

Aus dem Institut für Integrative Neuroanatomie
der medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Autoantikörper gegen Proteine monoaminerger Systeme
beim Guillain-Barré Syndrom -
mögliche Beteiligung an der Pathophysiologie des Psychosyndroms?**

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité - Universitätsmedizin Berlin

von

Claudia Rink
aus Oberhausen

Gutachter: 1.: Prof. Dr. R. W. Veh
2.: Priv.- Doz. Dr. med. Chr. W. Zimmermann
3.: Prof. Dr. med. W. Brück

Datum der Disputation: 24.10.2011

Datum der Promotion: 18.11.2011

1	<u>EINLEITUNG</u>	
1.1	Guillain-Barré Syndrom	1
1.1.1	Klinische Symptomatik und Diagnostik	1
1.1.2	Epidemiologie	3
1.1.3	Pathogenese	4
1.1.4	Therapie	5
1.1.5	Einige GBS-Patienten zeigen auch cerebrale Symptome	6
1.2	Die monaminergen Systeme	8
1.2.1	Das cholinerge System	8
1.2.1.1	Biochemie und Anatomie des cholinergen Systems	8
1.2.1.2	Funktionelle Aspekte der cholinergen Innervation im ZNS	9
1.2.2	Das serotonerge System	10
1.2.2.1	Biochemie und Anatomie des serotonergen Systems	10
1.2.2.2	Funktionelle Aspekte der serotonergen Innervation im ZNS	14
1.2.3	Das dopaminerge System	14
1.2.3.1	Biochemie und Anatomie des dopaminergen Systems	14
1.2.3.2	Funktionelle Aspekte der dopaminergen Innervation im ZNS	15
1.2.4	Das noradrenerge System	18
1.2.4.1	Biochemie und Anatomie des noradrenergen Systems	18
1.2.4.2	Funktionelle Aspekte der noradrenergen Innervation im ZNS	19
1.2.5	Das histaminerge System	21
1.2.5.1	Biochemie und Anatomie des histaminergen Systems	21
1.2.5.2	Funktionelle Aspekte der histaminergen Innervation im ZNS	21
1.2.6	Dysfunktionen monaminergere Systeme im ZNS führen zu neuropsychiatrischen Erkrankungen	22
1.2.6.1	Dysfunktionen im cholinergen System	22

1.2.6.2	Dysfunktionen im serotonergen System	22
1.2.6.3	Dysfunktionen im dopaminergen System	23
1.2.6.4	Dysfunktionen im noradrenergen System	24
1.2.6.5	Dysfunktionen im histaminergen System	24
1.3	Fragestellung	24
2	<u>MATERIAL UND METHODIK</u>	
2.1	Chemikalien	27
2.2	Serumproben	27
2.3	Gewinnung von Gewebe	27
2.4	Beschichten von Objektträgern mit Gelatine	28
2.5	Kresyl-Violett-Färbung	28
2.6	Immunzytochemie	28
2.7	Die Immunreaktionen im Schnitt wurden nach folgenden Kriterien bewertet	30
2.8	Immunfluoreszenz-Zytochemie	30
2.9	Doppel-Immunfluoreszenz-Zytochemie	31
2.10	Morphologische Analyse	31
3	<u>ERGEBNISSE</u>	
3.1	Proteine von Ratte und Mensch zeigen eine 89-99%ige Sequenzhomologie	34
3.2	Morphologische Darstellung der monaminergen Systeme und immunzytochemische Ergebnisse der GBS-Seren an Kryostatschnitten vom Rattengehirn	35
3.2.1	Das cholinerge System	35
3.2.1.1	Die cholinergen Zellen finden sich in mehreren Arealen des Vorderhirns	35
3.2.1.2	GBS-Seren reagieren mit cholinergen Neuronen	38
3.2.2	Das serotonerge System	41

3.2.2.1	Die serotonergen Neurone finden sich in mehreren Arealen des caudalen Metencephalons	41
3.2.2.2	GBS-Seren reagieren mit serotonergen Neuronen	44
3.2.3	Das noradrenerge System	47
3.2.3.1	Die noradrenergen Neurone finden sich im Metencephalon im Ncl. coeruleus und der A5-Region	47
3.2.3.2	GBS-Seren reagieren mit Neuronen des Ncl. coeruleus und der A5-Region	48
3.2.4	Das dopaminerge System	50
3.2.4.1	Die dopaminergen Neurone finden sich im rostralen Metencephalon	50
3.2.4.2	Immunzytochemische Ergebnisse der GBS-Seren mit dopaminergen Strukturen	51
3.2.5	Das histaminerge System	52
3.2.5.1	Die histaminergen Neurone finden sich im rostralen Metencephalon	52
3.2.5.2	Immunzytochemische Ergebnisse der GBS-Seren mit histaminergen Neuronen	53
3.3	Daneben gibt es noch weitere immunzytochemische Ergebnisse	54
3.3.1	Immunzytochemische interessante Ergebnisse am Frontalschnitt	54
3.3.2	Immunzytochemische interessante Ergebnisse am caudalen Metencephalon	56
4	<u>DISKUSSION</u>	
4.1	Einige GBS-Patienten zeigen auch ein Psychosyndrom	57
4.2	Bisher existieren keine Nachweise einer zentralen Beteiligung	57
4.3	GBS-Seren enthalten Astrozyten-Antikörper	58
4.4	Können funktionsgestörte monoaminerge Systeme Ursache für das Psychosyndrom sein?	59

4.4.1	Störungen im cholinergen System spielen möglicherweise eine Rolle	59
4.4.2	Störungen im serotonergen System spielen möglicherweise auch eine Rolle	60
4.4.2	Störungen im noradrenergen System (Locus coeruleus) spielen möglicherweise auch eine Rolle	61
4.4.4	Störungen im dopaminergen System spielen keine Rolle	62
4.4.5	Störungen im histaminergen System spielen keine Rolle	63
4.5	Auch bei anderen nicht zentralen Autoimmunerkrankungen kommen psychiatrische Symptome vor	63
4.6	Die Antigenidentifizierung eröffnet eine neue therapeutische Option	64
5	<u>ZUSAMMENFASSUNG</u>	65
6	<u>ABKÜRZUNGSLISTE</u>	67
7	<u>LITERATURVERZEICHNIS</u>	70
8	<u>DANKSAGUNG</u>	84
9	<u>LEBENS LAUF</u>	85

EINLEITUNG

1.1 Guillain-Barré Syndrom

Das Guillain-Barré Syndrom (GBS) ist eine Autoimmunerkrankung des peripheren Nervensystems, die sich in Form einer entzündlichen, vorwiegend demyelinisierenden Polyradikulopathie äußert.

1.1.1 Klinische Symptomatik und Diagnostik

Pathognomonisch sind die Areflexie und die meist symmetrischen motorischen Ausfälle, die in der Regel distal beginnen und im weiteren Verlauf bis hin zur Rumpf-, Hals- und Gesichtsmuskulatur aufsteigen können. Gelegentlich finden sich Beteiligungen von sensiblen Fasern (Parästhesien, Sensibilitätsstörungen). Auch Hirnnerven wie der N. facialis (ein- oder beidseitige Parese), der N. glossopharyngeus, N. oculomotorius, N. trochlearis und N. abducens können betroffen sein.

Variationen des klinischen Bildes sind häufig (Dehaene et al., 1986). Bei Mitbeteiligung vegetativer Fasern kommt es zu autonomen Funktionsstörungen wie Sinustachykardie oder Bradycardie, Gesichtsrötung und fluktuierende Hyper- oder Hypotonie. Auch die Schweißproduktion kann gestört sein oder es treten episodische Schweißausbrüche mit massiver Störung des Wasser- und Elektrolythaushaltes und Miktionsstörungen auf (Asahina et al., 2002). Die Erkrankung kann innerhalb weniger Tage durch die kardiovaskulären Komplikationen oder, wenn der N. phrenicus betroffen ist, durch Atemlähmung zum Tode führen. Das GBS besitzt insgesamt aber eine hohe Selbstheilungstendenz. Die klinischen Symptome bilden sich in der Mehrzahl der Fälle fast oder vollständig über Wochen bis Monate zurück, wobei Kinder und jüngere Patienten eine deutlich bessere Prognose aufweisen als ältere (Hadden et al., 1998; Chio et al., 2003; Ammache et al., 2001). Lediglich 4-15% der GBS-Erkrankten versterben, 20% verbleiben nach einem Jahr trotz moderner Behandlungsmaßnahmen arbeitsunfähig (Rees et al., 1998). Bei GBS-Erkrankten mit einem guten Behandlungserfolg lassen sich meistens nur noch bei der klinischen und elektrophysiologischen Untersuchung eine residuelle Schwäche und ein Verlust von motorischen Einheiten messen, die allerdings das häufige Problem der Ermüdbarkeit erklären.

Das GBS ist kein einheitliches Syndrom, sondern lässt sich in Unterformen gliedern. Bei den akuten Verlaufsformen unterscheidet man die akute inflammatorische, demyelinisierende Polyradikuloneuropathie (AIDP), die akute motorische axonale Neuropathie (AMAN) und die akute motorisch-sensible axonale Neuropathie (AMSAN). Bei den akuten Verlaufsformen kommt es zu einer fulminanten Symptomentwicklung innerhalb weniger Tage bis maximal vier Wochen (Hughes und Cornblath, 2005). Daneben werden noch eine subakute Form (subakute inflammatorische demyelinisierende Polyradikulopathie) mit einer Symptomentwicklung innerhalb von vier bis acht Wochen (Hughes et al., 1992; Oh et al., 2003) sowie chronische Verlaufsformen mit Symptomentwicklung über mehr als acht Wochen beschrieben. Zu diesen zählt die chronische inflammatorische demyelinisierende Polyneuropathie (CIDP). Zu den Sonderformen des GBS zählen das Miller-Fisher-Syndrom (akut auftretende Ophthalmoplegie, Ataxie und Areflexie mit guter Prognose; Willison und O`Hanlon, 1999), die akute Pandysautonomie (rein autonome akute Polyneuritis; Young et al., 1975) und das Elsberg-Syndrom (selektiver Befall der sakralen Wurzeln; Eberhardt et al., 2004).

Die Diagnose des GBS beruht auf den schon geschilderten klinischen Befunden, den elektrophysiologischen Befunden und der Liquoruntersuchung.

Die Bestimmung der Nervenleitgeschwindigkeit ist ein zuverlässiger und früher Indikator für die Diagnose des GBS (Gordon und Wilbourne, 2001). Schon innerhalb der ersten Tage nach Beginn der Symptomatik finden sich fast immer elektrophysiologische Veränderungen. So sind die Amplituden der Muskelsummenaktionspotentiale vermindert, die Potentiale aufgesplittert und verbreitert. Die Nervenleitgeschwindigkeiten der motorischen Nerven sind verlangsamt, die distalen Latenzen als Zeichen distaler Leitungsblöcke verzögert und die F-Wellen als Zeichen der proximalen Demyelinisierung verlängert oder ausgefallen (Van den Berg und Piéret, 2004; Brown und Feasby, 1984).

Die Liquoruntersuchung kann in der Frühphase zwar auch ohne Befund sein, zeigt aber typischerweise eine zytoalbuminäre Dissoziation mit deutlich erhöhtem Gesamteiweiß bei normaler Zellzahl. Lediglich in 10% der Fälle ist die Zellzahl (vor allem die Lymphozyten) anfänglich auf 10-50 Zellen pro mm^3 erhöht, wobei kein Kausalzusammenhang zwischen Vorhandensein einer Pleozytose und der klinischen

Symptomatik, bzw. der Schwere des Krankheitsbildes festgestellt werden konnte. Die Höhe des Eiweißspiegels hat ebenfalls keine prognostische Bedeutung, sie spiegelt lediglich eine generalisierte Entzündung der Nervenwurzeln wieder.

Im Serum der GBS-Patienten wurden bislang neben unspezifischen Entzündungszeichen keine typischen krankheitsspezifischen Parameter nachgewiesen.

1.1.2 Epidemiologie

Das GBS ist ein relativ seltenes Krankheitsbild. Die jährliche Inzidenz des typischen GBS beträgt 0,6-5 Fälle pro 100.000 Einwohner weltweit (Hughes and Rees, 1997), 1,2-1,9 Fälle pro 100.000 Einwohner in Europa (Chio et al., 2003; Govoni und Granieri, 2001).

Das GBS kommt in allen Teilen der Welt und zu jeder Jahreszeit vor. Es betrifft Kinder und Erwachsene jeden Alters, Männer sind 1,5fach häufiger betroffen als Frauen. In Europa und Nord-Amerika nimmt die Inzidenz mit steigendem Alter zu. Das akute GBS-Syndrom (AIDP) kommt vor allem in Nordamerika und Europa vor, lediglich 5% der Patienten zeigen axonale Formen der Erkrankung (Hadden et al., 1998). In anderen Ländern (Nord-China, Japan, Zentral- und Südamerika) werden hingegen in 30-47% der Fälle die axonalen Neuropathien AMAN und AMSAN diagnostiziert (McKhann et al., 1991 und 1993; Ogawara et al., 2000).

Die Erkrankung kann sporadisch auftreten, jedoch zwei Drittel der Patienten hatten in den 6 Wochen zuvor eine Infektionserkrankung der oberen Luftwege oder des Magen-Darm-Traktes erlitten (Van Koningsveld et al, 2001; Roman, 1995; Winer et al, 1988; Guillain-Barré Syndrome Study Group, 2000). Oft bleibt der auslösende Erreger unbekannt. Eine Korrelation mit vorausgegangenen Viruserkrankungen durch Zytomegalie- und Epstein-Barr-Viren (Dowling and Cook, 1981; Jacobs et al., 1998) und bakteriellen Infektionen mit *Campylobacter jejuni*, *Mycoplasma pneumoniae* oder *Haemophilus influenzae* (Blaser et al., 1991; Hao et al., 1998) ist aber nachgewiesen. Neben dem postinfektiösen Auftreten wurden auch nach Impfungen gegen die Schweinegrippe 1976 in den USA (Langmuir et al., 1984), gegen Infuenza 1990-2003 (Haber et al., 2004), gegen Tollwut (Hemachudha et al., 1988) und Tetanus (Tuttle et al., 1997) eine geringe, aber signifikante Zunahme der Inzidenz des GBS registriert.

1.1.3 Pathogenese

Die Zerstörung der Markscheide spielt bei der akuten und chronischen Verlaufsform des GBS (AIDP und CIDP) in Bezug auf Erklärungsansätze zur Pathogenese die entscheidende Rolle. In der Biopsie eines Nerven von Patienten mit AIDP findet man multifokale Demyelinisierungsherde und Infiltrationen von lympho-monocytären Zellen und Makrophagen (Hall et al., 1992). Immunzytochemisch handelt es sich um T-Zellen (Schmidt et al., 1996). Daneben wurden Ablagerungen von IgG und dem Komplementprotein C3d nachgewiesen (Hafer-Macko et al., 1996 a+b). Immunologische und histopathologische Ergebnisse sprechen dafür, dass aktivierte T-Zellen spezifisch für Antigene der peripheren Nerven den autodestruktiven Prozess in Gang setzen. Danach führen Makrophagen, Zytokine und Antikörper zur vollen Ausprägung des Entzündungsprozesses (Hafer-Macko et al., 1996a; Créange et al., 1999; Kieseier et al., 2004).

Wogegen diese Immunreaktionen sich letztendlich richten, also gegen welche(s) Antigen(e), ist bisher nicht für alle Patienten bekannt. Allerdings gibt es einzelne Antigene, für die im Modell ein Zusammenhang hergestellt wird. Untersuchungen am Tiermodell des GBS, der experimentell allergischen Neuritis (EAN), zeigten eine CD4 T-Zell vermittelte Immunantwort gegen die Myelinproteine P0, P2 und PMP22 (Kadlubowski und Hughes, 1979; Milner et al., 1987; Gabriel et al., 1998).

Seren von einigen GBS-Patienten enthalten Antikörper gegen verschiedene Ganglioside, am häufigsten gegen GM1, aber auch GD1a, GD1b, GT1b, GQ1b, LM1 (Surgita et al. 1994; Hartung und Kieseier, 1999) oder Sulfatide (Svennerholm und Fredman, 1990; Ilyas et al., 1992). Interessanterweise besitzen sowohl Haemophilus influenza als auch Campylobacter jejuni Polysaccharide, die identisch sind mit dem terminalen GM1-Tetrasaccharid (Mori et al., 1999; Yuki et al., 1993). Beide Infektionen gehen häufig der GBS-Erkrankung voraus (Rees et al., 1995 a,b,c). Es handelt sich dabei um eine Kreuzreaktion von Antikörpern gegen das infektiöse Agens und der körpereigenen Markscheidenproteine - molekulares Mimikry (Oomes et al., 1995). Dieser Zusammenhang besteht allerdings nur für diese Untergruppe der GBS-Patienten.

Die generelle pathogenetische Relevanz von Anti-GM1-Antikörpern erscheint jedoch sehr fraglich. Nur bei einem kleinen Teil der GBS-Patienten wurden Anti-GM1-Antikörper nachgewiesen (Görtzen et al., 1999). Zum anderen enthalten auch Seren von Patienten mit anderen motorischen Neuropathien (Kornberg et al., 1994) oder der

Amyotrophen Lateralsklerose (Pestronk et al, 1988) Anti-GM1-Antikörper. Auch bewirken Anti-GM1-Antikörper nicht zwingend eine Demyelinisierung. So führte die Injektion eines Serums von einem Patienten mit multifokaler Motoneuropathie, das einen hohen Anti-GM1-Titer aufwies, an den N. ischiadicus der Ratte dort zu einer Demyelinisierung. Die Injektion des Serums eines anderen Patienten mit einer Erkrankung des Motoneurons, das einen vergleichbar hohen Anti-GM1-Titer hatte, führte dort aber nicht zu einer Demyelinisierung (Parry 1994). Auch die Höhe der gefundenen Antikörper-Titer korreliert nicht eindeutig mit Schwere und Verlauf der Erkrankungen (Simone et al., 1993). Zusammenfassend müssen die bislang gefundenen Autoantikörper bei GBS-Patienten eher als Epiphänomen und nicht als pathophysiologisch kausales Agens angesehen werden.

1.1.4 Therapie

Zu unterscheiden ist die supportive Allgemeinthherapie von der spezifischen Therapie mit verschiedenen Formen der Immunmodulation. Bei den akuten Verlaufsformen ist der Patient vor allem durch die Störung der Atmung (25% der Erkrankten) und der vegetativen Funktionen, sowie durch die Folgen der Parese-bedingten Immobilität (tiefe Venenthrombose, Lungenembolie, Nervendruckläsionen, Dekubitalulzera, Kontrakturen) gefährdet. Eine anfängliche engmaschige intensivmedizinische Überwachung und eine eventuelle Beatmung bei Erschöpfung der Atemmuskulatur sind daher entscheidende therapeutische Maßnahmen. Auch die Aufrechterhaltung des Blutdrucks (Hypotonie durch neurovaskuläre Dysautonomie) durch Flüssigkeitszufuhr oder Gabe von Vasopressiva und die Verhinderung von Elektrolytstörungen, Herzrhythmusstörungen, gastrointestinalen Blutungen, Harnverhalt, Ileus und besonders von Lungenembolien (durch subkutane Heparin-gabe und Antithrombosestrümpfe) sind wichtig (Hughes et al., 2005). Daneben kommt dem begleitenden multidisziplinären Rehabilitationsprogramm große Bedeutung zu (Meythaler, 1997). Hierzu zählt auch eine kontinuierliche psychosoziale Unterstützung mit gegebenenfalls psychopharmakologischer Therapie (Weiss et al, 2002) und eine intensive physikalische Therapie (Garssen et al., 2004).

Neben der supportiven Therapie ist vor allem die Immuntherapie als kausaler Therapieansatz essentiell, um Komplikationen und Spätfolgen zu limitieren. Hierzu zählen die Plasmapherese (frühzeitiger totaler Austausch des 5-fachen

Plasmavolumens in 1-2 Wochen), die Immunadsorption (Entfernung sämtlicher IgG) und die Gabe hochdosierter intravenöser Immunglobuline (IVIg, 0,4g/kg KG/d über 5 Tage). Randomisierte Studien konnten bei frühzeitigem Therapiebeginn die Wirksamkeit der Plasmapherese und der IVIg in der akuten Phase des GBS beweisen (Raphael et al., 2002; Lehmann et al., 2006; Hughes et al., 2003 und 2006a). Beim akuten GBS zeigte sich bezüglich des "Outcome" retrospektiv kein signifikanter Unterschied in der Wirksamkeit beider Therapieformen (Seta et al., 2005). Beide können den Verlauf der Krankheit verkürzen oder die Progredienz aufhalten (Van der Meché et al., 1992; Haupt et al., 1996). Eine Kombinationstherapie beider Behandlungsansätze (IVIg nach Plasmapherese) erbrachte jedoch keinen zusätzlichen Benefit (Hughes et al., 2006a). Die Wirksamkeit dieser Therapien bestärkt die Hypothese der Antikörper vermittelten autoimmunen Genese der Erkrankung.

Ohne therapeutischen Effekt verblieb beim akuten GBS die intravenöse Korticosteroidbehandlung (Hughes et al., 2006b). In der Akuttherapie der CIDP sind allerdings Steroide, IVIg und Plasmapherese während eines Behandlungszeitraumes von 6 Wochen gleichwertig (Van Schaik et al., 2006).

1.1.5 Einige GBS-Patienten zeigen auch cerebrale Symptome

Das GBS wurde bislang als eine Autoimmunkrankheit ausschließlich des peripheren Nervensystems angesehen. In der Literatur finden sich aber Fallbeschreibungen von GBS-Patienten, die zu der peripheren Symptomatik zusätzliche zentrale cerebrale Symptome zeigten. In kleineren Fallstudien oder in Einzelberichten wurden Halluzinationen und oneiroide Erlebnisse (traumähnliche szenarische Halluzinationen während der Wachphase) immer wieder beschrieben (Eisendraht et al., 1983; Schmidt-Degenhard, 1986; Bolgert et al., 1994; Swoboda et al., 1996 ; Rosenlicht und Kewchang, 2000). Diese Phänomene wurden damals zunächst psychodynamisch interpretiert, dass es der Versuch des Patienten sei, mit den motorischen Verlusten und der daraus resultierenden generellen Deprivation zurechtzukommen. Hierbei handelte es sich jeweils um retrospektive Beschreibungen.

Später wurden dann Patienten mit meist schwer verlaufendem GBS in Bezug auf psychische Auffälligkeiten während des intensivmedizinischen Aufenthaltes psychiatrisch untersucht und regelmäßig interviewt. Hierbei konnten bei 25% der Patienten Symptome wie Angst, Unruhe, Beklemmung, Stress, depressive Episoden,

kurze reaktive Psychosen und sogenannte oneiroide Psychosen diagnostiziert werden. Die psychotischen Episoden wurden dabei häufig im Zusammenhang mit schwerer Tetraparese, künstlicher Beatmung, Hirnnervenbeteiligung und deutlich erhöhtem Liquorprotein beschrieben (Weiss et al, 2002; Forster, 2005).

Im Rahmen von bildgebenden Studien mittels CT/MRT ließen sich bei Patienten mit obenbeschriebener zentraler Symptomatik aber keine typischen morphologischen Veränderungen nachweisen (Feasby et al, 1990; Othake et al, 1990; Ormerod et al., 1990; Hawke et al., 1990). Elektrophysiologisch wurde aufgrund pathologischer visuell oder akustisch evozierter Potentiale selten eine Beteiligung dieser Systeme dargestellt (Othake et al, 1990; Pakalnis et al, 1988).

Histopathologisch wurden bei 13 autopsierten CIDP-Patienten lediglich unspezifische Entzündungsreaktionen im Gehirn nachgewiesen, jedoch keine Demyelinisierungsherde wie am peripheren Nerven (Maier et al, 1997). Auch im Rückenmark wurden keine typischen entzündlichen Infiltrate, weder in der weißen Substanz noch im Vorderhorn, gefunden (Müller et al., 2003).

Auch bei eigenen GBS-Patienten konnten immer wieder zentrale cerebrale Symptome im Sinne eines Psychosyndroms mit Desorientiertheit, mnestisch-kognitiven Einbußen und Wahrnehmungsstörungen diagnostiziert werden. Die Ursache dieser psychischen Symptome können keine großen strukturellen cerebralen Veränderungen mit der Folge einer gestörten Interaktion von umschriebenen cerebralen Neuronenverbänden sein. Dann wären Areal- oder systemspezifische Ausfälle zu erwarten. Viel eher könnten die psychischen Ausfälle auf immunologisch bedingten Funktionsstörungen in generellen Systemen beruhen. Hier kämen dann zunächst Gliazellen in Betracht, da sie in großer Zahl überall im Gehirn vorkommen und komplexe Aufgabenbereiche erfüllen. Am Beispiel der hepatischen Enzephalopathie, einer Form eines Psychosyndroms, kommt einer großen Untergruppe der Gliazellen, nämlich den Astrozyten, eine bedeutende Rolle zu. Astrozyten nehmen üblicherweise das von Neuronen ausgeschüttete Glutamat als auch Ammoniumionen auf, die für den Umbau von Glutamat in Glutamin in den Astrozyten verbraucht werden. Bei hohem Ammoniakspiegel werden dabei verschiedene Stoffwechselschritte beeinträchtigt, die im Einzelnen die Symptome der hepatischen Enzephalopathie verursachen (Norenberg, 1998). Analog dazu könnte das Psychosyndrom beim GBS durch eine autoimmunologisch bedingte Störung der Astrozytenfunktion verursacht werden. In der Tat konnten Autoantikörpern gegen Astrozyten-Proteine in Seren von GBS Patienten nachgewiesen werden (Görtzen et al,

2004), jedoch nicht der Beweis geführt werden, dass diese wirklich das Psychosyndrom verursachen.

Des Weiteren kommen auch als denkbare Ursache eines Psychosyndroms Störungen in Areal-übergreifenden monoaminergen Systemen des ZNS in Betracht. In den folgenden Kapiteln werden nun diese Systeme mit besonderem Hinblick auf funktionelle Aspekte und Ursächlichkeit in Bezug auf die Entstehung des Psychosyndroms näher betrachtet.

1.2 Die monoaminergen Systeme

Komplexe Hirnleistungen sind nicht durch das Funktionieren eines einzelnen Neurons erklärbar, sondern beruhen auf der Kommunikation von vielen Neuronen im Sinne eines Netzwerkes oder eines funktionellen Systems. Dazugehörige Neurone können neben Form, Größe, Lage und elektrophysiologischen Eigenschaften auch durch ihren vorrangigen Transmitter unterschieden werden. Zu den arealübergreifenden steuernden Systemen des ZNS gehören die monoaminergen Zellgruppen. Dazu zählen Neurone, die Acetylcholin, Serotonin, Dopamin, Noradrenalin, Adrenalin oder Histamin als Transmitter verwenden.

1.2.1 Das cholinerge System

1.2.1.1 Biochemie und Anatomie des cholinergen Systems

Acetylcholin ist der Transmitter der cholinergen Neurone. Er ist im peripheren Nervensystem der Transmitter an der motorischen Endplatte, im autonomen Nervensystem an den Ganglien, im ZNS von Neuronen im Rückenmark, aber vor allem auch in den Basalganglien, dem Nukleus basalis Meynert und den Ncll. des diagonalen Bandes exprimiert. Der Transmitter wird durch die Cholin-Acetyltransferase (ChAT) im Cytosol aus Acetyl-CoA und Cholin gebildet und in synaptische Vesikel aufgenommen. Ein Aktionspotential depolarisiert die praesynaptische Endigung und öffnet spannungsregulierte Kalziumkanäle. Acetylcholin wird in den synaptischen Spalt freigesetzt und bindet an die Acetylcholinrezeptoren der postsynaptischen Membran, woraufhin es zur entsprechenden Depolarisation und somit zur Signalübertragung kommt. An der motorischen Endplatte handelt es sich um nikotinerge Rezeptoren, also

ionotrope. Im ZNS kommen neben diesen auch metabotrope Rezeptoren vor, die muscarinergen. Acetylcholin wird im synaptischen Spalt durch Acetylcholinesterasen zu Cholin und Acetat hydrolysiert. Nach der Wiederaufnahme von Cholin und Acetat durch Transporter in die präsynaptische Endigung werden diese zu Acetylcholin resynthetisiert.

Im ZNS sind die cholinergen Neurone je nach topographischer Lage der Neuronenverbände und deren typischen Verbindungsmustern zu kommunizierenden Hirnregionen in 6 große Untergruppen (Ch1-Ch6) eingeteilt. Die cholinerge Innervation des Hippocampus entspringt in den medialen Septumkernen (Ch1-Gruppe) und im vertikalen Schenkel des diagonalen Bandes (Ch2-Gruppe). Die Ch3-Gruppe ist vor allem im lateralen Teil des horizontalen Schenkels des diagonalen Bandes enthalten und projiziert zum Bulbus olfactorius. Die Ch4-Gruppe enthält cholinerge Neurone des Nucleus basalis Meynert, des Globus pallidus, der Substantia innominata, und Neurone, die lateral vom vertikalen Schenkel und medial vom horizontalen Schenkel des diagonalen Bandes gelegen sind. Diese cholinergen Neuronenverbände zeigen Projektionen zum Neokortex und zur Amygdala. Die cholinergen Neurone im Ncl. pedunculopontinus der Formatio reticularis pontomesencephalica, im Ncl. cuneiformis und in der Area parabrachialis bilden die Gruppe Ch5, und die des periventriculären Grau die Gruppe Ch6. Beide Gruppen projizieren hauptsächlich zum Thalamus (Mesulam et al., 1983).

1.2.1.2 Funktionelle Aspekte der cholinergen Innervation im ZNS

Die ungestörte Verschaltung dieser cholinergen Kerngruppen spielt bei der kognitiven Wahrnehmung und Auffassungskraft, insbesondere beim Prozess der Aufnahme und Speicherung von Informationen eine entscheidende Rolle (Mesulam et al., 1983; Miranda et al., 2003; Hasselmo, 2006). Dieser funktionelle Aspekt wird auch durch den Einsatz von Acetylcholinrezeptoragonisten und -antagonisten belegt. Sie beeinflussen entweder direkt oder indirekt die Funktionalität der cholinergen Innervation (direktes Stimulieren des ACh-Rezeptors, Hemmung der Acetylcholinesterase oder antagonistisches Verhalten am ACh-Rezeptor). Acetylcholinrezeptorantagonisten, wie z.B. Scopolamin, rufen beim Menschen auch ein verschlechtertes Erinnerungsvermögen und kognitive Defizite hervor (Drachmann und Leavitt, 1974; Aigner und Mishkin, 1986). Acetylcholinrezeptoragonisten und

Acetylcholinesteraseinhibitoren (Physostigmin) hingegen können im geringen Maße den Erinnerungsprozess verbessern (Bartus et al., 1982; Davis et al., 1978). Cholinerge Innervationen beeinflussen aber auch die Aufmerksamkeit (Himmelheber et al., 2000), die Wachheit, die Reaktionsbereitschaft und den Schlaf.

Läsionen der cholinergen basalen Vorderhirnkerne führen beispielsweise bei Morbus Alzheimer (Ch4, Nukleus basalis) zu dramatischen Verlusten kognitiver Fähigkeiten, insbesondere der selektiven Aufmerksamkeit, des Lernens und der Erinnerung (s. 1.2.6.1).

Es ist aber schwierig, Funktionen eines einzelnen monaminergen Systems zu beurteilen, da mehrere funktionell ineinandergreifen. Anatomische und elektronenmikroskopische Studien zeigen anhand der synaptischen Verschaltungen, dass das serotonerge, das dopaminerge und das noradrenerge System mit dem cholinergen System interagieren (Smiley et al., 1999).

Im Tierexperiment führen einseitige Läsionen des Nukleus basalis Meynert und/oder der serotonergen Raphekerne mit daraus resultierender Reduktion des kortikalen Acetylcholins (55%) und Serotonins (63%) lediglich zu geringen Einbußen des intelligenten sensomotorischen Verhaltens. Erst bei kompletter Blockade beider Transmittersysteme kam es zu einem Verlust intelligenten Verhaltens, obwohl die Motorik nicht wesentlich beeinflusst war (Gharbawie und Whishaw, 2003).

Somit ist durchaus vorstellbar, dass eine Schädigung des kortikalen cholinergen Systems für die mnestischen Störungen und ein nicht funktionierendes Zusammenspiel mit dem serotonergen System für kognitive Einbußen beim Psychosyndrom von GBS-Patienten verantwortlich sind.

1.2.2 Das serotonerge System

1.2.2.1 Biochemie und Anatomie des serotonergen Systems

Serotonin (5-Hydroxytryptamin; 5-HT), ist das hydroxylierte biogene Amin der essentiellen Aminosäure Tryptophan, welche wir mit der Nahrung zu uns nehmen. Es wird im zentralen Nervensystem und in den enterochromaffinen Zellen des Magen-Darm-Trakts (zu 90%) synthetisiert. Im Blut wird es mit den Thrombozyten transportiert. Die Synthese von Serotonin aus Tryptophan erfolgt in zwei Schritten. Zuerst erfolgt mittels Tryptophan-Hydroxylase (und den Cosubstraten Tetrahydrobiopterin und

molekularem Sauerstoff) eine Hydroxylierung am Indolring unter Bildung von 5-Hydroxytryptophan (5-HTP). In einer zweiten Reaktion wird 5-HTP mittels 5-HTP-Decarboxylase zu 5-Hydroxytryptamin decarboxyliert. Im Gehirn wird Serotonin im Perikaryon der Nervenzelle synthetisiert und dann über das Axoplasma in die Nervenendigungen transportiert. Es wird im Austausch gegen Protonen durch den Transporter vMAT2 (vesicular membrane transporter 2) vesikulär gespeichert und sezerniert. Serotonin bindet an verschiedene postsynaptische Rezeptoren (5-HT₁₋₇) der Neurone und Gliazellen. Die 5-HT₃-Rezeptoren sind ionotrope, alle anderen metabotrope Rezeptoren. Nach Aktivierung der Rezeptoren wird dieser Transmitter durch den membranständigen Serotonintransporter (SERT) in die präsynaptische Axonendigung wiederaufgenommen und entweder wieder in den Vesikeln gespeichert oder durch die Monoaminoxidase-A (MAO-A) abgebaut.

Nervenzellen, die Serotonin als Transmitter exprimieren, finden sich im ZNS vor allem in den Raphekernen des Hirnstamms und in der ventralen Formatio reticularis. Die Raphekerne befinden sich in der medianen, bzw. paramedianen Zone der Formatio reticularis, sind beidseits der Mittellinie als schmale Zellplatten angeordnet (raphe, gr.=Naht) und haben Zusammenhang über die Medianebene. Man unterteilt eine kaudale von einer rostralen Gruppe (Aitken und Törk, 1988).

Die kaudale Gruppe der Raphekerne in der Medulla oblongata und der kaudalen Brücke besteht aus dem Ncl. raphe obscurus, und, diesem basal angeschlossen, dem Ncl. raphe pallidus sowie dem Ncl. raphe magnus. Die rostrale Gruppe beginnt mit dem Ncl. raphe medianus, der aus der rostralen Pons ins kaudale Mesencephalon reicht und den frühen Ncl. centralis superior und den Ncl. raphe pontis umfasst. Der Ncl. raphe dorsalis (=posterior) liegt dorsal von und zwischen den beiden Fasciculi longitudinales mediales auf Höhe der Colliculi inferiores. Der Ncl. linearis ist der rostralste Raphekern und liegt im Mesencephalon in Höhe des Ncl. ruber (Abb.1).

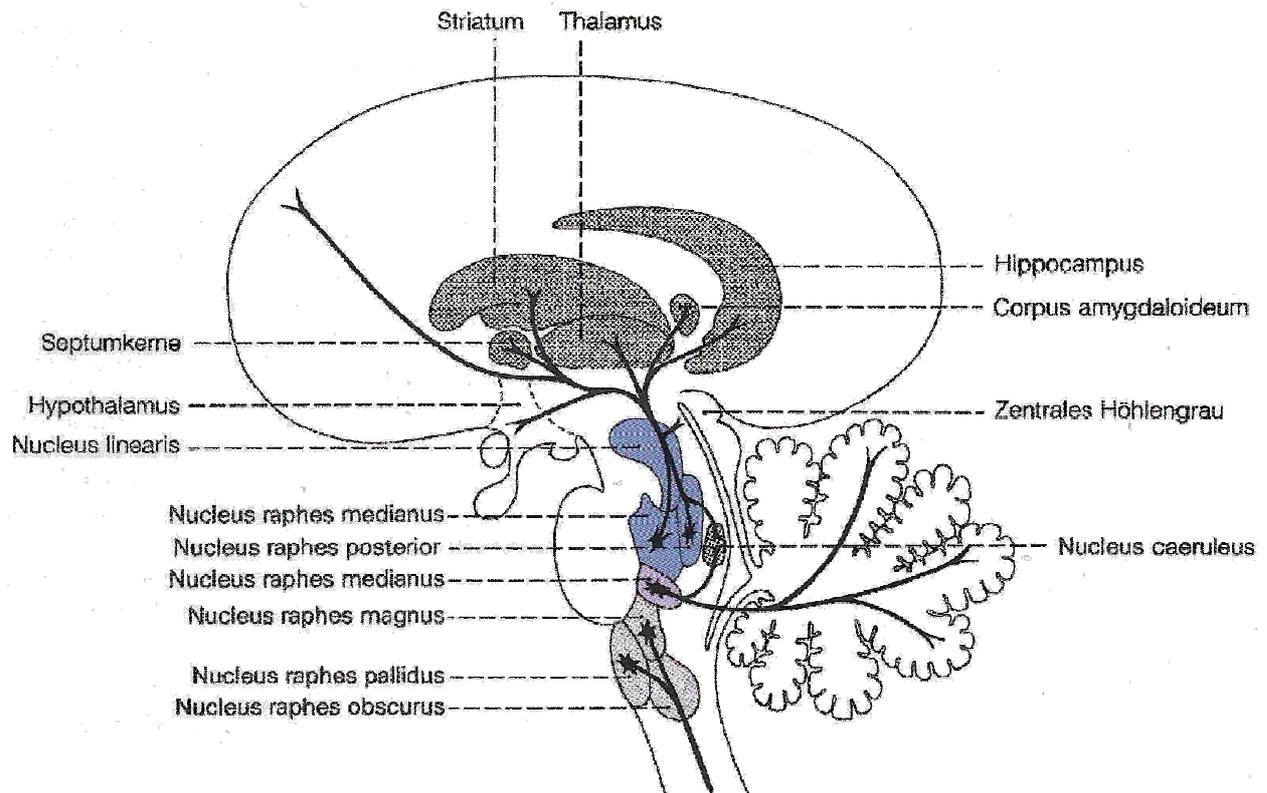


Abb. 1: Schematische Darstellung der Raphekerne und ihren wichtigsten Efferenzen.
(aus: Benninghoff und Drenckhahn, 2004)

Die einzelnen Raphekerne setzen sich nicht nur aus serotonergen Neuronen zusammen (Törk, 1985 und 1990). Sie haben jeweils einen unterschiedlichen Anteil an serotonerger Neurone, auch sind sie nicht gleichmäßig über das Gebiet eines Kerns verteilt. In manchen Kernen liegen serotonerge vermischt mit katecholaminergen Neuronen. Insbesondere die kaudalen Raphekernen weisen neben serotonergen Nervenzellen auch andere verschiedene Neuropeptide auf. Auch das gleichzeitige Vorkommen von Serotonin mit Substanz P, Thyreotropin-freisetzendem Hormon (TRH) oder Enkephalin in einem einzigen Neuron wurde gezeigt. Neurone der mesencephalen und pontinen Raphekerne, wie z.B. des Ncl. raphe dorsalis, nicht jedoch die medullären Raphekerne verwenden neben Serotonin auch Stickstoffmonoxid (NO) als Transmitter.

Wegen des inkonstanten Verhaltens zu zytoarchitektonischen Grenzen wurden die serotonergen Zellgruppen alphanumerisch von kaudal nach rostral fortlaufend mit B1 – B9 nummeriert. Diese sind aber keineswegs identisch mit den einzelnen Raphekernen, und umgekehrt sind Projektionen dieser Kerne nicht in jedem Fall serotonergen Fasersystemen gleichzusetzen. Im Bereich der Medulla oblongata und kaudalen Pons

befinden sich die Zellgruppen B1 – B4. Im Bereich der rostralen Brücke und im Mittelhirn liegen die Gruppen B5 – B9 (Harding, 2004; Dahlström und Fuxe, 1964; Törk 1985 und 1990, Tab. 1).

<u>Alphanumerische Einteilung</u>	<u>Zytoarchitektonische Regionen</u>
B1	Ncl. raphe pallidus (RPa) Caudale ventrolaterale Medulla (CVL)
B2	Ncl. raphe obscurus (ROb)
B3	Ncl. raphe magnus (RMg) Rostrale ventrolaterale Medulla (RVL) Ncl. paragigantocellularis reticularis lateralis (LPgi)
B4	Zentrales Grau der Medulla oblongata
B5	Pontiner Ncl. raphe medianus (MnR)
B6	Pontiner Ncl. raphe dorsalis (DR)
B7	Ncl. raphe dorsalis des Mittelhirn (DR)
B8	Ncl. raphe medianus des Mittelhirn (MnR) Kaudaler Ncl. linearis (CLi)
B9	Lemniscus medialis (ml)

Tab. 1: Alphanumerische Nomenklatur der Serotonin enthaltenen Zellgruppen (aus: The Serotonin und Tachykinin System, Harding 2004, Dahlström und Fuxe, 1964; Törk 1990)

Die Efferenzen der Raphekerne lassen sich in aufsteigende und absteigende gliedern. Die aufsteigenden Bahnen stammen zum größten Teil aus dem Ncl. raphe medianus und Ncl. raphe dorsalis (B5-B9). Die Axone der Neurone aus dem Ncl. raphe medianus (M-type axons) sind dick und projizieren zum Gyrus dentatus im Hippocampus. Axone von Neuronen aus dem Ncl. raphe dorsalis (D-type axons) sind dünn und projizieren zum Striatum (Törk, 1990). Von anderen Neuronen gibt es Verbindungen zur Vierhügelplatte, zum Ncl. interpeduncularis, zu Kernen des Hypothalamus und des dorsomedialen Thalamus, zum Ncl. subthalamicus und Striatum, zum Septum, zur Amygdala und zum Bulbus olfactorius. Die Endverzweigungen erreichen den Kortex.

Von der caudalen Gruppe (B1-B4) und der benachbarten Formatio reticularis gehen die deszendierenden Efferenzen aus. Hier ist die Projektion zum Rückenmark zu nennen.

1.2.2.2 Funktionelle Aspekte der serotonergen Innervation im ZNS

Serotonerge Bahnen zum Kortex, insbesondere jene aus dem Ncl. raphe dorsalis, beeinflussen die Stimmungslage. Hierbei spielen besonders die 5-HT_{2c}-Rezeptoren eine Rolle, die u.a. in sehr hoher Konzentration im limbischen System (Nukleus accumbens, amygdala und hippocampus) und in den Basalganglien zu finden ist (Barnes und Sharp 1999). Der Serotonin_{2A}-Rezeptor (5-HT_{2A}R) wurde mit kognitiven Leistungen, insbesondere dem Arbeitsgedächtnis, in Verbindung gebracht (Williams et al., 2002). Der 5-HT₇ Rezeptor wurde im Nukleus suprachiasmaticus des Hypothalamus nachgewiesen und spielt somit eine Rolle bei der serotonergen Modulation des circadianen Wach-Schlaf-Rhythmus. Auch die therapeutische Wirksamkeit von Serotonin-Reuptake-Hemmern zur Behandlung von Depressionen zeigt funktionelle Aspekte der serotonergen Innervation auf. Ferner spielen serotonerge Hirnstammverbindungen eine große Rolle bei der Steuerung der Bewegung und Aufmerksamkeit (Vanderwolf, 1989).

Die funktionellen Aspekte der serotonergen Innervation lassen sich kaum separat beschreiben, da sie mit denen der katecholaminergen in engem Zusammenspiel stehen, siehe 1.2.3.2.

1.2.3 Das dopaminerge System

1.2.3.1 Biochemie und Anatomie des dopaminergen Systems

Die Aminosäure Tyrosin wird durch die Tyrosin-Hydroxylase zu Dihydroxyphenylalanin oder L-Dopa hydroxyliert, dieses durch die Dopa-Decarboxylase zu Dopamin umgewandelt. Nach Ausschüttung in den synaptischen Spalt bindet Dopamin an seine Rezeptoren (D₁₋₅), die alle metabotrop sind. Die D₁- und D₅-Rezeptoren stimulieren über ein G-Protein die Adenylatcyclase, die D₂₋₄-Rezeptoren hemmen sie. Die Rückresorption erfolgt durch einen Transporter, den Dopamintransporter (DAT). Intrazellulär wird das Dopamin dann durch die Monoaminoxidase B deaminiert oder extrazellulär durch die Catechol-O-Methyltransferase (COMT) methyliert. Letztlich

entsteht der Metabolit Vanillinmandelsäure (3-Methoxy-4-hydroxymandelsäure), der im Urin ausgeschieden wird.

Die dopaminergen Zellgruppen (bezeichnet mit A8-A15) liegen im Mesencephalon, Diencephalon und Telencephalon. Die Gruppe A8 liegt in der kaudalen mesencephalen *Formatio reticularis lateral* des oberen Kleinhirnstiels (*Ncl. retrorubralis*). A9 entspricht der *Pars compacta* der *Substantia nigra*. A10 befindet sich im Bereich der *Ncll. tegmentales anteriores* des Mesencephalons (*ventral tegmental area, VTA*). A11 bis A14 sind im Diencephalon lokalisiert, A11 im lateralen und posterioren Hypothalamus, A12 im *Ncl. infundibularis (arcuatus)*, A13 in der *Zona incerta* und A14 im medialen und vorderen Hypothalamus. Die telencephale Gruppe A15 findet sich unter den periglomerulären Zellen des *Bulbus olfactorius* (Pearson et al., 1983 und 1990). Auch die dopaminergen Zellgruppen sind Ausgangspunkte zahlreicher aufsteigender und absteigender Bahnen. In den Gruppen A8, A9 und A10 entspringen Afferenzen zum Striatum (*mesostriatale Systeme*). Kollaterale gelangen auch zum *Globus pallidus* und zum *Ncl. accumbens*. Aus der Gruppe A10 und dem medialen Anteil von A9 ziehen Projektionen als *mesolimbokortikales System* zu Kernen und Rindengebieten des limbischen Systems, sowie zu anterioren frontalen, orbitofrontalen und ausgedehnten Arealen des sensomotorischen und assoziativen Kortex. Der *Ncl. raphe posterior* und der *Ncl. coeruleus* werden von absteigenden Fasern aus den mesencephalen Zellgruppen innerviert. Aus der Gruppe A11 ziehen Fasern zum Hinterhorn, zum *Ncl. intermediolateralis* und zur Gegend um den Zentralkanal des Rückenmarks (*diencephalospinales System*). Ursprung des *tuberoinfundibulären Systems*, welches die *Eminentia mediana* und Teile der Hypophyse innerviert, sind dopaminerge Neurone der Gruppe A12 (*Ncl. infundibularis*). Axone aus den Gruppen A11 und A13 stellen kurze intradiencephale Projektionen dar. Die Zellen der Gruppe A14 gehören größtenteils zum *magnozellularen System* der *Nuclei paraventriculares* und *supraoptici*.

1.2.3.2 Funktionelle Aspekte der dopaminergen Innervation im ZNS

Das dopaminerge System ist von den monoaminergen Systemen das am besten verstandene. Den dopaminergen Projektionen von der *Substantia nigra* und *VTA* zum Striatum kommen eine Schlüsselrolle bei der Bewegungsinitialisierung und bei psychomotorischen Hirnleistungen zu und denen zum *Ncl. accumbens* beim *Reward-Mechanismus* (Wohlfühl- oder Belohnungsgefühl).

Die motorische „Schleife“ (Abb. 2, Veh, 2010) geht vom motorischen Cortex aus, die über Striatum, externes und internes Pallidum, Ncl. subthalamicus und den anteroventralen Thalamus wieder in den Cortex projiziert. Diese neuronalen Verbindungen werden über die Aktivität der dopaminergen Terminalen aus der Pars compacta der Substantia nigra in der Matrix des dorsalen Striatums reguliert. Zu unterscheiden ist der direkte vom indirekten Weg. Beim direkten Weg wird das interne Pallidum vom Striatum direkt angesteuert, die dopaminerge Regulation durch die Terminalen aus der Pars compacta der Substantia nigra erfolgt dabei über D1-Rezeptoren. Beim indirekten Weg projizieren striatale Neurone über das externe Pallidum und den Ncl. subthalamicus zum internen Pallidum, die dopaminerge Regulation durch die Terminalen aus der Pars compacta der Substantia nigra erfolgt dabei über D2-Rezeptoren.

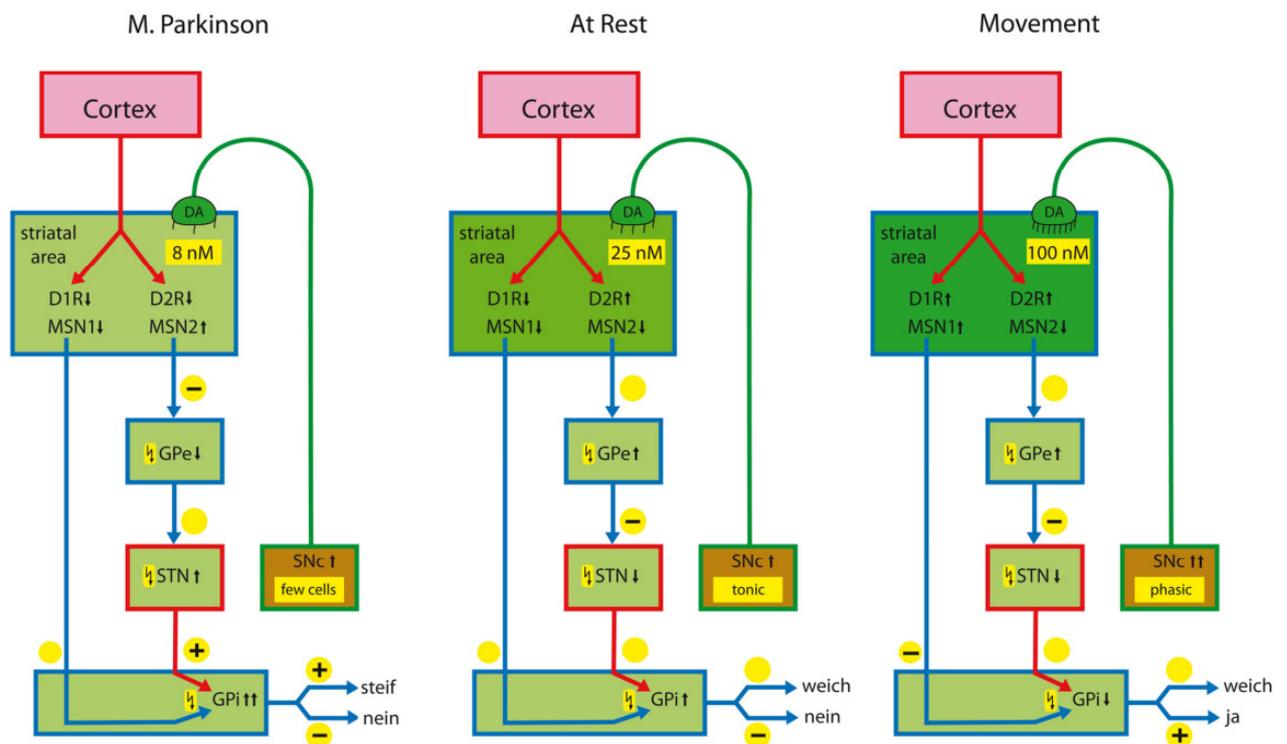


Abb. 2: Schematische Darstellung der motorischen Schleife (Veh, 2010).

Im Ruhezustand ist durch die basale Dopaminkonzentration (25 nM, volume transmission) der indirekte Weg blockiert, somit die Muskulatur normoton und die Beweglichkeit normal. Sinkt die basale Dopaminkonzentration auf 8 nM ab (wie beim M. Parkinson) ist der indirekte Weg nicht mehr blockiert, sodass die Muskulatur rigide und die Beweglichkeitsinitialisierung gestört ist. Um eine Bewegung jetzt ausführen zu können, muss lokal die Dopaminkonzentration ansteigen (100 nM), sodass der direkte Weg aktiviert wird.

GPe external pallidum, STN subthalamic nucleus, GPi internal pallidum, SNc substantia nigra compacta, MSN 1 medium spiny neuron 1, MSN 2 medium spiny neuron 2, DA Dopamin, D1R DA receptor 1, D2R DA receptor 2, ↓ spontaneously activity.

Affinität zu DA: D1R 100 ~nM, D2R ~20 nM.

Die psychomotorische Schleife ist ähnlich, aber nicht identisch aufgebaut. Sie geht vom präfrontalen Cortex aus und benutzt mediodorsale Thalamusanteile. Die dopaminerge Regulation erfolgt durch Neurone in der Area tegmentalis ventralis (VTA).

Das Reward-Gefühl entsteht durch Dopaminausschüttung im Ncl. accumbens, dem rostralsten Teil des Striatums, aus Axonendigungen von Neuronen der VTA.

Prinzipiell können zwei verschiedene Kommunikationsarten im dopaminergen System unterschieden werden. Die präzise Verdrahtung zweier Neurone über Synapsen ist die eine Möglichkeit. Dabei wird an Synapsen Information von einer Zelle auf die andere übertragen. Dies ist der Fall bei Projektionen vom motorischen Cortex zu striatalen Neuronen in der Matrix. Die erst kürzlich verstandene zweite Kommunikationsart ist die "volume transmission". Viele Neurone aus der Substantia nigra und der VTA exprimieren Dopamin in den Interzellularraum im Striatum. Somit besteht dort kontinuierlich, also ohne auslösende Signale, eine fixe Konzentration an Dopamin, nämlich 25 nM, in der die striatalen Neurone sozusagen baden (Agnati et al., 2000). Bei dieser Dopaminkonzentration werden schon D2-Rezeptoren aktiviert. Im steady state werden also diese inhibitorischen Rezeptoren aktiviert, somit der indirekte Weg blockiert, so dass die Muskulatur normoton und die Beweglichkeit normal ist (Abb. 2, "At Rest"). Fällt die Dopaminkonzentration durch Degeneration der dopaminergen Neurone wie beim M. Parkinson ab auf etwa 8 nM, werden die D2-Rezeptoren nur noch zu einem geringen Teil aktiviert, der indirekte Weg kaum bis gar nicht mehr blockiert, so dass die Muskulatur rigide und die Bewegungsinitialisierung deutlich gestört ist (Abb. 2, "M. Parkinson"). Zusätzlich zu diesem Dopaminbad enden aber Dendritenbäume einzelner dopaminergener Neurone aus der Substantia nigra oder VTA an einzelnen Neuronen im Striatum, so dass lokal eine Dopaminkonzentration von 100 nM entsteht, wodurch dann auch D1-Rezeptoren aktiviert werden und damit der direkte motorische Weg (Abb. 2, "Movement"). Ob diese "volume transmission" auch in anderen monoaminergen Systemen vorkommt, ist für das cholinerge und serotonerge System wahrscheinlich, aber nicht so klar nachgewiesen wie im dopaminergen System.

1.2.4 Das noradrenerge System

1.2.4.1 Biochemie und Anatomie des noradrenergen Systems

In den Vesikeln noradrenerger Neurone wird Dopamin durch die Dopamin- β -Hydroxylase in der Seitenkette hydroxyliert, wodurch Noradrenalin entsteht. Nach Ausschüttung in den synaptischen Spalt erfolgt die Rückresorption durch den Dopamintransporter und den Noradrenalintransporter NET1 (norepinephrine transporter). Der Abbau erfolgt über MAO-A zu Vanillinmandelsäure wie beim Dopamin. Der H⁺-Antiporter vMAT2 schleust Noradrenalin wieder vom Cytosol in die praesynaptischen Vesikel ein, wo es erneut zur synaptischen Freisetzung verfügbar ist.

Noradrenalin bindet an metabotrope adrenerge Rezeptoren (α_{1-3} und β_{1-3}). α_1 -Rezeptoren vermitteln ihre Wirkung über die Stimulation der Phospholipase C. α_2 -Rezeptoren interagieren mit der Adenylatcyclase. Sie können je nach Subtyp den cAMP-Spiegel heben oder senken.

Die noradrenergen Zellgruppen befinden sich in der *Formatio reticularis* der Pons und der *Medulla oblongata*. Sie werden ebenfalls nach ihrer topographischen Lage in Untergruppen eingeteilt und mit dem Großbuchstaben A bezeichnet (A1-A7). In der ventrolateralen *Medulla oblongata* liegt die Gruppe A1 und erstreckt sich von der Pyramidenkreuzung bis zur Brückengrenze. Die Gruppe A2 liegt dorsomedial im *Ncl. solitarius*. Die Gruppe A3 kann bei Primaten nicht identifiziert werden. A4 liegt subependymal im Bereich des *Pedunculus cerebellaris superior*. Mit A5 wird eine lockere Ansammlung von noradrenergen Zellen um den Fazialiskern und oberen Olivenkomplex im ventrolateralen Brückentegmentum bezeichnet. Die größte und kompakteste noradrenerge Zellgruppe entspricht dem *Ncl. coeruleus* (A6), jenem Kerngebiet unter dem Boden der rostralen Rautengrube, welches durch seine blauschwarze Pigmentierung auffällt. Unter A7 werden noradrenerge Neurone ventrolateral des *Ncl. coeruleus*, im Bereich des *Ncl. subcoeruleus* und im ventrolateralen Bereich der Parabrachialkerne zusammengefasst (Pearson et al., 1990).

Von den verschiedenen noradrenergen Zellgruppen gehen weitverzweigte spezifische Projektionsbahnen aus, wobei das bedeutendste System noradrenerger Efferenzen vom *Ncl. coeruleus* ausgeht. Aufsteigende Fasern vom *Ncl. coeruleus* erreichen Kerne des Thalamus und Hypothalamus. Desweiteren gelangen ascendierende Projektionen

zu Gebieten des limbischen Systems (Hippocampus, Septum, Amygdala, Cortex piriformis), zum gesamten Neocortex und zum Kleinhirn. Absteigende Fasern erreichen sensomotorische Relais- und Assoziationskerne des Hirnstamms (Colliculi superiores und inferiores, sensorische Trigemuskern, Hinterstrang-, Vestibularis- und Cochleariskern, Ncll. pontes), sowie das gesamte Rückenmark. Afferente Projektionen erhält der Ncl. coeruleus vor allem aus somato- und viszerosensorischen Systemen, welche ihm im Wesentlichen über zwei Kerngebiete, die ventrolaterale Medulla oblongata und ein Gebiet in der Umgebung des Ncl. prepositus hypoglossi, zugeführt werden. Fasern aus den anderen noradrenergen Zellgruppen der Pons (A5 und A7) gelangen zu somato- und viszeromotorischen Hirnstammkernen und ebenfalls zum gesamten Rückenmark, wobei die einzelnen Zellgruppen gezielt bestimmte Gebiete innervieren und keineswegs unspezifisch projizieren. Von den kaudalen Zellgruppen A1 und A2 ziehen aufsteigende Projektionen vor allem zu Kernen des Hypothalamus (Ncll. paraventriculares und supraoptici) und zur Amygdala.

1.2.4.2 Funktionelle Aspekte der noradrenergen Innervation im ZNS

Das noradrenerge System spielt für die Speicherung von „wichtig“ eine entscheidende Rolle. Setzt man z.B. zu einem trächtigen Mäuschen ein fremdes Männchen in den Käfig, abortiert die Maus sofort, da sie sofort das neue Männchen als Partner annimmt und dann von keinem Fremden Nachwuchs bekommen kann. Diese Reaktion – auch Bruce-Effekt genannt - wird über Pheromone im Urin des Männchens über glutamaterge und noradrenerge Verschaltungen im Bulbus olfactorius des Weibchens vermittelt (Bruce, 1990). Sie kann durch den α_1 -Rezeptor-Blocker Prazosin verhindert werden. Ein anderes Beispiel ist die gute Behandelbarkeit einer „posttraumatic stress disorder“ durch Noradrenalin-Wiederaufnahmehemmer. Dadurch wird das Signal „wichtig“ blockiert und die traumatische Erinnerung gemildert.

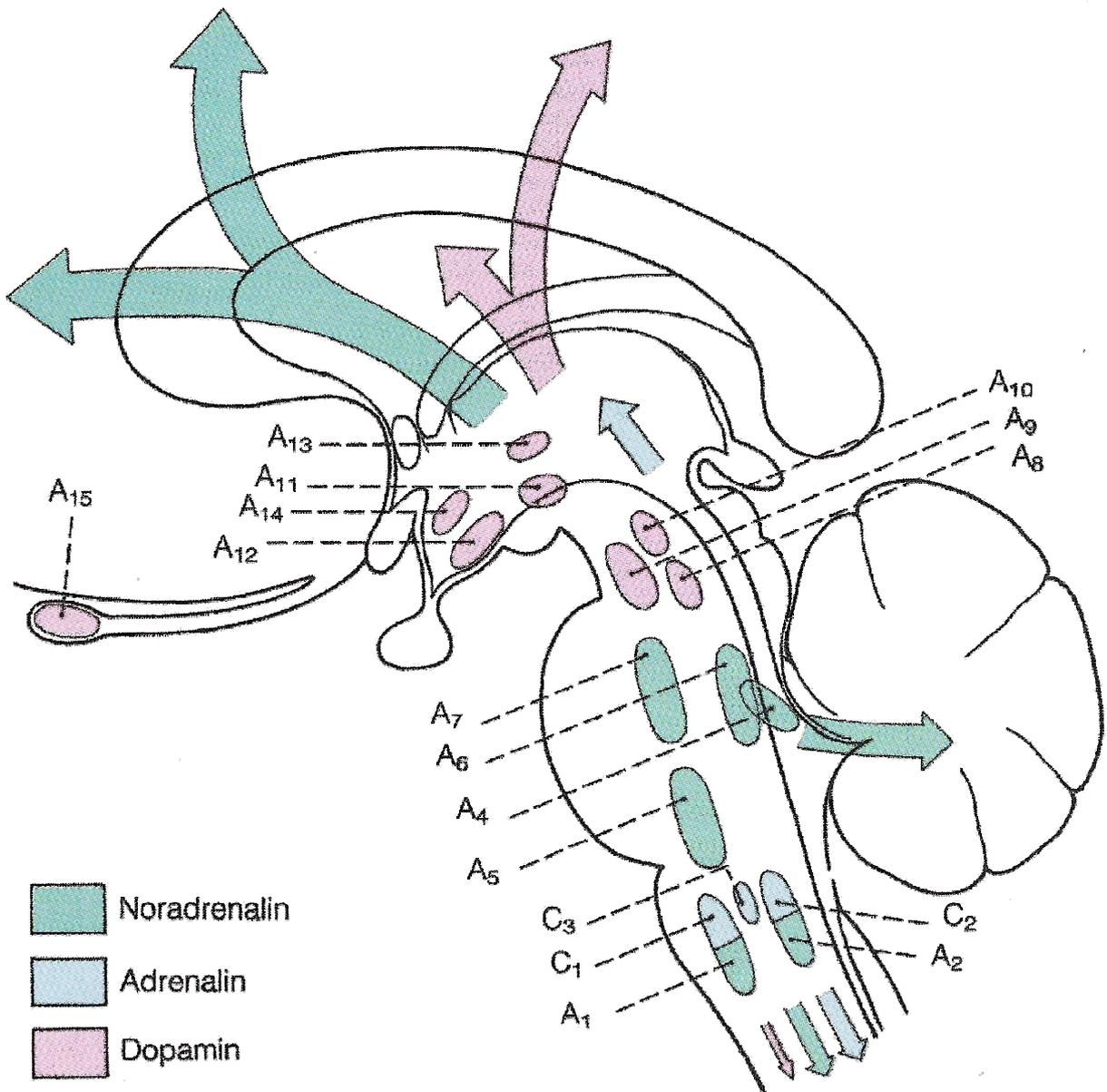


Abb. 3: Sagittalschnittschema der katecholaminergen Zellgruppen.
(aus: Benninghoff, Drenckhahn, 2004)

1.2.5 Histaminerges System

1.2.5.1 Biochemie und Anatomie des histaminergen Systems

Die Synthese des Histamins erfolgt durch Decarboxylierung von Histidin. Histamin wird vesikulär gespeichert und freigesetzt. Histamin wirkt auf metabotrope Rezeptoren (H1-H3), die mit Phospholipase C und A2 bzw. Adenylatcyclase gekoppelt sind. Freigesetztes Histamin wird durch die Histamin-N-Methyltransferase abgebaut, ein neuronales Rückaufnahmesystem wie für Noradrenalin, Dopamin und Serotonin existiert nicht.

Histamin wird im Gehirn in Neuronen der tuberomammillären Region des Hypothalamus produziert. Der Nucleus tuberomammillaris umfasst ein ausgedehntes Kerngebiet mit verstreut liegenden großen Neuronen und erstreckt sich durch die posteriore tuberale und die mammilläre Region. Afferenzen kommen aus hypothalamischen Unterkernen, aus dem basalen Vorderhirn (Septumregion und Amygdala), aus den Raphekernen und aus adrenergen und noradrenergen Zellgruppen der Medulla oblongata (A1, A2, C1, C2). Vom Nucleus tuberomammillaris aus gehen Projektionen in die Großhirnrinde, in hypothalamische Nuclei zurück, aber auch zum Thalamus, den Basalganglien, dem Hippocampus, der Medulla oblongata und zum Kleinhirn.

1.2.5.2 Funktionelle Aspekte der histaminergen Innervation im ZNS

Der Ncl. tuberomammillaris ist, wie auch die anderen aminergen Zentren, an der Modulation von Bewusstseinslage und Aufmerksamkeit (Arousal-System) beteiligt. Die histaminerge Innervation des Ncl. präopticus ist maßgeblich an der Regulation des Schlaf-Wach-Rhythmus beteiligt, wobei für den Wachzustand auch der Ncl. coeruleus und die Raphekerne eine Bedeutung haben. Für die Aufrechterhaltung des Wachzustandes spielen allerdings Neuronengruppen im lateralen Hypothalamus, die das Peptid Orexin produzieren, eine entscheidende Rolle.

Aber auch neuroendokrine Funktionen des Hypothalamus werden über histaminerge Innervation durch den Ncl. tuberomammillaris moduliert, z.B. die Ausschüttung von Oxytocin aus den Ncll. paraventriculares und supraoptici (Brown et al., 2001).

1.2.6 Dysfunktionen monoaminerger Systeme im ZNS führen zu neuropsychiatrischen Erkrankungen

Störungen zentraler monoaminerger Systeme spielen bereits nachweislich eine ursächliche Rolle bei der Entstehung verschiedener neurologischer und psychiatrischer, aber auch internistischer Symptome und Erkrankungen. Einzelne Syndrome zeigen ähnliche psychopathologische Erscheinungsbilder wie das Psychosyndrom beim GBS.

1.2.6.1 Dysfunktionen im cholinergen System

Eine bedeutsame Rolle spielen degenerative Prozesse im cholinergen System beim Morbus Alzheimer. Hier kommt es zu einer massiven Degeneration cholinergischer Neurone im basalen Vorderhirn (Entorhinaler Kortex und Nukleus basalis Meynert) und damit zu einer Verringerung der cholinergen Innervation des Telencephalons. Das klinische Bild der Demenz mit Desorientiertheit, Gedächtnisstörungen, Konzentrationsstörungen und deutlicher Beeinträchtigung bei der Verrichtung einfacher Alltagstätigkeiten resultiert daraus. Das Ausmaß der Neurodegeneration im basalen Vorderhirn korreliert dabei mit dem Grad der Demenz. Die heutzutage eingesetzten Antidementiva führen zu einer verbesserten Alltagstauglichkeit und einem langsameren Fortschreiten der Erkrankung. Diese Wirkung basiert nicht wie zunächst angenommen auf der alleinigen Hemmung der Acetylcholinesterase, sondern viel mehr auf einer Aktivierung präsynaptischer Autorezeptoren, was zu einer erhöhten Ausschüttung von Acetylcholin führt (Mälicke und Albuquerque, 2000).

1.2.6.2 Dysfunktionen im serotonergen System

Verminderte Aktivitäten im serotonergen System sind an der Pathogenese depressiver Symptome und Erkrankungen beteiligt (Walter, 2007; Zhang, 2005). Neben der gedrückten Stimmungslage können auch der circadiane Schlaf-Wach-Rhythmus, Antrieb, Psychomotorik und Denkvorgänge gestört sein (Vanderwolf, 1989). Durch Gabe von Serotoninwiederaufnahmehemmern können alle diese Symptome positiv beeinflusst werden. Auch hier bestehen aber auch wieder Überschneidungen mit dem noradrenergen System. Auch Noradrenalin-Wiederaufnahmehemmer führen zur Verbesserung depressiver Symptome.

Verminderungen der 5-HT_{2A} Rezeptorverfügbarkeit wurden ebenfalls bei Patienten mit Symptomen von Prodromalzustände der Schizophrenie festgestellt (Huerlemann et al., 2006).

Aber nicht nur durch die herabgesetzte Funktion serotonerger Zellen kommt es zu psychischen Auffälligkeiten. Auch ein Zuviel an freigesetztem Serotonin führt zu ausgeprägten psychischen Veränderungen im Sinne eines schweren Psychosyndroms mit Desorientierung, Agitiertheit, aber auch halluzinatorischen Phänomenen (Sternbach, 1991). Dies wird als akutes Serotoninsyndrom bezeichnet, was als Komplikation bei der Behandlung mit Serotonin-Reuptake-Hemmern bekannt ist. Auch manche Drogen wie Lysergsäurediethylamid, das LSD, aktivieren serotonerge Rezeptoren und lösen Halluzinationen und psychotische Phänome aus.

Seit einigen Jahren erst ist bekannt, dass bestimmte Drogen serotonerge Projektionen schädigen. Die Axone der Neurone aus dem Ncl. raphe medianus (M-type axons) sind gegenüber toxischen Substanzen (Drogen) wie Chloramphetamin und Fenfluramin resistent. Die Axone von Neuronen aus dem Ncl. raphe dorsalis (D-type axons) werden aber durch solche Substanzen irreversibel geschädigt (Axt et al., 1995). Inwieweit diese Tatsache psychische Veränderungen bei Suchtpatienten erklären könnte, kann hier nicht diskutiert werden und muss offen bleiben.

1.2.6.3 Dysfunktionen im dopaminergen System

Eine Degeneration von dopaminergen Neuronen in der Substantia nigra pars compacta führt zu schweren motorischen Störungen. Besonders beeinträchtigt ist die Bewegungsinitialisierung, aber auch Tremor und Muskelsteifigkeit (Rigor) werden dadurch verursacht. Ursächlich ist eine verminderte dopaminerge Innervation des Striatums an spiny-neurons. Durch die fehlende Aktivierung der D1-Rezeptoren am Spine kann die glutamaterge Information aus dem Cortex nicht durch den Spine zum Neuron gelangen. Diese Situation besteht beim M. Parkinson.

Ein Zuviel an dopaminergem Innervation in dieser Schleife führt zu unwillkürlichen Bewegungen und zu ungewollten sprachlichen Äußerungen, dem Tourette-Syndrom. In ähnlicher Weise kann auch durch eine gestörte dopaminerge Innervation die psychomotorische Schleife gestört sein. Durch eine Überfunktion der dopaminergen Modulation kann es zur unbeabsichtigten Aktivierung des präfrontalen Cortex kommen mit der Folge von im Übermaß auftretenden Gedanken oder Handlungen. Dies ist der

Fall bei den Zwangserkrankungen (obsessive compulsive disorders) und anderen Psychosen wie z.B. auch der Schizophrenie. Diese Erkrankungen sind auch in der Tat durch Neuroleptika, die dopaminerge Rezeptoren blockieren, behandelbar.

Die meisten Drogen (Kokain, Amphetamin, Morphin, Nikotin) greifen auch in diese Schleifen ein, sie führen letztlich zu einer höheren Dopaminausschüttung im Ncl. accumbens und damit zu einem ständigen Reward-Gefühl (Veh, 2010).

1.2.6.4 Dysfunktionen im noradrenergen System

Beim Aufmerksamkeitsdefizit-Hyperaktivitäts-Syndrom wird dem noradrenergen System eine Rolle zugeschrieben, die allerdings eher hypothetisch als belegt ist. Tatsache ist aber, das Methylphenidat als ein Noradrenalin-Wiederaufnahmehemmer therapeutisch wirksam ist.

1.2.6.5 Dysfunktionen im histaminergen System

Ausfallserscheinungen des histaminergen Systems sind bislang nicht erforscht.

1.3 Fragestellung

Ein Psychosyndrom kommt immer wieder bei GBS-Patienten vor, ohne dass eine Ursache dafür bekannt wäre. Dies spricht für eine zentrale Beteiligung dieser eigentlich peripheren Erkrankung. Generell kann ein Psychosyndrom nicht durch eine Funktionsstörung umschriebener cerebraler Neuronenverbände erklärt werden, sondern eigentlich nur mit einer Fehlfunktion genereller oder arealübergreifender Systeme. Somit kämen Gliazellen oder die monaminergen Systeme in Betracht.

Vor wenigen Jahren konnte bereits der Nachweis von Autoantikörpern gegen Astrozyten-Proteine in Seren von GBS-Patienten erbracht werden. Dies erhärtete die Hypothese, dass Autoantikörper gegen Astrozytenproteine eine Rolle bei der Entstehung des Psychosyndroms bei GBS-Patienten spielen können (Görtzen et al, 2004). Dies war aber nur bei einigen Patienten der Fall, so dass dies sicher nicht die alleinige Ursache darstellt.

Daher war es nun sehr interessant, die monaminergen Systeme näher zu untersuchen. Funktionsstörungen in diesen Systemen wären als Ursache eines Psychosyndroms eben auch gut vorstellbar, da sie in alle wesentlichen Funktionssysteme im Gehirn eingreifen. Wie oben ausführlich dargestellt, kommen viele Symptome eines Psychosyndroms bei Dysfunktionen monaminergere Systeme vor. Hierzu zählen Störungen von Wahrnehmung, Aufmerksamkeit, Vigilanz, Antrieb und Emotionslage. Diese psychopathologischen Auffälligkeiten findet man nun auch immer wieder bei einigen GBS-Patienten, ohne dass bislang eine kausale Erklärung vorliegen würde. Mögliche Ursachen einer gestörten Funktion monaminergere Systeme sind ja wie oben beschrieben einerseits degenerative Prozesse wie beim M. Alzheimer. Daneben sind toxische Schäden (Drogen) im serotonergen System bekannt. Andererseits aktivieren Drogen auch die Ausschüttung von Dopamin im Reward-System. Generell sind ja viele Störmöglichkeiten im Zusammenspiel der einzelnen Systeme vorstellbar, die zu einem Ungleichgewicht führen, sei es durch Rezeptorblockade, verminderte oder vermehrte Ausschüttung einzelner Transmitter oder gestörte Rückresorption. Auch autoimmunologische Vorgänge könnten über solche Mechanismen zu einer Dysbalance führen.

Da es sich beim GBS um eine Autoimmunerkrankung handelt, ergibt sich hieraus die Suche nach Autoantikörpern in GBS-Patientenserum mit Ziel-Proteinen im Bereich zerebraler monaminergere Systeme. Aus der Literatur ist ersichtlich, dass die Suche nach Autoantikörpern meistens mittels ELISA (enzyme linked immunoabsorbent assay) oder Western-Blot-Techniken erfolgte. Mit dem ELISA können aber nur Antikörper gegen ein bekanntes Antigen gefunden werden. Im Western-Blot werden fast alle Antigene denaturiert, bevor sie in einem SDS-Gel elektrophoretisch aufgetrennt werden. Weiterhin sind Antigene, die in selteneren Zelltypen hoch konzentriert vorkommen, im Gesamthomogenat nur noch in sehr geringer Konzentration vorhanden. Daher können längst nicht alle denkbaren Antigene den Seren in nachweisbarer Form angeboten werden.

Um diese Probleme zu vermeiden, wurde in der vorliegenden Arbeit als Methode die Immunzytochemie zum Nachweis von Autoantikörpern eingesetzt. Damit können im Gewebeschnitt praktisch alle vorhandenen Antigene auf ihre Reaktion mit Antikörpern untersucht werden. Basierend auf der weitgehenden Sequenz-Homologie der zerebralen Proteine von Mensch und Ratte, haben wir das Gehirn der Ratte

ausgewählt, um eventuelle Ziel-Antigene von Antikörpern in GBS-Seren immunzytochemisch darzustellen.

Von den Ergebnissen kann erwartet werden, dass sie uns ein besseres Verständnis vermitteln, warum GBS-Patienten im Rahmen der peripheren Autoimmunerkrankung auch ein Psychosyndrom entwickeln können. Weiterhin sollen sie als Grundlage für die Charakterisierung zugrunde liegender und bisher unbekannter Autoantigene dienen.

2 Material und Methoden

2.1 Chemikalien

Alle Chemikalien wurden von der Firma Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Deutschland, bezogen, wenn es nicht anders angegeben wird.

2.2 Serumproben

Die aus diagnostischen Gründen entnommenen und damit vorhandenen Serumproben wurden aliquotiert, eingefroren und bei -30°C aufbewahrt. Nach der Verfahrensordnung der Ethik-Kommission der Medizinischen Fakultät Essen war für unsere Untersuchungen kein Antrag notwendig, da die Gebote der ärztlichen Vertraulichkeit und des Datenschutzes gewahrt blieben und kein Patient einem zusätzlichen oder erweiterten Eingriff unterzogen wurde.

Untersucht wurden 59 Seren von GBS-Patienten. Als Kontrollgruppen wurden 36 Seren von MS-Patienten, 24 Seren von Patienten mit anderen, nicht autoimmunologischen neurologischen Erkrankungen (Kopfschmerzen, Hirninfarkten oder Bandscheibenvorfälle) eingesetzt. Ferner wurden noch 24 Seren von freiwilligen Probanden ohne jegliche Erkrankung eingesetzt.

2.3 Gewinnung von Gewebe

Ausgewachsene Sprague-Dawley Ratten (250 – 300 g) wurden durch intraperitoneale Gabe von 40 mg/kg Nembutal (Abbott, Wiesbaden) anästhesiert und 20-30 Minuten vor der Perfusion mit 1500 IE Heparin (Liquemin, 5000 IU/ml; Hoffmann La Roche, Grenzach) behandelt, um eine Thrombenbildung zu verhindern. Nach einem 10 Sekunden langen Bolus eines 0,03 M Barbitalpuffers, pH 7,4, mit 0,01 M Natriumnitroprussid, 1 mM Macrodex (Dextran 60; Knoll, Ludwigshafen), 0,05 M Natriumacetat, 0,15 M NaCl, 4 mM KCl, 1,8 mM CaCl_2 und 0,5 mM MgCl_2 in die aufsteigende Aorta bei einem Perfusionsdruck von über 180 Torr erfolgte die Fixierung mit gleichem Druck für 10 Minuten bei 25°C mit einer Lösung aus 4% Paraformaldehyd, 0,05% Glutaraldehyd und 0,2% Picrinsäure in 0,1 M

Phosphatpuffer (PGPic), pH 7,4. Nach Reduktion des Druckes um 10-20 Torr wurde die Fixierung über weitere 20 Minuten fortgeführt und dann mit 0,15 M Saccharose in 0,13 M Phosphatpuffer, pH 7,4, über 30 Minuten nachgespült. Das Gehirn wurde herauspräpariert und zum Gefrierschutz für 48 Stunden in 30%ige Saccharose gelegt. Um definierte Hirnscheiben zu erhalten, orientiert sich die Schneidetechnik am Bregma-Punkt. Das ist die Stelle, an der die Sutura coronalis, die das Stirnbein von den Scheitelbeinen trennt, auf die Sutura sagittalis, die die Scheitelbeine trennt, trifft. Vom Bregma-Punkt ausgehend wurden Scheiben in definierte mm-Abständen geschnitten. Dazu war das Gehirn in Gelatine eingebettet. Diese Scheiben oder Teile davon wurden dann als Blöckchen bei -50° bis -60°C schockgefroren und bei -80°C aufbewahrt. In der Kühlkammer des Vibratom wurden 25 µm Kryostatschnitte gewonnen und zunächst frei flottierend in PBS aufgenommen.

2.4 Beschichten von Objektträgern mit Gelatine

Nach gründlicher Reinigung der Objektträger in Spüllösung und gutem Nachspülen mit destilliertem Wasser und Trocknen erfolgte die Beschichtung. Dazu wurde eine 1,5%ige Gelatinelösung hergestellt. 15 g Gelatine und 1,76 g Kaliumchromsulfat-12-hydrat wurden bei 70°C in 630 ml Wasser gelöst, dann 30 ml 100%iger Alkohol und 70 ml Eisessig hinzugegeben. Nach Filtrieren dieser Lösung wurden die Objektträger 2 Minuten eingetaucht. Die Polymerisation erfolgte dann bei 60°C für 24 Stunden.

2.5 Kresyl-Violett-Färbung

Die auf Gelatine-gecoatete Objektträger aufgezogenen Vibratomschnitte wurden in 70%igem Alkohol über Nacht aufbewahrt, dann in destilliertem Wasser gespült und mit 0,2%igem Kresyl-Violett-Acetat in 20 mM Acetatpuffer, pH 4,0, für 30 Minuten bei Raumtemperatur gefärbt. Nach Spülen in destilliertem Wasser wurden die Schnitte dehydriert und in Entellan (Merck, Darmstadt) eingedeckt.

2.6 Immunzytochemie

Für die ABC-Technik (Hsu et al., 1981) im Preembedding-Verfahren wurden frei schwimmende 25 µm Kryoschnitte zunächst in 0,01 M Phosphatpuffer (PBS)

gewaschen, dann mit 1%igem Borhydrid in PBS zur Zerstörung noch vorhandener Aldehydgruppen reduziert und danach mehrmals in PBS gewaschen. Zur Blockierung unspezifischer Bindungsstellen, zur Permeabilisierung und zur Hemmung endogener Peroxidasen wurden die Schnitte 30 Minuten in einer Lösung aus 10%igem NGS (normal goat serum, Interchem, Bad Kreuznach, Deutschland), 0,3% Triton X-100 (Serva, Heidelberg, Deutschland) und 0,05% Phenylhydrazin (Merck, Darmstadt, Deutschland) in PBS bei Raumtemperatur inkubiert. Dann wurde der Erstantikörper (Tab. 2) in entsprechender Verdünnung in einer Lösung aus 10%igem NGS mit 0,3% Triton X-100, 0,001% Thimerosal und 0,1% Azid (als Antibiose) auf die Schnitte gegeben und diese 72 Stunden bei 4 °C langsam, aber ständig bewegt. Nach mehrmaligem Waschen mit PBS wurden die Schnitte mit einer Lösung aus 0,2%igem Serumalbumin vom Rind in PBS (PBS-A) 60 Minuten bei Raumtemperatur vorinkubiert, dann über 24 Stunden bei 4 °C mit dem entsprechenden biotinylierten Zweitantikörper (Tab. 3) 1:2000 in PBS-A mit 0,15% Triton X-100 und 0,1% Azid. Nach mehrmaligem Waschen mit PBS und Vorinkubation über 1 Stunde bei Raumtemperatur mit PBS-A wurde der gebundene Zweitantikörper mit dem Elite-ABC-Komplex (Camon, Wiesbaden) in einer Verdünnung von 1:500 in PBS-A für 24 Stunden bei 4 °C markiert. Nach zwei Waschgängen in PBS, Vorinkubation über 15 Minuten in einer Lösung aus 1,4 mM 3,3'-diaminobenzidin-dihydro-chlorid (DAB) und 10 mM Imidazol in 50 mM Tris-Puffer, pH 7,6, Überführung der Schnitte in die gleiche Lösung, zur Reaktionsverstärkung aber 0,3% Nickelammoniumsulfat enthaltend, wurde die Visualisation gestartet durch Zugabe von 25 µl 0,03%igem Wasserstoffperoxid zu 500 µl Lösung. Die Reaktion wurde nach 15 Minuten durch Waschen in PBS gestoppt. Die Peroxidaseaktivität wurde in Form eines braun-schwarzen Reaktionsproduktes sichtbar.

Die Schnitte wurden auf Gelatine-gecoatete Objektträger aufgezogen und mindestens 30 Minuten luftgetrocknet. Nach der Dehydrierung durch die aufsteigende Alkoholreihe wurden sie zweimal 5 Minuten in Xylol gebracht und dann mit Entellan (Merck, Darmstadt) eingedeckt.

2.7 Die Immunreaktionen im Schnitt wurden nach folgenden Kriterien bewertet

Jedes Serum, auch von Gesunden, enthält üblicherweise "natural autoantibodies" gegen eine große Anzahl von Antigenen. Diese natürlichen Autoantikörper haben keinen Krankheitswert und liegen in niedriger Konzentration vor. Sie führen im Schnitt zur Markierung nahezu aller Strukturen. Daher gingen Immunreaktionen bei Einsatz der Seren in niedriger Verdünnung (1:100 – 1:200) nicht in die Auswertung ein. Bei hohen Serum-Verdünnungen ist dann die Konzentration der "natural autoantibodies" so niedrig, dass diese keinen Effekt mehr machen. Die bei Serum-Verdünnungen von 1:5000 oder höher entstandene Immunreaktion sollte also durch krankheitsspezifische Antikörper bedingt sein.

Wir setzten daher folgende Kriterien für eine als positiv zu wertende Immunreaktion ein: Es durfte keine Reaktion entstehen, wenn das Serum mit dem darin enthaltenen Erstantikörper weggelassen wurde (Negativ-Probe). Damit wurde gezeigt, dass der Zweitantikörper nur bei Anwesenheit von menschlichem IgG spezifisch reagierte. Vorbehandlung des Serums mit Protein G führte zur Entfernung des im Serum vorhandenen IgG und somit zu einem Ausbleiben jeglicher Immunreaktion. Dies zeigte, dass die Reaktion ausschließlich durch IgG des Patienten und nicht durch andere Blutbestandteile hervorgerufen wurde.

Die dargestellten Strukturen mussten deutlich bei Serum-Verdünnungen von 1:5000 oder höher erkennbar sein.

2.8 Immunfluoreszenz-Zytochemie

Frei flottierende 25 µm Kryo-Schnitte wurden in 0,01 M Phosphatpuffer, pH 7,4 (PBS) gewaschen, dann 15 Minuten mit 1%igem Natriumborhydrid in PBS behandelt zur Zerstörung verbliebener Aldehydgruppen vom Fixierungsmittel, dann wieder in PBS gewaschen.

Danach wurden die Schnitte für 30 Minuten bei Raumtemperatur mit 10%igem NGS und 0,3%igem Triton X-100 in PBS zur Blockierung unspezifischer Bindungsstellen und Erhöhung der Permeabilität vorbehandelt. Dann wurde der Erstantikörper (Tabelle 2) in entsprechender Verdünnung in einer Lösung aus 10%igem NGS mit 0,3% Triton X-100, 0,001% Thimerosal und 0,1% Azid (als Antibiose) auf die

Schnitte gegeben und diese 36 Stunden bei 2°C inkubiert. Nach mehrmaligem Waschen mit PBS wurden die Schnitte mit einer Lösung aus 0,2%igem Serumalbumin vom Rind in PBS (PBS-A) 60 Minuten vorinkubiert, dann über 24 Stunden bei Raumtemperatur mit dem entsprechenden Fluorochrom-markierten Zweitantikörper (Tabelle 3) 1:2000 in PBS-A mit 0,3% Triton X-100 und 0,1% Azid versehen. Nach mehrmaligem Waschen mit PBS wurden die Schnitte auf Gelatinegecoatete Objektträger aufgezogen, kurz luftgetrocknet und mit MountFluor (Biocyc, Luckenwalde, Deutschland) eingedeckt.

2.9 Doppel-Immunfluoreszenz-Zytochemie

Zur Blockierung von Hintergrundaktivität und Permeabilisierung wurden die Schnitte wie unter 2.8 behandelt. Die entsprechenden Erstantikörper wurden gleichzeitig für 36 Stunden eingesetzt wie unter 2.8. Nach mehrmaligem Waschen mit PBS wurden die Schnitte mit einer Lösung aus 0,2%igem Serumalbumin vom Rind in PBS (PBS-A) 60 Minuten vorinkubiert, dann über 24 Stunden bei Raumtemperatur mit einer Mischung aus zwei entsprechenden Fluorochrom-markierten Zweitantikörpern (Tabelle 3) 1:2000 in PBS-A mit 0,3% Triton X-100 und 0,1% Azid versehen. Nach mehrmaligem Waschen wurden die Schnitte aufgezogen und eingedeckt wie unter 2.8 beschrieben.

2.10 Morphologische Analyse

Die Analyse der Schnitte in der Hellfeld-Mikroskopie erfolgte an einem Olympus CX41 Mikroskop, fotografiert wurde mit der Digital Camera Camedia C 7070 (Olympus, Hamburg, Deutschland). Die Ursprungsbilder wurden mit Adobe Photoshop CS 8.0 aufgearbeitet.

Die Fluoreszenz-markierten Schnitte wurden mit einem Leica DMLB Mikroskop, ausgestattet mit einer Quecksilberlampe und einer Leica DC200 Kamera, analysiert. Die Bilder von den doppelmarkierten Schnitten wurden zunächst einzeln durch separaten Einsatz der entsprechenden Wellenlängen gewonnen und die Doppelmarkierung durch digitale Überlagerung im Adobe Photoshop 8.0 dargestellt.

<u>Erstantikörper</u>	<u>Hersteller</u>	<u>Konzentration</u>
Ra-Choline-Acetyltransferase	Chemicon/Millipore, Schwalbach, Deutschland	1:500
Ra-Serotonin (5-HT)	Prof. Veh, Charité Berlin, Deutschland	1:500
Ma-Tyrosin Hydroxylase	Chemicon/Millipore, Schwalbach, Deutschland	1:10.000
Ma- Dopamin- β -Hydroxylase	Chemicon/Millipore, Schwalbach, Deutschland	1:2000
Gpa-Histidin-Decarboxylase	DPC Biermann Bad Nauheim, Deutschland	1:1000
Patientenseren	Neurologische Klinik St. Josef-Hospital Oberhausen, Deutschland	1:5000

Tab. 2: Hersteller und geeignete Konzentrationen der Erstantikörper.
Ra: Kaninchen-anti; Ma: Maus-anti; Gpa: Meerschweinchen-anti

<u>Zweitantikörper</u>	<u>Hersteller</u>	<u>Konzentration</u>
B-GaHu	Vector laboratories, Burlingame, LA, USA	1:2000
B-GaR	"	1:2000
B-HaM	"	1:2000
GaHu IgG Alexa Fluor 488	MoBiTec Göttingen, Deutschland	1:2000
GaR IgG Alexa Fluor 594	"	1:2000
HaM IgG Alexa Fluor 594	"	1:2000

Tab. 3: Hersteller und geeignete Konzentrationen der Zweitantikörper.

B-GaHu: biotinyliertes Goat-anti-Human IgG; B-GaR: biotinyliertes Goat-anti-Rabbit IgG; B-HaM: biotinyliertes Horse-anti-Mouse IgG;

GaHu IgG Alexa Fluor 488: Goat-anti-Human IgG, markiert mit einem Fluoreszenzfarbstoff, der mit der Wellenlänge von 488 nm reflektiert;

GaR IgG Alexa Fluor 594: Goat-anti-Rabbit IgG, markiert mit einem Fluoreszenzfarbstoff, der mit der Wellenlänge von 594 nm reflektiert.

HaM IgG Alexa Fluor 594: Horse-anti-Mouse IgG, markiert mit einem Fluoreszenzfarbstoff, der mit der Wellenlänge von 594 nm reflektiert.

3 **ERGEBNISSE**

3.1 **Proteine von Ratte und Mensch zeigen eine 89-99%ige Sequenzhomologie**

Es ist bekannt, dass sich beim Einsatz von menschlichem Hirngewebe bei immunzytochemischen Untersuchungen große Probleme ergeben. Das nicht perfusions-, sondern immersionsfixierte menschliche Gehirn ist durch autolytische Prozesse morphologisch nur sehr schlecht zu beurteilen. Außerdem reagiert der gegen menschliches IgG gerichtete Zweitantikörper mit dem gesamten Gewebe, vermutlich weil sich die Immunglobuline aus den Gefäßen postmortal relativ gleichmäßig im Gewebe verteilt haben. Dadurch zeigen bereits die Kontrollschnitte eine massive Reaktion, und die Interpretation spezifischer Ergebnisse ist somit unmöglich.

Proteine in verschiedenen Säugerspezies zeigen gewöhnlich eine 89-99%ige Sequenzhomologie. Das ist der Grund, warum Homogenate aus Hirngewebe von Mensch und Ratte für Western-Blots mit den gleichen Seren sehr ähnliche Bandenmuster zeigen. Daher können wir in den immunzytochemischen Versuchen statt menschliches Gewebe Rattengewebe einsetzen. Des Weiteren ergibt sich auch aufgrund der geringen Größe des Rattengehirns ein bestmöglicher Überblick über die verschiedenen Hirnregionen. Hier liefert uns der Atlas des Rattenhirns von Paxinos (Abb. 4A und 4B) eine gute Orientierung zum Auffinden der entsprechenden Hirnregionen in unseren Kresyl- und immunzytochemisch behandelten Schnitten.

3.2 Morphologische Darstellung der monaminergen Systeme und immunzytochemische Ergebnisse der GBS-Seren an Kryostatschnitten vom Rattengehirn

3.2.1 Das cholinerge System

3.2.1.1 Die cholinergen Zellen finden sich in mehreren Arealen des Vorderhirns

Cholinerge Zellen oder Zellgruppen finden sich im Bereich des Vorderhirns im Lateralen Septum, im diagonalen Band von Broca, im Nukleus basalis Meynert und in Form der Riesen-Interneurone ("giant interneurons") im Striatum, das bei der Ratte als Caudatoputamen (CPu) bezeichnet wird. Diese Kerngebiete werden über topographische und zytoarchitekturelle Kriterien identifiziert. Das Caudatoputamen beginnt etwa 2 mm rostral vom Bregma und erstreckt sich dann ungefähr 5 mm nach caudal. Zur Untersuchung wurde ein rostraler Bereich etwa 1 mm vor Bregma ausgewählt, da Frontalschnitte in dieser Ebene auch Zellgruppen des Septums und des diagonalen Bandes enthalten (Abb. 5). Schon in der Übersicht ist das Caudatoputamen an seiner wabigen Struktur und in größerer Auflösung an den magnozellularen Zellen ("giant interneurons") und den unterschiedlich großen kleineren Interneuronen gut erkennbar.

Lateral vom Interhemisphärenspalt und unterhalb des Balkens befindet sich die Septumregion mit dem "lateral septal nucleus dorsal und ventral" (LSD, LSV).

Darunter lassen sich gut die typischen längsovalen großen Neurone des diagonalen Bandes ausmachen (Abb. 5 und 7A).

Die Zellgruppen des vertikalen Schenkels des Diagonalen Bandes von Broca (VLDB) liegen medial und beginnen von dorsal etwa bei einer Linie zwischen den Anschnitten der vorderen Kommissur (aca, Abb. 4 und 5).

Die cholinergen Neurone des Nukleus basalis Meynert liegen bei der Ratte im Pallidum (Abb. 6A und B) und sind allerdings mit rein morphologischen Methoden alleine kaum zu erkennen. Dieser Kern enthält die Mehrzahl der cholinergen Nervenzellen, die weitläufig zum gesamten Neocortex projizieren.

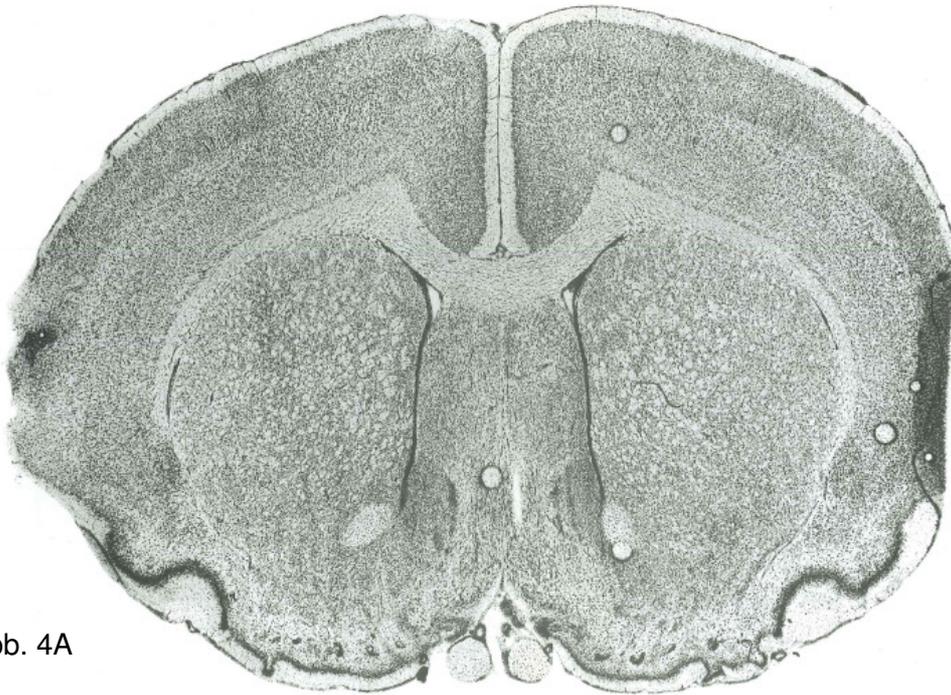


Abb. 4A

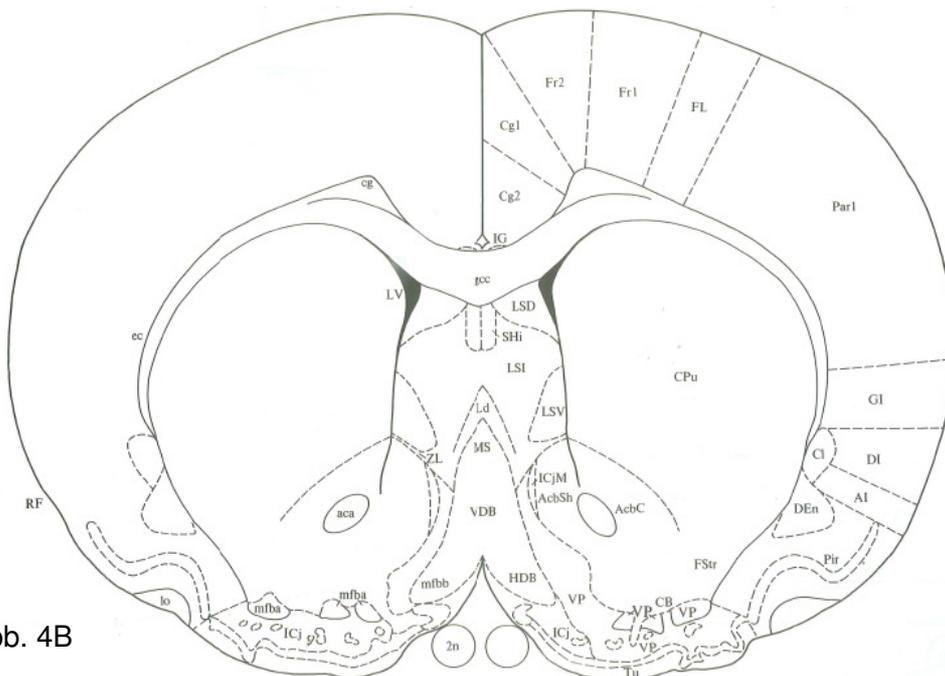


Abb. 4B

Interaural – 9.70 mm

Bregma – 0.70 mm

Abb. 4: Dies ist ein Frontalschnitt des Rattenhirns (A, Bregma 0,70 mm) mit analoger schematischer Übersicht (B) der Kerngebiete im Vorderhirn (Paxinos und Watson, 1986). Cholinerge Regionen sind das Caudatoputamen (CPu), die Septumregion (LSD, LSV) und das diagonale Band (VDB, HDB).

2n	optica nerve	FL	forelimb area of cortex	LSV	lateral septal nu, ventral
aca	anterior commissure, anterior	Fr1	frontal cortex, area 1	LV	lateral ventricle
AcbC	accumbens nu, core	Fr2	frontal cortex, area 2	mfa	medial forebrain bundle, a
AcbSh	accumbens nu, shell	FStr	fundus striati	mfb	medial forebrain bundle, b
AI	agranular insular Cx	gcc	genu corpus callosum	MS	medial septal nu
CB	cell bridges ventral striatum	GI	granular insular cortex	Par1	parietal cortex, area 1
cg	cingulum	HDB	nu horizontal limb diagonal band	Pir	piriform cortex
Cg1	cingulate cortex, area 1	ICj	islands of Calleja	RF	rhinal fissure
Cg2	cingulate cortex, area 2	ICjM	islands of Calleja, major island	SHi	septohippocamal nu
Cl	claustrum	IG	indusium griseum	Tu	olfactory tubercle
CPu	caudate putamen	Ld	lambdoid septal zone	VDB	nu vertrical limb diagonal band
DEn	dorsal endopiriform nu	lo	lateral olfactory tract	VP	ventral pallidum
DI	dyssgranular insular cortex	LSD	lateral septal nu, dorsal	ZL	zona limitans
ec	external capsule	LSI	lateral septal nu, intermediate		

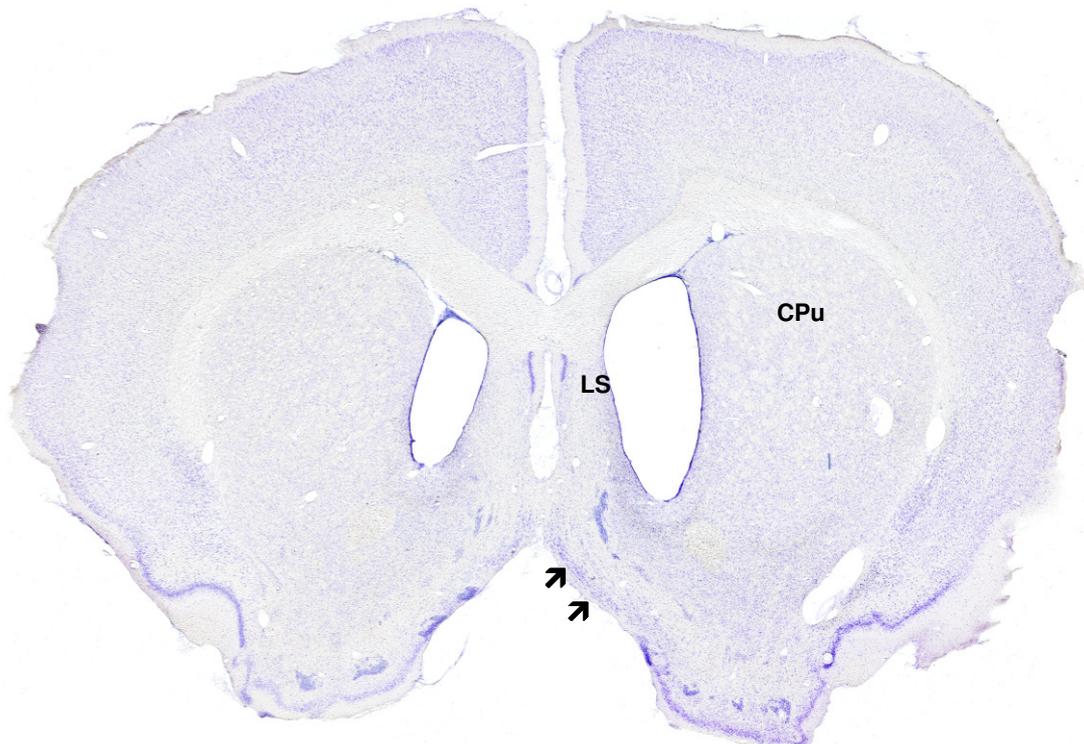


Abb. 5: Zur Interpretation der späteren immunzytochemischen Reaktionen ist zunächst die Identifizierung der cholinergen Kerngebiete im Kresylschnitt notwendig. Das Caudatoputamen (CPu) ist gut an der wabigen Struktur zu erkennen. Die lateralen Septumkerne (LS) liegen direkt medial der Wand des Seitenventrikels. Die Neurone des darunterliegenden diagonalen Bandes sind durch ihre Größe und längsovale Struktur erkennbar (Pfeile).

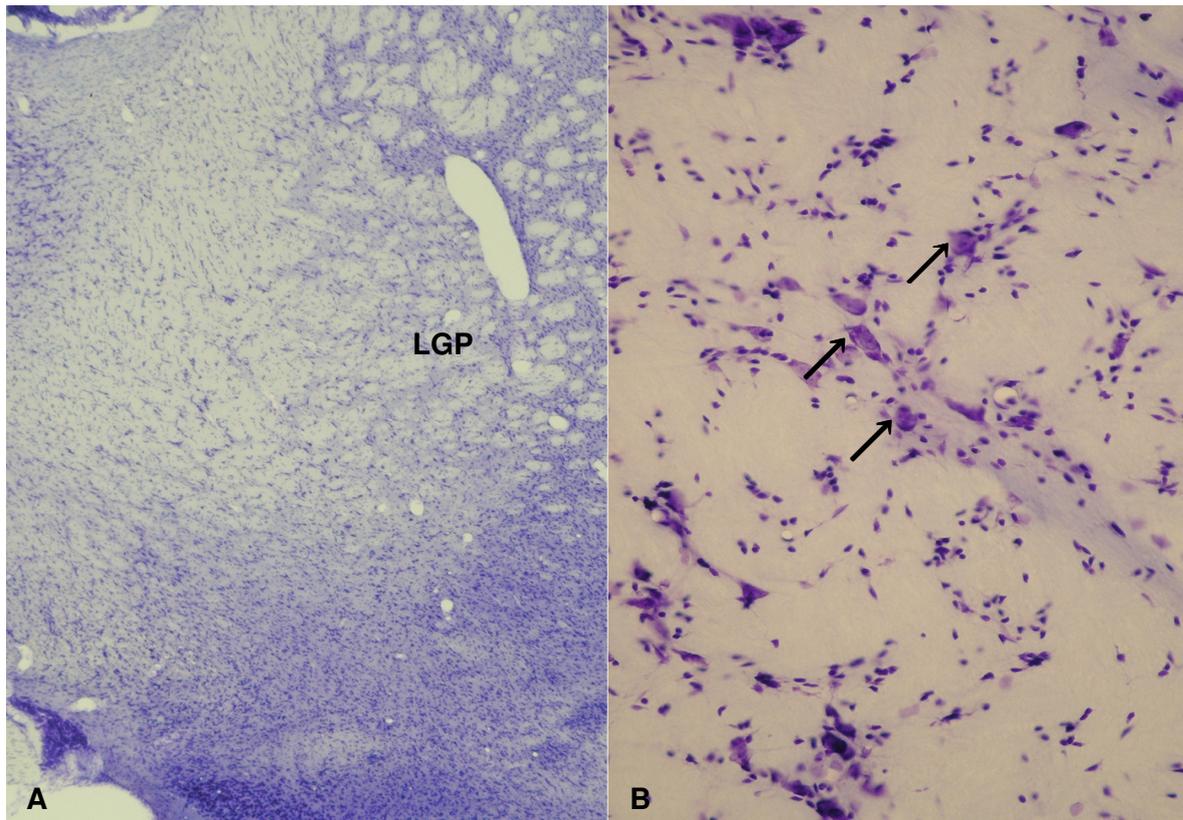


Abb. 6: Eine Gruppe der cholinergen Neurone im Vorderhirn liegt im Nucleus basalis Meynert. Dieser befindet sich bei der Ratte im Pallidum (A, LGP) und ist mit morphologischen Methoden alleine kaum zu erkennen. Diese Neurone stechen aber doch durch ihre Größe im Vergleich zu den benachbarten Neuronen hervor (B, Pfeile). Eine genaue Identifizierung dieser einzeln liegenden Neurone gelingt sicher nur durch immunzytochemischen Nachweis der Cholinacetyltransferase (s. Abb. 8B).

3.2.1.2 GBS-Seren reagieren mit cholinergen Neuronen

Zuerst konzentrierten wir uns auf das Caudatoputamen mit den cholinergen großen Interneuronen. In der Tat waren einige größere Zellen mit den GBS-Seren reagibel, die den großen Interneuronen entsprechen konnten.

Als besonders interessant erwies sich aber dann die Analyse des Septum-Bereichs (Abb. 7A). Einzelne GBS-Seren reagierten hochspezifisch und kräftig mit Neuronen im vertikalen Schenkel des Diagonalen Bandes (VLDB, Abb. 7B). Bei stärkerer Vergrößerung (Abb. 7C) wies das Bild der Zellen im medialen Septum (MS) und im vertikalen Schenkel und horizontalen Schenkel des Diagonalen Bandes (MS/VLDB-Komplex) große Ähnlichkeit mit der Verteilung der septohippokampalen, cholinergen Neurone der Ch2-Region (Mesulam et al., 1983) auf. Dies könnte zunächst so

interpretiert werden, dass spezifisch ein Antigen in cholinergen Neuronen des Vorderhirns erkannt wurde.

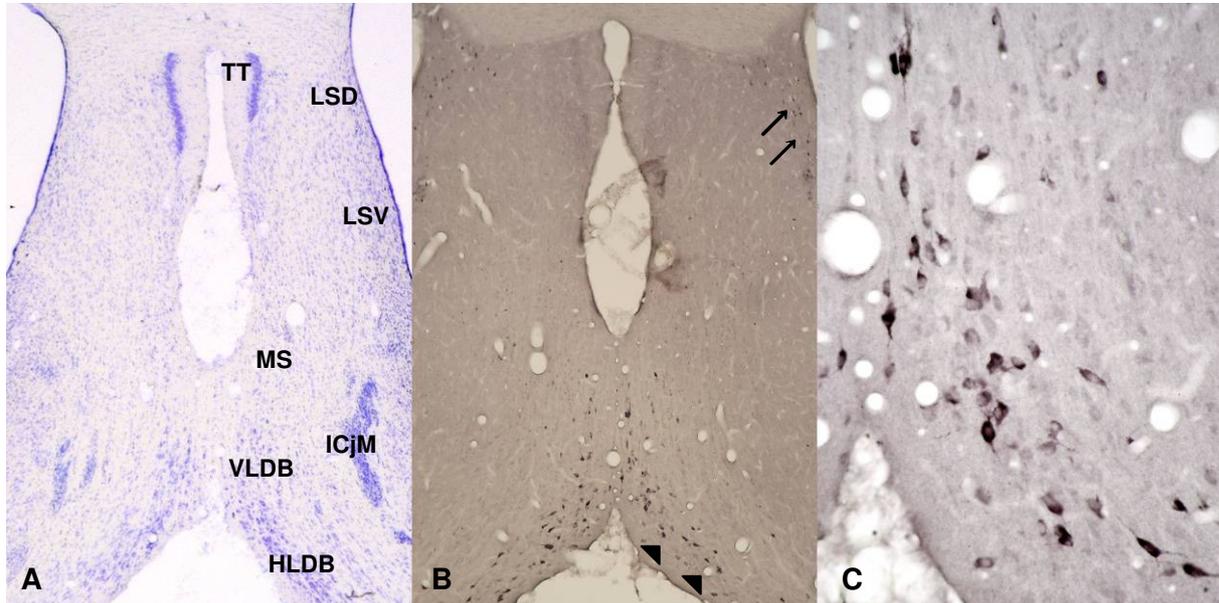


Abb. 7: Lateral vom Interhemisphärenspalt und unterhalb des Balkens befindet sich die Septumregion (A). Im Kresylschnitt sind einzelne Kerne wie die Taenia tecta (TT), mediale (MS) und laterale Septumkerne (LSD, LSV), die Calleja-Inseln (ICjM) und die Kerne des vertikalen (VLDB) und des horizontalen (HLDB) Schenkels des Diagonalen Bandes gut identifizierbar. Einzelne Seren reagierten hochspezifisch, aber schwach, mit Neuronen im lateralen Septum (B, Pfeile) und kräftig im Kern des HLDB (B, Pfeilspitzen). Bei stärkerer Vergrößerung weist das Bild der Zellen im HLDB (C) große Ähnlichkeit mit der Verteilung der septohippokampalen cholinergen Neurone der Ch2-Region auf.

Auch die Zellen im Nukleus basalis Meynert waren immunopositiv. Mit diesen Zellen reagierten auch die Seren der GBS-Patienten, die auch die vermutlich cholinergen Zellen im Diagonalen Band markierten.

Ob es sich bei dem von den Seren markierten Zellen wirklich um cholinerge Neurone handelte, wurde durch die Doppel-Immunfluoreszenz geklärt. Dazu wurde ein Schnitt gleichzeitig mit dem GBS-Serum und dem Marker für cholinerge Neurone, also eine Anti-Cholinacetyltransferase-Antikörper (Anti-ChAT-AK) behandelt. Positive Serumreaktionen ergaben ein grünes, die des Anti-ChAT-AK ein rotes Signal. Durch Übereinanderlagerung beider Bilder waren dann die sowohl vom Serum als auch von dem Anti-ChAT-AK markierten Neurone gelb. Hierdurch ergab sich für das Striatum, dass die von den Seren markierten großen Zellen sich nicht als cholinerg darstellten. Im medialen Septum lagen die seropositiven Neurone deutlich lateraler als die

cholinergen Neurone. Im VLDB kamen gar keine Ziel-Proteine für die GBS-Seren vor. Somit waren die in diesen Regionen von den Seren markierten Neurone also nicht cholinerg.

Im HLDB dagegen waren alle grünen Zellen nach Überlagerung gelb, einige rote Zellen blieben aber rot. Somit waren also alle immunopositiven Zellen cholinerg, aber das Serum reagierte nicht mit allen cholinergen Zellen (nicht gezeigt).

Auch im Nukleus basalis Meynert waren alle immunopositiven Zellen cholinerg, aber nicht alle cholinergen Zellen wurden vom Serum markiert (Abb. 8).

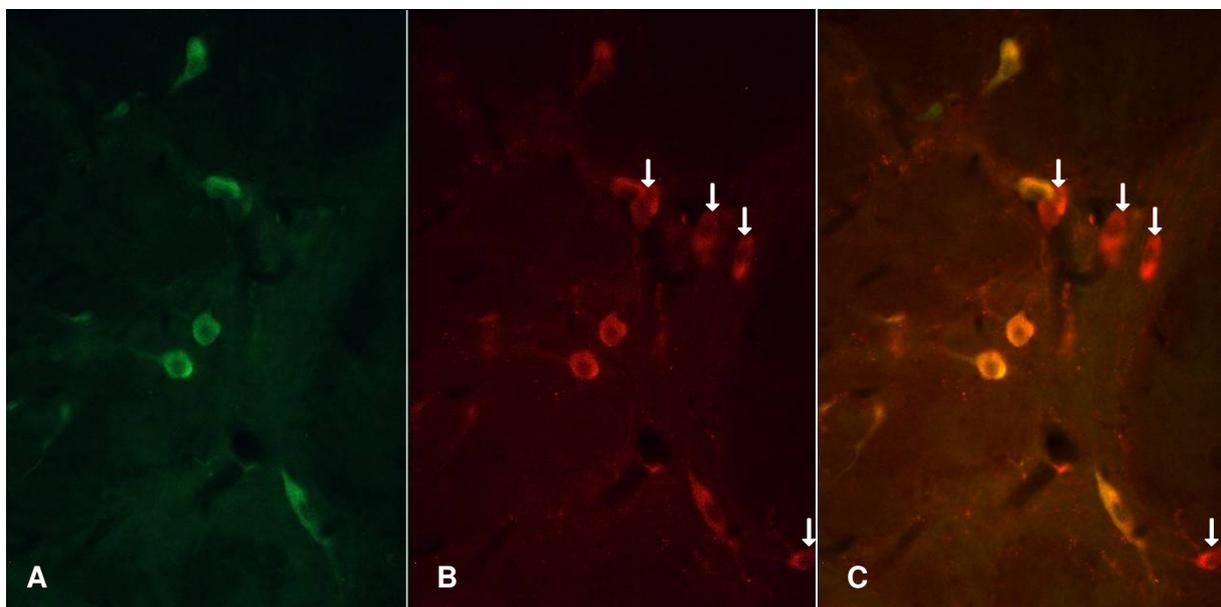


Abb. 8: Bei den Serum-positiven Neuronen (A, grüne Zellen) im lateralen Pallidum (LGP) könnte es sich um die cholinergen Neurone des Nukleus basalis Meynert (B, rote Zellen) handeln. Die Überlagerung der beiden Aufnahmen (C) zeigt eindeutig, dass das Serum ausschließlich mit cholinergen Neuronen reagierte, da alle grünen Neurone in A in der Überlagerung gelb erschienen. Im Gegensatz dazu blieben vier der cholinergen Neurone in B (Pfeile) auch in der Überlagerung rot (C, Pfeile). Damit ist gezeigt, dass das Serum zwar mit cholinergen Neuronen, aber nicht mit allen cholinergen Neuronen reagiert.

Insgesamt fanden sich tatsächlich in etwa 24% (14 von 59) der Seren von GBS-Patienten Autoantikörper gegen Neurone des basalen cholinergen Systems. In den Seren der Kontrollgruppen dagegen waren derartige Reaktivitäten deutlich seltener. So zeigten Seren von MS-Patienten diese Reaktion in nur 8% (3/36), Seren von Non-autoimmun-Patienten ebenfalls in nur 8% (2/24) und Seren des Normalkollektivs überhaupt nicht (0/24) (Tab. 4, s. S. 55).

3.2.2 Das serotonerge System

3.2.2.1 Die serotonergen Neurone finden sich in mehreren Arealen des caudalen Metencephalons

Orientierend an den Schnitten im Atlas des Rattenhirns (Paxinos) (Abb. 9A und B) konnten in unserem fast analogen Kresylschnitt (Abb. 10) die einzelnen Kerngebiete identifiziert werden. Allerdings werden hier nicht alle aufgelistet, sondern nur die größeren und die für die aktuelle Auswertung entscheidenden. Untersucht wurden Regionen im rostralen Metencephalon im Bereich der nach oben projizierenden dorsalen Raphe und Regionen weiter caudal mit Raphekernen, die zum Rückenmark projizieren. Exemplarisch wird hier ein Schnitt im unteren Metencephalon beschrieben. Hier lassen sich neben den Vestibulariskernen der externe Cuneatuskern lateral von diesen, der Ncl. praepositus hypoglossus medial davon und der Ncl. des Tractus solitarius ventrolateral davon abgrenzen. Lateral außen können der untere Kleinhirnstiel, der Tractus und Nukleus spinalis des Nervus trigeminus unterschieden werden. Der Bereich bis zur Mittellinie wird von der Formatio reticularis ausgefüllt, die typischerweise netzartig erscheint. Ganz ventral liegen von lateral nach medial mehrere reticuläre Kerne, der laterale paragigantocelluläre Kern und ganz medial die Unterkerne der unteren Olive. Dorsal des lateralen reticulären Kerns liegt am Übergang zur Formatio reticularis eine kleine Gruppe von Neuronen, der Ncl. ambiguus. Um die Mittellinie herum liegen von den Raphekernen in dieser Schnittebene die Neurone der Raphe pallidus ganz ventral, weiter dorsal davon die der Raphe obscurus. Deutlich weiter rostral, nicht mehr in dieser Schnittebene, läge dann die dorsale Raphe.

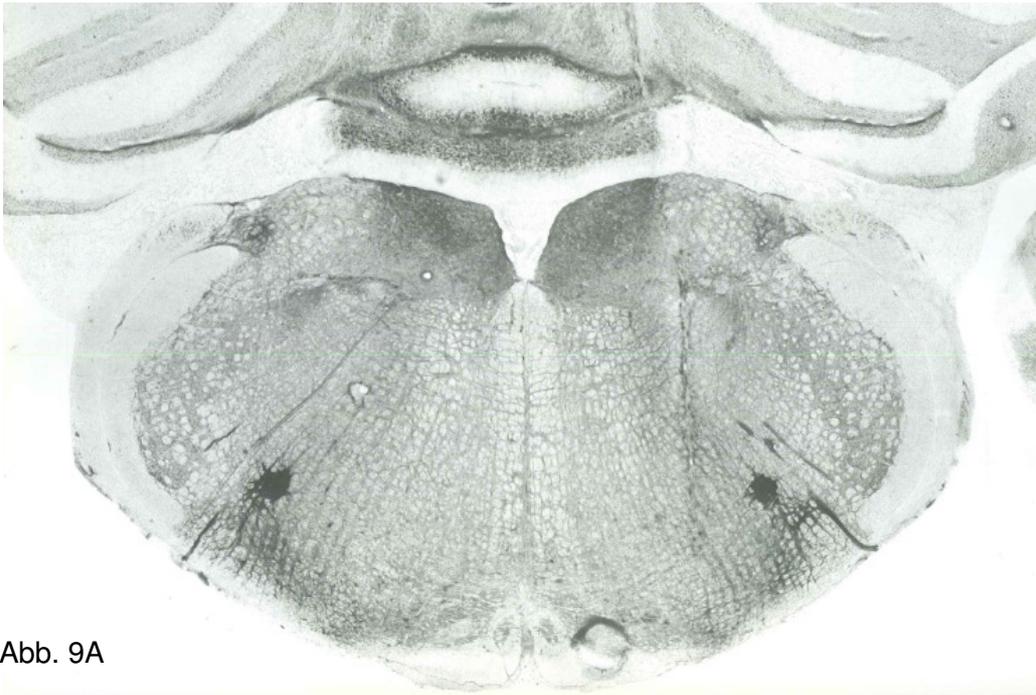


Abb. 9A

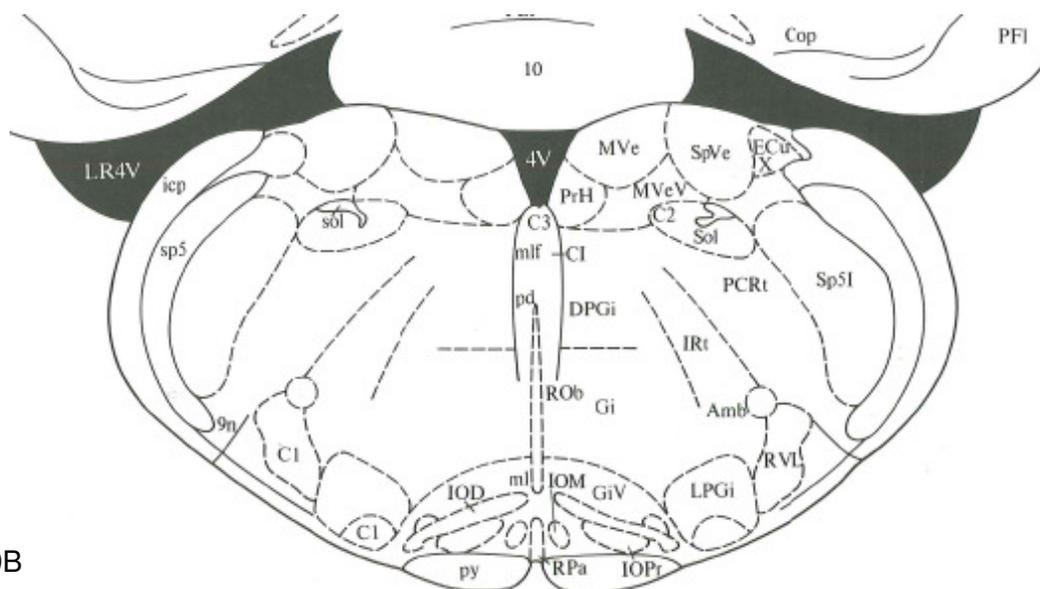


Abb. 9B

Interaural – 2.80 mm

Bregma – 11.80 mm

Abb. 9: Dies ist ein Transversalschnitt des Rattenhirns vom Paxinos Atlas (A, Bregma 11,8 mm) mit analoger schematischer Übersicht (B) der Kerngebiete im Metencephalon. Die Raphekerne mit ihren serotonergen Neuronen erstrecken sich von der Medulla oblongata bis zum Mesencephalon in Höhe des Ncl. ruber (s. Einleitung, 3.2.2.1). In dieser Schnittebene befindet sich exemplarisch die Raphe obscurus (ROb).

1-10	cerebellar lobules	ICF	interposed cerebellar nu.post	pd	predorsal bundle
4V	4th ventricle	icp	inferior cerebellar poduncle	PFI	paraflocculus
9n	glossopharyngeal nerve	IntP	interposed cerebellar nu.post	PLF	posterolateral fissure
Amb	ambiguus nu	IOD	inferior olive, dorsal nu	PrF	primary fissure
C1	C1 adrenaline cells	IOM	inferior oliver, medial nu	PrH	prepositus hypoglossal nu
C2	C2 adrenaline cells	IOPr	inferior oliver, principal nu	py	pyramidal tract
C3	C3 adrenaline cells	IRt	intermediate reticular nu	ROb	raphe obscurus nu
C1	caudal interstitial nu mlf	LPGi	lateral paragigantocellular nu	RPa	raphe pallidus nu
Cop	copula pyramis	LR4V	lateral recess 4th ventricle	RVL	rostroventrolateral retic. nu
Crus1	crus 1 ansiform lobule	Med	medial cerebellar nu	Sol	nu solitary tract
Crus2	crus 2 ansiform lobule	ml	medial lemniscus	sol	solitary tract
DPGi	dorsal paragigantocellular nu	mlf	medial longitudinal fasciculus	sp5	spinal trigeminal tract
ECu	external cuneate nu	MVe	medial vestibular nu	Sp5l	spinal trigem nu, interpolar
Gi	gigantocellular reticular nu	MVeV	medial vestibular nu, ventral	SpVe	spinal vestibular nu
GiV	gigantocell reticular nu, vent	PCRt	parvocellular reticular, nu	X	nucleus X

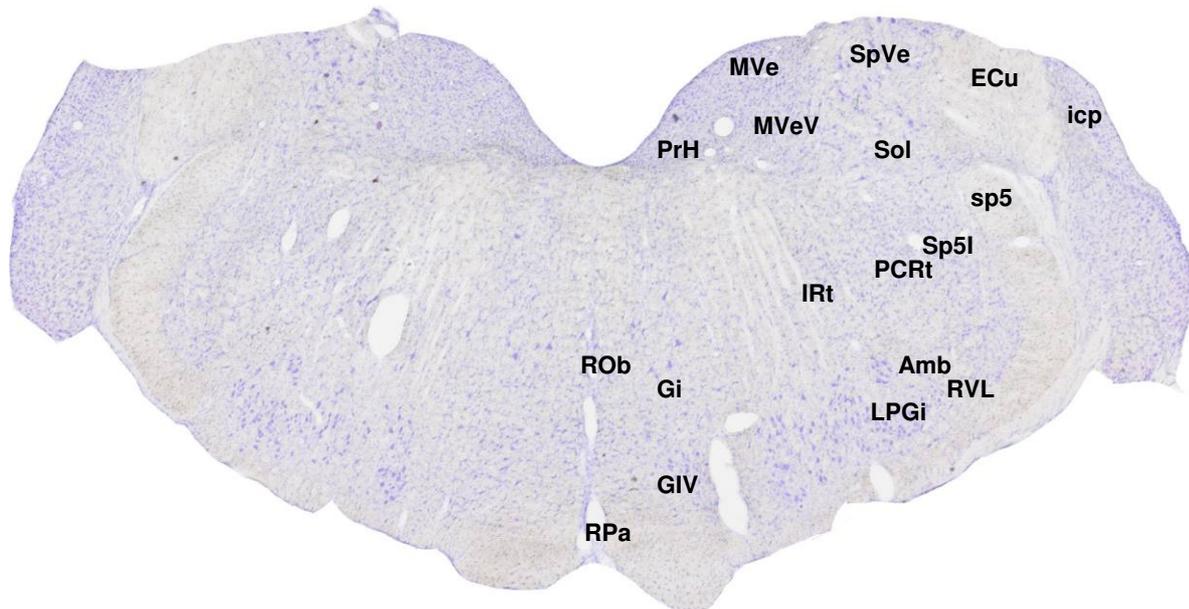


Abb. 10: Anhand des Paxinos Schemas kann man nun auch in unserem Kresylschnitt die Kerngebiete identifizieren und somit die immunzytochemischen Ergebnisse zuordnen. Amb (Ncl. ambiguus), ECU (external cuneate nu), Gi (gigantocellular reticular nu), GIV (gigantocell reticular nu, vent), icp (inferior cerebellar poduncle), IRt (intermediate reticular nu), LPGi (Internal paragigantocellular nu), MVe (medial vestibular nu), MVeV (medial vestibular nu, ventral), PCRt (parvocellular reticular, nu), PrH (prepositus hypoglossal nu), ROb (raphe obscurus nu), RPa (raphe pallidus nu), RVL (rostroventrolateral reticular nu), Sol (nu solitary tract), sp5 (spinal trigeminal tract), Sp5I (spinal trigem nu, interpolar), SpVe (spinal vestibular nu).

3.2.2.2 GBS-Seren reagieren mit serotonergen Neuronen

Für die Untersuchung der serotonergen Zellen haben wir uns hier auf das Gebiet der Raphekerne fokussiert.

Die Lokalisation der GBS-positiven Zellen im Bereich der dorsalen Raphe weist große Ähnlichkeit mit der bekannten Verteilung der Serotonin-Neurone in diesem Bereich auf (Abb. 11).

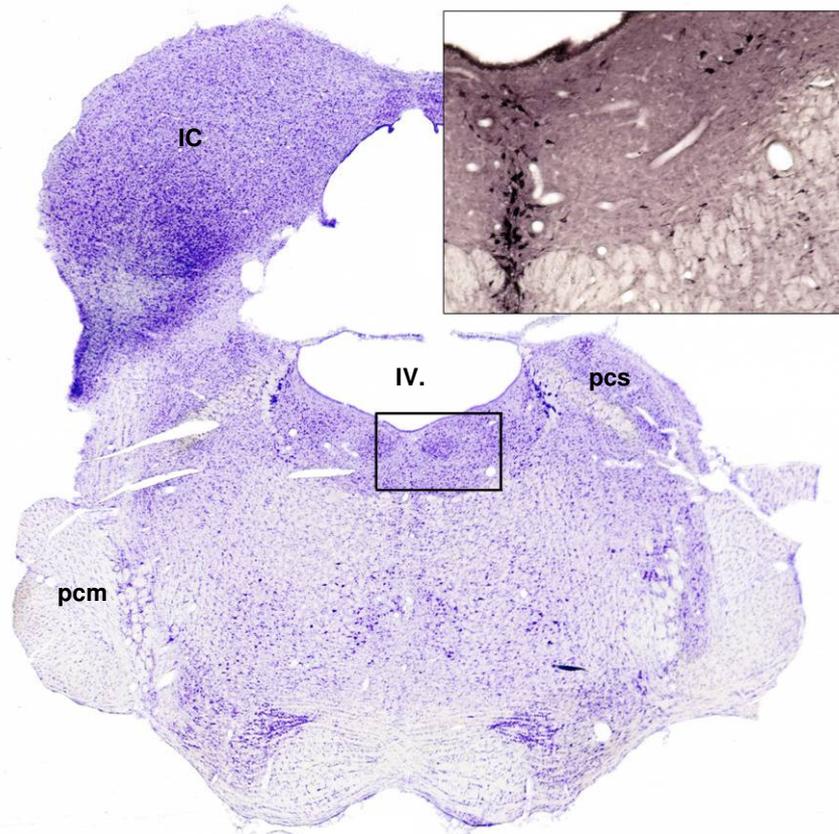


Abb. 11: Weiter rostral der oben beschriebenen Schnittebene liegen in Höhe des Colliculus inferior (IC) und der mittleren (Pedunculus cerebellaris medius, pcm) und oberen Kleinhirnstiele (Pedunculus cerebellaris superior, pcs) paramedian die Neurone der dorsalen Raphe, die im Kresylschnitt unterhalb des Bodens des IV. Ventrikels erkennbar sind (Kasten). Die Ausschnittvergrößerung zeigt die immunzytochemische Reaktion dieser Neurone mit einem GBS-Serum.

Um nun zu verifizieren, dass es sich bei den GBS-positiven Neuronen auch wirklich um serotonerge Neurone handelt, wurde auch hier die Doppel-Immunfluoreszenz-Markierung eingesetzt.

Dazu wurde ein Schnitt gleichzeitig mit einem GBS-Serum und mit einem Serotonin-Antikörper behandelt. Positive Serumreaktionen ergaben ein grünes Signal, die Serotonin-positiven ein rotes. Durch Überlagerung beider Bilder waren dann die sowohl vom Serum als auch von dem Serotonin-Antikörper markierten Neurone gelb. Hierdurch ergab sich für die dorsale Raphe, dass die vom GBS-Serum markierten Zellen alles serotonerge Neurone waren, aber nicht alle serotonergen Neurone vom Serum erkannt wurden (Abb.12). Daraus folgt, dass die serotonergen Neurone in verschiedenen Untertypen oder Aktivitätszuständen vorliegen müssen (siehe Diskussion).

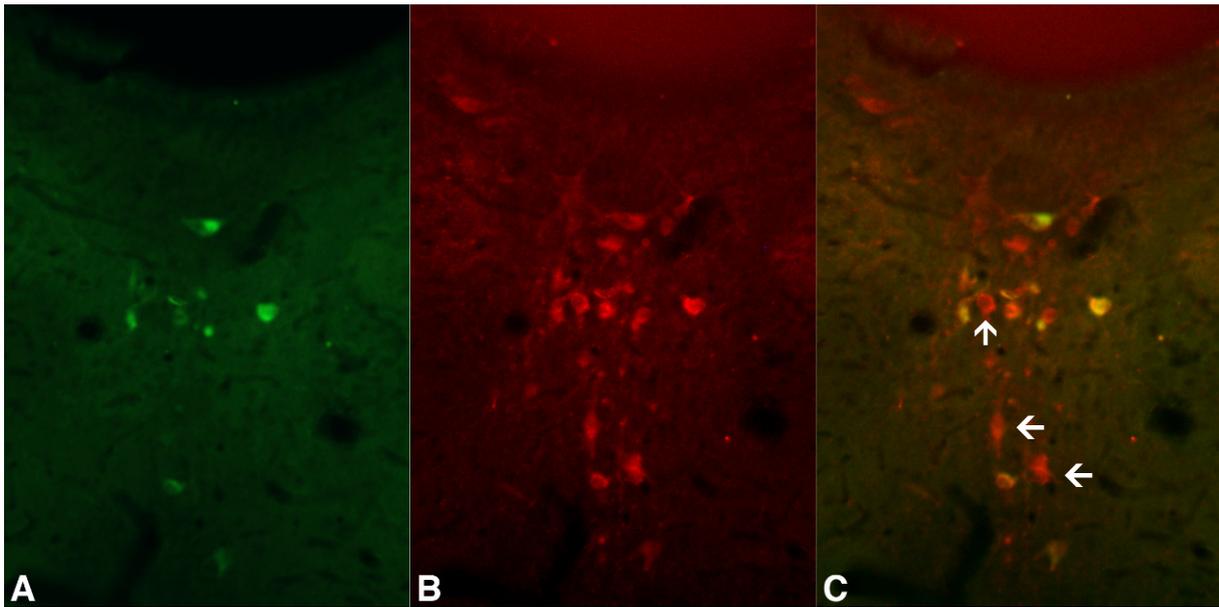


Abb. 12: Die Lokalisation der GBS-positiven Zellen im Bereich der Dorsalen Raphe (A, grüne Zellen) entspricht sehr gut der bekannten Verteilung der serotonergen Neurone, die mit einem Serotonin-Antikörper in B (rote Zellen) dargestellt sind. Im direkten Vergleich durch Überlagerung beider Ergebnisse wird deutlich, dass zwar alle GBS-Neurone Serotonin enthalten (C, gelbe Zellen), aber nicht alle Serotonin-Neurone mit diesem GBS-Serum interagieren (C, rote Zellen, Pfeile).

Insgesamt reagierten 11 von 59 GBS-Seren (18,6%) und nur 2 von 24 Non-auto-Seren (8,3%) mit serotonergen Neuronen. Die Seren der MS-Patienten und des Normalkollektivs zeigten dort keine Reaktion (Tab. 5). Somit liegt bei der Immunreaktion mit Neuronen in den Raphekernen ein signifikantes Ergebnis für die GBS-Seren vor.

3.2.3 Das noradrenerge System

3.2.3.1 Die noradrenergen Neurone finden sich im Metencephalon im Ncl. coeruleus und der A5-Region

Dieser Kresyl-Schnitt befindet sich etwa 1,5 mm rostral des oben beschriebenen Schnittes. Der Ncl. coeruleus (auch Locus coeruleus) liegt medial der superioren Vestibulariskerne und grenzt an die laterale Wand des 4. Ventrikels. Ganz ventral liegt ein weiteres noradrenerges Gebiet, die A5-Region (siehe Einleitung) zwischen Austrittspunkt des N. facialis und der Pyramidenbahn (Abb. 13).

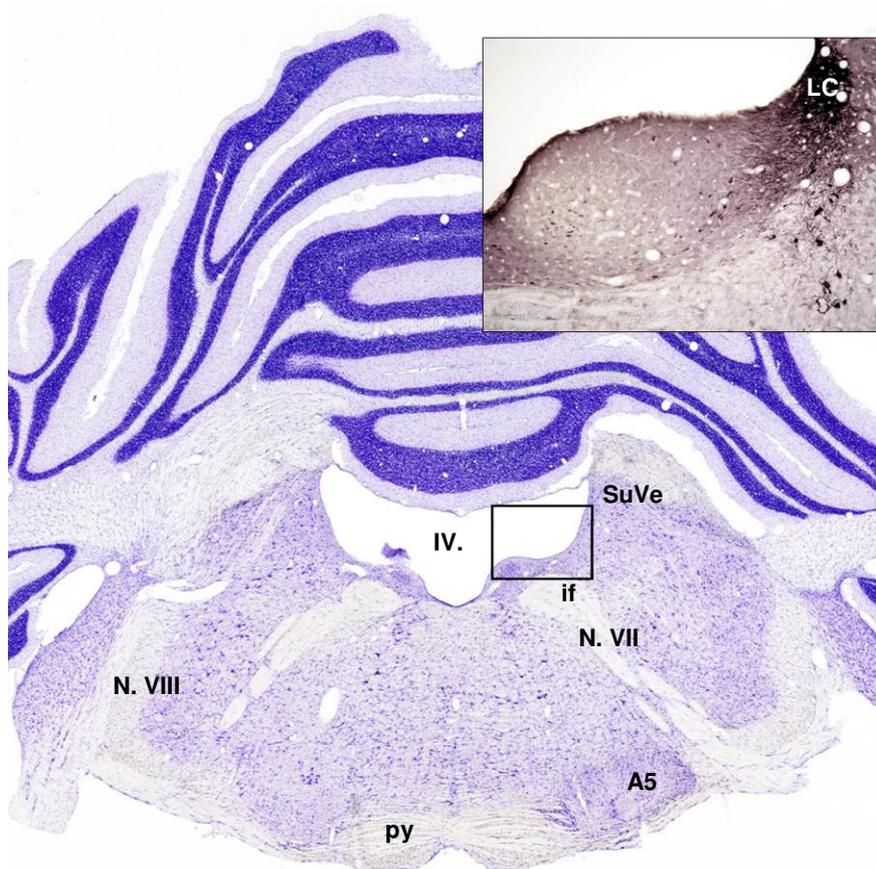


Abb. 13: Ca. 1,5 mm weiter rostral der oben beschriebenen Schnittebene (Abb. 11) liegen zwei wichtige noradrenerge Kerngebiete. Ventromedial der superioren Vestibulariskerne (SuVe) und der lateralen Wand des IV. Ventrikels unmittelbar angrenzend liegt der Locus coeruleus (LC, Kasten). Die Ausschnittvergrößerung zeigt die immunzytochemische Reaktion dieser Neurone mit einem GBS-Serum. Ganz ventral im Schnitt, medial des Nervus facialis (N. VII) liegt das noradrenerge A5-Gebiet. N. VIII: N. vestibulocochlearis, if: inneres Facialisknie, py: Pyramidenbahn.

3.2.3.2 GBS-Seren reagieren mit Neuronen des Ncl. coeruleus und der A5-Region

Einige GBS-Seren reagierten mit den Neuronen im Ncl. coeruleus und auch mit den Zellen in der noradrenergen A5-Region. Auch hier wurde mit der Doppel-Immunfluoreszenz gezeigt, dass es sich bei den GBS-positiven Zellen um noradrenerge Zellen handelt. Dazu wurde ein Schnitt gleichzeitig mit dem GBS-Serum und mit einem Antikörper gegen Dopamin-beta-Hydroxylase behandelt. Positive Serumreaktionen ergaben ein grünes Signal, die noradrenergen ein rotes. In der Überlagerung sieht man dann, dass tatsächlich jede noradrenerge Zelle mit den GBS-Seren reagiert (Abb. 14).

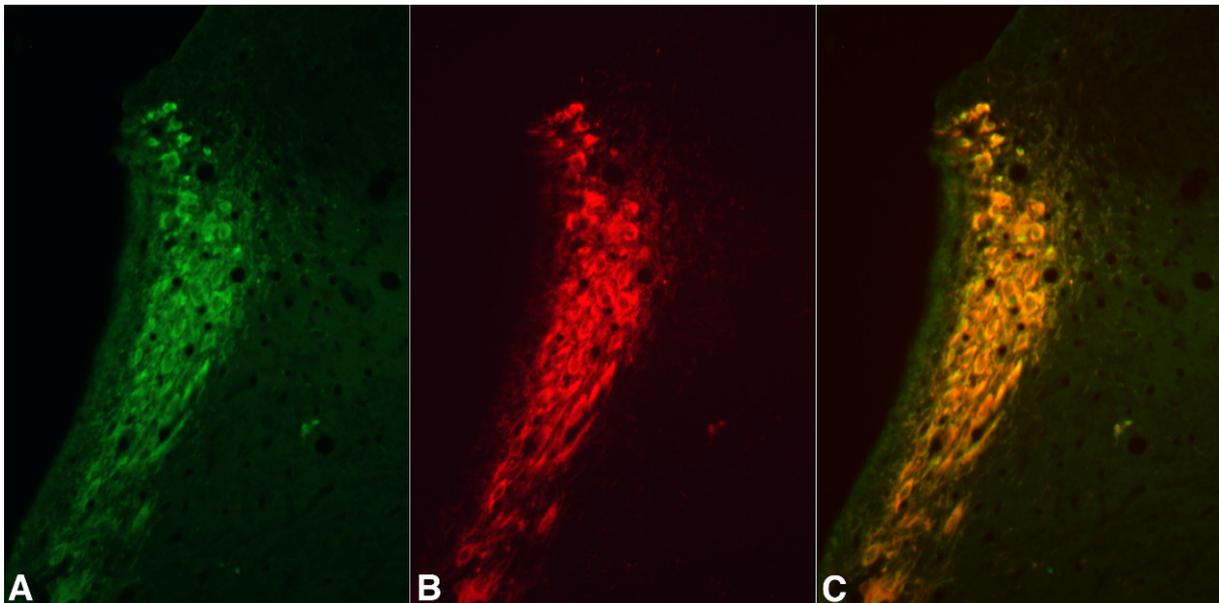


Abb. 14: Die Lokalisation der GBS-positiven Zellen im Bereich des Ncl. coeruleus (A, grüne Zellen) entspricht sehr gut der bekannten Verteilung der noradrenergen Neurone, die mit einem Dopamin-beta-Hydroxylase-Antikörper in B (rote Zellen) dargestellt sind. Im direkten Vergleich durch Überlagerung beider Ergebnisse wird deutlich, dass alle GBS-positiven Neurone tatsächlich Noradrenalin enthalten (C, gelbe Zellen), obwohl hier die dichte Packung der Zellen eine sichere Aussage erschwert.

Eine sichere Aussage ist allerdings aufgrund der dichten Lage der Zellen nicht zulässig. Um diese Frage zu klären konzentrierten wir uns im Weiteren auf das noradrenerge A5 Gebiet. Hier bestätigte sich schließlich die Vermutung, dass im Gegensatz zu den serotonergen und cholinergen Neuronen alle noradrenergen Neurone mit den GBS-Seren reagierten (Abb. 15A und B).

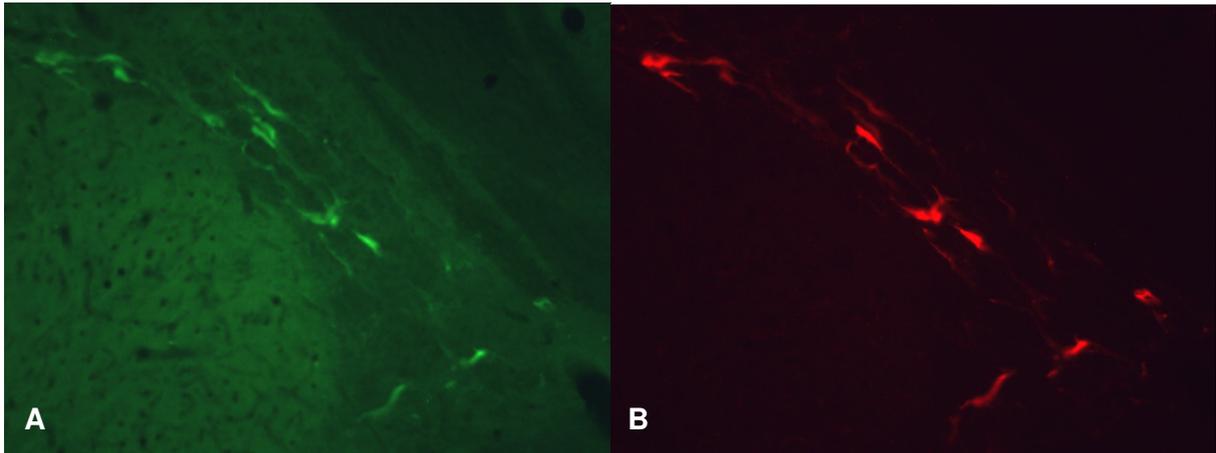


Abb. 15: Die Lokalisation der GBS-positiven und gut isoliert liegenden Zellen im Bereich der noradrenergen A5-Region (A, hellgrüne Zellen) entspricht genau der Verteilung der noradrenergen Neurone, die mit einem Dopamin-beta-Hydroxylase-Antikörper in B (rote Zellen) dargestellt sind. Hier sind (im Gegensatz zu den cholinergen und serotonergen Zellen) tatsächlich alle GBS-positiven Zellen auch noradrenerg.

Das Zielantigen scheint sich auf Zellkörper und Dendriten zu beschränken, da die noradrenergen Axone im Cerebellum keine GBS-Immunoreaktivität aufweisen (Abb. 16A und B).

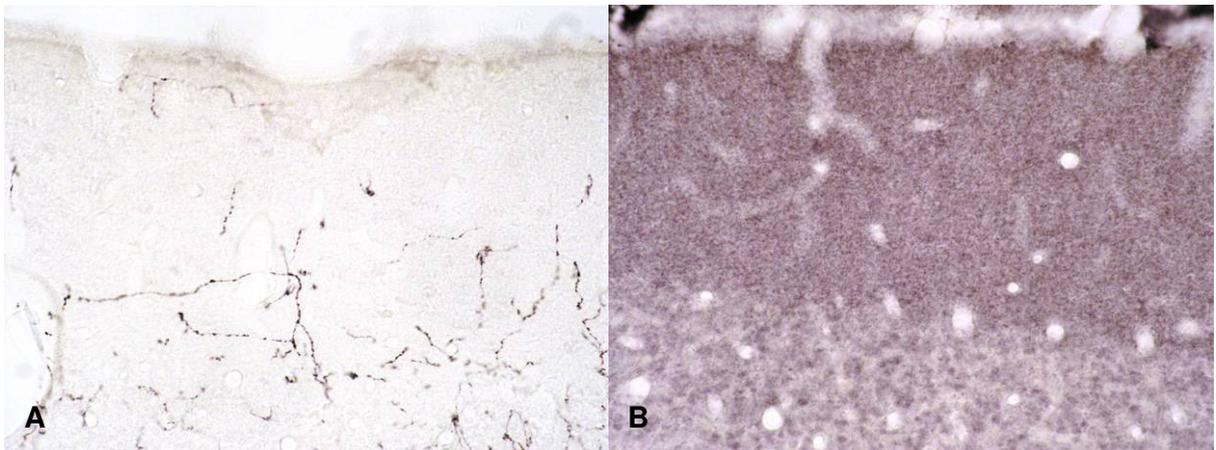


Abb. 16: Der Dopamin-beta-Hydroxylase-Antikörper identifiziert noradrenerge Axone im Cerebellum (A). Das die noradrenergen Neurone im Ncl. coeruleus und der A5-Region markierende GBS-Serum reagierte mit diesen Axonen aber nicht, so dass das Zielantigen der GBS-Seren auf Zellkörper und Dendriten beschränkt zu sein scheint.

Insgesamt reagierten 12 von 52 (über 20%) GBS-Seren mit den Neuronen im Ncl. coeruleus und auch mit den Zellen in der noradrenergen A5-Region

3.2.4 Das dopaminerge System

3.2.4.1 Die dopaminergen Neurone finden sich im rostralen Metencephalon

Im rostralen Metencephalon liegen dopaminerge Zellgruppen im lateralen Teil des Hypothalamus. Zur Gesamtorientierung dient zunächst wieder ein Kresylschnitt (Abb. 17A). Der Fornix (f) bildet die Grenze zwischen medialem (mHyp) und dem lateralen Hypothalamus (lHyp), wo die dopaminerge A11-Region liegt.

Immunzytochemisch lassen sich in diesen Schnitten mit einem Antikörper gegen Tyrosin-Hydroxylase die dopaminergen Neurone der A11-Region erkennen und die dopaminergen Fasern des medialen Vorderhirnbündels (Abb. 17B). Diese Fasern, die Neurone der A11-Region und die ventral tegmental area befinden sich rostrolateral der mammillären und supramammillären Kerngruppen.

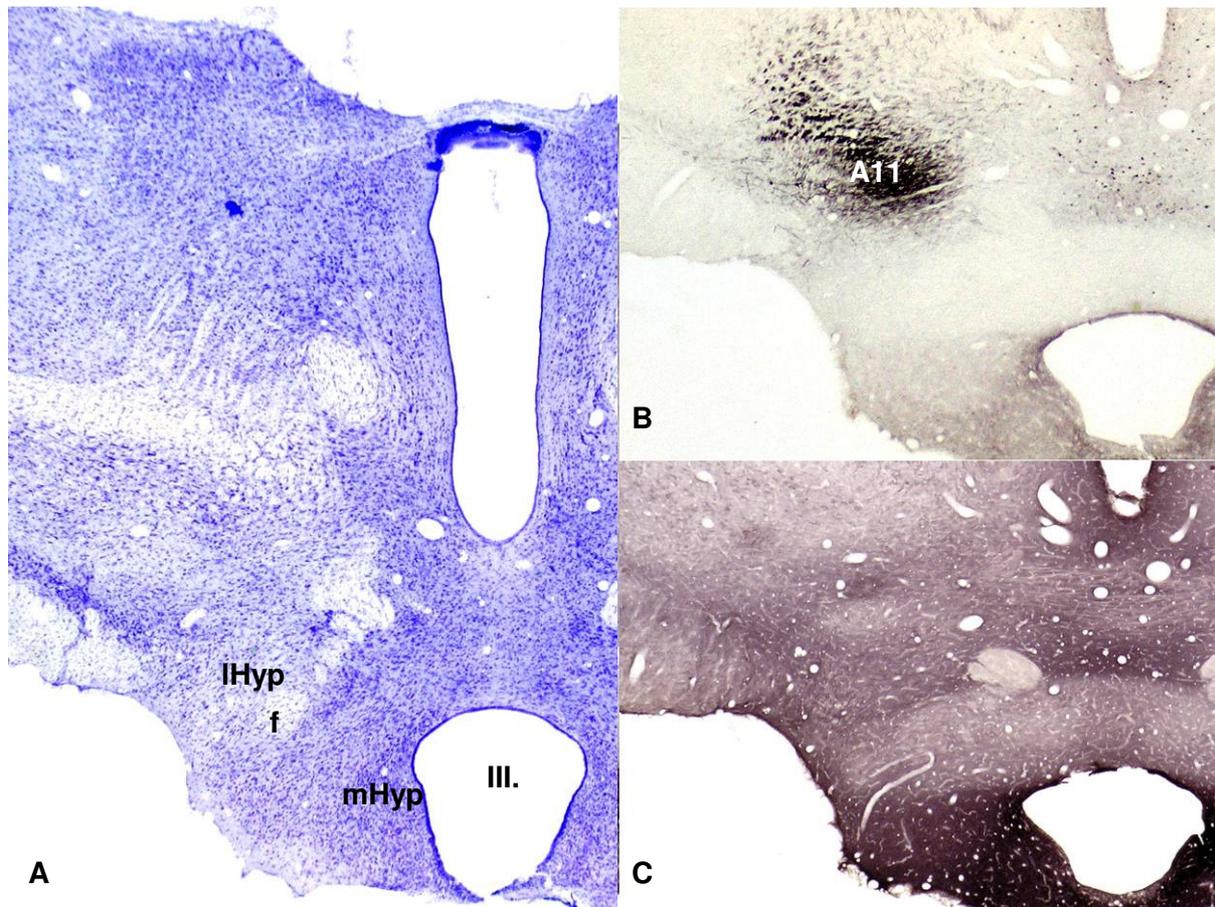


Abb. 17: Zur Orientierung und Auffindung von dopaminergen Neuronen diente zunächst ein Kresylschnitt des rostralen Mesencephalon (A). Die dopaminerge A11-Region und deren Fasern (mediales Vorderhirn-Bündel) lassen sich durch einen Antikörper gegen Tyrosin-Hydroxylase immunzytochemisch darstellen (B, A11). Überraschenderweise zeigten die GBS-Seren keinerlei Reaktivität mit den Neuronen der A11-Region oder deren Fasern (C). III.: 3. Ventrikel.

3.2.4.2 Immunzytochemische Ergebnisse der GBS-Seren mit dopaminergen Strukturen

Überraschenderweise gab es hier keine Reaktionen dieser dopaminergen Strukturen mit den GBS-Seren (Abb. 17C).

3.2.5 Das histaminerge System

3.2.5.1 Die histaminergen Neurone finden sich im rostralen Metencephalon

Supramammilläre Neurone und die des ventralen tuberomammillären Nukleus liegen in der gleichen Schnittebene wie die oben beschriebenen dopaminergen Strukturen. Die supramammillären Neurone liegen oberhalb des Recessus des 3. Ventrikels, der ventrale tuberomammilläre Nukleus liegt ganz lateral davon (Abb. 18A).

Die Darstellung dieser Neurone erfolgt über die Anwesenheit des Histamin synthetisierenden Enzyms Histidin-Decarboxylase (HDC). Leider reagierten aber einige kommerzielle Antikörper gegen HDC auch mit anderen aromatischen Aminosäure-Decarboxylasen, so dass somit auch dopaminerge Strukturen und nicht nur histaminerge markiert waren. Nach Austestung verschiedener HDC-Antikörper war dann einer hochspezifisch ohne Kreuzreaktionen, der hier benutzt wurde (Abb. 18B).

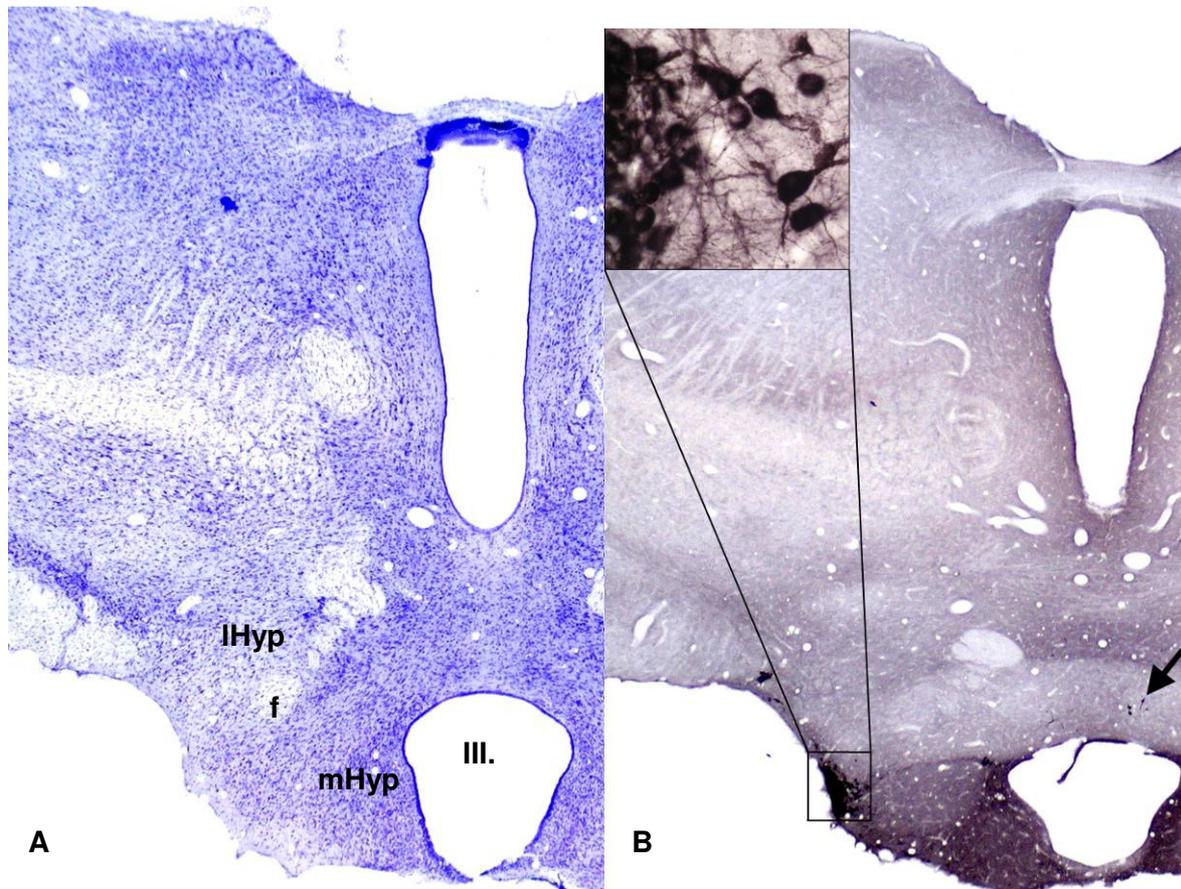


Abb. 18: Auch die histaminergen Neurone wurden nach Orientierung an dem Kresylschnitt des rostralen Mesencephalons (A) identifiziert. Die histaminergen supramammillären Neurone (B, Pfeil) und der histaminerge Ncl. tuberomammillaris ventralis des Hypothalamus (B, Kasten) konnten mittels Immunreaktivität eines hochspezifischen Antikörpers gegen Histidin-Decarboxylase dargestellt werden. Auch hier zeigten die GBS-Seren (wie in Abb.17 C gezeigt) keinerlei Immunoreaktivität.

3.2.5.2 Immunzytochemische Ergebnisse der GBS-Seren mit histaminergen Neuronen

Auch hier gab es keine Reaktionen dieser histaminergen Neurone mit den GBS-Seren

3.3 Daneben gibt es noch weitere immunzytochemisch interessante Ergebnisse

3.3.1 Immunzytochemische interessante Ergebnisse am Frontalschnitt

Die immunzytochemischen Ergebnisse mit den Seren von GBS-Patienten fielen sehr überraschend aus. So zeigten nur wenige Seren gar keine Reaktion, wogegen einzelne Seren mit allen Zellen und mehrere mit allen Neuronen, nicht nur mit denen in Kerngebieten wie den Calleja-Inseln, zu interagieren schienen (Abb. 19A, D). In relativ vielen Fällen waren überwiegend kortikale (Abb. 19B) und striatale Neurone und Interneurone markiert. Verschiedene Seren zeigten jedoch eine wesentlich höhere Spezifität. Hierbei reagierten einige Seren fast nur mit Neuronen in ausgewählten Arealen des Vorderhirns, z.B. mit Neuronen im Nucleus endopiriformis (Abb. 19C), des ventralen Pallidums und der tieferen Schichten des piriformen Kortex (Abb. 19E). Bei Analyse der Seren der Kontrollgruppen ergaben sich ähnliche Befunde, ohne dass ein Bezug zur jeweiligen Krankheit hergestellt werden konnte. Die Übersicht sämtlicher Ergebnisse ist in der Tabelle 4 aufgeführt.

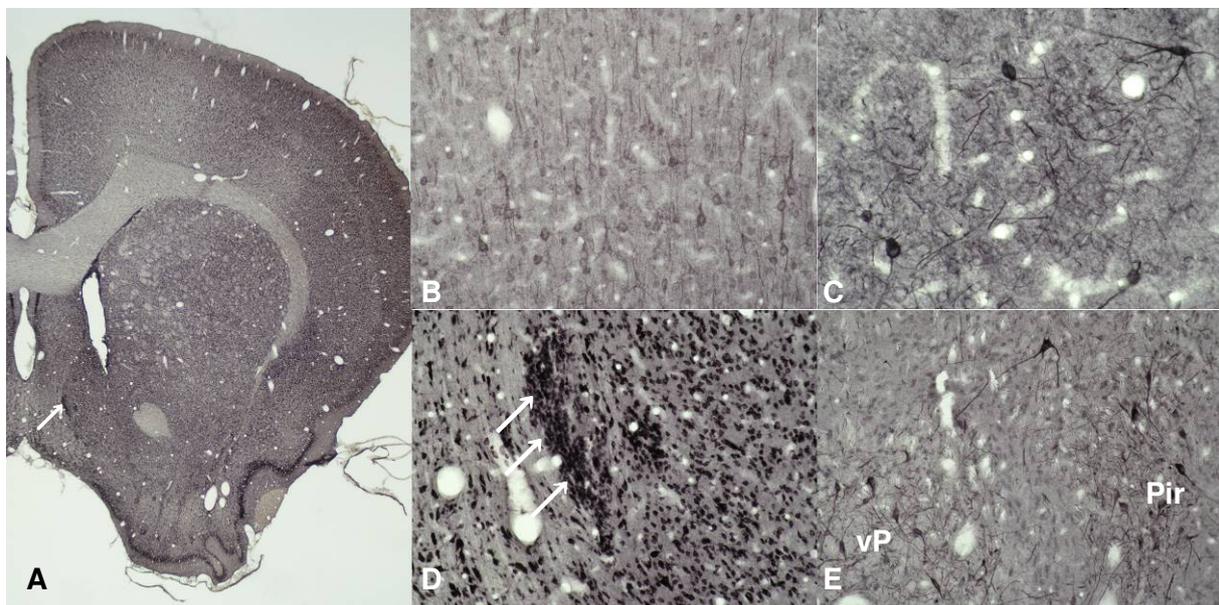


Abb. 19: Verschiedene Seren von GBS-Patienten zeigten vielfältige Reaktionen mit unterschiedlichen Typen von Neuronen im Vorderhirn der Ratte. Einzelne Seren schienen nicht nur Kerngebiete wie die große Calleja-Insel (A, D, Pfeile) zu markieren, sondern mit allen Zellen (A, D) zu interagieren. Andere Seren schienen eine höhere Spezifität zu zeigen. In relativ vielen Fällen waren überwiegend kortikale Neurone (B) markiert. Einige Seren reagierten mit Neuronen in ausgewählten Arealen wie dem Ncl. endopiriformis (C), dem ventralen Pallidum (E, vP) und der tieferen Schicht des piriformen Kortex (E, Pir).

	GBS-Seren (59)	NK- und NA-Seren (48)	MS-Seren (36)
Spezifische Neurone im diagonalen Band	14 (23,7%)	2 (4,2%)	3 (8,3%)
Kleine Neurone überall	45 (76,3%)	38 (79,2%)	34 (94,4%)
Größere Neurone im ventralen Pallidum	36 (61%)	31 (64,6%)	32 (88,9%)
Striatale größere Interneurone	12 (20,3%)	4 (8,3%)	3 (8,3%)
Calleja-Inseln	18 (30,5%)	8 (16,6%)	16 (44,4%)
Größere Neurone im lateralen Septum	6 (10,2%)	0	0
Oligodendroglia/Mikroglia	4 (6,8%)	0	0
Astrozyten in der grauen Substanz	7 (11,9%)	3 (6,3%)	2 (5,6%)
Fasermarkierung	3 (5,1%)	2 (4,2%)	1 (2,8%)
Negativ	3 (5,1%)	4 (8,3%)	0

Tab. 4: Immunzytochemische Ergebnisse der GBS-Seren und der Kontrollgruppen im Vorderhirn.

3.3.2 Immunzytochemische interessante Ergebnisse am caudalen Metencephalon

Wie auch schon im Frontalschnitt des Vorderhirns sahen wir Reaktionen der Seren mit vielen Neuronen, Gliazellen und Fasersystemen. So markierten viele Seren aus unterschiedlichen Krankheitsgruppen fast alle Neurone in fast allen Kerngebieten, so dass dies einer nicht krankheitsspezifischen Reaktion mit einem gängigen Antigen entsprechen muss.

Neurone im Ncl. vestibularis reagierten mit 5 von 59 GBS-Seren (8,5%), 1 von 36 der MS-Seren (2,8%), 1 von 24 Seren des Normalkollektivs (4,2%) und keinem von 24 Non-auto-Seren. Allerdings mit Neuronen des Ncl. ambiguus reagierten 11 von 59 GBS-Seren (18,6%), von den Seren aller Kontrollgruppen keines. Mit den Kernen in der Formatio reticularis reagierten ebenfalls 11 von 59 GBS-Seren (18,6%) und nur ganz wenige Seren der Kontrollgruppen.

Alle sonstigen Befunde in einigen anderen Kerngebieten, mit Gliazellen oder Fasersystemen ergaben keine wegweisenden, signifikanten Aussagen (Tab. 5).

	GBS (59)	NK (24)	NA (24)	MS (36)
Raphe-Neurone	11 (18,6%)	0	2 (8,3%)	0
Kleine Neurone überall	40 (67,8%)	18 (75%)	23 (95,8%)	26 (72,2%)
Ncl. vestibularis	5 (8,5%)	1 (4,2%)	0	1 (2,8%)
Ncl. spinal trigeminus	3 (5,1%)	2 (8,3%)	0	1 (2,8%)
Ncl. ambiguus	11 (18,6%)	0	0	0
Formatio reticularis	11 (18,6%)	4 (16,7%)	0	1 (2,8%)
Astrozyten	2 (3,4%)	0	0	0
Fasermarkierung	2 (3,4%)	0	0	0
Gliazellen	2	0	0	0
Negativ	5	1	0	6

Tab. 5: Immunzytochemische Ergebnisse der GBS-Seren und der Kontrollgruppen im Metencephalon.

4 Diskussion

4.1 Einige GBS-Patienten zeigen auch ein Psychosyndrom

Das Guillain-Barré Syndrom ist eine Autoimmunerkrankung ausschließlich des peripheren Nervensystems, die sich in Form einer entzündlichen, vorwiegend demyelinisierenden Polyradikulopathie äußert.

Eine Beteiligung des zentralen Nervensystems (ZNS) ist in der Definition der Erkrankung somit nicht mit inbegriffen. Dennoch wissen wir aus eigenen Beobachtungen und auch aus der Literatur, dass Patienten mit GBS auch zusätzliche zentrale cerebrale Symptome im Sinne eines Psychosyndroms unterschiedlichen Ausmaßes entwickeln können.

4.2 Bisher existieren keine Nachweise einer zentralen Beteiligung

Die Frage nach der Beteiligung des ZNS beim GBS wird seit Jahren an Einzelfällen immer wieder diskutiert. Klinisch wurde eine häufige Beteiligung des N. opticus und damit korrelierend pathologische VEPs gefunden (Othake et al., 1990). Damit wurde jedoch nur eine Korrelation aufgezeigt, ein kausaler Zusammenhang konnte nicht nachgewiesen werden.

Mittels bildgebender Diagnostik versuchten mehrere Studien (Feasby et al., 1990; Othake et al., 1990; Ormerod et al., 1990, Hawke et al., 1990) zur Frage von zentralen Veränderungen eine Aussage zu finden. Erwartet wurden z.B. autoimmunentzündliche Läsionen wie bei der Multiplen Sklerose. Allerdings konnten solche morphologischen Veränderungen im Kopf von GBS-Patienten weder in der Computertomographie noch in der Magnetresonanztomographie nachgewiesen werden. Somit kommen größere strukturelle Defekte als Ursache der zentralen Symptome nicht in Frage.

Histopathologische Untersuchungen aber zeigten eindeutig unspezifische Reaktionen im ZNS im Sinne von entzündlichen Infiltrationen und aktivierter Mikroglia in unterschiedlichem Ausmaß und Intensität (Maier et al., 1997). Eine Demyelinisierung zentralnervöser Axone analog zum typischen Befund am peripheren Nerven stellte sich aber nicht da.

Im Hinblick auf die vorliegende Fragestellung, nämlich die Ursache des Psychosyndroms bei GBS-Patienten, sind diese genannten Befunde nicht hilfreich. Letztendlich können die psychischen Symptome also nicht als Folge größerer, mit den

obengenannten Methoden nachweisbarer, struktureller Veränderungen des ZNS angesehen werden. Immunologisch bedingte Fehlfunktionen können aber trotzdem nicht ausgeschlossen werden.

Allerdings sind die psychopathologischen Symptome von GBS-Patienten sehr vielfältig. Eine umschriebene cerebrale Läsion ist daher sehr unwahrscheinlich, da man in diesen Fällen Areal- oder systemspezifische Ausfälle im Sinne neuronaler Herdbefunde erwarten würde. Die Symptome der GBS-Patienten deuten dagegen eher auf Funktionsstörungen in generellen Arealen oder Systemen, wie dem der Gliazellen oder dem der Areal-übergreifenden monoaminergen Systeme des ZNS hin.

4.3 GBS-Seren enthalten Astrozyten-Antikörper

Die Hypothese, dass eine beeinträchtigte Funktion der Astrozyten (Gliazellen) als Ursache eines Psychosyndroms in Frage kommt, wurde bereits durch den Nachweis von Autoantikörpern gegen Astrozyten-Proteine in Seren von GBS-Patienten erhärtet (Görtzen et al, 2004). Weiter gestützt wird diese Hypothese durch den Pathomechanismus der hepatischen Enzephalopathie. Hier wird durch eine Astrozytenfunktionsstörung durch Ammoniumionen eine generelle Beeinträchtigung des Astrozytensystems im ZNS mit daraus resultierendem Psychosyndrom hervorgerufen (Norenberg, 1998).

Auch bei einem hohen Prozentsatz von GBS-Patienten lassen sich im Serum immunzytochemisch Anti-Astrozyten-Antikörper nachweisen.

Allerdings entwickeln nur wenige dieser Patienten ein Psychosyndrom. Umgekehrt lassen sich nicht bei allen Seren von Patienten mit einem Psychosyndrom solche Anti-Astrozyten-Antikörper nachweisen (Görtzen et al., 2004). Letztlich bleibt unklar, ob die Immunreaktion an Astrozyten eine kausale Bedeutung für das Psychosyndrom hat oder lediglich ein Epiphänomen darstellt.

4.4 Können funktionsgestörte monaminerge Systeme Ursache für das Psychosyndrom sein?

Neben der beeinträchtigten Funktion des Astrozytensystems kommen auch Störungen monaminerger Systeme als Ursache des Psychosyndroms in Frage. In der vorliegenden Arbeit wurde daher untersucht, ob Antikörper aus Seren von GBS-Patienten möglicherweise auch mit Neuronen des monaminergen Systems interagieren.

4.4.1 Störungen im cholinergen System spielen möglicherweise eine Rolle

Läsionen des cholinergen magnozellularären basalen Vorderhirnkomplexes können zu dramatischen Verlusten kognitiver Fähigkeiten führen. Auch beim Morbus Alzheimer und anderen Demenzen degenerieren cholinerge Neurone im entorhinalen Cortex und im Nukleus basalis Meynert. Daher erscheint es denkbar, dass eine autoimmun entzündlich bedingte Schädigung des cholinergen Systems für die mnestisch-kognitiven Störungen beim Psychosyndrom von GBS-Patienten ursächlich ist.

Nach unseren Ergebnissen reagieren Seren von einzelnen GBS-Patienten mit Neuronengruppen wie den Calleja-Inseln, manche aber auch mit allen Neuronen. Die Kontrollgruppen zeigen allerdings ähnliche Ergebnisse, so dass hier kein Bezug zu einer bestimmten Krankheit hergestellt werden kann.

Im Hinblick auf das Psychosyndrom bei GBS-Patienten war dann die Analyse des Septum-Bereiches und des Nukleus basalis Meynert von großer Bedeutung. Hier markierten die einzelnen GBS-Seren im Gegensatz zu den Seren der Kontrollgruppen signifikant und kräftig zum einen Neurone in den Kernen des horizontalen Schenkels des diagonalen Bandes (HLDB), zum anderen Zellen im Nukleus basalis Meynert. Mittels Doppel-Immunfluoreszenz konnte der Nachweis erbracht werden, dass es sich bei den von den Seren markierten Zellen tatsächlich um cholinerge Neurone handelt. Besonders interessant ist die Tatsache, dass die Immunreaktivität der positiven Seren ausschließlich auf Antigene cholinergener Neurone beschränkt war. Umgekehrt waren nicht alle cholinergen Neurone seropositiv. Dies bedeutet zwangsweise, dass es sich bei den cholinergen Neuronen des basalen Vorderhirns hinsichtlich entweder Zelltyp oder Funktionszustand um eine heterogene Population handelt. Derartige Subtypen oder funktionsspezifische Proteine in cholinergen Neuronen sind bisher nicht bekannt.

Unsere Seren stellen daher ein potentiell wertvolles Instrument zur Isolierung (expression-libraries) und Charakterisierung derartiger Proteine dar. Interessanterweise gibt es zwischen dem cholinergen und serotonergen System vielfältige Wechselwirkungen (Gharbawie et al, 2003). Somit reicht es natürlich nicht aus, ein einzelnes (möglicherweise funktionsgestörtes) monaminerges Neuronensystem hinsichtlich der Ursache für ein Psychosyndrom zu beleuchten. Es ist viel eher vorstellbar, dass vor allem kombinierte Störungen (z.B. cholinerg und serotonerg) für die Bandbreite und die Schwere des Psychosyndroms beim GBS von Bedeutung sind.

4.4.2 Störungen im serotonergen System spielen möglicherweise auch eine Rolle

Eine Aktivitätsminderung im serotonergen System scheint vor allem bei Depressionen eine Rolle zu spielen. Aber auch eine Aktivitätssteigerung dieses System, wie z.B. durch Drogen (LSD, Ecstasy) hervorgerufen, kann zu einem Psychosyndrom führen. So ist auch hier durchaus vorstellbar, dass eine autoimmun entzündlich bedingte Funktionsstörung des serotonergen Systems beim Psychosyndrom von GBS-Patienten eine Rolle spielt.

Zunächst zeigten unsere Seren auch in dieser Hirnregion Reaktionen mit vielen Neuronen, Gliazellen oder Fasern, wobei diese Reaktionen sich nicht von denen anderer Krankheitsgruppen unterschieden. Interessant ist aber, dass Neurone im Ncl. ambiguus nur durch GBS-Seren markiert wurden. Sehr verwunderlich ist dieser Befund aber dennoch nicht, da es sich um die motorischen Neurone des N. glossopharyngeus, N. vagus und Anteilen des N. accessorius handelt, die beim GBS eben häufig mitbetroffen sind.

Auch die Markierung von Neuronen in den Raphekernen erfolgte fast ausschließlich durch GBS-Seren. Erneut konnte mittels Doppel-Immunfluoreszenz-Markierung gezeigt werden, dass die von den GBS-Seren markierten Neurone alle serotonerg sind, aber nicht alle serotonergen Neurone mit den GBS-Seren interagierten. Daraus folgt direkt, dass die serotonergen Neurone in verschiedenen Untertypen oder Aktivitätszuständen vorliegen müssen, also nur eine "Untergruppe" mit den Seren reagiert. Dass sich serotonerge Neurone durch ihre Lokalisation, ihre Morphologie, ihre Sensitivität gegenüber Neurotoxinen und dem Bezug zu klinischen Erkrankungen unterscheiden, ist schon lange bekannt. Die Grundlage dafür ist allerdings noch nicht verstanden, zumal

bislang auch keine Marker zur Differenzierung von Subtypen zur Verfügung stehen. Kürzlich konnten durch genetische Untersuchungen von serotonergen Vorläuferzellen aus verschiedenen Anteilen des unteren Hirnbläschens aus Embryonen der Maus verschiedene Gruppen von Vorläuferzellen identifiziert werden, die sich hinsichtlich ihres genetischen Programms unterscheiden. Diese in den Vorläuferzellen definierten genetischen Muster konnten dann in serotonergen Zellen im adulten Gehirn wiedergefunden werden. Bei Zuordnung zu den bekannten alphanumerischen Gruppen (B1 – B9) stellte sich dann heraus, dass Zellen mit dem gleichen genetischen Muster in mehreren alphanumerischen Gruppen vorkommen (Jensen et al, 2008). Damit ist erstmalig ein Kriterium bekannt geworden, mit dem Subtypen von serotonergen Neuronen unterschieden werden können. Unsere Seren könnten nun auf immunologischer Basis ein weiteres Werkzeug zur Identifizierung von serotonergen Subtypen darstellen.

Letztlich unterstützt dieses Ergebnis wie auch die Befunde im cholinergen System die Hypothese, dass es durch autoimmunologische Vorgänge an serotonergen und cholinergen Neuronen zu Funktionseinbußen dieser Systeme kommen könnte. Diese Funktionsstörungen können dann ganz unterschiedliche Auswirkungen haben. Es kann zu einer geringen Einbuße der Funktion (gain of function) bis hin zum vollständigen Ausfall (loss of function) kommen. Somit können zwar Funktionsstörungen vorliegen, aber klinisch nicht manifest sein. Damit kann auch erklärt werden, warum wir positive immunzytochemische Reaktionen von Seren gesehen haben, ohne dass der Patient ein Psychosyndrom aufwies. Denn nur drei der GBS-Patienten mit den entsprechenden Antikörpern hatten ein Psychosyndrom. Daraus könnte aber auch folgen, dass eines der Systeme alleine nicht ursächlich in Frage kommt.

4.4.3 Störungen im noradrenergen System (Locus coeruleus) spielen möglicherweise auch eine Rolle

Mit der heute bekannten Funktion des noradrenergen Systems (s. Einleitung) sind die führenden Symptome eines Psychosyndroms wie Desorientiertheit und mnestic-kognitive Einbußen durch eine Störung in diesem System zunächst nicht zu erklären. Umso überraschender sind daher unsere immunzytochemischen Ergebnisse. Über 20% der GBS-Seren reagierten nämlich mit den Neuronen im Ncl. coeruleus und auch mit den Zellen in der noradrenergen A5-Region. Hier zeigte die Doppel-

Immunfluoreszenz zum einen, dass die vom Serum markierten Zellen auch wirklich noradrenerge Neurone sind, zum anderen, dass alle noradrenergen Neurone von den Seren erkannt wurden. Anders als beim cholinergen und serotonergen System sind also hier keine Subtypen zu vermuten.

Dieses Ergebnis stützt jetzt nicht unbedingt die Autoimmunhypothese des Psychosyndroms bei GBS-Patienten. Allerdings leiden diese ja auch häufig unter Angst, Unruhe und Stress (Weiss et al, 2002). Diese Symptome könnten tatsächlich durch eine autoimmunbedingte Dysfunktion des noradrenergen Systems hervorgerufen werden. Wie bereits erwähnt, müssen natürlich nicht alle Patienten mit diesen Antikörpern auch solche Symptome entwickeln.

Über einen anderen Mechanismus könnte aber eine Dysfunktion des noradrenergen Systems doch zu einem Psychosyndrom führen. Wie in der Einleitung ausgeführt, projizieren Neurone des Ncl. coeruleus zu cholinergen Neuronen im magnozellular-basalen Vorderhirnkomplex (MBVK), dessen Ausfall zu Verlusten kognitiver Fähigkeiten führt. Es wäre also denkbar, dass dies auch passiert, wenn der noradrenerge Input vom Ncl. coeruleus fehlt und dies zu einer gestörten Funktion dieses cholinergen Areals führt. Wenn also Autoantikörper gegen noradrenerge Neurone – wie wir sie ja in GBS-Seren gezeigt haben – die Information über diese Afferenzen des cholinergen Systems minimieren oder gar ausschalten, könnte dadurch die Funktion des cholinergen Systems derart gestört werden, dass dies zu einem Psychosyndrom führt.

4.4.4 Störungen im dopaminergen System spielen keine Rolle

Dopaminerge Nervenendigungen spielen eine Schlüsselrolle bei der Koordination von Bewegungen, bei psychomotorischen Hirnleistungen und beim Reward-Mechanismus (Wohlfühl- und Belohnungsgefühl). Die führenden Symptome eines Psychosyndroms wie Desorientierung und mnestisch-kognitive Einbußen sind auch durch ein funktionsgestörtes dopaminerges System nicht unbedingt zu erklären, allerdings möglicherweise andere bei GBS-Patienten auch vorkommende psychopathologische Auffälligkeiten wie psychotische Phänomene.

Entsprechend unserer Erwartungen zeigen auch die immunzytochemischen Ergebnisse in der dopaminergen A11-Region keine Reaktionen mit Seren der GBS-Patienten.

4.4.5 Störungen im histaminergen System spielen keine Rolle

Die GBS-Seren zeigten keinerlei Immunoreaktivität mit Neuronen in histaminergen Kerngebieten. Das histaminerge System scheint daher keine Rolle bei der potentiellen Entstehung eines autoimmunvermittelten Psychosyndroms zu spielen.

4.5 Auch bei anderen nicht zentralen Autoimmunerkrankungen kommen psychiatrische Symptome vor

Bei dem polyglandulären Autoimmunsyndrom Typ I (APS I) liegen neben einer Nebennierenrindeninsuffizienz ein Hypoparathyreoidismus und eine mukokutane Candidamykose vor, gelegentlich kommen auch noch andere Autoimmunerkrankungen wie eine perniziöse Anämie oder ein M. Basedow dazu. Aber auch diese Patienten mit einer Autoimmunerkrankung an peripheren Drüsen zeigen gelegentlich psychiatrische Symptome wie Depression, Angst und mentale Erschöpfung oder muskuläre Symptome ähnlich dem Stiff-men-Syndrom, die auch nur über eine Beteiligung des ZNS erklärbar wären. Gerade kürzlich konnte die Gruppe um Hökfelt (Fetissov et al., 2009) zeigen, dass Seren dieser APS I-Patienten Antikörper gegen aromatische L-Aminosäure-Decarboxylase (AADC), Tyrosinhydroxylase oder Tryptophanhydroxylase, also gegen Enzyme, die für die Bildung monoaminerger Transmitter notwendig sind, enthalten. Einige Seren hatten auch hochtitrig Antikörper gegen Glutaminsäuredecarboxylase (GAD), wie sie ursächlich beim Stiff-men-Syndrom vorkommen (Solimena et al., 1988). Immunzytochemisch reagierten diese Seren dann auch mit GABAergen Strukturen im ZNS, die anderen Seren mit dopaminergen, serotonergen und noradrenergen Neuronen und Fasern in verschiedenen Hirnregionen. Diese Ergebnisse unterstreichen somit die unsrigen. Auch bei APS I-Patienten könnten also die psychopathologischen Auffälligkeiten wie bei den GBS-Patienten durch autoimmunbedingte Funktionsstörungen monoaminerger Systeme verursacht sein.

4.6 Die Antigenidentifizierung eröffnet eine neue therapeutische Option

Zusammenfassend konnten wir zeigen, dass Seren von GBS-Patienten Autoantikörper gegen monaminerge Neurone enthalten. Eine Funktionsstörung dieser Systeme könnte möglicherweise das Psychosyndrom verursachen. Bislang bleibt jedoch völlig unklar, wogegen diese Antikörper gerichtet sind. Denkbare Zielproteine wären Ionen-Kanäle oder Rezeptoren. Unsere Seren könnten daher zu einem wichtigen Werkzeug werden, mit dem in Zukunft vielleicht potentielle Zielproteine identifiziert werden können.

Zur Behandlung des GBS und des dadurch bedingten Psychosyndroms stehen bislang nur globale Ansätze zur Verfügung. Dazu gehören die Plasmapherese, die mit deutlichen Komplikationen behaftet ist, wie hohe Infektanfälligkeit durch Entfernung nahezu sämtlicher Antikörper und auch die Blutungs- und Thrombosegefahr während der Behandlung. Zum anderen steht alternativ die hochdosierte Gabe von Immunglobulinen zur Verfügung, die selten zu anaphylaktischen Reaktionen führen kann. Die Identifizierung des Antigens oder der Antigene würde völlig neue und spezifische therapeutische Möglichkeiten eröffnen. So könnte bei Kenntnis des krankheitsvermittelnden Antigens die Eliminierung des entsprechenden Antikörpers und damit eine ursächliche Behandlung ohne die genannten Risiken zur Verfügung stehen. Hier käme die spezifische Immunadsorption oder die Gabe antiidiotypischer Antikörper in Betracht.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Claudia Rink

Autoantikörper gegen Proteine monoaminergere Systeme beim Guillain-Barré Syndrom – mögliche Beteiligung an der Pathophysiologie des Psychosyndroms?

Die Grundlage der vorliegenden Arbeit war es, dass Patienten mit GBS nicht selten ein Psychosyndrom entwickeln, obwohl es sich um eine Erkrankung des peripheren Nervensystems handelt. Zur Verifizierung einer Beteiligung des zentralen Nervensystems im Sinne einer Autoimmunreaktion wurde die Reaktivität der Seren von Patienten mit Guillain-Barré Syndrom gegen ausgewählte zentralnervöse Strukturen im Vorderhirn und Metencephalon untersucht. Hierbei lag unser Augenmerk vor allem auf den monoaminergen Systemen im ZNS, da Funktionsstörungen in diesen Systemen für die Art der Symptomatik gut vorstellbar wären. Als Kontrollgruppen wurden Seren von Patienten mit Multipler Sklerose, nicht autoimmuner Erkrankungen (amyotropher Lateralsklerose, Polyneuropathie, Hirninfarkt) und von gesunden Probanden eingesetzt.

Die Seren zeigten bei 24% der Seren von GBS-Patienten eine deutliche Immunreaktivität an Vorderhirnschnitten gegen eine spezielle „Unter“-Gruppe von cholinergen Neuronen im HLDB und im Nukleus basalis Meynert.

Ein weiteres interessantes Ergebnis zeigte sich bei den Auswertungen am caudalen Metencephalon. Hier zeigten 18,6% der Seren von GBS-Patienten eine signifikante Reaktion mit einer „Unter“-Gruppe von serotonergen Neuronen im Bereich der dorsalen Raphe. Bei beiden Ergebnissen war es also überraschenderweise so, dass die GBS-Seren jeweils nur einen Teil der cholinergen, bzw. serotonergen Neuronen reagierte. In Metencephalonschnitten in Höhe des Ncl. coeruleus und der A5-Region reagierte über 20% der GBS-Seren mit noradrenergen Neuronen im Ncl. coeruleus und der A5-Region. Hier wurden aber alle noradrenergen Zellen vom Serum auch erkannt. In Mesencephalonschnitten untersuchten wir auch noch die A11-Region zur Identifizierung der Reaktionen von GBS-Seren an dopaminergen Strukturen und die supramammilären Neuronen und den Ncl. tuberomammillaris zur Identifizierung

histaminerger Neurone. In beiden Fällen sahen wir keine Reaktionen mit den GBS-Seren.

Bei der hepatischen Encephalopathie wird als Ursache des Psychosyndroms eine gestörte Astrozytenfunktion durch erhöhte Ammoniakkonzentrationen angenommen. 2004 (Görtzen et al.) wurde bereits die Hypothese aufgestellt, dass eine beeinträchtigte Funktion der Astrozyten als Ursache eines Psychosyndroms bei GBS-Patienten in Frage kommen könnte.

Analog dazu könnte eine deutliche Autoimmunaktivität gegen cholinerge, serotonerge und noradrenerge Systeme im ZNS ebenfalls als pathophysiologische Grundlage des Psychosyndroms beim Guillain-Barré Syndrom in Frage kommen.

Die endgültige Klärung dieser Frage bleibt Ziel weiterer Untersuchungen.

6 ABKÜRZUNGSLISTE

aca	Anterior commissure, anterior
Ach	Acetylcholin
AIDP	Akute inflammatorische demyelinisierende Polyneuropathie
AMAN	Akute motorische axonale Neuropathie
Amb	Nukleus ambiguus
AMSAN	Akute motorische-sensorische axonale Neuropathie
BAEP	Brainstem auditory evozierte Potentiale
B-GaHu	Biotinyliertes Goat-anti-Human IgG
B-GaR	Biotinyliertes Goat-anti-Rabbit IgG
B-HaM	Biotinyliertes Horse-anti-Mouse IgG
cAMP	Cyclisches Adenosinmonophosphat
ChAT	Cholinacetyltransferase
CIDP	Chronische inflammatorische demyelinisierende Polyneuropathie
CLi	Kaudaler Ncl. linearis
COMT	Catechol-O-Methyltransferase
CPu	Caudatoputamen
CT	Computertomographie
CVL	Caudale ventrolaterale Medulla
D1R	DA receptor 1
D2R	DA receptor 2
DA	Dopamin
DAT	Dopamintransporter
DR	Pontiner Ncl. raphe dorsalis
DR	Ncl. raphe dorsalis des Mittelhirn
EAN	Experimentell allergische Neuritis
ELISA	Enzyme linked immunoabsorbent assay
GBS	Guillain-Barré Syndrom
GiV	Gigantocell reticular nucleus, ventral
GPe	External pallidum
GPI	Internal pallidum
HLDB	Horizontaler Schenkel des diagonalen Bandes

5-HT	5-Hydroxytryptamin (Serotonin)
5-HTP	5-Hydroxytryptophan
5-HT _{2A} R	Serotonin _{2A} -Rezeptor
IC	Colliculus inferior
ICjM	Islands of Calleja, major island
IVIG	Intravenöse Immunglobuline
IRt	Intermediate reticular nucleus
LGP	Pallidum
LPgi	Ncl. paragigantocellularis reticularis lateralis
LSD	Lysergsäurediethylamid
LSD	Lateral septal nucleus dorsal
LSV	Lateral septal nucleus ventral
M.	Morbus
MAO	Monoaminoxidase
MBVK	Magnozellularer basaler Vorderhirnkomples
ml	Lemniscus medialis
mM	Millimolar
MnR	Pontiner Ncl. raphe medianus
MnR	Ncl. raphe medianus des Mittelhirn
MS	Medial septal nucleus
MSN 1	Medium spiny neuron 1
MSN 2	Medium spiny neuron 2
MRT	Magnetresonanztomographie
N	Nervus
Ncl	Nucleus
Ncll	Nuclei
NET1	Norepinephrine transporter
NGS	Normal goat serum
nM	Nanomolar
NO	Stickstoffmonoxid
Ob	Raphe obscurus
pcm	Pedunculus cerebellaris medius
pcs	Pedunculus cerebellaris superior
PCRt	Parvocellular reticular nucleus

REM	Rapid eye movement
RMg	Ncl. raphe magnus
ROb	Ncl. raphe obscurus
RPa	Ncl. raphe pallidus
RVL	Rostroventrolateral reticular nucleus
RVL	Rostrale ventrolaterale Medulla
SNC	Substantia nigra compacta
STN	Subthalamic nucleus
TT	Taenia tecta
TRH	Thyrotropin releasing Hormon
VLDB	Vertikaler Schenkel des diagonalen Bandes
VLPO	Ventrolateraler praeoptischer Nucleus
vMAT2	Vesicular membrane transporter 2
VTA	Ventral tegmental area
ZNS	Zentrales Nervensystem

7 **LITERATURVERZEICHNIS**

Agnati LF, Fuxe K, Nicholson C, Synkova E. Volume transmission as a key feature of information handling in the central nervous system: Possible new interpretativ value of the Turing`s B-type machine. In: Agnatiy LF, Nicholson C, Sykova E (eds). Progress in Brain Research. Elsevier Amsterdam. 2000. P 3-19.

Aigner TG, Mishkin M. The effects of physostigmine and scopolamine on recognition memory in monkeys. Behavioral and Neural Biology 1986; 45: 81-87.

Aitken AR, Törk I. Early development of serotonin-containing neurons and pathways as seen in wholemout preparations of the fetal rat brain. 1988. J Comp Neurol 274 :32-4.

Ammache Z, Afifi AK, Brown CK, Kimura J. Childhood Guillain-Barré syndrome: clinical and electrophysiologic feature predictive of outcome. J Child N 2001; 16: 477-83.

Asahina M, Kuwabara S, Suzuki A, Hattori T. Autonomic function in demyelinating and axonal subtypes of Guillain-Barré syndrome. Acta Neurol Scand 2002; 105: 44-50.

Axt KJ, Molliver ME, Quian Y, Blakely RD. Subtypes of 5-HT axons differ in their expression of serotonin transporter. Soc Neurosci Abstr 1995; 21: 865.

Barnes NM, Sharp T. A review of central 5-HT receptors and their function. Neuropharmacology. 1999; 38:1083–1152.

Bartus RT, Dean RL, Beer B, Lippa AS. The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. Science 1982; 217: 408-414.

Benninghoff, Drenckhahn, Anatomie Band 2, 16. Auflage 2004, Elsevier Urban und Fischer.

Blaser MJ, Olivares A, Taylor DN, et al. Campylobacter serology in patients with Chinese paralytic syndrome. *Lancet* 1991; 338: 308.

Bolger F, Tassan P, Wegener K, Josse MO, Laplane D. Oneiroides Erleben bei schwerstem Guillain-Barré syndrome. *Aktuelle Neurol* 1994; 21:XL.

Brown WF, Feasby TE. Conduction block and denervation in Guillain-Barré polyneuropathy. *Brain* 1984; 107: 219-39.

Brown RE, Stevens DR, Haas HL. The physiology of brain histamine. *Prog Neurobiol* 2001; 63 (6): 637-72.

Bruce H. A block to pregnancy in the mouse caused by the proximity of strange males. *J Reprod Fertil* 1960; 1: 96-103.

Chio A, Cocito D, Leone M, Giordana MT, Mora G, Mutani R. Guillain-Barré syndrome: a prospective, population-based incidence and outcome survey. *Neurology* 2003; 60: 1146-50.

Créange A, Sharshar T, Planchenault T, et al. Matrix metalloproteinase-9 is increased and correlates with severity in Guillain-Barré syndrome. *Neurology* 1999; 53: 1683-91.

Dahlström A, Fuxe K. Evidence for the existence of monoamine-containing neurons in the central nervous system. I. Demonstration of monoamines in the cellbodies of brainstem neurons. *Acta Physiol Scan* 1964; 62 (suppl. 232): 3-55.

Davis KL, Mohs RC, Tinklenberg JR, Pfefferbaum A, Hollister LE, Kopell BS. Physostigmine: improvement of long-term memory process in normal human. *Science NY* 1978; 201: 272-274.

Dehaene I, Martin JJ, Greens K, Cras P. GBS with ophthalmoplegia: clinicopathologic study of the central and peripheral nervous system, including the oculomotor nerves. *Neurology* 1986; 36: 851-854.

Dowling PC, Cook SD. Role of infection in Guillain-Barré syndrome: laboratory confirmation of herpes viruses in 41 cases. *Ann Neuro* 1981; 9: 44-45 Suppl.

Drachman DA, Leavitt J. Human memory and the cholinergic system. *Arch Neurol*. 1974; 30 (2): 113-121.

Eberhardt O, Kuker W, Dichgans J, Weller M. HSV-2 sacral radiculitis (Elsberg syndrome). *Neurology* 2004; 63: 758-759.

Eisendrath SJ, Matthay MA, Dunkel JA, Zimmermann JK, Layzer RB. Guillain-Barré syndrome: Psychosocial aspects of management. *Psychosomatics* 1983; 24: 465-475.

Feasby TE, Hahn AF, Koopmann RN, Lee DH. Central lesions in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy: an MRI study. *Neurology* 1990; 40: 476-478.

Fettissov SO, Bensing S, Mulder J, et al. Autoantibodies in Autoimmune polyglandular Syndrome Type I Patients React with Major Brain Neurotransmitter Systems. *The Journal of Comparative Neurology* 2009; 513: 1-20.

Forster, E. Psychische Veränderungen und Liquorparameter bei intensivbehandelten Patienten mit akutem GBS. Dissertation 2005, Institut für Psychotherapie und medizinische Psychologie der Universität Würzburg.

Gabriel CM, Hughes RAC, Moore SE, Smith KJ, Walsh FS. Induction of experimental neuritis with peripheral myelin protein 22. *Brain* 1998; 121: 1895-902.

Garssen MP, Bussmann JB, Schmitz PI, et al. Physical training and fatigue, fitness and quality of life in Guillain-Barré syndrome and CIDP. *Neurology* 2004; 63: 2393-95.

Gharbawie OA, Whishaw IQ. Cholinergic and serotonergic neocortical projection lesions given singly or in combination cause only mild impairments on tests of skilled movements in rats: evaluation of a model of dementia. *Brain Research* 2003; 970: 97-109.

Görtzen A, Schlüter S, Veh RW. Schmidt-Lanterman`s incisures – the principal target of autoimmune attack in demyelinating Guillain-Barré syndrome. *J Neuroimmunol* 1999; 94: 58-65.

Görtzen A, Schlüter S, Veh RW. Anti-astrocyte Autoantibodies in Guillain-Barré syndrome – Possible Involvement in the Pathophysiology of the Psychosyndrome? *Autoimmunity* 2004; 00 (0): 1-8.

Gordon PH, Wilbourn AJ. Early electrodiagnostic findings in Guillain-Barré syndrome. *Arch Neurol* 2001; 58: 913-17.

Govoni V, Granieri E. Epidemiology of the GBS. *Curr Opin Neurol* 2001; 14: 605-13.

Guillain-Barré Syndrome Study Group. Guillain-Barré syndrome: an Italian multicentre case-control study. *Neurol Sci* 2000; 21: 229-34.

Haber P, DeStefano F, Angulo FJ, et al. Guillain-Barré syndrome following influenza vaccination. *JAMA* 2004; 292: 2478-81.

Hadden RDM, Cornblath DR, Hughes RAC, et al. Electrophysiological classification of Guillain-Barré syndrome: clinical association and outcome. *Ann Neurol* 1998; 44: 780-88.

Hafer-Macko CE, Sheikh KA, Li CY, et al. Immune attack on the Schwann cell surface in acute inflammatory demyelinating polyneuropathy. *Ann Neurol* 1996a; 39:627-37.

Hafer-Macko C, Hsieh ST, Li CY, et al. Acute motor axonal neuropathy: an antibody-mediated attack on axolemma. *Ann Neurol* 1996b; 40: 635-44.

Hall SM, Hughes RAC, Payan J, Atkinson PF, McColl I, Gale A. Motor nerve biopsy in severe GBS. *Ann Neurol* 1992; 31: 441-444.

Hao Q, Saida T, Kuroki S, et al. Antibodies to gangliosides and galactocerebroside in patients with Guillain-Barré syndrome with preceding *Campylobacter jejuni* and other identified infections. *J Neuroimmunol* 1998; 81: 116-126.

Harding A, Paxinos G, Halliday G. The Serotonin und Tachykinin System. aus "The rat nervous system". Elsevier 2004; Chap. 34: 1205-1214.

Hartung HP, Kieseier BC. Antibody responses in the Guillain-Barré syndrome. *J Neurol Sci* 1999; 168: 75-77.

Hasselmo ME. The role of acetylcholine in learning and memory. *Curr Opin Neurobiol.* 2006; 16 (6): 710-715.

Haupt WF, Rosenow F, Ven C van der, Borberg H, Pawlik G. Sequential treatment of Guillain-Barré syndrome with extracorporeal elimination and intravenous immunoglobulin. *J Neurol Sci* 1996; 137: 145-49.

Hawke SHB, Hallinan JM, McLeod. Cranial magnetic resonance imaging in chronic demyelinating polyneuropathy. *J Neurol, Neurosurgery and Psychiatry* 1990; 53: 794- 796.

Hemachudha T, Griffin DE, Chen WW, Johnson RT. Immunologic studies of rabies vaccination-induced GBS. *Neurology* 1988; 38: 375-78.

Himmelheber AM, Sarter M, Bruno JP. Increases in cortisol acetylcholine release during sustained attention performance in rats. *Cog Brain Res* 2000; 9: 313-25.

Hsu SM, Raine L, Fanger H. Use of Avidin-Biotin-Peroxidase Complex ABC in immunoperoxidase technique: a comparison between ABC and unlabeled antibody PAP procedures. *J Histochem Cytochem* 1981; 29: 577-580.

Hughes R, Sanders E, Hall S, Atkinson P, Colchester A, Payan J. Subacute idiopathic demyelinating polyradiculoneuropathy. *Arch Neurol* 1992; 49: 612-616.

Hughes R.A.C., Rees J.: Clinical and epidemiologic features of Guillain-Barré syndrome. *J Infect Dis* 1997, 176 Suppl.2: S92-S98

Hughes RAC, Wijdicks E, Barohn RJ, et al. Practice parameter: Immunotherapy of Guillain-Barré syndrome: report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology* 2003; 61: 736-40.

Hughes RAC, Cornblath DR. Guillain-Barré syndrome. *Lancet* 2005; 366:1653-66.

Hughes RAC, Wijdicks E, Barohn RJ, et al. Supportive care for Guillain-Barré syndrome. *Arch Neurol*. 2005; 62: 1194-98.

Hughes RA, Raphael JC, Swan AV, van Doorn PA. Intravenous immunoglobulin for GBS. *Cochrane Database Syst Rev* 2006 (a): CD 002063.

Hughes RAC, Swan AV, van Koningsveld R, van Doorn PA. Corticosteroids for GBS. *Conchrane Database of Syst Rev* 2006 (b), Issue2.

Hurlemann R, Bauer A, Vogeley K, Falkai P, Wagner M, Maier W. Molekulare Grundlagen der Schizophrenie. Der 5-HT_{2A}Rezeptor. *Nervenheilkunde* 2006; 25:28-31.

Ilyas AA, Mithen FA, Dalakas MC, Chen ZW, Cook SD. Antibodies to acidic glycolipids in Guillain-Barré syndrome and chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *J Neurol Sci* 1992; 107: 111-121.

Jacobs BC, Rothbarth PH, Van der Meché, et al. The spectrum of antecedent infections in Guillain-Barré syndrome: a case control study. *Neurology* 1998; 51: 1110-1115.

Jacobs BL and Fornal CA. Activity of serotonergic neurons in behaving animals. *Neuropsychopharmacology*, 1999; 21:391-398.

Jensen P, Farago AF, Awatramani RB, et al. Redefining the serotonergic system by genetic lineage. *Nat Neurosci* 2008; 11: 417-19

Kadlubowski M, Hughes RAC. Identification of the neuritogen responsible for experimental allergic neuritis. *Nature* 1979; 277: 140-41.

Kieseier BC, Kiefer R, Gold R, Hemmer B, Willison HJ, Hartung HP. Advances in understanding and treatment of immune-mediated disorders of the peripheral nervous system. *Muscle Nerve* 2004; 30: 131-56.

Kornberg AJ, Pestronk A, Bieser K, Ho TW, McKhann GM, Wu HS, Jiang Z. The clinical correlates of higher-titer IgG anti-GM1 antibodies. *Ann Neurol* 1994; 35: 234-237.

Langmuir AD, Bregman DJ, Kurland LT, Nathanson N, Victor M. An epidemiologic and clinical evaluation of GBS reported in association with administration of swine influenza vaccines. *Am J Epidemiol* 1984; 119: 841-79.

Lehmann HC, Hartung HP, Hetzel GR, Stuve O, Kieseier BC. Plasma exchange in neuroimmunological disorders: part 2. Treatment of neuromuscular disorders. *Arch Neurol* 2006; 63:1066-1071.

Maelicke A, Albuquerque EX. Allosteric modulation of nicotinic acetylcholine receptors as a treatment strategy for Alzheimer disease. *Eur J Pharmacology* 2000; 393: 165-170.

Maier H, Schmidbauer M, Pfausler B, Schmutzhard E, Budka H. Central nervous system pathology in patients with Guillain-Barré syndrome. *Brain* 1997; 120: 451-464.

McKhann GM, Cornblath DR, Ho TW, et al. Clinical and electrophysiological aspects of acute paralytic disease of children and young adults in northern China. *Lancet* 1991; 338, 593-597.

McKhann GM, Cornblath DR, Griffin JW, et al. Acute motor axonal neuropathy: a frequent cause of acute flaccid paralysis in China. *Ann Neurol* 1993; 33: 333-342.

Mesulam MM, Mufson EJ, Wainer BH, Levey AI. Central cholinergic pathway in the rat: an overview based on an alternative nomenclature (Ch1-Ch6). *Neuroscience* 1983; Vol. 10, No 4: 1185-1201.

Meythaler JM. Rehabilitation of Guillain-Barré syndrome. *Arch Phys Med Rehabil* 1997; 78: 872-79.

Milner P, Lovelidge CA, Taylor WA, Hughes RAC. P0 myelin protein produces experimental allergic neuritis in Lewis rats. *J Neurol Sci* 1987; 79: 274-85.

Miranda MI, Ferreira G, Ramirez-Lugo L, Bermudez-Rattoni F. Role of cholinergic system on the construction of memories: Taste memory encoding. *Neurobiol. of Learn. and Memory* 2003. 80: 211-222.

Mori M, Kuwabara S, Miyake M, et al. Haemophilus influenzae has a GM1 ganglioside-like structure and elicits Guillain-Barré syndrome. *Neurology* 1999; 52: 1282-84.

Müller, HD, Beckmann A, Schröder JM. Inflammatory infiltrates in the spinal cord of patients with GBS. *Acta Neuropathol.* 2003; 106: 509-517.

Norenberg MD. Astroglial dysfunction in hepatic encephalopathy. *Metab Brain Dis* 1998; 13: 319-335.

Ogawara K, Kuwabara S, Mori M, et al. Axonal Guillain-Barré syndrome: relation to antiganglioside antibodies and *Campylobacter jejuni* infection in Japan. *Ann Neurol* 2000; 48: 624-631.

Oh SJ, Kurokawa K, De Almeida DF, Ryan HF Jr., Claussen GC. Subacute inflammatory demyelinating polyneuropathy. *Neurology* 2003; 61: 1507-12.

Oomes PG, Jacobs BC, Harzenberg MP, Banffer JR, an der Meche FG. Anti-GM1 IgG antibodies and *Campylobacter* bacteria in GBS: evidence of molecular mimicry. *Ann Neurol* 1995; 38: 170-175.

Ormerod IEC, Waddy HM, Kermode AG, Murray NMF, Thomas PK. Involvement of the central nervous system in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy: a clinical, electrophysiological and magnetic resonance imaging study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1990; 53: 789-793.

Othake T, Komori T, Hirose K, Tanabe H. CNS involvement in Japanese patients with chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. *Acta Neurol Scand* 1990; 81: 108-112.

Pakalnis A, Drake ME, Barohn RJ, Chakeres DW, Mendell JR. Evoked potentials in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *Arch Neurol* 1988; 45: 1014-1016.

Parry GJG. Antiganglioside antibodies do not necessary play a role in multifocal motor neuropathy. *Muscle Nerve* 1994; 17: 97-99.

Paxinos G, Watson CH. Atlas of "The rat brain in stereotaxic coordinates". Second edition, 1986, Academic Press, Orlando, Florida.

Pearson J, Goldstein M, Markey K, Brandeis L. Human brain stem catecholamine neuronal anatomy as indicated by immunohistochemistry with antibodies to tyrosine hydroxylase. *Neuroscience* 1983; 8: 3-32.

Pearson J, Halliday G, Sakamoto N, Michel JP. Catecholaminergic Neurons. *The Human Nervous System* 1990 by Academic Press, Inc.

Pestronk A, Adams RN, Clawson L, Cornblath D, Kuncel RW, Griffin D, Drachmann DB. Serum antibodies to GM1 ganglioside in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurol* 1988; 38: 1457-1461.

Raphael JC, Chevret S, Hughes RA, Annane D. Plasma exchange for Guillain-Barré syndrome. *Cochrane Database Syst Rev* 2002;2: CD001798.

Rees JH, Gregson NA, Hughes RAC. Anti-ganglioside GM1 antibodies in GBS and their relationship to *Campylobacter jejuni* infection. *Ann Neurol* 1995a; 38: 809-816.

Rees JH, Soudain SE, Gregson NA, Hughes RAC. A prospective case control study to investigate the relationship between *Campylobacter jejuni* infection and Guillain-Barré syndrome. *New Engl J Med* 1995b; 333: 1374-79.

Rees JH, Vaughan RW, Kondeatis E, Hughes RAC. HLA-Class II alleles in Guillain-Barré syndrome and Miller Fisher syndrome and their association with preceding *campylobacter jejuni* infection. *J Neuroimmunol* 1995c; 62: 53-57.

Rees JH, Thompson RD, Smeeton NC, Hughes RAC. An epidemiological study of GBS in South East England. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1998; 64: 74-77.

Roman GC. Tropical neuropathies. In Hartung H-P, editor. *Peripheral Neuropathies: Part 1*. London: Bailliere Tindall; 1995: 469-87.

Rosenlicht N, Kewchang L. Hallucinations in Guillain-Barré syndrome. *Am J Psychiatry* 2000; 157: 12.

Schmidt B, Toyka KV, Kiefer R, Full J, Hartung HP, Pollard J. Inflammatory infiltrates in sural nerve biopsies in Guillain-Barré syndrome and chronic inflammatory demyelinating neuropathy. *Muscle Nerve* 1996; 19: 474-487.

Schmidt-Degenhard M. Oneiroides Erleben bei intensivbehandelten panplegischen Polyradikulitis Patienten. *Nervenarzt* 1986; 57: 712-718.

Seta T, Nagayama H, Katsura K, Hamamoto M, Araki T, Yokochi M, et al. Factors influencing outcome in GBS: comparison of plasma adsorption against other treatments. *Clin Neurol Neurosurg* 2005; 107: 491-496.

Simone IL, Annunziata P, Maimone D, Liguori M, Leante R, Livrea P. Serum and CSF anti-GM1 antibodies in patients with Guillain-Barré syndrome and chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *J Neurol Sci* 1993; 114: 49-55.

Smiley JF, Subramanian M, Mesulam MM. Monoaminergic-cholinergic interactions in the primate basal forebrain. *Neuroscience* 1999; 93 (3): 817-29.

Solimena M, Folli F, Denis-Donini S, et al. Autoantibodies to glutamic acid decarboxylase in a patient with stiff-man-syndrome, epilepsy, and type I diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1988; 318: 1012-1020.

Sternbach H. The serotonin syndrome. *Am J Psychiatry* 1991; 148(6): 705-13.

Surgita K, Ishii M, Takanashi J, Niimi H, Yuki N. Guillain-Barré syndrome associated with IgM anti-GM1 antibody following campylobacter jejuni enteritis. *Eur J Pediatr* 1994; 153: 181-183.

Svennerholm L, Fredman P. Antibody detection in Guillain-Barré syndrome. *Ann Neurol* 1990; 27 (Suppl.): 365-371.

Swoboda G, Pötzl G, Stompe T, Ullmann E. Zur Psychopathologie des Guillain-Barré Syndroms. *Aktuelle Neurol* 1996; 23: VII-VIII.

Törk I. Raphe nuclei and serotonin containing systems. In: Paxinos G, editor. *The Rat Nervous System: Hindbrain and Spinal Cord*. Vol. 2. Academic Press; Australia: 1985. pp. 43–78.

Törk I. Anatomy of the serotonergic system. *Ann NY Acad Sci* 1990; 600: 9-34.

Tuttle J, Chen RT, Rantala H, et al. The risk of Guillain-Barré syndrome after tetanus-toxoid-containing vaccines in adults and children in the United states. *Am. J. Public Health* 1997; 87: 2045-2048.

Van den Bergh PYK, Piéret F. Electrodiagnostic criteria for acute and chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. *Muscle Nerve* 2004; 29: 565-74.

Van der Meché FGA, Schmitz PIM, Dutch Guillain-Barré Study Group. A randomized trial comparing intravenous immune globulin and plasma exchange in Guillain-Barré syndrome. *N Engl J Med* 1992; 326: 1123-29.

Van Koningsveld R, Rico R, Gerstenbluth I, et al. Gastroenteritis associated Guillain-Barré syndrome on the Carribbean island Curacao. *Neurology* 2001; 56: 1467-72.

Van Schaik IN, Winer JB, De Haan R, Vermeulen N. Intravenous immunoglobulin for chronic inflammatory demyelinating polyradiculopathy. *Cochrane Database Syst Rev*. 2006: CD 001797.

Vanderwolf CH. A general role for serotonin in the control of behaviour: studies with intracerebral 5,7 dihydroxytryptamin. *Brain Res*. 1989; 504 (2): 192-8.

Veh RW. Thalamus und Basalganglien: Neuronenkreis für Motorik und Psyche. In: Handout Funktionelle und Praktische Neuroanatomie. Zentrum für Anatomie, Charite Berlin, 2010, S.63-70.

Walter U, Prudente-Morrissey L, Herpertz SC, Benecke R, Hoepfner J. Relationship of brainstem raphe echogenicity and clinical findings in depressive states. *Psych Res.: Neuroimaging* 2007; 155: 67-73.

Waksman BH, Adams RD. Allergic neuritis: An experimental disease of rabbits induced by the injection of peripheral nervous tissue and adjuvants. *J Exp Med* 1955; 102: 213.

Weiss H, Rastan V, Müllges W, Wagner RF, Toyka KV. Psychotic symptoms and emotional distress in patients with Guillain-Barré syndrome. *Eur Neurol* 2002; 74-78.

Williams GV, Rao SG, Goldman-Rakic PS. The physiological role of 5 HT_{2A} receptors in working memory. *J. Neurosci* 2002; 22:2843-54.

Willison HJ, O'Hanlon. The immunopathogenesis of Miller Fisher syndrome. *Journal of Neuroimmunology* 1999; 100: 3-12.

Winer JB, Hughes RAC, Anderson MJ, Jones DM, Kangro H, Watkins RFP. A prospective study of acute idiopathic neuropathy.II. Antecedent events. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1988; 51: 613-18.

Young RR, Asbury AK, Corbett JL, Adams RD. Pure pandysautonomia with recovery – description and discussion of diagnostic criteria. *Brain* 1975; 98: 613-636.

Yuki N, Taki T, Inagati F, Kasama T, Takahashi M, Saito K, et al. A bacterium lipopolysaccharide that elicits Guillain-Barré syndrome has a GM1 ganglioside-like structure. *J Exp Med.* 1993; *J Exp Med* 1993; 178: 1771-5.

Zhang X, Gainetdinov RR, Beaulieu JM et al. Loss-of-function mutation in Tryptophan Hydroxylase-2 identified in unipolar major depression. *Neuron* 2005; 45: 11-16.

8 **DANKSAGUNG**

Hiermit möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Rüdiger W. Veh für die wissenschaftliche Begleitung und das Ermöglichen meiner Dissertationsarbeit bedanken.

Mein ganz besonders herzlicher Dank gilt Frau Dr. Angelika Görtzen für die Anregung zu dieser neurowissenschaftlichen Arbeit. Sie ermöglichte mir die Durchführung einer experimentellen Doktorarbeit und begleitete mich dabei mit ihrem unermüdlichen Engagement und ihrer fachlichen Kompetenz. Ihre Tatkraft, Neugier und Begeisterung für das wissenschaftliche Arbeiten waren mir stets ein Vorbild und die notwendige Motivationshilfe, ohne die diese Arbeit sicher nicht fertig gestellt worden wäre. Ihre langjährige Erfahrung mit dem Krankheitsbild und der Behandlung von Patienten mit dem Guillain-Barré-Syndrom legte den Grundstock zu dieser Arbeit.

Danken möchte ich darüber hinaus zum einen Herrn Prof. Dr. med. Claus Dieter Gerharz, Chefarzt des pathologischen Instituts im Bethesda-Krankenhaus in Duisburg, und seinen Mitarbeitern für die Möglichkeit der Nutzung des Kryotoms. Zum anderen gilt mein Dank Herrn Reinhard Lommel, wissenschaftlicher Assistent im Institut für integrative Neuroanatomie, Zentrum für Anatomie, Charité-Berlin und Frau Heike Heilmann für ihre technische Hilfe und Durchführung der Immunfluoreszenzversuche.

Schließlich danke ich meinen Eltern, die mir das ersehnte Studium der Medizin und somit die Doktorarbeit erst ermöglicht haben und mich zu dem gemacht haben, was ich bin.

Widmen möchte ich die Arbeit meinem lieben Mann und meinen Kindern Luca und Jannes, die mich bei meiner Arbeit stets ermutigten und somit so manchen Abend auf mich verzichten mussten.

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

Publikationsliste:

A. Görtzen, C. Rink, R. Lommel, R.W. Veh, 2005.

Psychosyndrom bei Patienten mit Guillain-Barré Syndrom – gibt es Ziel-Proteine für GBS-Autoantikörper im GBS? Aktuelle Neurologie 32 (Suppl. 4), S. 258.

(Vorstellung bei Jahrestagung des Kongresses der DGN 2005, Wiesbaden)

A. Görtzen, C. Rink, R. Lommel, R.W. Veh , 2006.

Psychosyndrom bei Patienten mit Guillain-Barré Syndrom durch Autoantikörper gegen serotonerge oder noradrenerge Neurone? Aktuelle Neurologie 33 (Suppl.), S. 48.

(Vorstellung bei der Jahrestagung des Kongresses der DGN 2006, Mannheim)

A. Görtzen, C. Rink, R. Lommel, R.W. Veh, 2007.

Psychosyndrome in patients with Guillain-Barré syndrome – involvement of autoantibodies against neurons of monoaminergic systems?

Neuroscience Meeting, San Diego.

Erklärung an Eides Statt

Ich, Claudia Rink, geb. 20.04.1972, wohnhaft Nassenkampstr. 9 in 46147 Oberhausen, erkläre, dass die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: "Autoantikörper gegen Proteine monaminerger Systeme beim Guillain-Barré-Syndrom – mögliche Beteiligung an der Pathophysiologie des Psychosyndroms?" selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die unzulässige Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe. Die benutzten Hilfsmittel und die Literatur sind vollständig angegeben.

Claudia Rink