMDAR-Enzephalitis ist die Ansammlung von Lymphozyten, insbesondere von zur humoralen Produktion befähigten B-Lymphozyten, in den Teratomen dieser Patientinnen (Tabata et al. 2013). Weitere histopathologischen Untersuchungen ovarieller Teratome von an NMDAR-Enzephalitis erkrankten Personen ergaben ebenfalls intratumorale Lymphozyteninfiltrate (Dabner et al. 2012). Die Antigen-präsentierende Funktion des Nervengewebes im Teratom bei der paraneoplastischen Form der NMDA-Rezeptor-Enzephalitis ist zu postulieren. In Frage kommt eine virusinduzierte Entzündungsreaktion im Teratom oder im Ovar, die konsekutiv eine vermehrte Expression von NMDA-Rezeptoren im Teratom oder im Ovar und nachfolgend die Antikörperproduktion auslösen. Es könnte sein, dass ovarielle Teratome, die große Anteile an Nervengewebe beinhalten, mit einem höheren Risiko für den Ausbruch einer NMDA-Rezeptor-Enzephalitis behaftet sind gegenüber Teratomen, die wenig Ektoderm abstammendes Gewebe aufweisen.

4.7. Fehlende Antikörper-Titer bei Patientinnen mit Teratom

In unserem Studienkollektiv hatte keine der untersuchten Patientinnen mit Teratom NMDA-Rezeptor-Antikörper der Gruppe IgG. Dalmau beschreibt seronegative Patienten mit

4. Diskussion

Antikörpernachweis im Liquor. Bei 20% der Patienten mit NMDA-Rezeptor-Enzephalitis konnten bei Krankheitsbeginn keine Antikörper im Liquor nachgewiesen werden, dieser Prozentsatz sinkt mit Dauer der Erkrankung. Serumnegative Patienten mit positivem Liquorbefund sind besonders bei verzögerter Diagnosestellung beschrieben. Er erachtet, dass bei Patienten mit protrahiertem Verlauf kein Nachweis von Antikörpern im Serum erbracht werden kann, während im Liquor bereits Antikörper nachzuweisen wären (Dalmau et al. 2011). Es ist denkbar, dass bei Patientinnen aus unserem Kollektiv keine NMDAR-Antikörper der Klasse IgG im Serum nachweisbar waren, während bei Asymptomatik ein Antikörpernachweis im Liquor hätte erbracht werden können. Eine Liquorgewinnung ist bei neurologisch unauffälligen Patientinnen schwierig durchsetzbar und wurde von uns als zusätzliches diagnostisches Mittel verworfen, da die hierfür erforderliche Lumbalpunktion mögliche gesundheitliche Risiken bergen würde. Die hohe Sensitivität des Antikörpernachweises mittels Immunofluoreszenz lässt die Möglichkeit von falsch negativen Serumproben unserer Patientinnen unwahrscheinlich erscheinen.

4.8. Fehlender Antikörpernachweis bei Patientinnen mit Teratomen und anderen Pathologien des Ovars

Wir sahen bezüglich des Antikörpernachweises keine Unterschiede in unserer Zielgruppe, den Patientinnen mit Teratomen, versus der Kontrollgruppe, den Patientinnen mit anderen Ovarpathologien. Unsere Daten weisen darauf hin, dass weder bei Teratom-Patientinnen noch bei Frauen mit anderen Eierstockerkrankungen, die keine neurologischen Auffälligkeiten haben, IgG Antikörper gegen NMDA-Rezeptoren zu finden sind. Dies gibt zu der Vermutung Anlass, dass Teratome alleine nicht eine NMDA-Rezeptor-Enzephalitis auslösen. Die Frage, ob das Screening auf NMDA-Rezeptor-Antikörper bei histologisch gesichertem Keimzelltumor empfehlenswert ist somit mit „Nein“ zu beantworten.

4.9. Differentialdiagnostische Erwägungen

In der vorliegenden Arbeit wurden Patientinnen mit Eierstockerkrankungen sowie gesunde Probandinnen hinsichtlich NMDA-Rezeptor-Autoantikörper gescreent. In der vergangenen Dekade wurde zunehmend über durch Autoantikörper verursachte Enzephalitiden berichtet. Hierbei kann eine Klassifizierung in Bezug auf das durch den Antikörper bindende Antigen erfolgen. Eine weitere Aufteilung ist einerseits in die paraneoplastischen Erkrankungen, die mit onkoneuronalen Antikörpern vergesellschaftet sind, die sich gegen intrazelluläre Antigene richten, möglich. Auf der anderen Seite stehen die Enzephalitiden, die durch Antikörperreaktion

4. Diskussion

gegen neuronale zellwandständige Antigene ausgelöst werden. Onkoneuronale Antikörper sind mit Auftreten von Malignomen assoziiert und lösen paraneoplastische Syndrome vielfältiger Symptomvarianz aus. Beispiele für limbische Enzephalitis auslösende Antikörper gegen die in der Zelle präsentierten Antigene sind Amphiphysin, Ri, Ta, CV2/CRMP-5, Ma1, Yo und Hu. Das mögliche Auftreten einer limbischen Enzephalitis durch diese Antikörper machen sie für differentialdiagnostische Erwägungen interessant. Neuronale Antikörper gegen Antigene in der Zellmembran sind Anti-VGKC (gegen spannungsabhängige Kaliumkanäle), genauer gegen die mit dem Kanal verbundenen Proteinen LG1/LG2 und CASPR1/2, gegen GAD, AMPA und gegen NMDA-Rezeptoren. (Dalmau et al. 2007; Graus et al. 2012; de Graaff et al. 2012; Rosenfeld et al. 2012; Titulaer et al. 2014; Adamus 2009; Kerasnoudis et al. 2011; Jarius et al. 2013). Laut Dalmau sind limbische Enzephalitiden, die durch Antikörperreaktion gegen intrazelluläre Antigene ausgelöst werden, meist durch zytotoxische T-Zell-Reaktionen charakterisiert und einer Therapie wenig zugänglich. Demgegenüber gibt es bei den gegen Oberflächen-Antigen ausgelösten limbischen Enzephalitiden durchaus Therapieoptionen (Dalmau et al. 2007). In der Literatur finden sich Hinweise zu Kreuzreaktivität beziehungsweise zu der Überlappung von autoimmunen Nervenerkrankungen. Beschrieben wurden Patienten mit Multiple Sklerose beziehungsweise Neuromyelitis optica, ebenfalls eine Erkrankung aus der Gruppe der demyelinisierenden Krankheiten, mit atypischen Symptomen bei denen Anti-NMDA-Rezeptor-Antikörper nachgewiesen werden konnten. Desweiteren wurden bei NMDA-Rezeptor-Enzephalitis Erkrankten simultan oder konsekutive Episoden von für demyelinisierende Erkrankungen typische Symptomen berichtet (Titulaer et al. 2014). Die Patientinnen unserer Studiengruppe wurden auf alle in der Tabelle 2 aufgelisteten Antikörper hin untersucht. Wir konnten bei einer Patientin IgA Antikörper gegen den NMDA-Rezeptor und bei einer anderen Patientin GAD65 Antikörper nachweisen. Es bleibt festzustellen, dass mit zunehmendem Interesse an paraneoplastischen und nicht-paraneoplastischen neuronalen Autoimmunerkrankungen sowie mit Verbesserung der Diagnostik nicht nur immer neue Autoimmunantikörper entdeckt werden sondern dass auch Immunglobuline anderer Klassen bei diesen Patienten als Zufallsbefund auftreten.

4. Diskussion

Erkrankung/ Syndrom/ neuronaler Antikörper	Targetprotein/ Rezeptorklasse	Antigen- Lokalisation	Klinik	Mögliche(r) assoziierte(r) Tumor(e)
Anti-NMDA-Rezeptor-Enzephalitis	NMDA-Rezeptor	Zellwand	Limbische Enzephalitis, Schizophrenie	Teratome
Anti-GABA-Enzephalitis	γ -Aminobuttersäure Rezeptor B1/B2	Zellwand	Limbische Enzephalitis	Kleinzelliges Bronchial- Karzinom
Anti-LGI1 -Enzephalitis	LGI1 (Leuzin-reiches- Gliom-inaktiviertes Protein)	Intrazellulär	Limbische Enzephalitis, paraneoplastische cerebelläre Degeneration	Kleinzelliges Bronchial- Karzinom
Morvan Syndrom	CASPR2 (Contactin- assozi. Protein) / Spannungsabhängiger Kaliumkanal (VGKC)	Zellwand	Limbische Enzephalitis, Morvan Syndrom	Thymome
Anti-AMPA-Rezeptor Enzephalitis	Glutamat Rezeptor 1/2 (GluR1)/ (GluR2), Untereinheit des Alpha- Amino-3-Hydroxy-5- Methyl-4- Isoxazolepropionsäure (AMPA)-Rezeptors	Zellwand	Limbische Enzephalitis	Kleinzelliges Bronchial- Karzinom, Mamma- Karzinom, Thymom
GAD65/ 67-positive Enzephalitis	Glutamicaciddecarboxyla se 65/ 67 kDalton	Zellwand	Stiff-person- Syndrom, limbische Enzephalitis	-
Anti-Yo	Yo (PCA-1) , Leuzinzipper Protein	Zytoplasmatische Proteine der Purkinje-Zellen des Kleinhirns	Paraneoplastische cerebelläre Degeneration, cerebelläre Ataxie	Mamma- Karzinom, Ovarialkarzinom
Neuromyelitis optica	Aquaporin-4 (AQP4), Wasserkanalprotein / Myelin-Oligodendrozyt- Glykoprotein (MOG)	Zellmembran	Schwere optische Neuritis und transverse Myelitis	-
Anti-Tr-Antikörper	Tr/DNER Delta/Notch- like epidermal growth factor-related receptor, ein Protein im Cytoplasma der Purkinje-Zellen	Intrazellulär	Paraneoplastische cerebelläre Degeneration	Hodgkin Lymphom
Anti-DPPX Enzephalitis	Dipeptidyl-Peptidase 6 (DPPX), Untereinheit des KV4 Kaliumkanals	Zellwand	ZNS- Übererregbarkeit (Agitation, Myoklonus, Tremor, Epilepsie), Diarrhoeen durch DPPX Expression im mysenterischen Plexus	-
Anti-Hu- Antikörper	Hu (ANNA-1) , RNA- bindendes Protein	Intrazellulär	Enzephalomyelitis, limbische Enzephalitis, Hirnstamm- Enzephalitis, paraneoplastische cerebelläre Degeneration, cerebelläre Ataxie,	Kleinzelliges Bronchial- Karzinom, muzinöser Borderline Ovarialtumor, Harnblasen- Karzinom

4. Diskussion

			sensorische Neuronopathie, Trigemineuralgie, gastrointestinale Pseudoobstruktion	
Anti-Ri	Ri(ANNA-2), RNA-bindendes Protein	Zelle ZNS	Hirnstamm-Enzephalitis, Opsoklonus, Myoklonus	Mamma-Karzinom, kleinzelliges Bronchial-Karzinom
Anti-Ma1/Ma2	Ma1 und Ma2, neuronukleäre Proteine	Zellkern	Limbische Enzephalitis, Hirnstamm-Enzephalitis	Hodentumor
Anti-Amphiphysin	Amphiphysin	Zellwand	Stiff-Person-Syndrom, Myelopathie, Myoclonus, Encephalomyelitis, sensorische Neuronopathie	Mamma-Karzinom, kleinzelliges Bronchial-Karzinom
Ophelia Syndrom	Metabotroper Glutamat Rezeptor 1/5, onconeuronales Antigen	Intrazellulär	Limbische Enzephalitis	Hodgkin Lymphom
Recoverin	Kalziumbindendes Regulatorprotein der Retina	Intrazellulär	Paraneoplastische Retinopathie	Endometrium-Karzinom, kleinzelliges Bronchialkarzinom
Lambert-Eaton-myasthenisches-Syndrom (LEMS)	Anti-Glia-nukleäre-Antikörper (AGNA)/Anti-SOX1, Zellkernprotein der Bergmann'schen Gliazellen, Marker neuronaler Stammzellen	Intranukleär	Cerebelläre Degeneration, sensible Neuropathie	Kleinzelliges Bronchialkarzinom
Anti-CV2-Antikörper	CRM- Protein (Collapsin-Response Mediator)	Intrazellulär	Limbische Enzephalitis, sensible Neuropathie, cerebelläre Degeneration	Thymom, kleinzelliges Bronchialkarzinom
Anti-ZIC 4-Antikörper	Zic4 (Zinkfingerprotein 4), ein Transkriptionsfaktor mit genaktivierender Funktion	Intrazellulär	Paraneoplastische cerebelläre Degeneration, cerebelläre Ataxie	Ovarielles Adenokarzinom, kleinzelliges Bronchialkarzinom
Anti-ARHGAP26-Antikörper	RhoGTPase-aktivierendes-Protein-26 der Purkinje-Zellen des Kleinhirns	Intrazellulär	Cerebelläre Ataxie	Ovarialkarzinom
Anti-GLRA1b-Antikörper	Alpha 1 b Untereinheit des Glyzinrezeptor	Zellmembran	Erworbene Hyperekplexie des Erwachsenen	-

Tabelle 2: Auflistung der differentialdiagnostisch in Erwägung kommenden, durch neuronale Antikörper induzierten Erkrankungen des zentralen und peripheren Nervensystems des verwendeten zusammengestellten Biochips.

4.10. GAD 65 Antikörper

Bei einer Patientin unserer Studiengruppe konnten GAD65 Antikörper, das heißt Antikörper gegen das Enzym Glutamatdecarboxylase, nachgewiesen werden. Das Immunfluoreszenz-Muster des mit der Serumprobe dieser Patientin benetzten Biochips, der mit Kleinhirn des Affen bestückt war, wies in den Purkinje-Zellen eine wurmartige Färbung der Molekularschicht mit Ausläufern auf. Dieses Muster wird möglicherweise durch die Anti-GAD Antikörper hervorgerufen. Es wird, da Rho-GTPase-transferte Zellen negativ, auch als PCA-2, also zytoplasmatischer Purkinje Antikörper Typ 2, bezeichnet. Ein solches Immunfluoreszenzmuster zeichnende und differentialdiagnostisch in Frage kommende zytoplasmatische Autoantikörper gegen Kleinhirnzellen, wie beispielsweise ARHGAP26, Yo oder Tr/DNER, waren negativ. Es sind Fälle von GAD 65- Antikörper positiver limbischer Enzephalitis beschrieben worden, diese Fälle zeigten Besserung der klinischen Symptomatik nach immunmodulatorischer Therapie, die auch mit einem Absinken der Antikörperspiegel vergesellschaftet waren (Sharma et al. 2012). Die betroffenen Patienten leiden teilweise am sogenannten "Stiff-man-Syndrom", elektrophysiologische Untersuchungen zeigen eine dauerhafte Aktivität der Motoneuronen samt zugeordneter Skelettmuskulatur. Andere Patienten werden mit NMDA-Enzephalitis -ähnlichen Symptomen klinisch apparent (Solimena et al. 1988). Eine weiterführende Untersuchung der Patientin mit GAD 65-Antikörpern war nicht Teil des Studienprotokolls. Es bleibt somit offen, ob eine weiterführende neurologische Diagnostik, beispielsweise eine elektromyographische Untersuchung Hinweise für einen insgesamt erhöhten Muskeltonus hätten erbringen können.

4.11. IgA-NMDA-Rezeptor-Antikörper

Bei einer anderen Patientin unseres Studienkollektivs konnten Anti-NMDA-Rezeptor-Antikörper der Klasse IgA, jedoch nicht der Klasse IgG nachgewiesen werden. Der Nachweis gelang in der Verdünnung 1:32, dies entspricht Angaben aus der Literatur. Diese Antikörper konnten bei Patienten mit progressiven kognitiven Defiziten in derselben Dilution nachgewiesen werden (Prüss et al. 2012). Es handelt sich dabei um Patienten mit einem Alter ab der sechsten Lebensdekade. Auch bei Patienten mit Depression sowie Schizophrenie konnten IgA NMDAR-Antikörper nachgewiesen werden (Steiner et al. 2013). In einer Studie konnten bei 3 von 4 Patienten mit subkortikaler vaskulärer Demenz NMDA-Rezeptor-Antikörper aller Klassen im Serum nachgewiesen werden; erwähnenswert ist, dass dieselben drei Patienten an psychotischen Symptomen litten (Busse et al. 2014). Bei Patienten mit nachgewiesener Anti-NMDA-Rezeptor-

4. Diskussion

Enzephalitis konnten immerhin bei 31% der Patienten neben IgG auch IgA-Antikörper gegen NMDA nachgewiesen werden (Prüss et al. 2012). Prüss postuliert daher eine Pathogenität dieser Antikörper Klasse in Bezug auf die NMDA-Rezeptoren. Er konnte eine präsynaptische Bindung der IgA-Antikörper nachweisen, die möglicherweise für Veränderungen der Expression von Synapsinen, synaptische Vesikel enthaltende Membranproteine, verantwortlich sind. Bei der Inkubation von Nervenzellen aus dem Hippocampus mit NMDA- IgA-Antikörpern konnte das Herunterregulieren von Synapsinen, veranschaulicht werden (Prüss et al 2012). Der von Martinez beschriebene, durch Autoantikörper ausgelöste Verlust an Aktivität am Ionenkanal der synaptischen Rezeptoren wie beispielsweise der AMPA-Rezeptor und der NMDA-Rezeptor geht ebenso nicht nur mit neuroinflammatorischen sondern auch mit neurodegenerativen Prozessen einher (Martinez-Martinez et al. 2013). Der Frage nach der Seroprävalenz von NMDA-Rezeptor-Antikörpern bei dementen Patienten nachgehend, konnten eine Assoziation zwischen dem Probandenalter und dem Auftreten von gegen den NMDA-Rezeptor gerichteten Antikörpern der Klasse IgA, IgM oder IgG gesehen werden: je älter desto häufiger ließen sich bei gesunden Probanden diese Antikörper nachweisen (Busse et al. 2014). Eine Antikörperproduktion als Ausdruck eines primären neurodegenerativen Prozesses widerspricht, dass unsere Patientin zum Zeitpunkt der Studie ein Alter von 26 Jahren hatte und dass bei der Patientin keine Hinweise für ein kognitives Defizit vorlagen. Auch lassen sich bei vielen nachgewiesenen Fällen einer Anti-NMDA-Rezeptor-Enzephalitis zwar IgG-Antikörper jedoch nicht IgA Antikörper nachweisen. In einer Studie aus dem Jahr 2012 zeigte Prüss, dass bei 30% der Patienten mit einer Herpes-simplex-Enzephalitis NMDA-Antikörper der Gruppe IgA, IgG und IgM detektiert werden konnten. Da es bei immunokompetenten Patienten mit Herpes-Enzephalitis häufig zu einem ausgeprägteren Krankheitsbild gegenüber mildereren Verläufen bei Patienten mit eingeschränktem Immunsystem kommen kann, vermutet man sekundäre autoimmunologische Prozesse als Ursache (Prüss et al. 2012). Die genaue Bedeutung dieser IgM und IgA-Antikörper ist nicht gesichert. Warum ein Wechsel zur Produktion von IgG-Antikörpern in vielen Fällen unterbleibt, sollte Gegenstand weiterer Studien sein. Denkbar ist eine ausbleibende B-Zell-Aktivierung ohne oder mit Vorhandensein eines Tumors oder aber eine unzureichende CD4-T-Zell-vermittelte Immunantwort, die zur B-Zellaktivierung vonnöten ist.

Die empfehlenswerte magnetresonanztomographische Untersuchung des Schädels sowie eine Liquoruntersuchung wurden bei der Patientin mit Nachweis von Anti-NMDA IgA-Antikörpern nicht durchgeführt.

4.12. Fehlende Untersuchung von NMDA-Autoantikörpern im Liquor

Der Nachweis von Anti-NMDA-Rezeptor-Autoantikörpern wird üblicherweise bei Fällen von Anti-NMDA-Rezeptor-Enzephalitis routinemäßig sowohl in Serum- als auch in Liquor-Proben durchgeführt. Auch sind die Antikörper-Spiegel im Liquor häufig höher als im Serum, was auf eine intrathekale Antikörperproduktion und auf eine Migration von B-Zellen über die Blut-Hirn-Schranke schließen lässt. Nach erfolgreicher Behandlung konnten Anti-NMDA-Rezeptor-Antikörper nach wie vor im Liquor, jedoch nicht mehr im Serum nachgewiesen werden. (Dalmau et al. 2011; Dalmau et al. 2008; Suh-Lailam et al. 2013). In unserer Studie wurden keine Daten bezüglich Liquoruntersuchung erhoben. Dies impliziert, dass wir potenziell eine Minderzahl an positiven Fällen übersehen haben könnten. Titulaer sieht ein 15% Risiko für falsch-negative oder falsch-positive Resultate im Fall einer Antikörperbestimmung die, wie in der vorliegenden Arbeit, nur aus Serumproben erfolgt. Er postuliert eine Liquoruntersuchung mittels die GluN1- oder GluN1/2-Untereinheit des NMDA-Rezeptors exprimierende transfizierten HEK (human embryonic kidney)- Zellen sowie zur Risikoreduktion eine zusätzliche Testung, beispielsweise mittels Immunhistochemie (Titulaer et al. 2014). Gresa-Arribas beschrieb jüngst eine 100- prozentige Sensitivität der Liquoruntersuchung auf NMDA-Antikörper bei 250 an NMDA-Enzephalitis erkrankten Patienten; im Serum konnten demgegenüber nur bei 214 der 250 Patienten Antikörper festgestellt werden. Dies entspricht einer Sensitivität von 85,6% (Gresa-Arribas et al. 2014). Bei einer im Hinblick auf die Seroprävalenz von NMDA-Rezeptor-Antikörpern weiteren Untersuchung konnte der Nachweis von NMDA-Rezeptor-Antikörpern bei Probanden lediglich im Serum gelingen, die Liquoruntersuchungen waren negativ hinsichtlich eines Antikörpernachweises (Busse et al 2014). Indes haben wir aufgrund ethischer Gründe keine Liquorproben von Patientinnen oder Kontrollen gewonnen. Dessen ungeachtet sollten bei Patienten mit Prodromalzeichen und neurologischer Symptomatik oder aber bei Symptomen einer Enzephalitis Liquorproben wenn möglich gewonnen werden. Zudem sollten die Patienten sofort hinsichtlich der Präsenz von Teratomen oder weiterer Tumore untersucht werden, da die rasche Entfernung dieser Tumore den Krankheitsverlauf immens verbessern könnte.

4.13. Ovarpathologien und das folgende operative Prozedere

Die Einteilung der Ovarpathologien erfolgte intraoperativ klinisch und makroskopisch durch den Operateur sowie im Anschluss mittels histologischer Differenzierung durch den Pathologen. Die Altersgruppe der Patientinnen mit NMDA-Rezeptor-Enzephalitis und Teratomen liegt meistens im fertilen Alter. Eine Malignität der Ovarialprozesse ist unwahrscheinlich aber nicht

4. Diskussion

auszuschließen. Man sollte die Patientinnen jedoch dringend Ovar-erhaltend operieren. Eine laparoskopische Entfernung ist die Standardtherapie bei Patientinnen mit benignen ovariellen Teratomen. Eine Laparatomie ist bei fast keiner Tumorgröße indiziert (Mais et al. 2003; Briones-Landa et al. 2010). Es gibt keinen Grund, Patientinnen mit Teratomen zu laparotomieren. Wenn eine Malignität zu befürchten ist, kann minimal-invasiv operiert und der Befund onkologisch sicher im Beugebeutel entfernt werden. In unserer Studie konnten wir ebenso untermauern, dass dieses Vorgehen effizient und sicher ist. Dies deckt sich mit weiteren Studien, die ein minimal-invasives Procedere der Laparatomie vorziehen (Howard 1995; Godinjak et al. 2011; Tsikouras et al. 2008). Für die endokrinologische Situation der Patientinnen ist eine Adnexektomie katastrophal. Es gibt keine belastbaren Daten dazu, dass die vollständige Adnexektomie die Prognose von Patientinnen mit NMDA-Rezeptor-Enzephalitis verbessert. Gu ist der Meinung, dass die komplette chirurgische Resektion des Teratoms Therapie der Wahl bei symptomatischen Patienten ist. Eine nicht vollständige Entfernung durch Adhäsion am umgebenden Gewebe birgt laut Gu die Gefahr des Wiederauftretens der NMDA-Rezeptor-Enzephalitis (Gu et al. 2010). Ein besseres Outcome kann laut Lo durch zügige komplette Tumorentfernung erzielt werden (Lo et al. 2010). Iizuka sieht die Teratomentfernung zwiespältig. Er konnte zeigen, dass Patientinnen auch ohne Teratomentfernung gesunden können, wobei zwei der von ihm beschriebenen Patientinnen eine deutlich längere intensivmedizinische Behandlung benötigten: 6 bzw. 9 Monate versus durchschnittlich 3 Monate bei Patientinnen mit Tumorentfernung (Iizuka et al. 2008). Daher empfiehlt er bei negativer Bildgebung eine explorative Laparoskopie (Iizuka 2009). Boeck postuliert sogar eine Ovarektomie bei bildmorphologisch nicht darzustellendem Teratom, da bei einer Patientin ein okkultes Teratom im Ovar gefunden werden konnte und sich nach Entfernung der Eierstöcke eine markante klinische Verbesserung zeigte (Boeck et al. 2013). Auch Cleverly befürwortet eine Ovarektomie, da kleine versteckte Teratome sonst übersehen werden könnten (Cleverly et al. 2014). Einer Keilbiopsie des Ovars wie von Boeck alternativ zur Ovarektomie vorgeschlagen, einer Ovarektomie oder einer explorativen Laparoskopie steht Acién kritisch gegenüber. Teratome können auch extraovariell auftreten, autoimmune Enzephalitiden können auch ohne Teratome auftreten und eine bilaterale Adnexektomie könnte histologisch unauffällige Ovarien enthüllen und für die meist fertilen Patientinnen in der Kastration münden (Acién et al. 2014). Tanyi empfiehlt bei negativer Tumorsuche eine immunmodulatorische Therapie und periodisches Tumorscreening (Tanyi et al. 2012). Mit unserer Studie konnten wir untermauern, dass ein Ovarerhalt sicher und möglich ist.

4.14. Fertilitätserhalt bei minimal-invasivem operativem Vorgehen

Eine komplette Ovariectomie erhöht das Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen und Osteoporose dramatisch. Ghaemmaghami evaluiert das fertilitätserhaltende operative Vorgehen bei Patientinnen mit ovariellen Tumoren und bejaht dieses (Ghaemmaghami et al. 2010). Selbst bei Malignität der ovariellen Tumore bei Kindern und jugendlichen Erwachsenen konnte ein Fertilitätserhalt klar befürwortet werden, die Prognose ist laut Abdel-Hady el-S exzellent (Abdel-Hady el-S et al. 2012). Ein sorgfältiges Abwägen der Risiken der Salpingoophorektomie bei Patientinnen mit Teratomen und NMDA-Rezeptor-Enzephalitis sollte hinsichtlich der Hormonsubstitution und Fertilität gegenüber der nur potentiellen neurologischen Genesung unbedingt erfolgen, zumal auch ohne Tumorentfernung Remissionen beobachtet werden. Bezüglich der Fertilität und des prospektiven Kinderwunsches sollte im Falle einer erforderlichen Entfernung der Ovarien so viel ovarielles Gewebe wie möglich erhalten werden und / oder Kryokonservierung angeboten werden. Etablierte Methoden der Kryokonservierung wie beispielsweise die Vitrifikation sind erprobt und empfehlenswert. Die Vitrifikation ist eine Methode zur Tiefgefrierung von Eizellen, Vorkernstadien und Embryonen. Die Zellen werden auf -196°C schockgefroren. Aktuell wird die Kryokonservierung von Eizellen oder von befruchteten Eizellen als Therapie der Wahl gesehen. Aber auch die Kryokonservierung von ovariellen Gewebe und deren Transplantation nach erfolgter Bestrahlung und Chemotherapie bei Tumorpatientinnen ist bezüglich des obstetrischen Outcomes erfolgsversprechend (Kovacs 2014). Letztere sollte insbesondere erwogen werden, wenn eine hormonelle Stimulation zur Gewinnung von Eizellen kontraindiziert ist (Vulliamoz et al. 2014). Ein weiterer experimenteller Ansatz ist die hormonelle Unterdrückung der Eierstöcke während der Chemotherapie mit luteinisierendem Gonadoliberein (Lambertini et al. 2014). De Vos sieht die Eizell-Vitrifikation und die Eizellreifung in vitro und deren Transplantation sowie die Kryokonservierung von Eierstockgewebe und die Hormontherapie mit luteinisierendem Hormon Releasing-Hormon als Eizellschutz vor den schädigenden Einflüssen einer Chemotherapie als Methoden, die noch in den Kinderschuhen stecken (De Vos et al. 2014). Aktuell und insbesondere für die Zukunft bedeuten diese Methoden für Frauen mit Tumorerkrankungen des Eierstocks die Möglichkeit, ihren späteren möglichen Kinderwunsch erfüllen zu können und damit einhergehend ein besseres Coping mit ihrer Erkrankung.

5. Zusammenfassung

Die Assoziation zwischen Teratomen des Eierstocks und Anti-NMDA-Rezeptor-Antikörpern, die zu NMDA-Rezeptor-Enzephalitis führen, ist nachgewiesen. Die NMDAR-Enzephalitis ist durch unterschiedliche Phasen charakterisierbar. Das Prodromalstadium, das symptomatisch einer unspezifischen viralen Infektion gleicht, wird von mannigfachen psychiatrischen Symptomen abgelöst, die mit fokalen oder generalisierten epileptischen Anfällen einhergehen können. Im Folgenden kommt es zu Veränderungen der Vigilanz und zu Störungen des vegetativen, autonomen Nervensystems, welches die Einstellung vitaler Körperfunktionen reguliert und aufrechterhält. Hieraus resultiert häufig eine umfassende Intensivpflichtigkeit, letztlich kommt es zur Rekonvaleszenz oder die Krankheit nimmt einen letalen Verlauf. Als auslösend werden IgG Antikörper gegen den primär im Zentralnervensystem vorkommenden, membranständigen NMDA-Rezeptor angesehen. Teratome sind als Keimzelltumore in der Lage jedes menschliche Gewebe auszubilden. Dem Ektoderm abstammendes neuronales Gewebe wurde in allen untersuchten ovariellen Teratomen gefunden. Es handelte sich sowohl um Teratome von Patienten mit NMDA-Rezeptor-Enzephalitis als auch um Teratome von ansonsten gesunden Patienten (Dalmau et al. 2008; Tachibana et al. 2010; Tüzün et al. 2009). Wenn die Vorbedingung zur Produktion von NMDA-Rezeptor-Antikörpern das Vorhandensein von NMDA-Rezeptoren ist, so bestätigt der Nachweis von NMDA-Rezeptoren sowohl in Teratomen als auch in gesundem ovariellen Gewebe die Vermutung, dass noch unbekannte pathophysiologische Mechanismen zur Entstehung einer autoimmunen Enzephalitis erforderlich sind (Tachibana et al. 2013). Diskutiert wird beispielsweise eine virale Infektion, die die Antikörperproduktion gegen NMDA-Rezeptoren durch Kreuzreaktivität der Epitope des Virus und des NMDA-Rezeptors im Immunsystem anfacht. Wir stellten die Hypothese auf, dass sich bei Patientinnen mit Teratomen signifikant häufiger NMDA-Rezeptor-Antikörper nachweisen lassen und verglichen diese Zielgruppe mit gesunden Probandinnen und Patientinnen mit anderen Ovarialpathologien. Wir untersuchten die Patientinnen unseres Studienkollektivs hinblicklich neurologischer Symptome klinisch, charakterisierten die minimal-invasiv operierten Teratome und die anderen ovariellen Tumore histologisch und führten eine immofluoreszenzbasierten Antikörpersuchtest auf neuronale Antikörper durch. Die klinischen neurologischen und gynäkologischen Untersuchungen, die Operationen und Sammlung der Serumproben sowie die histopathologische Untersuchungen erfolgten in der gynäkologischen und pathologischen Abteilung der Universitätsklinik Charité Mitte. Die immunofluoreszenzbasierte Antikörperuntersuchung erfolgte bei Euroimmun in Lübeck. Die Teratom-Patientinnen hätten

5. Zusammenfassung

bei Hypothesebestätigung durch eine raschere Diagnosestellung vor Manifestation neurologischer Symptome mittels Antikörper-Screening von einer zeitigeren operativen und/oder immunmodulatorischen Therapie profitieren können. Signifikante Unterschiede zwischen den Studiengruppen hätte ein Screening auf NMDA-Rezeptor-Antikörper bei Teratom-Patientinnen somit validiert. Dem entgegengesetzt belegt unsere Studie, dass die Bestimmung von Anti-NMDA-Rezeptor-Antikörpern bei neurologisch asymptomatischen Patienten mit ovariellen Teratomen oder anderen Ovarpathologien nicht sinnvoll ist. Systematisches Antikörper-Screening von Teratom-Patientinnen ist bezüglich der zeitlich früher determinierten Diagnosestellung einer NMDAR-Enzephalitis nicht erfolgsversprechend. Diese Ergebnisse stimmen mit vorangehenden, durch Fragebogen erhobenen qualitativen Daten überein, die zeigen konnten, dass neuropsychiatrische Symptome bei Patienten mit Teratomen nicht häufiger auftreten (Wotzke, 2011). Eine weitere Studie über die Seroprävalenz von NMDA-Rezeptor-Antikörpern konnte ebenfalls keinen statistischen Unterschied zwischen gesunden Probanden und Demenzkranken erbringen (Busse et al. 2014). Gleichwohl liefert diese Arbeit wertvolle Informationen hinsichtlich dem ovarerhaltenden minimal-invasivem operativen Vorgehen und damit zum Fertilitätserhalt für die von Ovarpathologien betroffenen Patientinnen. Die hier erhobenen Daten zur Seroprävalenz von NMDA-Rezeptor-Antikörpern ermuntern zu weiteren Untersuchungen auf neuronale Antikörper bei neuropsychiatrisch auffälligen Patienten.

6. Literaturverzeichnis

- Abdel-Hady el-S, Abdel-Hady Hemida R, Gamal A, El-Shamey M. Fertility sparing surgery for ovarian tumors in children and young adults. *Arch Gynecol Obstet*. 2012 Feb;285(2):469-71.
- Acién, P, Acién M, Ruiz-Maciá E, Martín-Estefanía C. Ovarian teratoma-associated anti-NMDAR encephalitis: a systematic review of reported cases. *Orphanet J Rare Dis*. 2014; 9(1): 157.
- Adamus G. Autoantibody targets and their cancer relationship in the pathogenicity of paraneoplastic retinopathy. *Autoimmun Rev*. 2009 Mar;8(5):410-4.
- Aydiner A, Gürvit H, Baral I. Paraneoplastic limbic encephalitis with immature ovarian teratoma - a case report. *J Neurooncol*. 1998 Mar;37(1):63-6.
- Barry H, Hardiman O, Healy DG, Keogan M, Moroney J, Molnar PP, Cotter DR, Murphy KC. Anti-NMDA receptor encephalitis: an important differential diagnosis in psychosis. *Br J Psychiatry*. 2011 Dec;199:508-9.
- Blanke ML, VanDongen AMJ. Activation Mechanisms of the NMDA Receptor. Van Dongen AM, editor. *Biology of the NMDA Receptor*. Boca Raton (FL): CRC Press; 2009. Chapter 13. *Frontiers in Neuroscience*.
- Boeck AL, Logemann F, Krauß T, Hussein K, Bültmann E, Trebst C, Stangel M. Ovariectomy despite Negative Imaging in Anti-NMDA Receptor Encephalitis: Effective Even Late. *Case Rep Neurol Med*. 2013;2013:843192.
- Braakman HM, Moers-Hornikx VM, Arts BM, Hupperts RM, Nicolai J. Pearls & Oysters: electroconvulsive therapy in anti-NMDA receptor encephalitis. *Neurology*. 2010 Sep 7;75(10):e44-6.
- Briones-Landa CH, Ayala-Yáñez R, Leroy-López L, Anaya-Coeto H, Santarosa-Pérez MA, Reyes-Muñoz E. [Comparison of laparoscopic vs. laparotomy treatment in ovarian teratomas]. *Ginecol Obstet Mex*. 2010 Oct;78(10):527-32.
- Busse S, Busse M, Brix B, Probst C, Genz A, Bogerts B, Stoecker W, Steiner J. Seroprevalence of N-methyl-D-aspartate glutamate receptor (NMDA-R) autoantibodies in aging subjects without neuropsychiatric disorders and in dementia patients. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. 2014 Sep;264(6):545-50.

6. Literaturverzeichnis

- Cleverly K, Gambadauro P, Navaratnarajah R. Paraneoplastic anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis: have you checked the ovaries? *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2014 Jul;93(7):712-5.
- Dabner M, McCluggage WG, Bundell C, Carr A, Leung Y, Sharma R, Stewart CJ. Ovarian teratoma associated with anti-N-methyl D-aspartate receptor encephalitis: a report of 5 cases documenting prominent intratumoral lymphoid infiltrates. *Int J Gynecol Pathol.* 2012 Sep;31(5):429-37.
- Dalmau J, Bataller L.[Limbic encephalitis: the new cell membrane antigens and a proposal of clinical-immunological classification with therapeutic implications]. *Neurologia.* 2007 Oct;22(8):526-37.
- Dalmau J, Gleichman AJ, Hughes EG, Rossi JE, Peng X, Lai M, Dessain SK, Rosenfeld MR, Balice-Gordon R, Lynch DR. Anti-NMDA-receptor encephalitis: case series and analysis of the effects of antibodies. *Lancet Neurol.* 2008 Dec;7(12):1091-8.
- Dalmau J, Lancaster E, Martinez-Hernandez E, Rosenfeld MR, Balice-Gordon R. Clinical experience and laboratory investigations in patients with anti-NMDAR encephalitis. *Lancet Neurol.* 2011 Jan;10(1):63-74. Review.
- Dalmau J, Tüzün E, Wu HY, Masjuan J, Rossi JE, Voloschin A, Baehring JM, Shimazaki H, Koide R, King D, Mason W, Sansing LH, Dichter MA, Rosenfeld MR, Lynch DR. Paraneoplastic anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis associated with ovarian teratoma. *Ann Neurol.* 2007 Jan;61(1):25-36.
- Desena A, Graves D, Warnack W, Greenberg BM. Herpes Simplex Encephalitis as a Potential Cause of Anti-N-Methyl-d-Aspartate Receptor Antibody Encephalitis: Report of 2 Cases. *JAMA Neurol.* 2014 Mar;71(3):344-6.
- De Vos M, Smits J, Woodruff TK. Fertility preservation in women with cancer. *Lancet.* 2014 Oct 4;384(9950):1302-10. doi: 10.1016/S0140-6736(14)60834-5.
- Diamond, B.,Huerta,P.T.,Mina- Osorio,P.,Kowal,C.,andVolpe,B. T.(2009).Losing your nerves?Maybe it's the antibodies. *Nat.Rev.Immunol.* 9, 449–456.
- Finke C, Kopp UA, Prüss H, Dalmau J, Wandinger KP, Ploner CJ. Cognitive deficits following anti-NMDA receptor encephalitis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2012 Feb;83(2):195-8.

6. Literaturverzeichnis

- Florance NR, Davis RL, Lam C, Szperka C, Zhou L, Ahmad S, Campen CJ, Moss H, Peter N, Gleichman AJ, Glaser CA, Lynch DR, Rosenfeld MR, Dalmau J. Anti-N-methyl-D-aspartate receptor (NMDAR) encephalitis in children and adolescents. *Ann Neurol*. 2009 Jul;66(1):11-8.
- Gabilondo I, Saiz A, Galán L, González V, Jadraque R, Sabater L, Sans A, Sempere A, Vela A, Villalobos F, Viñals M, Villoslada P, Graus F. Analysis of relapses in anti-NMDAR encephalitis. *Neurology*. 2011 Sep 6;77(10):996-9.
- Gable MS, Gavali S, Radner A, Tilley DH, Lee B, Dyner L, Collins A, Dengel A, Dalmau J, Glaser CA. Anti-NMDA receptor encephalitis: report of ten cases and comparison with viral encephalitis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2009 Dec;28(12):1421-9.
- Ghaemmaghami F, Karimi Zarchi M, Naseri A, Mousavi AS, Gilani MM, Ramezanzadeh F, Rezaiof E. Fertility sparing in young women with ovarian tumors. *Clin Exp Obstet Gynecol*. 2010;37(4):290-4.
- Godinjak Z, Bilalović N, Idrizbegović E. Laparoscopic treatment of ovarian dermoid cysts is a safe procedure. *Bosn J Basic Med Sci*. 2011 Nov;11(4):245-7.
- Gonzalez-Crussi F.: Extragonadal teratomas. Atlas of tumor pathology, second series, fascicle 18, Washington D.C. Armed Forces Inst. of Pathology: 1982
- González-Valcárcel J, Rosenfeld MR, Dalmau J. Differential diagnosis of encephalitis due to anti-NMDA receptor antibodies. *Neurologia*. 2010 Sep;25(7):409-13.
- Graaff de E, Maat P, Hulsenboom E, van den Berg R, van den Bent M, Demmers J, Lugtenburg PJ, Hoogenraad CC, Sillevius Smitt P. Identification of delta/notch-like epidermal growth factor-related receptor as the Tr antigen in paraneoplastic cerebellar degeneration. *Ann Neurol*. 2012 Jun;71(6):815-24.
- Granerod J, Ambrose HE, Davies NW, Clewley JP, Walsh AL, Morgan D, Cunningham R, Zuckerman M, Mutton KJ, Solomon T, Ward KN, Lunn MP, Irani SR, Vincent A, Brown DW, Crowcroft NS. Causes of encephalitis and differences in their clinical presentations in England: a multicentre, population-based prospective study. *Lancet Infect Dis*. 2010 Dec;10(12):835-44.
- Graus F, Dalmau J. Paraneoplastic neurological syndromes. *Curr Opin Neurol*. 2012 Dec;25(6):795-801.
- Gresa-Arribas N, Titulaer MJ, Torrents A, Aguilar E, McCracken L, Leypoldt F, Gleichman AJ, Balice-Gordon R, Rosenfeld MR, Lynch D, Graus F, Dalmau J. Antibody titres at

6. Literaturverzeichnis

- diagnosis and during follow-up of anti-NMDA receptor encephalitis: a retrospective study. *Lancet Neurol.* 2014 Feb;13(2):167-77.
- Gu W, Shang H, Jin X, Xie J, Zhao W. Intradural lumbar mature teratoma with neuronal and glial tissue component in an adult. Case report. *Neurol Med Chir (Tokyo).* 2010;50(12):1112-5.
- Hammer C, Stepniak B, Schneider A, Papiol S, Tantra M, Begemann M, Sirén AL, Pardo LA, Sperling S, Mohd Jofry S, Gurvich A, Jensen N, Ostmeier K, Lühder F, Probst C, Martens H, Gillis M, Saher G, Assogna F, Spalletta G, Stöcker W, Schulz TF, Nave KA, Ehrenreich H. Neuropsychiatric disease relevance of circulating anti-NMDA receptor autoantibodies depends on blood-brain barrier integrity. *Mol Psychiatry.* 2014 Oct;19(10):1143-9.
- Harms D, Zahn S, Göbel U, Schneider DT. Pathology and molecular biology of teratomas in childhood and adolescence. *Klin Padiatr.* 2006 Nov-Dec;218(6):296-302.
- Hauser SL, Waubant E, Arnold DL, Vollmer T, Antel J, Fox RJ, Bar-Or A, Panzara M, Sarkar N, Agarwal S, Langer-Gould A, Smith CH; HERMES Trial Group. B-cell depletion with rituximab in relapsing-remitting multiple sclerosis. *N Engl J Med.* 2008 Feb 14;358(7):676-88.
- Howard FM. Surgical management of benign cystic teratoma. Laparoscopy vs. laparotomy. *J Reprod Med.* 1995 Jul;40(7):495-9.
- http://www.euroimmun.de/index.php?id=indirekte_immunfluoreszenz&L=0
- Hughes EG, Peng X, Gleichman AJ, Lai M, Zhou L, Tsou R, Parsons TD, Lynch DR, Dalmau J, Balice-Gordon RJ. Cellular and synaptic mechanisms of anti-NMDA receptor encephalitis. *J Neurosci.* 2010 Apr 28;30(17):5866-75.
- Iizuka T.[Unique clinical features and pathophysiology of anti-NMDA receptor encephalitis]. [Article in Japanese] *Rinsho Shinkeigaku.* 2009 Nov;49(11):774-8.
- Iizuka T, Hara A. Anti-NMDA receptor antibody-mediated encephalitis/encephalopathy. *Rinsho Byori.* 2009 Mar;57(3):252-61.
- Iizuka T, Sakai F, Ide T, Monzen T, Yoshii S, Iigaya M, Suzuki K, Lynch DR, Suzuki N, Hata T, Dalmau J. Anti-NMDA receptor encephalitis in Japan: long-term outcome without tumor removal. *Neurology.* 2008 Feb 12;70(7):504-11.

6. Literaturverzeichnis

- Iizuka T, Yoshii S, Kan S, Hamada J, Dalmau J, Sakai F, Mochizuki H. Reversible brain atrophy in anti-NMDA receptor encephalitis: a long-term observational study. *J Neurol*. 2010 Oct;257(10):1686-91.
- Ikeguchi R, Shibuya K, Akiyama S, Hino S, Kubo H, Takeda T, Shibata N, Yamamoto K. Rituximab used successfully in the treatment of anti-NMDA receptor encephalitis. *Intern Med*. 2012;51(12):1585-9.
- Irani SR, Bera K, Waters P, Zuliani L, Maxwell S, Zandi MS, Friese MA, Galea I, Kullmann DM, Beeson D, Lang B, Bien CG, Vincent A. N-methyl-D-aspartate antibody encephalitis: temporal progression of clinical and paraclinical observations in a predominantly non-paraneoplastic disorder of both sexes. *Brain*. 2010 Jun;133(Pt 6):1655-67.
- Irani SR, Vincent A. NMDA receptor antibody encephalitis. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2011 Jun;11(3):298-304. Review.
- Ishii T, Moriyoshi K, Sugihara H, Sakurada K, Kadotani H, Yokoi M, Akazawa C, Shigemoto R, Mizuno N, Masu M, et al. Molecular characterization of the family of the N-methyl-D-aspartate receptor subunits. *J Biol Chem*. 1993 Feb 5;268(4):2836-43.
- Jarius S, Martínez-García P, Hernandez AL, Brase JC, Borowski K, Regula JU, Meinck HM, Stöcker W, Wildemann B, Wandinger KP. Two new cases of anti-Ca (anti-ARHGAP26/GRAF) autoantibody-associated cerebellar ataxia. *J Neuroinflammation*. 2013 Jan 15;10:7.
- Johnson N, Henry C, Fessler AJ, Dalmau J. Anti-NMDA receptor encephalitis causing prolonged nonconvulsive status epilepticus. *Neurology*. 2010 Oct 19;75(16):1480-2.
- Kashyape P, Taylor E, Ng J, Krishnakumar D, Kirkham F, Whitney A. Successful treatment of two paediatric cases of anti-NMDA receptor encephalitis with Cyclophosphamide: The need for early aggressive immunotherapy in tumour negative paediatric patients. *Eur J Paediatr Neurol*. 2012 Jan;16(1):74-8.
- Kawaguchi K, Kishida S, Okeda R, Funata N, Koike M. Encephalomyeloneuritis with mediastinal germ cell tumor. A paraneoplastic condition? *Acta Pathol Jpn*. 1988 Mar;38(3):351-9.

6. Literaturverzeichnis

- Kerasnoudis A, Rockhoff M, Federlein J, Gold R, Krogias C. Isolated ZIC4 antibodies in paraneoplastic cerebellar syndrome with an underlying ovarian tumor. *Arch Neurol*. 2011 Aug;68(8):1073.
- Kirkpatrick MP, Clarke CD, Sonmezturk HH, Abou-Khalil B. Rhythmic delta activity represents a form of nonconvulsive status epilepticus in anti-NMDA receptor antibody encephalitis. *Epilepsy Behav*. 2011 Feb;20(2):392-4.
- Kovacs P. Fertility preservation in reproductive age women with cancer. *J Obstet Gynaecol India*. 2014 Dec;64(6):381-7.
- Lambertini M, Ginsburg ES, Partridge AH. Update on fertility preservation in young women undergoing breast cancer and ovarian cancer therapy. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2014 Dec 7.
- Linder D, McCaw BK, Hecht F. Parthenogenic origin of benign ovarian teratomas. *N Engl J Med*. 1975 Jan 9;292(2):63-6
- Lo JW, Leung EY, Ng BL, Fu MH, Yip KK, Chan RT, Chang CM. Anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis in a young woman with an ovarian tumour. *Hong Kong Med J*. 2010 Aug;16(4):313-6.
- Mais V, Ajossa S, Mallarini G, Guerriero S, Oggiano MP, Melis GB. No recurrence of mature ovarian teratomas after laparoscopic cystectomy. *BJOG*. 2003 Jun;110(6):624-6.
- Martinez-Hernandez E, Horvath J, Shiloh-Malawsky Y, Sangha N, Martinez-Lage M, Dalmau J. Analysis of complement and plasma cells in the brain of patients with anti-NMDAR encephalitis. *Neurology*. 2011 Aug 9;77(6):589-93.b
- Martinez-Martinez P, Molenaar PC, Losen M, Stevens J, Baets MH, Szoke A, Honnorat J, + Tamouza R, Leboyer M, Os JV, Rutten BP. Autoantibodies to neurotransmitter receptors and ion channels: from neuromuscular to neuropsychiatric disorders. *Front Genet*. 2013 Sep 20;4:181. eCollection 2013. Review.
- McKeon A, Robinson MT, McEvoy KM, Matsumoto JY, Lennon VA, Ahlskog JE, Pittock SJ. Stiff-man syndrome and variants: clinical course, treatments, and outcomes. *Arch Neurol*. 2012 Feb;69(2):230-8.
- Melzer N, Meuth SG, Wiendl H. Paraneoplastic and non-paraneoplastic autoimmunity to neurons in the central nervous system. *J Neurol*. 2013 May;260(5):1215-33. Review.

6. Literaturverzeichnis

- Myrna R. Rosenfeld, Josep Dalmau: Anti-NMDA-Receptor Encephalitis and Other Synaptic Autoimmune Disorders. *Curr Treat Options Neurol.* 2011 June; 13(3): 324–332.
- Noachtar S, Binnie C, Ebersole J, Mauguière F, Sakamoto A, Westmoreland B. A glossary of terms most commonly used by clinical electroencephalographers and proposal for the report form for the EEG findings. *The International Federation of Clinical Neurophysiology. Electroencephalogr Clin Neurophysiol Suppl.* 1999;52:21-41.
- Nokura K, Yamamoto H, Okawara Y, Koga H, Osawa H, Sakai K. Reversible limbic encephalitis caused by ovarian teratoma. *Acta Neurol Scand.* 1997 Jun;95(6):367-73.
- Ohama K, Nomura K, Okamoto E, Fukuda Y, Ihara T, Fujiwara A. Origin of immature teratoma of the ovary. *Am J Obstet Gynecol.* 1985 Aug 1;152(7 Pt 1):896-900.
- Padma s, P Shanmuga Sundaram, and Bobby Varkey Marmattom: PET/CT in the evaluation of anti-NMDA-receptor encephalitis: What we need to know as a NM physician. *Indian J Nucl Med.* 2011 Apr-Jun; 26(2): 99–101.
- Pham HP, Daniel-Johnson JA, Stotler BA, Stephens H, Schwartz J. Therapeutic plasma exchange for the treatment of anti-NMDA receptor encephalitis. *J Clin Apher.* 2011 Dec;26(6):320-5.
- Pillai SC, Gill D, Webster R, Howman-Giles R, Dale RC. Cortical hypometabolism demonstrated by PET in relapsing NMDA receptor encephalitis. *Pediatr Neurol.* 2010 Sep;43(3):217-20.
- Poduslo, J.F., Curran, G.L., and Berg, C.T. (1994). Macromolecular permeability across the blood-nerve- and blood-brain-barriers. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 91, 5705–5709.
- Prüss H, Dalmau J, Arolt V, Wandinger KP. [Anti-NMDA-receptor encephalitis. An interdisciplinary clinical picture]. *Nervenarzt.* 2010 Apr;81(4):396, 398, 400, passim.
- Prüss H, Dalmau J, Harms L, Hölting M, Ahnert-Hilger G, Borowski K, Stoecker W, Wandinger KP. Retrospective analysis of NMDA receptor antibodies in encephalitis of unknown origin. *Neurology.* 2010 Nov 9;75(19):1735-9.
- Prüss H, Finke C, Hölting M, Hofmann J, Klingbeil C, Probst C, Borowski K, Ahnert-Hilger G, Harms L, Schwab JM, Ploner CJ, Komorowski L, Stoecker W, Dalmau J, Wandinger KP. N-methyl-D-aspartate receptor antibodies in herpes simplex encephalitis. *Ann Neurol.* 2012 Dec;72(6):902-11.

6. Literaturverzeichnis

- Prüss H, M. Höltje, N. Maier, A. Gomez, R. Buchert, L. Harms, G. Ahnert-Hilger, D. Schmitz, C. Terborg, U. Kopp, C. Klingbeil, C. Probst, S. Kohler, J.M. Schwab, W. Stoecker, J. Dalmau, K.P. Wandinger. IgA NMDA receptor antibodies are markers of synaptic immunity in slow cognitive impairment. *Neurology*. 2012 May 29; 78(22): 1743–1753.
- Rosenfeld MR, Titulaer MJ, Dalmau J. Paraneoplastic syndromes and autoimmune encephalitis: Five new things. *Neurol Clin Pract*. 2012 Sep;2(3):215-223.
- Sadalage G, Karim A, Jacob S. Autoimmune encephalitis screen—a review of rapid diagnostic screening in 600 patients over 5 years. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2013 Nov;84(11):e2.
- Sansing LH, Tüzün E, Ko MW, Baccon J, Lynch DR, Dalmau J. A patient with encephalitis associated with NMDA receptor antibodies. *Nat Clin Pract Neurol*. 2007 May;3(5):291-6.
- Schmidt D, Kommos F. Teratome des Ovars. Klinisch-pathologische Unterschiede zwischen unreifen und reifen Teratomen. *Pathologe*. 2007 May;28(3):203-8.
- Schmitt SE, Pargeon K, Frechette ES, Hirsch LJ, Dalmau J, Friedman D. Extreme delta brush: a unique EEG pattern in adults with anti-NMDA receptor encephalitis. *Neurology*. 2012 Sep 11;79(11):1094-100.
- Seki M, Suzuki S, Iizuka T, Shimizu T, Nihei Y, Suzuki N, Dalmau J. Neurological response to early removal of ovarian teratoma in anti-NMDAR encephalitis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2008 Mar;79(3):324-6.
- Sharma A, Dubey D, Sawhney A, Janga K. GAD65 Positive Autoimmune Limbic Encephalitis: A Case Report and Review of Literature. *J Clin Med Res*. 2012 Dec;4(6):424-8.
- Solimena M, Folli F, Denis-Donini S, Comi GC, Pozza G, De Camilli P, Vicari AM. Autoantibodies to glutamic acid decarboxylase in a patient with stiff-man syndrome, epilepsy, and type I diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 1988 Apr 21;318(16):1012-20.
- Steiner J, Walter M, Glanz W, et al. Increased Prevalence of Diverse N-Methyl-D-Aspartate Glutamate Receptor Antibodies in Patients With an Initial Diagnosis of Schizophrenia: Specific Relevance of IgG NR1a Antibodies for Distinction From N -Methyl-D-Aspartate Glutamate Receptor Encephaliti. *JAMA psychiatry (Chicago, Ill)* 2013;:1–8.

6. Literaturverzeichnis

- Stöcker W, Saschenbrecker S, Rentzsch K, Komorowski L, Probst C. Nervenarzt. Autoantibody diagnostics in neurology using native and recombinant antigenic substrates. 2013 Apr;84(4):471-6.
- Suh-Lailam BB, Haven TR, Copples SS, Knapp D, Jaskowski TD, Tebo AE. Anti-NMDA-receptor antibody encephalitis: performance evaluation and laboratory experience with the anti-NMDA-receptor IgG assay. Clin Chim Acta. 2013 Jun 5;421:1-6.
- Suzuki S, Seki M, Suzuki N. [Anti-NMDAR encephalopathy: treatment]. Rinsho Shinkeigaku. 2008 Nov;48(11):923-5. Review.
- Tabata E, Masuda M, Eriguchi M, Yokoyama M, Takahashi Y, Tanaka K, Yukitake M, Horikawa E, Hara H. Immunopathological Significance of Ovarian Teratoma in Patients with Anti-N-Methyl-D-Aspartate Receptor Encephalitis. Eur Neurol. 2013 Nov 27;71(1-2):42-48.
- Tachibana N, Ikeda S. Localization of NMDAR-related epitopes in ovarian teratoma: comparison between patients and controls. Rinsho Shinkeigaku. 2012;52(11):982-4.
- Tachibana N, Kinoshita M, Saito Y, Ikeda S. Identification of the N-Methyl-D-aspartate receptor (NMDAR)-related epitope, NR2B, in the normal human ovary: implication for the pathogenesis of anti-NMDAR encephalitis. Tohoku J Exp Med. 2013;230(1):13-6.
- Tachibana N, Shirakawa T, Ishii K, Takahashi Y, Tanaka K, Arima K, Yoshida T, Ikeda S. Expression of various glutamate receptors including N-methyl-D-aspartate receptor (NMDAR) in an ovarian teratoma removed from a young woman with anti-NMDAR encephalitis. Intern Med. 2010;49(19):2167-73.
- Tanyi JL, Marsh EB, Dalmau J, Chu CS. Reversible paraneoplastic encephalitis in three patients with ovarian neoplasms. Acta Obstet Gynecol Scand. 2012 May;91(5):630-4.
- Tavassoli F.A., Devilee P. (Eds.): World Health Organization; Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Breast and Female Genital Organs. IARC Press: Lyon 2003
- Taylor RB, Mason W, Kong K, Wennberg R. Reversible paraneoplastic encephalomyelitis associated with a benign ovarian teratoma. Can J Neurol Sci. 1999 Nov;26(4):317-20.
- Titulaer MJ, Dalmau J. Seizures as first symptom of anti-NMDA receptor encephalitis are more common in men. Neurology. 2014 Feb 18;82(7):550-1.
- Titulaer MJ, Höftberger R, Iizuka T, Leypoldt F, McCracken L, Cellucci T, Benson LA, Shu H, Irioka T, Hirano M, Singh G, Calvo AC, Kaida K, Morales PS, Wirtz PW, Yamamoto T,

6. Literaturverzeichnis

- Reindl M, Rosenfeld MR, Graus F, Saiz A, Dalmau J. Overlapping demyelinating syndromes and anti-NMDA receptor encephalitis. *Ann Neurol*. 2014 Feb 11.
- Titulaer MJ, McCracken L, Gabilondo I, Armangué T, Glaser C, Lizuka T, Honig LS, Benseler SM, Kawachi I, Martinez-Hernandez E, Aguilar E, Gresa-Arribas N, Ryan-Florange N, Torrents A, Saiz A, Rosenfeld MR, Balice-Gordon R, Graus F, Dalmau J: Treatment and prognostic factors for long-term outcome in patients with anti-N-Methyl-D-Aspartate (NMDA) receptor encephalitis: a cohort study. *Lancet Neurol* 2013, 12(2):157–165.
- Tsikouras P, Liberis V, Galazios G, Savidis A, Teichmann AT, Vogiatzaki T, Zervoudis S, Maroulis G. Laparoscopic treatment of ovarian dermoid cysts. *Clin Exp Obstet Gynecol*. 2008;35(2):124-9.
- Tüzün E, Zhou L, Baehring JM, Bannykh S, Rosenfeld MR, Dalmau J. Evidence for antibody-mediated pathogenesis in anti-NMDAR encephalitis associated with ovarian teratoma. *Acta Neuropathol*. 2009 Dec;118(6):737-43.
- Vitaliani R, Mason W, Ances B, Zwerdling T, Jiang Z, Dalmau J. Paraneoplastic encephalitis, psychiatric symptoms, and hypoventilation in ovarian teratoma. *Ann Neurol*. 2005 Oct;58(4):594-604.
- Vulliemoz N, Gaitzsch H, Primi M-P, Wunder D, Perey L, Streuli I. [Fertility preservation techniques in women of reproductive age]. *Rev Med Suisse*. 2014 Oct 22;10(447):1961-2, 1964-6, 1968.
- Waxman EA, Lynch DR. N-methyl-D-aspartate receptor subtype mediated bidirectional control of p38 mitogen-activated protein kinase. *J Biol Chem*. 2005 Aug 12;280(32):29322-33.
- Wotzke, Ella. Dissertation an der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn. „Häufigkeit und Phänotyp neurologischer und psychiatrischer Symptome bei Patientinnen mit ovariellen Teratomen: Eine Fragebogenstudie“ <http://hss.ulb.uni-bonn.de/2011/2449/2449.pdf>

7. Abkürzungen, Abbildungen, Tabellen- und Diagrammverzeichnis

Abkürzungen

AMPA	Amino-3-Hydroxy-5-Methyl-4-Isoxazolepropionsäure
ANNA-1/2	Antineuronaler-nukleärer Antikörper 1 oder 2
AQP4	Aquaporin-4
CASPR2	Contactin-assoziiertes Protein 2
CRM	Collapsin-Response Mediator
DNA	Desoxyribonucleinsäure
DNER	Notch-like epidermal growth factor-related-Rezeptor, entspricht dem Tr-Antigen
DPPX	Dipeptidyl-Peptidase ähnliches Protein 6
EEG	Elektroenzephalogramm
FLAIR	fluid attenuated inversion recovery, einer MRT-Sequenz zur Differenzierung zwischen freier und gewebsgebundener Flüssigkeit
GABA	Gamma-Amino-Buttersäure
GAD65	Glutamicacidcarboxylase 65 kiloDalton
GLRA1b	Alpha 1 b Untereinheit des Glyzinrezeptors
GluR1/2	Glutamat Rezeptor 1/ 2
Hu-Antigen	RNA-bindendes Protein
Ig	Immunglobuline
LG11	Leuzin-reiches-Gliom
Ma1 und 2	neuronukleäre Proteine
MHC-II-Komplex	Haupthistokompatibilitätskomplex II oder Major Histocompatibility Complex II
MMF	Mycophenolat-Mofetil
MOG	Myelin-Oligodendrozyt-Glykoprotein
MRT	Magnetresonanztomographie
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
NMDAR	N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptor
Ri-Antigen	RNA-bindendes Protein

T2	Querrelaxationszeit, eine Zeitkonstante bei der
	Magnetresonanztomographie
VGKC	Spannungsabhängiger Kaliumkanal
WHO	World Health Organization
Zic4	Zinkfingerprotein 4
ZNS	Zentralnervensystems

Abbildungen

- Abbildung 1: Prä- und postsynaptische Zelle mit Induktionsmechanismus des Langzeitpotentials. Durch ausreichende Depolarisierung der postsynaptischen Zelle erfolgt eine pannungsabhängige Aufhebung der blockierten Magnesiumfreisetzung der NMDA-Rezeptoren. Der hierauf folgende Kalziumeinstrom führt zur Langzeitpotenzierung, die eine Proteinsynthese in der Synapse zur Folge hat. _____ 3
- Abbildung 2: Histopathologisches Bild eines Teratoms in Hämatoxylin-Eosin-Färbung in 200 µm Auflösung. _____ 5
- Abbildung 3: typisches Ultraschallbild eines ovariellen Teratoms, 8,9 cm Durchmesser (zur Verfügung gestellt von Frau Dr. Julia Lange, Praxis Kurfürstendamm 199, 10719 Berlin) ____ 6
- Abbildung 4: Aufbau eines Objektträgers mit Biochips, die gefrorene Gewebeschnitte vom Kleinhirn des Affen, vom Hippocampus der Ratte sowie rekombinante Zellsubstrate beinhalten. _____ 18
- Abbildung 5: Auftragen der verdünnten Serumproben _____ 19
- Abbildung 6: Benetzung der Biochips mit Serumproben _____ 19
- Abbildung 7: Inkubation der Biochips mit Serumproben _____ 20
- Abbildung 8: Spülung des Biochip-Objektträger mit PBS-Tween-Puffer _____ 20
- Abbildung 9: Markierung mit mittels Fluoresceinisothiocyanat-Antikörpern _____ 21
- Abbildung 10: Prinzip der Antikörper-vermittelten Markierung mit Fluoresceinisothiocyanat_ 21
- Abbildung 11: Spülung des Biochip-Objektträger mit PBS-Tween-Puffer _____ 22
- Abbildung 12: Auftragen des Eindeckmediums _____ 22

Abbildung 13: Fluoreszenzmikroskopie in 40-facher Vergrößerung _____ 23

Abbildung 14: Beispiel eines Nachweises von Antikörpern gegen NMDA-Rezeptoren mittels indirekter Immunfluoreszenz. Das Patientenserum wurde hier auf Hippocampus der Ratte (a,b), auf Affen Kleinhirn (c,d), auf HEK239 Zellen, die mit NMDA-Rezeptor transfiziert wurden (e) sowie auf Kontroll-transfizierte Zellen (f) aufgetragen. Gebundene Antikörper wurden durch FITC-markierte sekundäre Anti-humane IgG-Antikörper detektiert. NMDA-positive Patienten Antikörper banden spezifisch an Ratten Hippocampus, Kleinhirn des Affen und HEK293 Zellen, die NMDA-Rezeptor exprimieren, jedoch nicht an Kontroll-transfizierte HEK293 Zellen (f). NMDA-negative Proben auf Ratten Hippocampus und Affen Kleinhirn (b,f). _____ 27

Tabellen

Tabelle 1:Antikörpernachweise mittels Immunofloureszenz bei Studienteilnehmerinnen _____ 28

Tabelle 2: Auflistung der differentialdiagnostisch in Erwägung kommenden, durch neuronale Antikörper induzierten Erkrankungen des zentralen und peripheren Nervensystems des verwendeten zusammengestellten Biochips _____ 33

Diagramme

Diagramm 1: Verteilung der Studienteilnehmerinnen _____ 25

Diagramm 2: Prozentuale Verteilung der verschiedenen Ovarialpathologien und gesunder Kontrollen im Gesamtkollektiv der Studienteilnehmerinnen _____ 25

8. Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Isabel Marion Trebesch, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Seroprävalenz von Anti-N-methyl-D-Aspartat-Rezeptor-Antikörpern bei Frauen mit ovariellen Teratomen“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe. Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet. Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet. Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Berlin, den 31. Mai 2015

Unterschrift

9. Lebenslauf

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

10. Publikation

Isabel Marion Trebesch hatte folgenden Anteil an der folgenden Publikation:

Publikation 1: Mangler M, Trebesch de Perez I, Teegen B, Stöcker W, Prüss H, Meisel A, Schneider A, Vasiljeva J, Speiser D. Seroprevalence of anti-N-methyl-D-aspartate receptor antibodies in women with ovarian teratoma. J Neurol. 2013 Nov; 260(11):2831-5. doi: 10.1007/s00415-013-7074-0. Epub 2013 Aug 24.

Beitrag im Einzelnen: Rekrutierung von Patientinnen, Probenaufnahme, Probenanalyse, Verfassung des Publikationstextes

Unterschrift, Datum und Stempel der betreuenden Hochschullehrerin

Unterschrift des Doktoranden/der Doktorandin

11. Danksagung

Frau PD Dr. med. Mandy Mangler danke ich ganz herzlich für die Überlassung des interessanten Themas sowie die hervorragende und beständige Betreuung. Ihre zahlreichen, konstruktiven Anregungen und ihr Optimismus haben das Gelingen der Arbeit erst möglich gemacht. Sie ist mir in fachlicher Hinsicht ein Vorbild und ich bewundere ihren Fleiß und die unermüdliche Unterstützung, die sie ihren Patientinnen zukommen lässt. Bei Frau Dr. Bianca Teegen möchte ich mich herzlich für ihre Hilfe bei der Probenanalyse bedanken. Insbesondere erwähnenswert ist der gastfreundliche Empfang bei Euroimmun in Lübeck. Bei Frau Dr. phil. Ulrike Grittner möchte ich mich für die Hilfestellung bei der Planung der Studie und für die statistischen Hilfestellungen und Hinweise bedanken. Frau Dr. rer. nat. Alexandra Stege vom Institut für Pathologie der Charité Berlin danke ich für die hilfreiche Unterstützung bei der Patientensuche im pathologischen Archiv. Ich danke der Klinik für Gynäkologie & Brustzentrum und dem Institut für Pathologie der Charité Campus Mitte in Berlin sowie dem Unternehmen EUROIMMUN Medizinische Labordiagnostika AG in Lübeck.

Ganz besonders danke ich meiner Familie: Meinen Eltern, die mir insbesondere in den alleinerziehenden Jahren durch stetige zeitliche und seelische Unterstützung zur Seite standen und die mich während meiner Ausbildung finanziell unterstützt haben; meinem Sohn Lorenz, den ich nicht immer so früh aus dem Kindergarten oder vom Hort abholen konnte, wie er sich das gewünscht hätte; sowie meinen Geschwistern Tatjana und Christoph, die immer für mich dagewesen sind, wenn ich sie brauchte. Meinen Freundinnen Kristin und Sophia möchte ich für ihre aufrichtige Freundschaft und die für sie offensichtlich selbstverständliche Gastfreundschaft ihrer Familien danken. Insbesondere meinem Bruder Christoph und meinem Freund Holger danke ich für die Hilfestellungen bei der Formatierung dieser Arbeit. Ich danke meiner Familie und meinen Freunden dafür, dass sie immer an mich geglaubt haben.