

Aus dem Institut für Medizinische Immunologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Charakterisierung des phänotypischen und funktionellen
Immunstatus bei Patienten mit Chronischem
Erschöpfungssyndrom

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Michael Knops
aus Köln

Gutachter/in: 1. Prof. Dr. med. C. Scheibenbogen
 2. Priv.-Doz. Dr. S. Engeli
 3. Priv.-Doz. Dr. med. W. Jabs

Datum der Promotion: 23. Juni 2013

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	6
Tabellenverzeichnis	7
Abkürzungsverzeichnis	8
1. Einleitung	10
1.1. Das Chronische Erschöpfungssyndrom (Chronic Fatigue Syndrome, CFS)	10
1.2. Epidemiologie und Ätiologie des Chronischen Erschöpfungssyndroms	10
1.2.1. Immunologische Auffälligkeiten bei CFS	11
1.2.2. Infektionen als Ursache für CFS	12
1.3. Diagnosekriterien, klinische Definition, psychiatrische Störungen und Schweregradeinteilung des CFS	14
1.3.1. Diagnosekriterien des CFS	14
1.3.2. Klinische Definition des CFS	15
1.3.3. Abgrenzung zum Tumor-Fatigue-Syndrom	17
1.3.4. Psychiatrische Störungen	17
1.3.5. Schweregradskala nach Bell	18
1.4. Verlauf und Prognose	19
1.5. Bisherige Therapieansätze des CFS	20
1.6. Ziele und Fragestellungen	22
2. Patienten, Methoden und Materialien	23
2.1. Patienten	23
2.1.1. Patientenkollektiv	23
2.1.2. Einschluss- und Ausschlusskriterien	23
2.1.3. Referenzgruppen	23
2.2. Datenbanken	24
2.2.1. Datenschutz	24
2.2.2. Datenbankentwicklung mit MySQL	24
2.2.3. Datenbankentwicklung mit Microsoft Access 2007	25
2.3. Daten aus Epikrisenbestand	26
2.3.1. Datenanalyse aus Epikrisenbestand	26
2.3.2. Automatisierter Import von relevanten Diagnoseinformationen	26
2.3.3. ICD10-Verschlüsselung von Diagnosen	26
2.4. Labordaten	27

2.4.1. Laborstammdaten, Einheiten und Referenzwerte	27
2.4.2. Automatisierter Labordatenimport	28
2.5. Statistische Methoden	28
3. Ergebnisse	30
3.1. Ergebnisse klinischer Daten	30
3.2. Ergebnisse Blutbild und Differentialblutbild	31
3.3. Ergebnisse des zellulären Immunstatus	32
3.4. Ergebnisse Entzündungs- und Immunaktivierungsparameter	32
3.5. Ergebnisse der T-Zellaktivierungsmarker	34
3.5.1. Korrelation zwischen HLA-DR ⁺ CD4 ⁺ -, HLA-DR ⁺ CD8 ⁺ - und CD57 ⁺ CD8 ⁺ -Lymphozyten mit Gesamtlymphozytenzahl	34
3.6. Ergebnisse funktioneller T-Zellaktivierung in vitro	36
3.6.1. Korrelation zwischen IL-2, IL-5, IL-10 und CD57 ⁺ -, HLA-DR ⁺ CD8 ⁺ - und HLA-DR ⁺ CD4 ⁺ -Lymphozyten	38
3.6.2. Korrelation IL-5 und IL-10 mit MCHC	40
3.6.3. MCHC und chronische T-Zellaktivierungsmarker	41
3.6.4. Korrelation CD57 ⁺ CD8 ⁺ -T-Lymphozyten und MCHC	43
3.6.5. Korrelation zwischen Gesamt-IgE und IL-5	44
3.7. Ergebnisse Immunglobuline	45
3.8. Ergebnisse Infektionsdiagnostik	47
4. Diskussion	48
4.1. Überblick	48
4.2. Das Epstein-Barr-Virus, ein potentieller Verursacher	48
4.3. Autoimmunthyreoiditis und Immunglobulin-Mangel bei CFS-Patienten	49
4.3.1. Autoimmunthyreoiditis	49
4.3.2. Selektiver IgA-Mangel	50
4.3.3. Selektiver IgG-, IgG ₃ - und IgG ₄ -Subklassenmangel	50
4.3.4. Erhöhte IgM-Produktion	50
4.3.5. EBNA-IgG-Verlust und IgG-Mangel	50
4.4. CFS und Chronische T-Zellaktivierung	51
4.5. CFS und Zytokinmuster	54
4.6. MCHC korreliert mit IL-5 und IL-10	56
4.7. Methodische Schwächen	57
5. Zusammenfassung und Ausblick	58

6. Quellenverzeichnis	61
6.1.Literatur	61
6.2.Videomaterial	61
6.3.Weblinks	62
6.4.Sonstige Quellen	62
7. Literaturverzeichnis	63
Eidesstattliche Erklärung	75
Danksagung	76
Lebenslauf	77
Publikationsliste	83

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Statistischer Algorithmus	29
Abbildung 2: Geschlechterspezifische Altersverteilung	30
Abbildung 3: Regressionsanalyse zwischen HLA-DR ⁺ CD4 ⁺ und Lymphozytenzahl. Signifikante Korrelation zwischen HLA-DR ⁺ CD4 ⁺ und Lymphozytenzahl.....	35
Abbildung 4: CFS-Patienten können in 3 Zytokinmuster Subgruppen eingeteilt werden; <i>IL-2^{high}</i> , <i>IL-5^{high}</i> , <i>Cytokines^{low}</i> , Referenzbereich im 95%-Vertrauensintervall.....	37
Abbildung 5: Regressionsanalyse zwischen CD57 ⁺ CD8 ⁺ und IL-10.....	39
Abbildung 6: Regressionsanalyse zwischen IL-5 und MCHC	40
Abbildung 7: Regressionsanalyse zwischen IL-10 und MCHC	40
Abbildung 8: Signifikanzanalyse mittels Mann-Whitney U Test zwischen MCHC normal/erhöht und chronischem T-Zell-Aktivierungsparameter HLADR ⁺ CD4 ⁺ T-Zellen in %.....	41
Abbildung 9: Signifikanzanalyse mittels Mann-Whitney U Test zwischen MCHC normal/erhöht und akutem T-Zell-Aktivierungsparameter HLADR ⁺ CD8 ⁺ T-Zellen in %	41
Abbildung 10: Signifikanzanalyse mittels Mann-Whitney U Test zwischen MCHC normal/erhöht und chronischem T-Zell-Aktivierungsparameter CD57 ⁺ CD8 ⁺ T-Zellen in %	42
Abbildung 11: Korrelationsanalyse MCHC vs. CD57 ⁺ CD8 ⁺ -T-Lymphozyten	43
Abbildung 12: Regressionsanalyse Gesamt-IgE vs. Interleukin-5	44
Abbildung 13: Häufigkeit von Immunglobulin-Mangel und erhöhtem IgM bei CFS-Patienten, Referenzbereich im 95% Vertrauensintervall	46

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: CFS-Kriterien nach Fukuda	14
Tabelle 2: Klinische Definition des Chronischen Erschöpfungssyndroms	15
Tabelle 3: Manifestationen bei CFS-Erkrankten	16
Tabelle 4: CFS Schweregradskala nach David S. Bell	18
Tabelle 5: Datentabellen und Schlüsselfelder für Datenbank	24
Tabelle 6: Erhobene Laborparameter	27
Tabelle 7: Klinische Daten	30
Tabelle 8: Beobachtete Komorbiditäten	31
Tabelle 9: Blutbild, Referenzbereich im 95%-Vertrauensintervall	31
Tabelle 10: Differentialblutbild, Referenzbereich im 95%-Vertrauensintervall	32
Tabelle 11: Zellulärer Immunstatus	32
Tabelle 12: Entzündungs- und Immunaktivierungsparameter	33
Tabelle 13: Entzündungsparameter gruppiert nach Diagnosen	33
Tabelle 14: Chronische T-Zell-Aktivierungsparameter	34
Tabelle 15: Korrelationsanalyse zwischen HLA-DR ⁺ CD4 ⁺ , HLA-DR ⁺ CD8 ⁺ und CD57 ⁺ CD8 ⁺ und Lymphozytenzahl	35
Tabelle 16: Zytokin- und Interleukinexpression nach mitogener T-Zellstimulation	36
Tabelle 17: Regressionsanalyse zwischen HLA-DR ⁺ CD4 ⁺ , HLA-DR ⁺ CD8 ⁺ und CD57 ⁺ CD8 ⁺ und IL-2	38
Tabelle 18: Regressionsanalyse zwischen HLA-DR ⁺ CD4 ⁺ , HLA-DR ⁺ CD8 ⁺ und CD57 ⁺ CD8 ⁺ und IL-5	38
Tabelle 19: Regressionsanalyse zwischen HLA-DR ⁺ CD4 ⁺ , HLA-DR ⁺ CD8 ⁺ und CD57 ⁺ CD8 ⁺ und IL-10	38
Tabelle 20: Immunglobuline (IgM, IgA, IgG)	45
Tabelle 21: IgG-Subklassen	45
Tabelle 22: EBV-spezifische Antikörper	47

Abkürzungsverzeichnis

BSG	Blutsenkungsgeschwindigkeit
CD	Cluster of differentiation
CFS	Chronic fatigue syndrome
CFIDS	Chronic fatigue and immune dysfunction syndrome
CMV	Cytomegalie-Virus
CRP	C-Reaktives-Protein
DHEA-S	Dehydroepiandrosteronsulfat
EBV	Epstein-Barr-Virus
Eos	Eosinophile
Ery	Erythrozyt
Hb	Hämoglobin
Hkt	Hämatokrit
HLA-DR	Humanes Leukozyten Antigen Typ DR
ICD10	International code of diagnosis version 10
IFN- γ	Interferon Gamma
Ig (M)	Immunglobulin Typ M
IL	Interleukin
IL-8Eryl	Interleukin-8 nach Erylyse
i.v.	intravenös
KI	Konfidenzintervall
Leuko	Leukozyten
Lympho	Lymphozyten
MCH	Mean corpuscular haemoglobin
MCHC	Mean corpuscular haemoglobin concentration
MCV	Mean corpuscular volume
Mono	Monozyt
MPV	Mean platelet volume
Neutro	Neutrophile
oxLDL	Oxidated low density lipoprotein
QOL	Quality of life
RCT	Randomized control trial
RDW	Reticulocyt distribution Width
sIL-2R	löslicher IL-2-Rezeptor (Serum)

TH ₁	T-Helferzelle Typ 1
TH ₂	T-Helferzelle Typ 2
Thrombo	Thrombozyt
TNF- α	Tumor Nekrose Faktor Alpha
TSH	Thyroxin-stimulierendes Hormon
XMRV	Xenotropic murine leukemia virus-related virus

1. Einleitung

1.1. Das Chronische Erschöpfungssyndrom (Chronic Fatigue Syndrome, CFS)

Das Chronische Erschöpfungssyndrom (Chronic Fatigue Syndrome, CFS) ist eine komplexe Erkrankung, die sich primär durch extreme Erschöpfbarkeit und Verschlechterung des Allgemeinzustandes mit substantieller Minderung der Lebensqualität manifestiert. Charakteristisch für diese Erkrankung ist, dass sie meist mit einer akut auftretenden, grippeähnlichen Symptomatik beginnt. Begleitet von Lymphknotenschwellungen und -schmerzen, Halsschmerzen, Kopfschmerzen, Myalgien, Arthralgien, Konzentrations-, Gedächtnis- und Schlafstörungen, die mindestens ein halbes Jahr persistieren. Der Beginn ist in der Regel akut, kann sich aber auch subakut bis schleichend progredient manifestieren. Ein wesentlicher Unterschied zu anderen Erschöpfungsformen ist, dass beim CFS nach Belastung eine lang anhaltende Erschöpfung auftritt und eine Besserung durch Erholungsphasen nicht eintritt^{1,2}.

1.2. Epidemiologie und Ätiologie des Chronischen Erschöpfungssyndroms

Das CFS ist von der *World Health Organisation* (WHO) und internationalen Gremien als eigenständige Erkrankung anerkannt und wird im *International Code of Diagnosis 10* (ICD10) unter dem Schlüssel G93.3 kodiert.

In Deutschland liegt die Prävalenz bei CFS erkrankten Menschen bei 0,3 %. Laut *CFIDS Association of America Inc.* ist das Risiko an CFS zu erkranken bei Frauen vierfach höher als bei Männern. Eine genauere Differenzierung unter den ethnischen Gruppen ist noch nicht berücksichtigt. Das Erkrankungsalter liegt häufig zwischen dem 40. und 50. Lebensjahr³. Eine niederländische Studie zeigte jedoch, dass auch Jugendliche erkranken können^{4,5}. Auch wenn Menschen aus allen Einkommensschichten von CFS betroffen sein können, gibt es erste Hinweise, die eine Häufung in der unteren Einkommensschicht – zumindest in den Vereinigten Staaten – belegen. Unklar dabei bleibt, ob der Zugang zur medizinischen Versorgung oder andere Faktoren eine Rolle spielen. In einigen Fällen wurde CFS innerhalb einer Familie diagnostiziert. Man vermutet, dass bei etwa 10-15% ein Familienangehöriger betroffen ist. Dabei gehen US-amerikanische Forscher nicht von einer infektiösen Genese, sondern von einer möglichen genetischen Prädisposition aus.

1.2.1. Immunologische Auffälligkeiten bei CFS

Verschiedene Studien konnten zeigen, dass eine Störung immunologischer Parameter bei Patienten mit CFS vorliegt⁶⁻⁹. Darunter wurden eine Verschiebung im Zytokinprofil⁶ und eine verminderte Funktion von natürlichen Killerzellen¹⁰ berichtet. Immunologische Auffälligkeiten wurden auch in einer Arbeit von Torres-Harding et al. berichtet, in der eine verschobene TH₁/TH₂-Antwort (TH, T-Helferzelle) zu Gunsten von TH₂ bei CFS-Patienten beobachtet wurde¹². Hier wurde vor allem eine Assoziation zwischen erhöhtem TH₂-Phenotyp-induzierter IL-4-Produktion (IL, Interleukin) und erhöhtem Kortisolspiegel und auch verstärktem Schlafmangel gesehen.

Das ist ein interessanter Befund, denn bereits Marshall und Born et al. fanden im Tiermodell heraus, dass z.B. pro-inflammatorische Zytokine (IL-2, IL-1 β , TNF- α) den Schlaf verbessern und immunsuppressive Zytokine (IL-4, IL-10) den Schlaf verschlechtern¹³. Dass CFS-Patienten einen erhöhten Schlafbedarf haben, auch wenn der Schlaf nicht erholend ist, ist bereits eingehend untersucht.

Lorusso et al.¹⁴ konnte in einer Metaanalyse zeigen, dass CFS-Patienten eine erhöhte T-Zellaktivierung (HLA-DR⁺CD8⁺) und eine relative Verminderung von CD11b-Expression auf erhöhte CD28⁺-T-Zellen zeigen. Bestätigt werden diese Berichte durch weitere Untersuchungen von Swanink et al.⁶ und Skowera et al.¹⁵, die ebenfalls erhöhte zytotoxische CD8⁺-Aktivitäten, erhöhte Aktivierungsmarker (CD38 und HLA-DR) und eine verminderte CD11b-Expression in Zusammenhang mit erhöhter CD28⁺-T-Lymphozyten feststellten. Eine Korrelation dieser Daten mit dem Grad der Schwäche konnte nicht nachgewiesen werden.

Als weitere wichtige immunologische Auffälligkeit bei CFS-Patienten wäre die Existenz von Autoantikörpern^{16,17} zu nennen. Maes et al. berichtete über eine IgM-vermittelte Autoimmunantwort gegen neoantigene Epitope (hauptsächlich Palmitinsäure, Myristinsäure, S-Farnesyl-L-Cysteine) und NO-Phenylalanine bei 17 CFS-Patienten signifikant erhöht gegenüber Positiv- (Depression) und gesunden Kontrollen.

Als letzte wichtige Säule in der immunologischen Aufarbeitung möchten wir immuno-infektiologische Ursachen benennen. Hier haben Klimas und sein Forschungsteam von der *University of Miami* CFS-Patienten im Rahmen von klinischen Studien auf Epstein-

Barr-Virus spezifische Epitope die Immunantwort von natürlichen Killerzellen untersucht. Quantitative Messungen dieser Untersuchungen ergaben eine persistierende erhöhte Expression von Perforinen und Granzymen¹⁸ und eine Dysfunktion von zytotoxischen T-Zellen.

1.2.2. Infektionen als Ursache für CFS

Patienten, die sich mit einer chronifizierenden Erschöpfungssymptomatik vorstellen, berichten häufig über den Beginn der Erschöpfung mit einer akut auftretenden Infektion¹⁹. Anhaltende Infektsymptome sind Halsschmerzen, Lymphknotenschwellungen und subfebrile Temperaturen. Obwohl die Ursache und der Pathomechanismus noch ungeklärt sind, konnte nachgewiesen werden, dass bei über 75% der Patienten mit CFS eine Infektionskrankheit voraus ging²⁰. Es gibt eine Reihe von Hinweisen, dass es bei CFS, Störungen in der neurologischen, endokrinologischen und immunologischen Regulation gibt, mit der Folge schwerer Erschöpfungszustände, muskuloskeletaler und neurokognitiver Einschränkungen.

Auch virale oder bakterielle Erreger wurden in der Vergangenheit mit CFS assoziiert. Zu diesen Erregern zählen Herpesviren, wie das Epstein-Barr-Virus (EBV), das Cytomegalie-Virus (CMV) und das Herpes-Simplex-Viren (HSV) als Verursacher des Lippenherpes²¹. Dabei wird EBV, aber auch Humanes-Herpes-Virus-6 (HHV6) eine direkte pathogenetische Assoziation zum CFS zugeschrieben²². Insbesondere das zu den Herpesviren zugehörige und weit verbreitete Epstein-Barr-Virus (EBV) scheint eine pathogenetische Rolle zu spielen^{48,49}. EBV ist ein Virus mit dem wir uns bereits in der frühen Kindheit infizieren und der zu einer lebenslangen aber symptomlosen Infektion führt - sofern das Immunsystem intakt ist. CFS beginnt bei einem Teil der Patienten mit einer späten EBV-Erstinfektion (Pfeiffer'sches Drüsenfieber) und bei 5-10% der CFS-Patienten lässt sich auch eine geringe Anzahl an Kopien der EBV-DNA im Blut nachweisen.

Seit den achtziger Jahren wurden in der Literatur Studien publiziert, die darauf hinweisen, dass EBV eine wichtige Rolle in der Pathogenese des CFS spielen könnte. Widersprüchliche Daten und unterschiedliche wissenschaftliche Interpretationen zu inkonsistenten Daten haben dazu geführt, dass die Forschungsgemeinde bis heute keinen endgültigen Beweis gegen die EBV-Hypothese aufstellen konnte²³⁻²⁹. Durch

neue diagnostische Verfahren zur Bestimmung von serologischen und molekularen EBV-Bestandteilen in den letzten Jahren wächst jedoch die Evidenz über einen abnormalen EBV-Antikörper-Status bei CFS-Patienten^{30,31}.

Dennoch bleibt der wissenschaftliche Beleg problematisch, weil sich bei CFS-Erkrankten die EBV-Last in Körperflüssigkeiten nicht in vollem Maße nachweisen lässt. Vielmehr manifestiert sich die EBV-Infektion nur über eine variable, leichtgradige EBV-spezifische und zellvermittelte Immunantwort. Gleichermaßen werden Zusammenhänge mit Immundefekten und Immunglobulin-Mangel diskutiert, da auch Infektionen durch andere Erreger gleiche Symptome hervorrufen können.

Über das kürzlich entdeckte *Xenotropic Murine Leukemia Virus-Related Virus* (XMRV) liegen inzwischen Ergebnisse vor, die eine Ursache für die Erkrankung unwahrscheinlich machen^{32,33}. Eine kürzlich veröffentlichte Studie von Lombardi et al.³⁴ konnte zeigen, dass bei 68 von 101 CFS-Patienten das XMRV nachgewiesen werden konnte. In Folgestudien von van Kuppeveld et al.³⁵ und Hohn et al.³⁶ konnte ein direkter Zusammenhang zwischen XMRV und CFS widerlegt werden.

Andere Untersuchungen beschreiben mitochondriale Störungen beim CFS³⁷. Kerr und sein Team von der *St. George's University of London* haben die Genaktivität in den weißen Blutkörperchen von CFS-Kranken und Gesunden verglichen. In einer ersten Studie mit 50 CFS-Patienten zeigte sich eine bis zu vierfach erhöhte Genaktivität von 15 unterschiedlichen Genen im Vergleich zu gesunden Vergleichsprobanden, wobei diese Gene eine Schlüsselrolle in den Mitochondrien spielen³⁸.

Zusammenfassend können wir sagen, dass es bis heute keinen spezifischen diagnostischen Test gibt, die eine Diagnosefindung zu CFS erleichtern würde³⁹⁻⁴¹.

1.3. Diagnosekriterien, klinische Definition, psychiatrische Störungen und Schweregradeinteilung des CFS

1.3.1. Die Diagnosekriterien des CFS

Zur Schweregradeinteilung des CFS wurden auf der Konsensuskonferenz international einheitliche Diagnosekriterien entwickelt und 1994 von der *International Chronic Fatigue Syndrome Study Group* veröffentlicht⁴⁰.

Tabelle 1: CFS-Kriterien nach Fukuda

Hauptkriterien	Nebenkriterien (mindestens 4)
persistierende Müdigkeit oder leichte Ermüdbarkeit	Halsschmerzen
mindestens 6 Monate andauernd	schmerzhafte zervikale oder axilläre Lymphknoten
neu aufgetreten	Muskelschmerzen
nicht durch andere Erkrankung erklärbar	Arthralgien
nicht Folge einer chronischen Belastungssituation	neu aufgetretene Kopfschmerzen
durch Bettruhe nicht zu beheben	Konzentrations- und Gedächtnisstörungen
deutliche Reduktion der Leistungsfähigkeit	fehlende Erholung durch den Schlaf
	verlängerte (mehr als 24 h dauernde) Müdigkeit nach früher tolerierten Beanspruchungen

Analog zu diesen Diagnosekriterien wurde als Ausschlusskriterium festgelegt, dass das CFS durch keine andere Erkrankung erklärbar sein darf. Dies gilt sowohl für organische als auch für psychische Störungen, die mit dem CFS einhergehen können. Deshalb darf die Diagnose eines CFS erst dann gestellt werden, wenn andere medizinische bzw. psychiatrische Ursachen für chronische Erschöpfung ausgeschlossen wurden.

1.3.2. Klinische Definition des CFS

Die klinische Definition des Chronischen Erschöpfungssyndroms lässt sich in gut manifestierbare Kriterien (Abschnitte 1 bis 6) einteilen, die teilweise in ihrer Gänze erfüllt sein müssen⁴².

Tabelle 2: Klinische Definition des Chronischen Erschöpfungssyndroms

Klinische Definition des CFS
Zustandsverschlechterung nach Belastung und Erschöpfung
Schlafstörungen
Schmerzen
Neurologische/Kognitive Manifestationen
Autonome/Neuroendokrine/Immunologische Manifestationen
Die Erkrankung besteht seit mindestens 6 Monaten

Der Patient muss unter einem deutlichen Ausmaß einer neu aufgetretenen, anderweitig nicht erklärbaren, andauernden oder wiederkehrenden körperlichen oder mentalen Erschöpfung leiden, die zu einer erheblichen Reduktion des Aktivitätsniveaus führt. Jede Art von Anstrengung, körperlicher Belastung oder Stress kann das schwere Krankheitsgefühl verstärken und mit einer verzögerten Erholungsphase von länger als 24 Stunden einhergehen. Diese Erkrankung zeichnet sich insbesondere durch nicht erholsamen Schlaf und/oder eines veränderten Schlafmusters (einschließlich einer Störung des Tag-Nacht-Rhythmus‘) aus.

Schmerzen wie Arthralgien und/oder Myalgien ohne klinische Belege für eine entzündliche Reaktion im Sinne von Schwellungen oder Rötungen der Gelenke und/oder starke Kopfschmerzen eines neuen Typs, Musters oder Schweregrades können ebenso auftreten wie neurologische und kognitive Störungen. Darunter zählen Wahrnehmungsstörungen und sensorische Störungen, Desorientierung oder Verwirrung und Ataxien (Bewegungskordinationsstörungen), aber auch die Beeinträchtigung der Konzentrationsfähigkeit und des Kurzzeitgedächtnisses, Schwierigkeiten bei der Informationsverarbeitung, der Kategorisierung, der Wortfindung einschließlich periodisch auftretender Lesestörungen.

Zusätzlich kann es zu Überbelastungserscheinungen kommen, z.B. durch Informationsüberflutung, kognitive oder sensorische Einflüsse und Belastungen (z.B. Licht- und Lärmempfindlichkeit) und/oder einer emotionalen Überbelastung, die zu Rückfällen und/oder zu Ängsten führen kann. Weitere Aspekte sind autonome, neuroendokrine und immunologische Manifestationen, die mindestens je ein Symptom in wenigstens zwei der folgenden Kategorien erfüllen müssen.

Jüngste Longitudinalstudien lassen vermuten, dass sich einige CFS-Betroffene mit der Zeit erholen, die meisten jedoch über viele Jahre funktionell eingeschränkt bleiben^{3,43}.

Tabelle 3: Manifestationen bei CFS-Erkrankten

Autonome Manifestationen
<ul style="list-style-type: none"> - Orthostatische Intoleranz (z.B. neural vermittelter niedriger Blutdruck [NMH]) lagebedingtes orthostatisches Tachykardie-Syndrom (POTS - Herzjagen) - Schwindel und/oder Benommenheit - Extreme Blässe - Darm- oder Blasenstörungen mit oder ohne „Colon Irritable“ (IBS – Reizdarm) oder Blasendysfunktionen - Herzklopfen mit oder ohne Herzrhythmusstörungen - Vasomotorische Instabilität (Instabilität des Gefäßtonus) - Atemstörungen
Neuroendokrine Manifestationen
<ul style="list-style-type: none"> - Verlust der thermostatischen Stabilität - Intoleranz gegenüber Hitze/Kälte - Appetitverlust oder anormaler Appetit, Gewichtsveränderungen - Hypoglykämie (verminderter Glucosespiegel) - Verlust der Anpassungsfähigkeit und der Toleranz gegenüber Stress, Verstärkung der Symptome durch Stress sowie langsame Erholung und emotionale Labilität
Immunologische Manifestationen
<ul style="list-style-type: none"> - Empfindliche Lymphknoten - Wiederkehrende Halsschmerzen - Grippeähnliche Symptome und/oder allgemeines Krankheitsgefühl - Entwicklung bisher noch nicht aufgetretener Allergien oder Veränderungen im Zustand bereits vorliegender Allergien - Überempfindlichkeit gegenüber Medikamenten und/oder Chemikalien

1.3.3. Abgrenzung zum Tumor-Fatigue-Syndrom

Abgeschlagenheit und Erschöpfungszustände können Ausdruck unterschiedlicher Grunderkrankungen sein. Sie sind häufige Manifestationen von Tumorleiden⁴⁴ und gehen mit einer katabolen Stoffwechsellage, einem skeletalen Muskelverbrauch, einer verminderten Kalorienzufuhr, Anämie und Insulinresistenz einher⁴⁵. Zusammenfassend lassen sich diese Phänomene mit dem Begriff Tumorkachexie beschreiben, welche sich laborchemisch gut nachweisen lassen und eine klare Abgrenzung zum CFS erlauben.

1.3.4. Psychiatrische Störungen

Bei CFS-Patienten beträgt die Häufigkeit einer psychiatrischen Störung 30-40%^{46,47}. Diese sind jedoch im Vergleich zu Patientenpopulationen mit anderen chronischen Krankheitsbildern nicht signifikant erhöht⁴⁸. Beispielsweise liegt die Prävalenz von 10% bei CFS-Patienten mit Persönlichkeitsstörungen etwa gleich hoch wie die der Standardpopulation⁴⁷. Folgt man den Einschätzungen der kanadisch-klinischen Leitlinien (*Assessment and Treatment of Patients with ME/CFS: Clinical Guidelines for Psychiatrists, 2005*), ist CFS keine psychiatrische Erkrankung. Diese Leitlinie geht davon aus, dass depressive Störungen oder Angststörungen sich überwiegend sekundär manifestieren. Begründet wird dies durch die Konfrontation mit Stigmatisierung, Arbeitsplatzverlust, soziale Isolierung und nicht zuletzt mit dem Verlust der finanziellen Sicherheit. Aus diesem Grund empfiehlt die kanadische Leitlinie, psychiatrische Störungen ungeachtet der zu Grunde liegenden CFS-Erkrankung leitliniengerecht zu behandeln.

1.3.5. Schweregradskala nach Bell

David S. Bell hatte 1994 erstmals versucht, den Schweregrad der CFS Symptome, den Grad der Aktivitätsverminderung bei Aktivität und in Ruhe, die funktionelle Aktivität bei Arbeit und Belastung so präzise wie möglich zu dokumentieren. Die Schweregradskala erreicht bei Beschwerdefreiheit normaler Aktivität maximal 100 Punkte⁴⁹.

Tabelle 4: CFS Schweregradskala nach David S. Bell

Punkte	Schwere der Beschwerden
100	Keine Beschwerden; normale Aktivität; Arbeit und Belastungen problemfrei.
90	Unter Belastung leichte Beschwerden; normale Aktivität; Arbeit und Belastungen problemfrei.
80	In Ruhe leichte Beschwerden, die sich unter Belastung verschlimmern; minimale Einschränkungen der Aktivitäten bei Belastung; anstrengende Ganztagsarbeit mit Problemen.
70	In Ruhe leichte Beschwerden, die sich unter Belastung verschlimmern; Aktivität liegt nahe 90 % des Gewohnten, klar erkennbare Begrenzung einiger Tagesaktivitäten; Ganztagsarbeit mit Problemen.
60	In Ruhe leichte bis mäßige Beschwerden, die sich unter Belastung verschlimmern; Aktivität liegt bei 70–90 % des Gewohnten, klar erkennbare Begrenzung der Tagesaktivität; nicht in der Lage, ganztags mit körperlichem Einsatz zu arbeiten, aber fähig, einer leichten Vollzeitbeschäftigung bei gleitender Arbeitszeit nachzugehen.
50	In Ruhe mäßige Beschwerden, bei Anstrengungen mäßige bis schwere; Aktivität auf 70 % des Gewohnten reduziert; unfähig, anstrengende Aufgaben zu bewältigen; imstande, leichtere Aufgaben 4–5 Stunden am Tag auszuführen; Ruhepausen werden benötigt.
40	In Ruhe mäßige Beschwerden, bei Anstrengungen mäßige bis schwere; Aktivität auf 50–70 % des Gewohnten reduziert; nicht auf das Haus beschränkt; unfähig, anstrengende Aufgaben auszuführen; imstande, leichtere Aufgaben 3–4 Stunden am Tag auszuführen; Ruhepausen werden benötigt.
30	In Ruhe mäßige bis schwere Symptome, starke Beschwerden bei allen Anstrengungen; Aktivität auf 50 % des Gewohnten reduziert; hauptsächlich auf das Haus beschränkt; unfähig, irgendwelche anstrengenden Pflichten zu übernehmen; fähig, leichte Arbeiten 2–3 Stunden am Tag auszuführen; Ruhepausen werden benötigt.
20	In Ruhe mäßige bis schwere Symptome, starke Beschwerden bei allen Anstrengungen; Aktivität auf 30–50 % des Gewohnten reduziert; nur selten fähig, das Haus zu verlassen; die meiste Zeit des Tages im Bett; unfähig, anstrengende Tätigkeiten auszuführen.
10	In Ruhe und bei allen Anstrengungen schwere Symptome; kein Verlassen des Hauses; die meiste Zeit bettlägerig; kognitive Symptome verhindern die Konzentration.
0	In Ruhe und bei Anstrengungen kontinuierlich schwere Symptome; konstant bettlägerig; unfähig, für sich selbst zu sorgen.

1.4. Verlauf und Prognose

Der Krankheitsverlauf von CFS erstreckt sich meist über mehrere Jahre. In der Regel beginnt die Erkrankung mit einem akuten Infekt, gefolgt von einer Phase der Leistungseinschränkung und stark manifestierenden Symptomen mit der Folge, dass Patienten bettlägerig werden und oft das Haus nicht verlassen können. Die Symptome wiegen so schwer, dass sie nach der Skala von Bell nur noch in einem Bereich zwischen 0 und 30 Punkten liegen. Bei etwa 10% der Patienten liegt ein schweres Krankheitsbild mit nahezu vollständiger Immobilität vor.

Eine typische Eigenschaft dieser Erkrankung ist, dass es zu einer Spontanremission kommen kann, somit aber einen eventuellen Therapieeffekt überlagert und eine Kausalität eines möglichen Therapieansatzes in Frage stellt. Im Verlauf von Jahren kommt es zu einer langsamen Besserung mit einer fluktuierenden Symptomatik im Sinne von Rückfällen und Erholungsphasen. Selten erholen sich Patienten vollständig. Bei etwa 5% der Betroffenen stellt sich eine Progredienz der Symptome mit zyklischem Verlauf ein.

Der britische Patientenverband *ME-Association* geht davon aus, dass 35% der Betroffenen sich langsam, aber stetig erholen. 40% der Patienten haben einen wechselhaften Verlauf, 20% bleiben schwerwiegend eingeschränkt und 5% erleben eine kontinuierliche Verschlechterung. Einige Patienten berichten über zusätzliche Symptome wie visuelle Störungen (Doppelbilder, Lichtempfindlichkeit, Augenschmerzen), Frieren und nächtliches Schwitzen, Wortfindungsstörungen, Störungen des Kurzzeitgedächtnisses, Rechenstörungen, Reizdarmsyndrom, Allergien und Lebensmittelunverträglichkeiten, sensorische Manifestationen (Taubheitsgefühl, Kribbelparästhesien), posturale Instabilität, Schwindel und Gleichgewichtsstörungen.

1.5. Bisherige Therapieansätze des CFS

Zurzeit gibt es noch keine allgemeine Therapie für das CFS. Eine Behandlungsempfehlung beschränkt sich auf die individuelle Symptomatik eines CFS-Patienten. Insbesondere gilt eine Behandlung von chronischen Infektionen, des Ausgleichs von Mangelernährung sowie die Physio- und Schmerztherapie als eine mögliche Strategie, Symptomen entgegen zu wirken⁵⁰. Bei Auftreten depressiver Störungen oder Angststörungen wird zusätzlich eine Psychotherapie empfohlen, mit dem Ziel, *Coping*-Strategien zu entwickeln und eine Entlastung im Umgang mit der Erkrankung einzustellen.

Es gibt bislang nur wenige Studien zur medikamentösen Behandlung des CFS, die im Rahmen von randomisierten Kontrollstudien (RCT, *randomized controlled trial*) durchgeführt wurden. In einer Studie konnte eine allgemeine und funktionelle Verbesserung durch Gabe von intravenös applizierten Immunglobulinen gezeigt werden^{51,52}. Ampligen, ein TLR₃-Ligand (*toll-like receptor 3 ligand*), führte bei einzelnen Patienten zu einer zunehmenden Leistungsfähigkeit und kognitiven Verbesserung⁵³. In einer weiteren Untersuchung konnte mit der Gabe von Hydrocortison ein durchschnittlich höheres allgemeines Wohlbefinden der Patienten⁵⁴ nachgewiesen werden. See et al. konnte in einer weiteren Studie eine signifikant verbesserte Lebensqualität unter Gabe von Alpha-Interferonen nachweisen. Zur Messung der Lebensqualität wurden Fragen aus standardisierten QOL-Fragenbögen (QOL, *quality of life*) verwendet und mit der Funktionsfähigkeit der natürlichen Killerzellen (NK-Zellen) korreliert⁵⁵. In einer placebo-kontrollierten Studie konnte ein erhöhter Leptinspiegel mit einem positiven therapeutischen Effekt⁵⁶ nachgewiesen werden, der allerdings mit ungünstigen Nebenwirkungen verbunden war.

Des Weiteren wurde in einer Studie mit 60 Patienten aus dem Jahr 2006 berichtet, dass Methylphenidat die Erschöpfung reduziert und die Konzentrationsfähigkeit bei einer Minderheit der Teilnehmer verbessert⁵⁷. In einer kürzlich veröffentlichten placebo-kontrollierten Studie fand das Team von Fluge et al. heraus, dass CFS-Patienten durch Depletion von B-Lymphozyten mittels Anti-CD20 Antikörper (Rituximab) von einer signifikanten klinischen Besserung profitierten⁵⁸. Diese vorgelegte Studie unterstützt nicht nur die Hypothese, dass CFS eine Autoimmunerkrankung sein könnte, in der eine

klinische Besserung eintritt nachdem Autoantikörper graduell eliminiert werden, sondern auch, dass sie durch EBV, das in B-Zellen persistiert, verursacht werden könnte.

Psychotherapeutische Ansätze, wie kognitive Verhaltenstherapie, Entspannungsverfahren und/oder supportive Beratung, Gesprächspsychotherapien und graduierte Aktivierungstherapie führen nur bei einem Teil der Patienten zur Symptombesserung⁵⁹.

Zusammenfassend gibt es eine Vielzahl von Studien, die Veränderungen endokrinologischer, immunologischer und neurologischer Parameter bei Patienten mit CFS zeigen. Es gibt jedoch keine etablierten Labormarker, die CFS eindeutig von anderen Erkrankungen abgrenzen lassen.

1.6. Ziele und Fragestellungen

Ziel dieses Promotionsvorhabens ist die retrospektive Analyse von phänotypischen und funktionellen immunologischen Laborparametern bei Patienten mit dem Verdacht oder einer gesicherten Diagnose eines Chronischen Erschöpfungssyndrom (CFS), die sich in der Ambulanz für Immundefekte am Institut für Medizinische Immunologie vorstellen. Zur Erfassung und Aufbereitung von laborchemischen, biometrischen, epidemiologischen und klinischen Daten soll eine Datenbank erstellt werden.

Folgende Fragestellungen wurden untersucht:

1. Finden sich gehäuft Immunaktivierungsparameter (T-Zellaktivierung, Verschiebung in der TH₁/TH₂-Antwort, humorale Entzündung)?
2. Lassen sich gehäuft humorale oder zelluläre Immundefekte nachweisen?
3. Gibt es Auffälligkeiten in der EBV-Serologie?
4. Finden sich weitere pathologische Veränderungen in den erhobenen Laborparametern?
5. Kann man anhand des immunologischen Profils Untergruppen von Patienten definieren?
6. Korrelieren epidemiologische und klinische Daten mit auffälligen immunologischen und weiteren Laborparametern?

7. Patienten, Methoden und Materialien

2.1. Patienten

2.1.1. Patientenkollektiv

In dieser Studie wurden 226 einwilligungsfähige Patienten eingeschlossen, die sich im Zeitraum von 2005 bis 2011 in der Ambulanz des Instituts für Medizinische Immunologie vorgestellt haben und denen, basierend auf einer umfangreichen Ausschlussdiagnostik, die Diagnose oder Verdachtsdiagnose eines CFS gestellt wurde.

2.1.2. Einschluss- und Ausschlusskriterien

Eingeschlossen wurden alle Patienten mit einem Mindestalter von 18 Jahren, die die Fukuda-Kriterien⁴⁰ eines Chronischen Erschöpfungssyndroms oder einer Fatigue erfüllten, aufklärungsfähig waren und ihr schriftliches Einverständnis für eine retrospektive und prospektive Auswertung gegeben haben.

Ausgeschlossen wurden Patienten mit neurologischen, psychiatrischen Störungen und Erkrankungen, die laut *International Chronic Fatigue Syndrome Study Group* als Ausschlusskriterien gelten⁴⁰.

2.1.3. Referenzgruppen

Als Kontrolle wurden die Referenzparameter aus dem Institut für Laboratoriumsmedizin und Pathobiochemie herangezogen. Diese Parameter werden regelmäßig von gesunden Kontrollprobanden aus dem Berliner Raum und Umgebung nach standardisiertem Verfahren ermittelt. Alle Referenzgruppen liegen, sofern nicht anders angegeben, im 95%igen Konfidenzintervall.

2.2. Datenbanken

2.2.1. Datenschutz

Die Speicherung und Verarbeitung von personenbezogenen Daten wurde unter Einhaltung der geltenden Datenschutzbestimmungen des Landes Berlin in der aktuell gültigen Fassung und des §212 des deutschen Strafgesetzbuches (StGB) durchgeführt. Personenbezogene Daten werden, ihre Einwilligung vorausgesetzt, zentral in einer geschützten Umgebung im Rechenzentrum der Charité gespeichert und sind ausschließlich für ärztliches Personal aus der Arbeitsgruppe Prof. Scheibenbogen des Instituts für Medizinische Immunologie zugänglich.

2.2.2. Datenbankentwicklung mit MySQL

Für die Speicherung der Daten wurde eine relationale Datenbank mit MySQL entwickelt, die es erlaubt, bestimmte immunologische Parameter mit Befunddaten oder anamnestische Kriterien nach Fukuda zur korrelieren. In Tabelle 5 werden die dazu erforderlichen Datentabellen angezeigt.

Tabelle 5: Datentabellen und Schlüsselfelder für Datenbank

Datentabelle	Zweck	Schlüsselfelder
Patienten	Stammdaten der Patienten	PatientID, Name, Vorname, Adresse, Geschlecht, Geburtsdatum
Laborparameterdefinitionen	Parameter Definitionen	LabParamID, Parametername, EinheitID, Geschlecht, AlterVon, AlterBis, NormalwertVon, NormalwertBis
Befunde	Befunde nach Fukuda-Kriterien	ID, PatientID, Befundtext
Diagnosen	Diagnosen der Patienten	ID, PatientID, ICD10-Schlüssel, Diagnosetext
Einheiten	Parametereinheiten z.B. g/dl, µl, mmol/l	ID, Parametertext
Labordaten	Spezifische Labordaten	ID, PatientID, LabParamID

2.2.3. Datenbankentwicklung mit Microsoft Access 2007

Für die automatisierte Analyse, Detektion und Zuordnung von Diagnose- und Befundtexten in elektronischen Arztbriefen wurde ein Datenbankprogramm mit *Microsoft Access 2007* und *Visual Basic for Access* (VBA) erstellt. Aus datenschutzrechtlichen Gründen wurden die Daten über Verknüpfungstabellen direkt in die zentrale Datenbank auf den Charité-Server gespeichert. Arztbriefe sind in elektronischer Form auf ein für die Ambulanz eingerichtetes Laufwerk in standardisierter Form gespeichert.

Die Labordaten wurden vom Institut für Laboratoriumsmedizin und Pathobiochemie für die Datenbank bereitgestellt und mittels einer programmierten Schleife in Visual Basic analysiert, in der Datenbank dem entsprechenden Patienten zugeordnet und gespeichert.

2.3. Daten aus dem Epikrisenbestand

2.3.1. Datenanalyse aus Epikrisenbestand

Alle Epikrisen der eingeschlossenen Patienten waren in Form einer *Word*-Datei in einer elektronischen Akte gespeichert und wurden zwecks Analyse herangezogen. Zur Datenanalyse wurde in der Programmiersprache *Visual Basic for Access* eine Programmfunktion geschrieben, die auf Datenabschnitte mit Diagnosedaten und ICD10-Kodierungen zugreift, diese untersucht und in einer Datenbank dem Patienten zuordnet.

2.3.2. Automatisierter Import von relevanten Diagnoseinformationen

Der Diagnosetext zwischen den Textschlüsseln „Diagnose / Problemstellung“ und „Anamnese“ wurde herausgefiltert und in der Datenbank mit Patientenschlüssel gespeichert. Zusätzlich wurden Informationen aus der Familien-, Sozial-, Medikamenten- und Allergianamnese ausgelesen und in die Datenbank gespeichert.

2.3.3. ICD10-Verschlüsselung von Diagnosen

Alle Diagnosetexte wurden nachträglich aufbereitet und nach dem aktuellen ICD10-Code Katalog verschlüsselt.

2.4. Labordaten

Um eine Analyse der Blutparameter durchzuführen, wurden die Labordaten der CFS-Patienten aus der zentralen Labordatenbank des Instituts für Laboratoriumsmedizin und Pathobiochemie angefordert und in die oben genannte Datenbank integriert. Zusätzlich wurden alle relevanten Referenzparameter aus dem Labor zur Importierung in die Datenbank herangezogen.

2.4.1. Laborstammdaten, Einheiten und Referenzwerte

Folgende immunologische und hämatologische Laborparameter wurden für die Analyse herangezogen:

Tabelle 6: Erhobene Laborparameter

Methode	Parameter
Blutbild	Erythrozyten, Hb, Hkt, MCV, MCH, MCHC, Thrombozyten, MPV, RDW
Differenzialblutbild	Granulozyten, Monozyten, Lymphozyten
Zellulärer Immunstatus	CD3+ Lymphozyten, CD4+ T-Lymphozyten, CD8+T-Lymphozyten
Entzündungs- und Immunaktivierungsparameter	CRP, sIL-2R, IL-8 / Lyse, BSG1h, BSG2h
Immunphänotypisierung	Akute T-Zellaktivierung: HLADR ⁺ CD8 ⁺ Chronische T-Zellaktivierung: CD57 ⁺ , CD11a ⁺ , CD28 ⁺
Funktionsteste in vitro	T-Lymphozyten: Concanavalin A-induzierte Zytokinproduktion (IFN γ , TNF α , IL-10, IL-2, IL-4, IL-5)
Immunglobuline	IgA, IgM, IgG, IgG-Subklassen: IgG ₁ , IgG ₂ , IgG ₃ , IgG ₄
Infektionsdiagnostik	EBV-Serologie

2.4.2. Automatischer Labordatenimport

Um eine *Ad-hoc*-Analyse jederzeit gewährleisten zu können, wurde ein automatischer Datenimport von Laborparametern eingerichtet. Diese Daten werden einmal wöchentlich über eine Access-Datenbank eingelesen und den entsprechenden Patienten zugeordnet.

2.5. Statistische Methoden

Zur statistischen Auswertung wurde mit Statview Version 5.0 (*SAS Institute Corp., California, USA*) zunächst eine deskriptive Analyse aller Laborparameter durchgeführt. Alle Angaben wurden, wenn nicht anders vermerkt, mit Mittelwert (*mean*) \pm Standardabweichung (SD) und die entsprechenden Referenzbereiche mit einem Konfidenzintervall (Vertrauensintervall) von 95% angegeben. Zur Testung auf Normalverteilung von Gruppenanalysen wurde nach dem Kolmogorov-Smirnov Test verfahren. Bei normal verteilten Stichproben ($p > 0,05$) wurden die Gruppen im Signifikanztests mittels Student t-Test auf signifikante Unterschiede getestet. Bei nicht normal verteilten Stichproben wurden die Gruppen mittels Mann-Whitney U Test auf Signifikanz getestet. Die Ergebnisse von Gruppenanalysen wurden als Box-and-Whisker Plots dargestellt. Für eine statistische Signifikanz wurde ein p-Wert von unter 0,05 angenommen. Für einen positiven Signifikanztest eines Parameters wurde anschließend eine univariate Korrelationssanalyse (*simple regression*) zur Testung von Zusammenhängen der betroffenen Variablen durchgeführt. Korrelationsanalysen wurden mit Graphen im orthogonalen (kartesischen) Koordinatensystem und im zweidimensionalen Raum dargestellt. Abbildung 1 zeigt eine schematische Darstellung der statistischen Vorgehensweise.

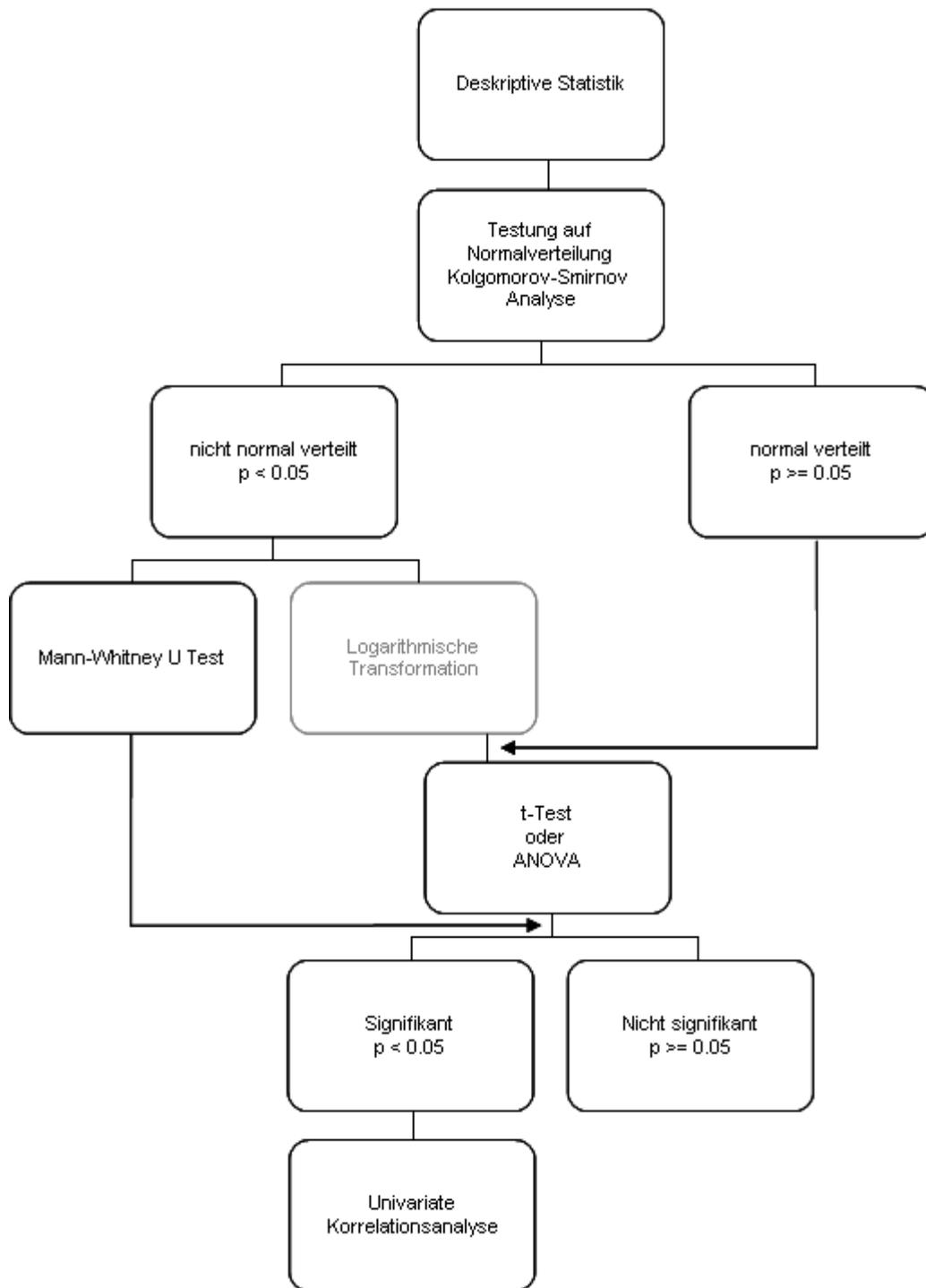


Abbildung 1: Statistischer Algorithmus

3. Ergebnisse

3.1. Ergebnisse klinischer Daten

In dieser Untersuchung wurden 226 einwilligungsfähige Patienten mit der Diagnose oder Verdachtsdiagnose eines CFS eingeschlossen, die sich im Zeitraum von 2005 bis April 2011 in der Ambulanz für Immundefekte vorstellten. Davon haben 157 (69%) Patienten die Fukuda-Kriterien erfüllt. Das mediane Alter lag bei 44 ± 12 SD. Tabelle 7 zeigt eine Übersicht über die Kohorte, die untersucht wurde.

Tabelle 7: Klinische Daten

Parameter	Wert
Patienten	226
mit CFS	157 (69%)
mit Fatigue	69 (31%)
Alter	44 ± 12
Geschlecht	♀ 145 ♂ 81

Wie die folgende geschlechterspezifische Altersanalyse in Abbildung 2 zeigt, gibt es bis zum 40. Lebensjahr keinen Unterschied in der Geschlechterverteilung. Erst ab einem Alter von 41 bis 50 Jahren gehen die Altersgipfelkurven auseinander. Somit stellten sich mehr Frauen im Altersbereich von 41 bis 60 Lebensjahren als Männer mit einem Verdacht eines chronischen Erschöpfungssyndroms vor.

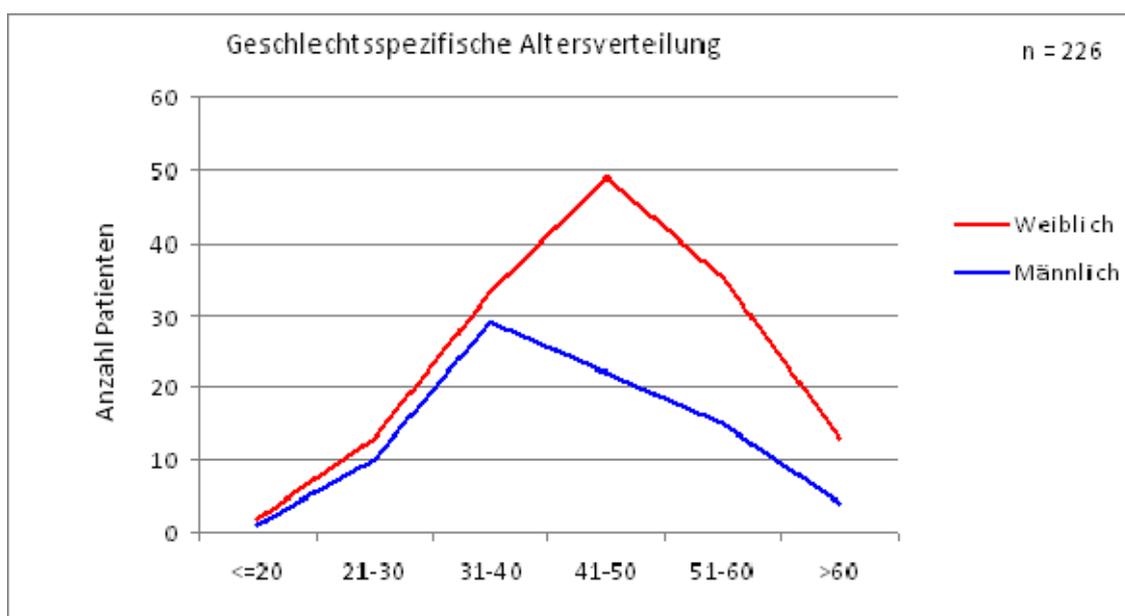


Abbildung 2: Geschlechterspezifische Altersverteilung

Bei den Patienten wurde eine Reihe von Komorbiditäten beobachtet, deren Prävalenzen in Tabelle 8 aufgeführt sind. Eine Autoimmunthyreoiditis konnte bei 18 CFS-Patienten (11%) und bei 7 Fatigue-Patienten (10%) ermittelt werden.

Tabelle 8: Beobachtete Komorbiditäten, Referenzbereich im 95%-Vertrauensintervall

Nebendiagnosen (CFS, n = 226)	CFS (G93.3) (n = 157)	%	Fatigue (F48.0) (n = 69)	%	Normalbevölkerung	p
Autoimmunthyreoiditis (E06.3)	18	11	7	10	1,5 – 2% ⁶¹	n.s.
Hypothyreose (E03.9)	5	3	1	1	3 – 20% ⁶¹	n.s.

3.2. Ergebnisse Blutbild und Differentialblutbild

In der laborchemischen Analyse wurden zunächst das basale Blutbild und das Differentialblutbild betrachtet mit der Frage nach auffälligen Werten. Im Blutbild fiel eine erhöhte mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration (MCHC) bei 47 (25%) von 190 Patienten gegenüber der MCHC-Referenzgruppe auf, der zu 95% im Normbereich liegt. Eine erniedrigte Leukozytenzahl (Leukopenie) lag bei 30 (16%) Patienten und ein erniedrigtes Hämoglobin (Hb) bei 11 (6%) Patienten vor (siehe Tabelle 9).

Tabelle 9: Blutbild, Referenzbereich im 95%-Vertrauensintervall

Blutbild	CFS			Referenzgruppe			Erniedrigt		Erhöht	
	Total	Mw ± SD	Einheit		m	w	n	%	n	%
	n									
Erythrozyten	191	4,7 ± 0,3	IU/pl	-	4,6 - 6,2	3,9 - 5,4	7	4	2	1
Hämatokrit	192	0,41 ± 0,03	l/l	-	0,40 - 0,52	0,35 - 0,47	3	2	4	2
Hämoglobin	192	14,2 ± 1,4	g/dl	-	14,0 - 17,5	12,0 - 15,7	11	6	4	2
MCH	190	30 ± 1	pg	-	27 - 34	26 - 34	3	2	0	-
MCHC	190	34,1 ± 1	g/dl	-	32,4 - 35	31,8 - 34,7	3	2	47	25
MCV	190	87 ± 4	fl	81 - 100	-	-	8	4	0	-
RDW	190	13,1 ± 2,5	%	11,9 - 14,5	-	-	5	3	5	3
MPV	190	11 ± 1	fl	7 - 12	-	-	0	-	9	5
Leukozyten	191	6,2 ± 1,9	IU/nl	3,6 - 10,2	-	-	30	16	4	2
Thrombozyten	192	251 ± 52	IU/nl	140 - 370	-	-	2	1	3	2

Das Ergebnis des Differentialblutbildes, wie in Tabelle 10 aufgeführt, zeigte bei 47 (25%) von 190 Patienten eine erniedrigte Lymphozytenzahl (Lymphopenie) gegenüber der Lymphozyten-Referenzgruppe auf, die mit 95% Vertrauensintervall im Normbereich liegt. Alle weiteren Werte waren unauffällig.

Tabelle 10: Differentialblutbild, Referenzbereich im 95%-Vertrauensintervall

Differentialblutbild	CFS		Referenz- gruppe	Erniedrigt		Erhöht	
	Total	Mw ± SD		n	%	n	%
	n	IU/nl	IU/nl				
Lymphozyten	190	1,8 ± 0,6	1,1 - 3,7	47	25	0	-
Monozyten	190	0,5 ± 0,2	0,1 - 0,9	1	0,5	3	2
Neutrophile Granulozyten	189	3,8 ± 1,3	1,5 - 7,7	4	2	2	1
Basophile Granulozyten	190	0,3 ± 0,02	0,01 - 0,1	0	-	2	1
Eosinophile Granulozyten	190	0,1 ± 0,1	<= 0,7	0	-	3	2

3.3. Ergebnisse des zellulären Immunstatus

Bei der Analyse des Blutbildes und des Differentialblutbildes sind eine Leukopenie und eine Lymphopenie bei CFS-Patienten aufgefallen. Deshalb wurden die Lymphozytenpopulationen genauer betrachtet, um den zellulären Immunstatus zu analysieren. Die Auswertung ergab bei 30 (18%) von 164 Patienten eine erniedrigte CD4⁺-Lymphozytenzahl (*cluster of differentiation*, CD). Bei 44 (27%) von 164 Patienten lag die CD8⁺-Lymphozytenzahl unter dem Normbereich. In allen Normbereichen liegt der Vertrauensintervall bei 95%.

Tabelle 11: Zellulärer Immunstatus, Referenzbereich im 95%-Vertrauensintervall

Lymphozytenpopulation	CFS		Referenz- gruppe	Erniedrigt		Erhöht	
	Total	Mw ± SD		n	%	n	%
	n	IU/nl					
CD4 ⁺ Lymphozyten	164	0,7 ± 0,3	0,5 - 1,2	30	18	12	7
CD8 ⁺ Lymphozyten	164	0,4 ± 0,1	0,3 - 0,8	44	27	2	1
CD19 ⁺ Lymphozyten	164	3,4 ± 1,3	0,1 - 0,4	8	5	10	6

3.4. Ergebnisse Entzündungs- und Immunaktivierungsparameter

Um unspezifische Entzündungsreaktionen zu charakterisieren, wurden für die Routinediagnostik übliche Entzündungsmarker bestimmt. Tabelle 12 zeigt die ausgewerteten Entzündungsparameter Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG) nach einer

Stunde, nach zwei Stunden, das C-Reaktives-Protein (CRP), IL-8 nach Erylyse und der lösliche IL-2-Rezeptor (sIL-2R). Die Blutsenkung nach einer Stunde ist in 49 (48%) von 103 Patienten und nach 2 Stunden in 45 (44%) von 102 Patienten erhöht, das CRP in 17 (13%) von 130 Patienten erhöht, IL-8 nach Erylyse in 27 (20%) von 136 Patienten erhöht gewesen. In allen Normbereichen liegt der Vertrauensintervall bei 95%. Der Parameter sIL-2R war in keinem der Patienten auffällig.

Tabelle 12: Entzündungs- und Immunaktivierungsparameter, Referenzbereich im 95%-Vertrauensintervall

Entzündungsparameter	CFS			Referenzgruppe			Erniedrigt		Erhöht	
	Total	Mw ± SD	Einheit		m	w	n	%	n	%
	n									
BSG1h	103	9 ± 7	mm	-	3 - 5	3 - 8	12	12	49	48
BSG2h	102	19 ± 12	mm	-	< 15	< 20	0	-	45	44
C-Reaktives Protein	130	0,2 ± 0,3	mg/dl	< 0,5	-	-	0	-	17	13
IL-8 / Erylyse	136	117 ± 58	pg/ml	< 150	-	-	0	-	27	20
sIL-2r	117	364 ± 124	IU/ml	< 710	-	-	0	-	0	-

Betrachtet man jedoch die Werte im Diagnosevergleich in Tabelle 13, dann fällt auf, dass im Gruppenvergleich zwischen Patienten mit CFS und Fatigue ein signifikanter Unterschied der Serumkonzentrationen von sIL-2R vorliegt ($p = 0,045$).

Tabelle 13: Entzündungsparameter gruppiert nach Diagnosen, Referenzbereich im 95%-Vertrauensintervall

Entzündungsparameter	Diagnose				p	Referenzgruppe	Einheit
	Fatigue		CFS				
	Mw ± SD	n	Mw ± SD	n			
BSG n. 1 Std.	9,4 ± 6,6	31	9,28 ± 7,76	72	0,95	3,0 - 8,0	mm
BSG n. 2 Std.	19 ± 12	31	19,28 ± 12,62	71	0,96	< 20	mm
C-Reaktives Protein (CRP)	0,2 ± 0,25	47	0,21 ± 0,32	82	0,85	< 0,50	mg/dl
IL-8 n. Erylyse	116 ± 42	42	117 ± 64	94	0,88	< 150	pg/ml
Löslicher IL-2 Rezeptor (sIL-2r)	398 ± 134	36	348 ± 118	81	0,045	< 710	IU/ml

3.5. Ergebnisse der T-Zellaktivierungsmarker

Um die Frage nach einer chronischen T-Zellaktivierung zu untersuchen, wurden bei 163 CFS-Patienten die Oberflächenmoleküle CD11a, CD28 und CD57 an CD8⁺-Lymphozyten untersucht. Die Ergebnisse zeigen, dass 53 (32%) von 163 Patienten eine chronische T-Zellaktivierung aufweisen, die sich durch pathologische Werte bei dem chronischen T-Zellaktivierungsmarker CD57⁺CD8⁺ gegenüber ihren zu 95% liegendem Referenzbereich manifestiert.

Tabelle 14: Chronische T-Zell-Aktivierungsparameter, Referenzbereich im 95%-Vertrauensintervall

Chronische T-Zellaktivierung	CFS		Referenzgruppe	Normal		Pathologisch	
	Total	Mw ± SD		n	%	n	%
	n						
CD11a ⁺ /CD8 ⁺ -T-Zellen	163	55 ± 15	</= 70%	140	86	23	14
CD28 ⁺ /CD8 ⁺ -T-Zellen	163	73 ± 14	>/= 60%	137	84	26	16
CD57⁺/CD8⁺-T-Zellen	163	24 ± 13	</= 30%	110	68	53	32

3.5.1. Korrelation HLA-DR⁺CD4⁺-, HLA-DR⁺CD8⁺- und CD57⁺CD8⁺-Lymphozyten mit Gesamtlymphozytenzahl

In einer weiteren Analyse haben wir den akuten T-Zellaktivierungsmarker (HLA-DR⁺CD8⁺) und den chronischen T-Zellaktivierungsmarker (HLA-DR⁺CD4⁺, CD57⁺) an CD4⁺- und CD8⁺-T-Lymphozyten gemessen und mit der Lymphozytenzahl korreliert. Ziel dieser Bestimmung war es herauszufinden, ob es einen Zusammenhang zwischen verminderter Lymphozytenzahl und akuter oder chronischer T-Zellaktivierung gibt. Das Ergebnis zeigt einen deutlichen Zusammenhang zwischen erhöhter HLA-DR⁺CD4⁺-T-Lymphozyten und verminderter Lymphozytentzahl ($p = 0,0266$, $r^2 = 0,031$). Die Korrelationsanalysen zwischen HLA-DR⁺CD8⁺ T-Lymphozyten vs. Gesamtlymphozytenzahl ($p = 0,36$) und CD57⁺CD8⁺ T-Lymphozyten vs. Gesamtlymphozytenzahl ($p = 0,22$) zeigen keine signifikante Korrelationen (Tabelle 15).

Tabelle 15: Korrelationsanalyse zwischen HLA-DR⁺CD4⁺ HLA-DR⁺CD8⁺ und CD57⁺CD8⁺ und Lymphozytenzahl, Referenzbereich im 95%-Vertrauensintervall

Korrelationen	Lymphozyten				
	Koeffizient	Standard Error	Std. Coeff.	T-value	P-value
HLA-DR ⁺ CD4 ⁺	-1,018	0,455	-0,176	-2,239	0,0266
HLA-DR ⁺ CD8 ⁺	1,5457	1,584	0,073	0,920	0,3589
CD57 ⁺ CD8 ⁺	2,204	1,799	0,97	1,225	0,2224

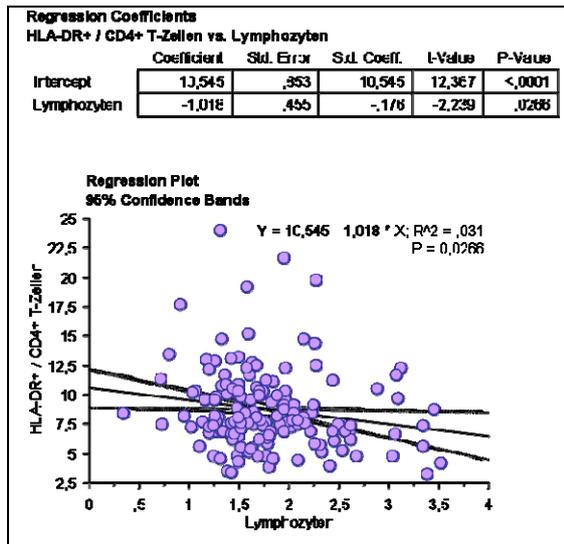


Abbildung 3: Regressionsanalyse zwischen HLA-DR⁺CD4⁺ und Lymphozytenzahl. Signifikante Korrelation zwischen HLA-DR⁺CD4⁺ und Lymphozytenzahl

3.6. Ergebnisse funktioneller T-Zellaktivierung in vitro

Auf der Grundlage von bisher vorliegenden Daten zur chronischen T-Zellaktivierung wurden eine Reihe von Zytokinen und Interleukinen bestimmt mit der Frage, ob sich bei Patienten mit CFS auffällige Zytokinmuster beschreiben lassen. Zu diesem Zweck wurden INF γ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-10 und TNF- α bestimmt, die von T-Lymphozyten nach mitogener Stimulation mit Concavalin-A produziert werden.

Das Ergebnis ergab bei 18 CFS-Patienten (17%) eine Hochregulation von IL-2 gegenüber dem Referenzbereich und bei 35 CFS-Patienten (34%) eine Hochregulation von IL-5 gegenüber dem Referenzbereich. Bei 21 CFS-Patienten (20%) ist IL-10 herunter reguliert und bei 17 CFS-Patienten (16%) ist IFN- γ hoch reguliert (Tabelle 16). In allen Referenzbereichen liegt der Vertrauensintervall bei 95%.

Tabelle 16: Zytokin- und Interleukinexpression nach mitogener T-Zellstimulation, Referenzbereich im 95%-Vertrauensintervall

Mitogene T-Zell Antwort	CFS		Referenzgruppe			Erniedrigt		Erhöht	
	Total	Mw \pm SD	Alter	m	w	n	%	n	%
	n	pg/ml							
IFN- γ	104	2949 \pm 3622	0-45	397 - 10000	322 - 10000	1	1	17	16
			45 - 120	265 - 6781	286 - 2911				
IL-2	103	333 \pm 210	-	80 - 940	27 - 467	1	1	18	17
IL-5	103	29 \pm 61	-	3 - 42	4 - 13	4	4	35	34
IL-4	103	17 \pm 14	-	2 - 57	0 - 25	10	10	11	11
IL-10	103	67 \pm 36	-	41 - 521	25 - 585	21	20	0	-
TNF- α	103	328 \pm 231	-	40 - 2481	40 - 1717	6	6	5	5

Eine weitere Analyse sollte klären, ob es mehrere Zytokine gibt, die bei dem gleichen Patienten dereguliert sind. Die folgende Grafik in Abbildung 4 macht deutlich, dass viele CFS-Patienten nur IL-2 oder IL-5 hoch oder nur IL-10 (*Cytokines^{low}*) herunter regulieren. Zwei Überlappungsbereiche gibt es zwischen *IL-5^{high}* und *IL-10^{low}* bzw. zwischen *IL-2^{high}* und *IL-5^{high}*. Außerdem fällt auf, dass es eine *IL-4^{high}*-Untergruppe zu den *IL-5^{high}* gibt. Die *Cytokines^{low}*-Gruppe weist insgesamt eine niedrige Zytokinproduktion auf, was möglicherweise daran liegt, dass die zytokin-produzierenden T-Lymphozyten aus den Gefäßen in die Peripherie wandern (Extravasation) und dort eine lokal begrenzte, im Serum schwer nachweisbare T-Zellaktivierung induzieren.

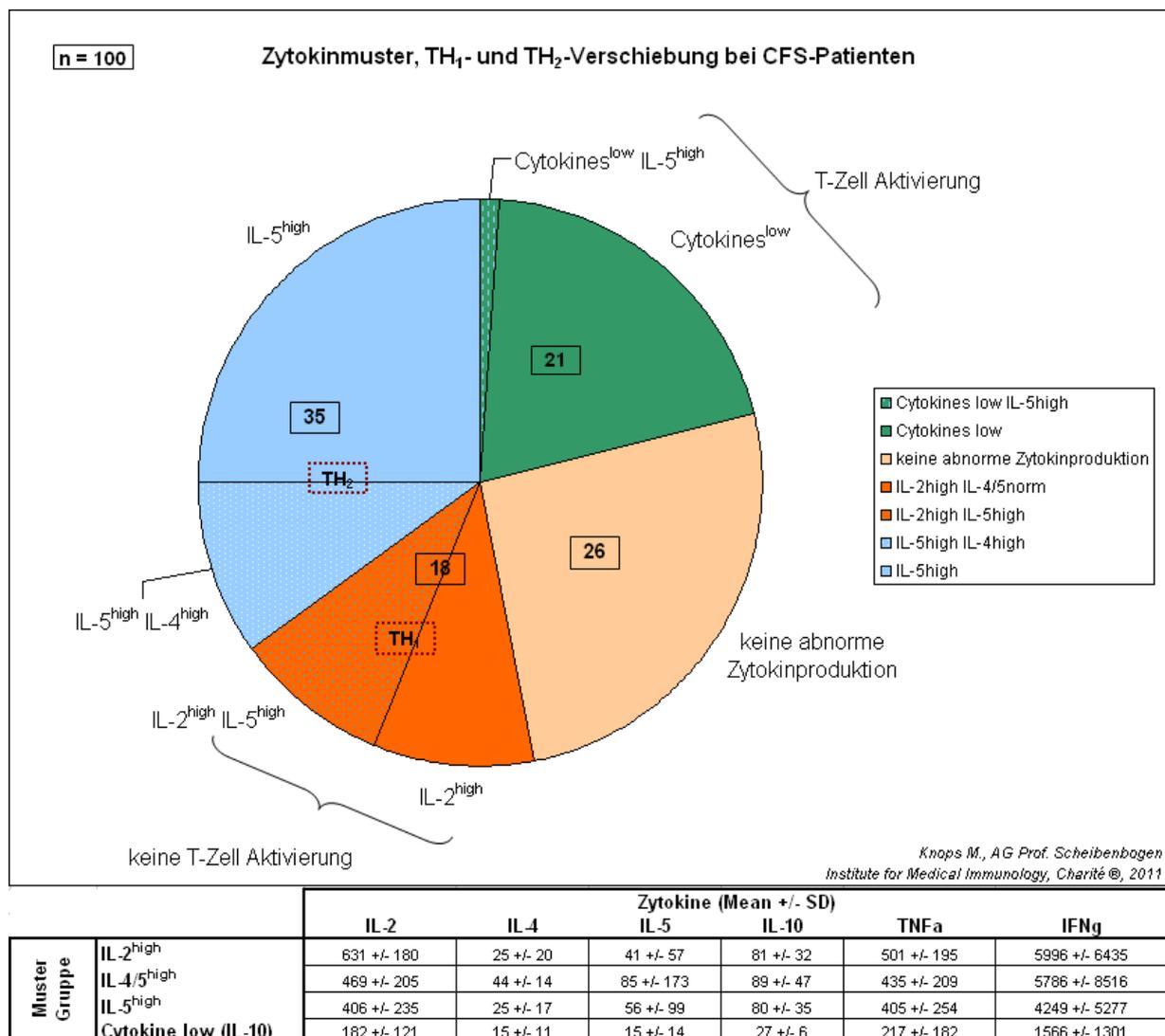


Abbildung 4: CFS-Patienten können in 3 Zytokinmuster Subgruppen eingeteilt werden; *IL-2^{high}*, *IL-5^{high}*, *Cytokines^{low}*, Referenzbereich im 95%-Vertrauensintervall

3.6.1. Korrelation zwischen IL-2, IL-5, IL-10 und CD57⁺-, HLA-DR⁺CD8⁺- und HLA-DR⁺CD4⁺-Lymphozyten

Mit Hilfe der Durchflusszytometrie wurde eine Subgruppenanalyse von T-Lymphozyten durchgeführt und deren Aktivierungszustand anhand von CD57- und HLA-DR-Antikörpern gemessen. Gleichzeitig haben wir die pro-inflammatorische Interleukine 2 und 5 gemessen und mit der Frage nach einem Zusammenhang zur T-Zellaktivierung korreliert. Die Analyse (Tabelle 19) zeigt eine Korrelation zwischen vermindertem IL-10 und erhöhtem chronischen T-Zellaktivierungsmarker CD57⁺CD8⁺. Je niedriger der IL-10 Spiegel, desto stärker die chronische Aktivierung, ausgedrückt in der Anzahl von CD57⁺CD8⁺-T-Lymphozyten (p = 0,005). Alle weiteren Korrelationsanalysen (Tabelle 17 und Tabelle 18) erbrachten keine signifikanten Zusammenhänge zwischen den T-Zellaktivierung und den Zytokinen.

Tabelle 17: Regressionsanalyse zwischen HLA-DR⁺CD4⁺, HLA-DR⁺CD8⁺ und CD57⁺CD8⁺ und IL-2

Korrelationen	Interleukin 2 (IL-2)				
	Koeffizient	Standard Error	Std. Coeff.	T-value	P-value
HLA-DR ⁺ CD4 ⁺	-0,002	0,002	-0,116	-1,167	0,2462
HLA-DR ⁺ CD8 ⁺	-0,005	0,006	-0,090	-0,899	0,3707
CD57 ⁺ CD8 ⁺	-0,011	0,007	-0,165	-1,696	0,0929

Tabelle 18: Regressionsanalyse zwischen HLA-DR⁺CD4⁺, HLA-DR⁺CD8⁺ und CD57⁺CD8⁺ und IL-5

Korrelationen	Interleukin 5 (IL-5)				
	Koeffizient	Standard Error	Std. Coeff.	T-value	P-value
HLA-DR ⁺ CD4 ⁺	0,001	0,021	0,004	0,035	0,9719
HLA-DR ⁺ CD8 ⁺	-0,012	0,079	-0,016	-0,153	0,8789
CD57 ⁺ CD8 ⁺	0,008	0,088	0,009	0,087	0,9309

Tabelle 19: Regressionsanalyse zwischen HLA-DR⁺CD4⁺, HLA-DR⁺CD8⁺ und CD57⁺CD8⁺ und IL-10

Korrelationen	Interleukin 10 (IL-10)				
	Koeffizient	Standard Error	Std. Coeff.	T-value	P-value
HLA-DR ⁺ CD4 ⁺	-0,007	0,009	-0,076	-0,749	0,4554
HLA-DR ⁺ CD8 ⁺	-0,001	0,036	-0,002	-0,017	0,9868
CD57 ⁺ CD8 ⁺	-0,111	0,035	-0,280	-2,874	0,0050

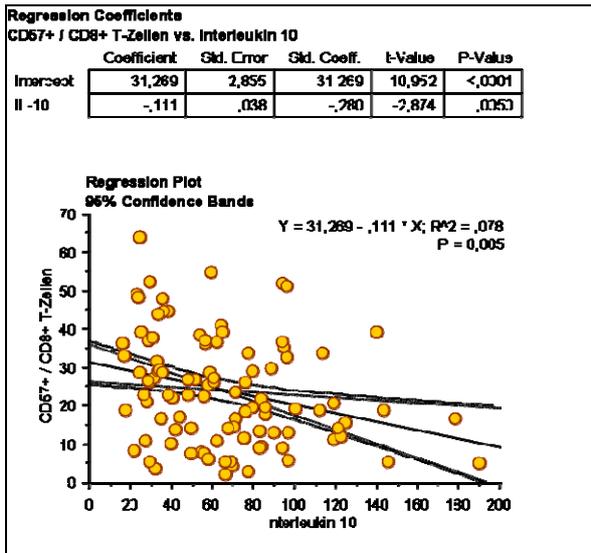


Abbildung 5: Regressionsanalyse zwischen CD57⁺CD8⁺ und IL-10

3.6.2. Korrelation IL-5, IL-10 und MCHC

Aus den Blutbildanalysen geht hervor, dass der MCHC in 25% der Fälle über den Normalwert (95% Vertrauensintervall) liegt. Dieser Befund war überraschend und wirft nun die Frage auf, ob es einen Zusammenhang mit pathologischen Immunparametern gibt. Daher wurde die MCHC mit Zytokinparametern in einer Regressionsanalyse untersucht.

Die Regressionsanalyse zwischen erhöhtem IL-5 und erhöhtem MCHC zeigt einen direkten Zusammenhang mit hoher Signifikanz ($p = 0,028$, $r^2 = 0,048$, Abbildung 6). Auch die Regressionsanalyse zwischen dem erniedrigten anti-inflammatorischen Zytokin IL-10 und der erhöhter MCHC ergibt einen signifikanten Zusammenhang ($p = 0,0387$, $r^2 = 0,042$, Abbildung 7).

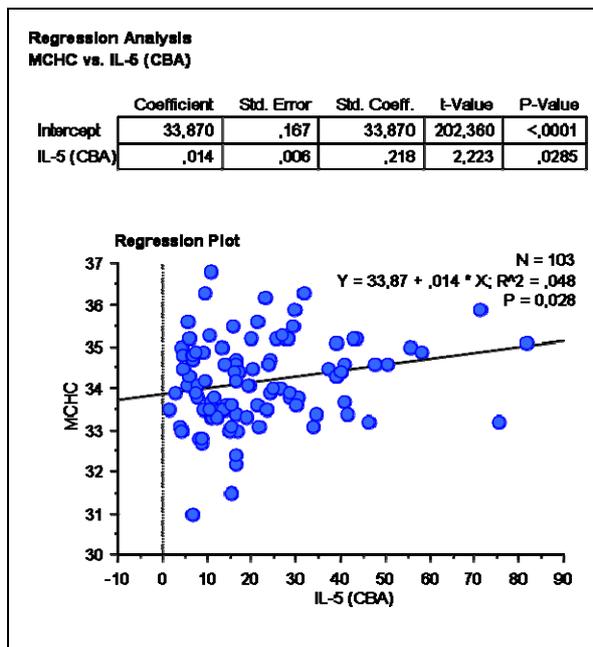


Abbildung 6: Regressionsanalyse zwischen IL-5 und MCHC

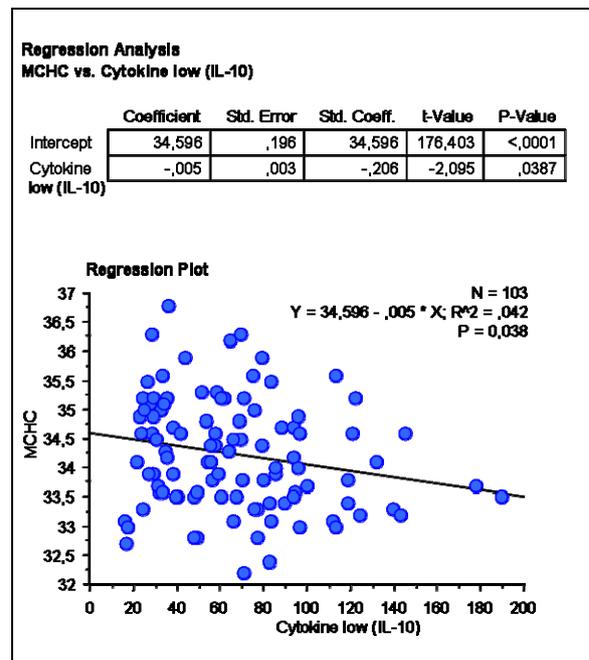


Abbildung 7: Regressionsanalyse zwischen IL-10 und MCHC

3.6.3. MCHC und chronische T-Zellaktivierungsmarker

In einem Gruppenvergleich zwischen MCHC^{normal} (N) und MCHC^{high} (++) mittels Mann-Whitney U Tests in Abbildung 8, Abbildung 9 und Abbildung 10 konnten wir signifikante Unterschiede in der akuten und chronischen T-Zellaktivierung feststellen. Die akute (HLADR⁺CD8⁺) und die chronische T-Zellaktivierung (HLADR⁺CD4⁺, CD57⁺CD8⁺) werden angegeben in Prozent, als Ausdruck für ihren Anteil in der CD4⁺- oder CD8⁺-Population. Für alle Aktivierungsmarker liegt der Median bei MCHC^{high} signifikant höher als bei MCHC^{normal} (Abb. 8: p = 0,001, Abb. 9 und 10: p < 0,0001).

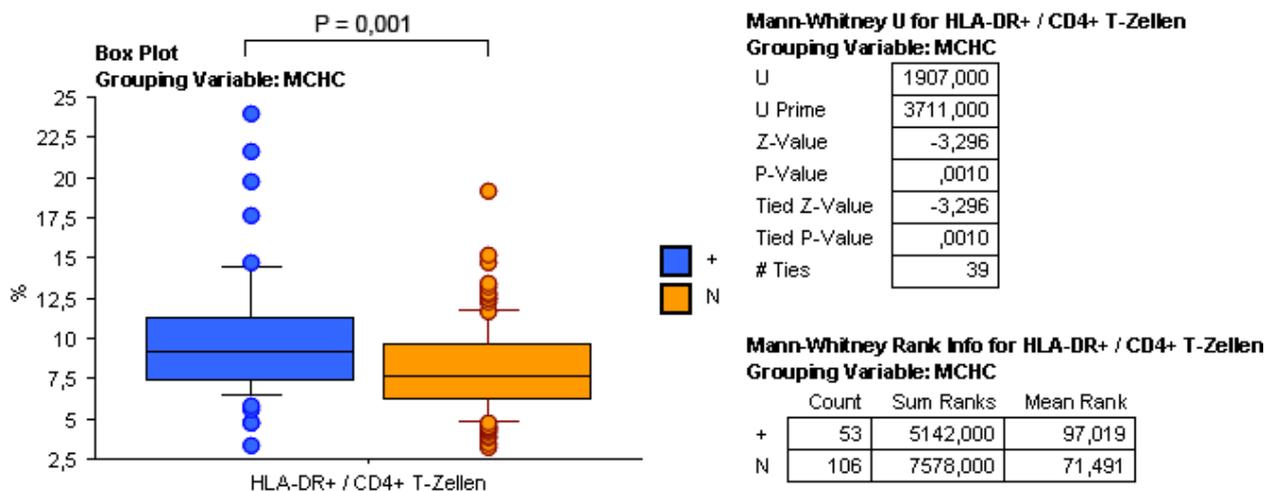


Abbildung 8: Signifikanzanalyse mittels Mann-Whitney U Test zwischen MCHC normal/erhöht und chronischem T-Zell-Aktivierungsparameter HLADR⁺CD4⁺ T-Zellen in %

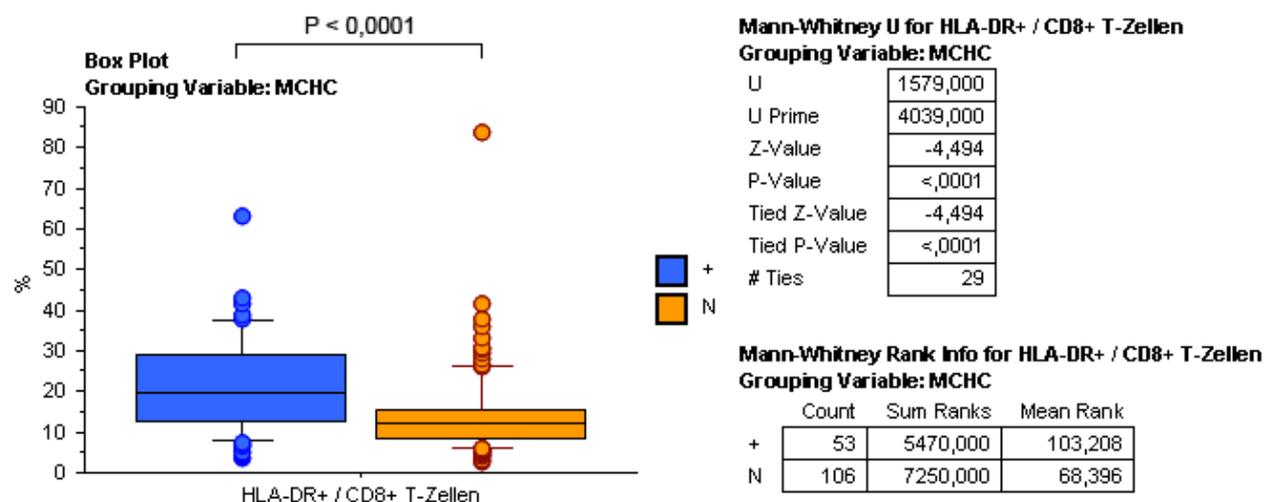


Abbildung 9: Signifikanzanalyse mittels Mann-Whitney U Test zwischen MCHC normal/erhöht und akutem T-Zell-Aktivierungsparameter HLADR⁺CD8⁺ T-Zellen in %

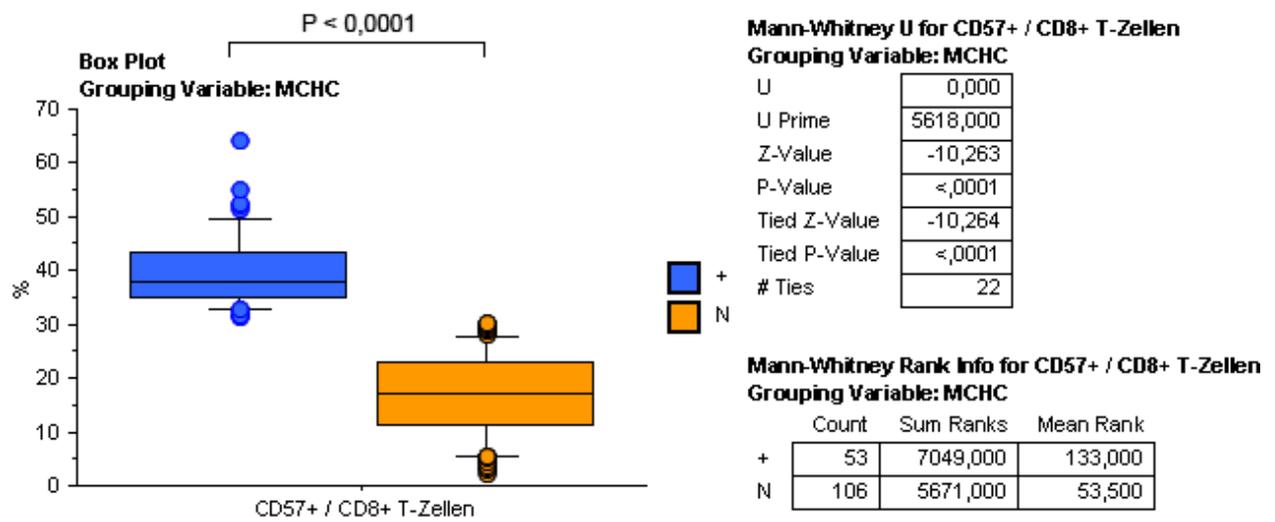


Abbildung 10: Signifikanzanalyse mittels Mann-Whitney U Test zwischen MCHC normal/erhöht und chronischem T-Zell-Aktivierungsparameter CD57⁺CD8⁺ T-Zellen in %

3.6.4. Korrelation zwischen CD57⁺CD8⁺-T-Lymphozyten und MCHC

Weitere Analysen zeigen, dass ein hoher MCHC-Wert mit erhöhtem chronischen T-Zell-Aktivierungsmarker CD57⁺CD8⁺ ($p = 0,0349$, $r^2 = 0,029$, Abbildung 11).

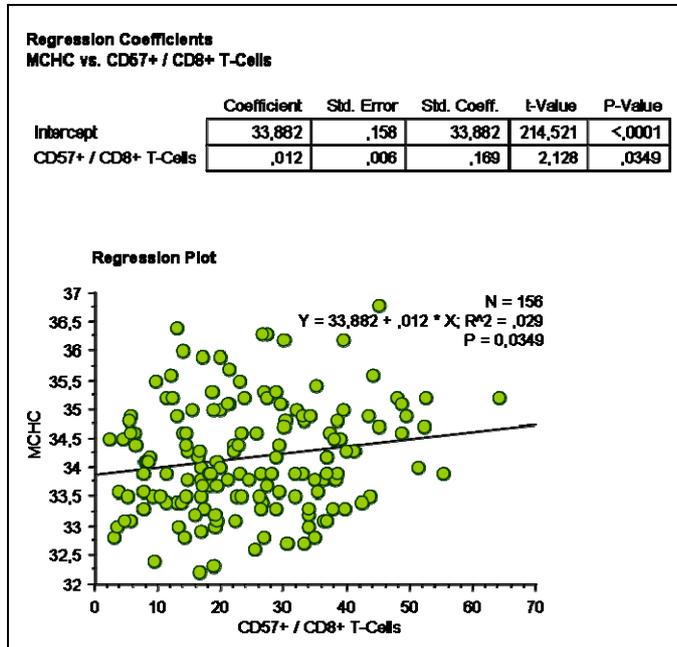


Abbildung 11: Korrelationsanalyse MCHC vs. CD57⁺CD8⁺-T-Lymphozyten

3.6.5. Korrelation zwischen Gesamt-IgE und IL-5

Um die Frage zu beantworten, ob es einen Zusammenhang zwischen IL-5, einer allergischen Erkrankung und CFS gibt, wurde bei 19 CFS-Patienten der Gesamt-IgE-Spiegel mit IL-5 korreliert. Das Ergebnis in Abbildung 12 zeigt zwar einen Trend, jedoch keinen signifikanten Zusammenhang zwischen den beiden Parametern ($p = 0,16$, $r^2 = 0,116$).

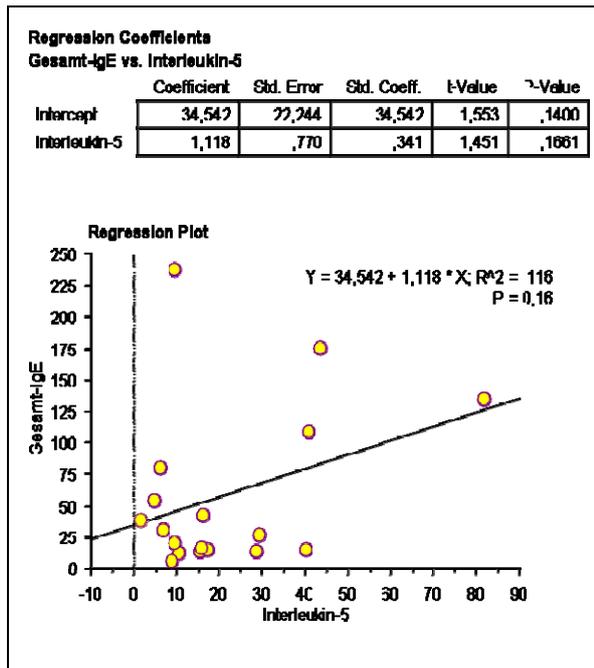


Abbildung 12: Regressionsanalyse Gesamt-IgE vs. Interleukin-5

3.7. Ergebnisse Immunglobuline

Mit der Frage nach Immunglobulin-Mangel wurden die Immunglobuline IgM, IgA und IgG bestimmt. Bei der Messung der Immunglobuline sind die IgM-Spiegel bei 7 CFS-Patienten (6%), die IgA-Spiegel bei 5 CFS-Patienten (5%) und die IgG-Spiegel bei 7 CFS-Patienten (6%) gegenüber dem entsprechenden Referenzbereich mit 95% Vertrauensintervall erniedrigt. Tabelle 20 zeigt eine Übersicht der gemessenen Immunglobuline und ihre Referenzbereiche.

Tabelle 20: Immunglobuline (IgM, IgA, IgG), Referenzbereich im 95% Vertrauensintervall

Gesamt-Immunglobulin	CFS		Referenz-gruppe	Erniedrigt		Erhöht	
	Total	Mw ± SD		n	%	n	%
	n	mg/dl					
IgM	108	121 ± 64	40 - 230	7	6	9	8
IgA	109	189 ± 82	70 - 400	5	5	3	3
IgG	108	1048 ± 230	700 -1600	7	6	1	1

Um einen selektiven IgG-Mangel weiter aufzuschlüsseln, wurden die IgG-Subklassen 1, 2, 3 und 4 von 91 CFS-Patienten bestimmt. Das Ergebnis in Tabelle 21 zeigt, dass bei 10% ein IgG₃- und bei 10% ein IgG₄-Mangel vergleichsweise zu ihren Referenzbereichen (95% Vertrauensintervall) vorliegt.

Tabelle 21: IgG-Subklassen, Referenzbereich im 95% Vertrauensintervall

IgG-Subklasse	CFS		Referenz-gruppe	Erniedrigt		Erhöht	
	Total	Mw ± SD		n	%	n	%
	n	mg/dl					
IgG ₁	91	563 ± 153	280 - 800	1	1	8	9
IgG ₂	91	432 ± 163	115 - 570	0	-	23	25
IgG₃	91	64 ± 38	24 - 125	9	10	6	7
IgG₄	91	35 ± 32	5,2 - 125	9	10	3	3

Insgesamt 27% der CFS-Patienten zeigten einen erniedrigten IgG-Spiegel, wobei die meisten Patienten nur die Verminderung einer Haupt- oder Subklasse aufwiesen. Darüber hinaus zeigt sich mit 8% eine Subgruppe mit einem erhöhten IgM-Spiegel.

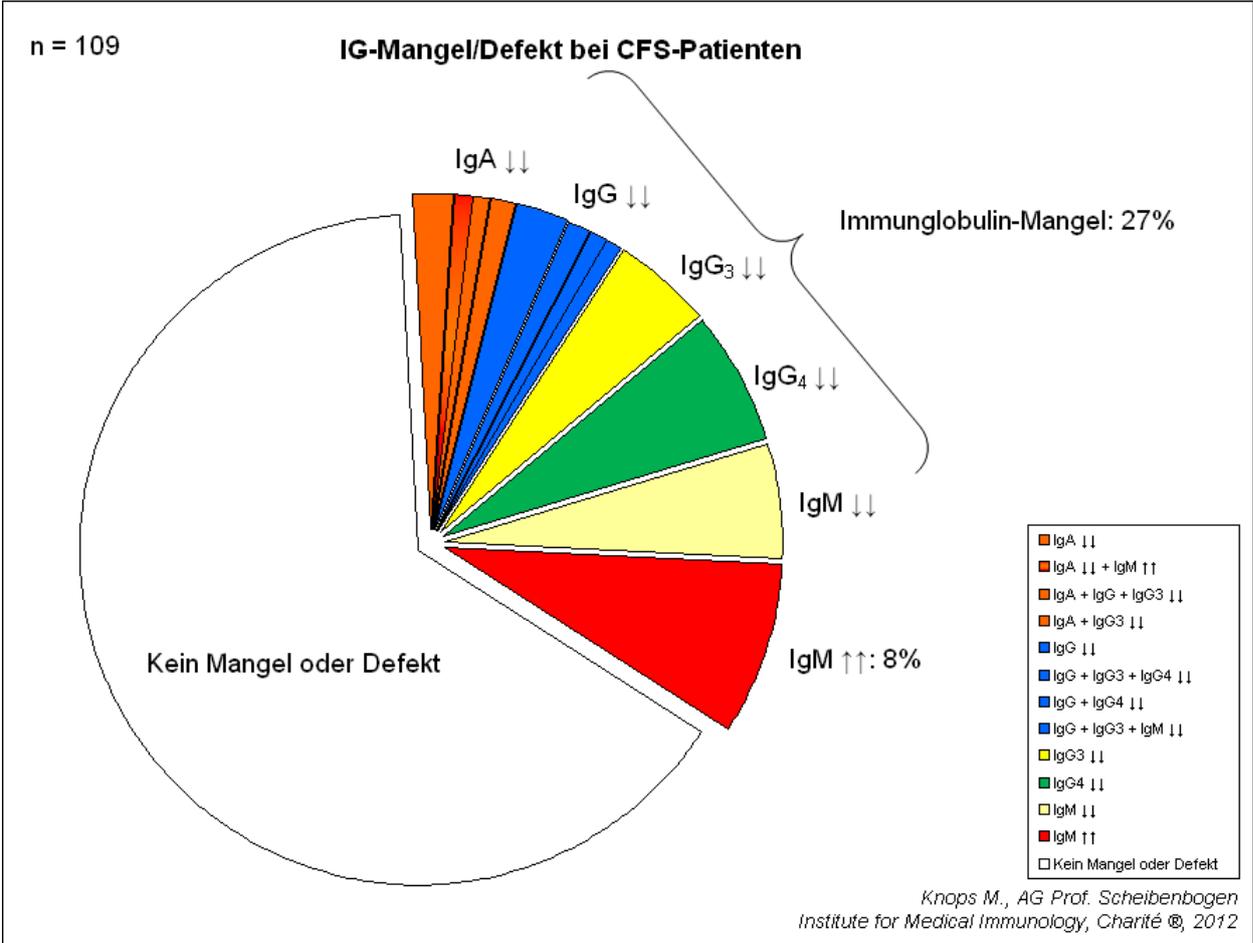


Abbildung 13: Häufigkeit von Immunglobulin-Mangel und erhöhtem IgM bei CFS-Patienten, Referenzbereich im 95% Vertrauensintervall

3.8. Ergebnisse EBV-Diagnostik

In der EBV-Diagnostik (Tabelle 22) wurde EBV-spezifische Viruskapsid-Antigen-Antikörper (*virus capsid antigen antibody*, VCA-IgG) und Epstein-Barr-Virus-Nukleäre-Antigen-1-Antikörper (*Epstein-Barr virus nucleus antigen-1 antibody*, EBNA-IgG-Ak) bestimmt. Bei nahezu allen Patienten ist der VCA-IgG-Titer positiv ausgefallen. Bei 17 (22%) von 78 CFS-Patienten fiel ein fehlender oder stark verminderter EBNA-IgG-Ak im Vergleich zu Referenzgruppe mit 95% Vertrauensintervall auf.

Tabelle 22: EBV-spezifische Antikörper, Referenzbereich im 95% Vertrauensintervall

EBV-Antikörper	CFS		Referenz- gruppe	Pathologisch		Normal	
	Total	Mw ± SD		n	%	n	%
	n						
VCA-IgG	78	408 ± 278	< 20 E/ml	1	1	77	99
EBNA-IgG	78	266 ± 242	< 20 E/ml	17	22	61	78

4. Diskussion

4.1. Überblick

CFS ist eine chronische, schwer verlaufende Erkrankung, die neben schwerer Erschöpfung mit variablen Manifestationen von körperlichen und mentalen Symptomen begleitet wird. Obwohl die geschätzte Prävalenz in Deutschland und in den USA bei etwa 0,3% liegt, wird sie bei vielen Betroffenen nicht oder fehl diagnostiziert, weil eine differentialdiagnostische Abgrenzung zur Depression oder zum *Burnout*-Syndrom oftmals schwierig ist. Bisher gibt es keine diagnostischen Biomarker, die eine Diagnosefindung erleichtern könnten. Somit ist CFS eine rein klinische Diagnose, die nur von erfahrenen Ärzten gestellt werden kann.

Interessanterweise konnten wir in unserer Studie eine Reihe von auffälligen immunologischen Parametern nachweisen. So wies die Mehrzahl der CFS-Patienten eine T-Zellaktivierung auf. Hier gelang es uns anhand unterschiedlicher T-Zellaktivierungsmuster auch Patientenuntergruppen abzugrenzen. Des Weiteren ließ sich bei etwa einem Drittel der Patienten ein Antikörpermangel nachweisen.

4.2. Das Epstein-Barr-Virus und CFS

Wir beobachteten Mangel an EBNA-IgG-Ak bei ca. 20% der Patienten. Dieser Befund steht im Gegensatz zu der Untersuchung von Kawai et al., die bei 1153 Patienten in der EBV-Serologie lediglich einen signifikanten Unterschied in der VCA-IgG/EBNA-IgG Ratio, aber keinen EBNA-IgG-Mangel³¹ gegenüber Kontrollen festgestellt haben. Dies lässt sich dadurch erklären, dass Kawai einen zu niedrigen serologischen Referenztitel von 1:10 festgelegt hat. In unseren Messungen liegt der Referenzbereich in einem Verhältnis von 1:20. Der bei uns beobachtete Mangel an EBNA-IgG-Ak passt zu dem beobachteten Auftreten von Ig-Mangel bei 27% unserer CFS-Patienten. Allerdings konnten wir keine Korrelation von IgG-Haupt-/Subklassen-Mangel mit EBNA-Mangel feststellen. Der EBNA-Mangel könnte sowohl Folge einer häufigen EBV-Reaktivierung durch eine Erschöpfung der spezifischen Antikörperantwort sein oder als primärer Immundefekt ursächlich für eine verminderte Kontrolle von EBV.

4.3. Autoimmunthyreoiditis und Immunglobulin-Mangel bei CFS-Patienten

4.3.1. Autoimmunthyreoiditis

Unsere Analysen haben gezeigt, dass eine erhöhte Prävalenz (ca. 11%) von Autoimmunthyreoiditiden (Hashimoto-Thyreoiditis) bei CFS-Patienten vorliegt. Dagegen liegt die Prävalenz der Autoimmunthyreoiditiden in der Normalbevölkerung bei etwa 1,5-2%⁶⁰. Dieser Befund spricht für eine Beteiligung autoimmunologischer Prozesse in der Pathogenese des CFS. Die ist eine primäre thyreogene Hypothyreose und gehört zu den häufigsten Folgen einer Autoimmunerkrankung.

Des Weiteren wurde im Rahmen der immunologischen Diagnostik häufig ein Immunglobulin-Mangel beobachtet (31%). Insgesamt hatten 5% der Patienten einen IgA-Mangel, 6% einen selektiven IgG-Hauptklassen-Mangel, 10% einen selektiven IgG₃-Mangel, 10% einen selektiven IgG₄-Mangel. 8% der CFS-Patienten zeigten ein erhöhtes IgM. In den folgenden Abschnitten möchten wir die einzelnen Ig-Veränderungen erläutern.

4.3.2. Selektiver IgA-Mangel

Unsere laborchemischen Untersuchungen zeigen, dass bei CFS-Patienten ein selektiver IgA-Mangel bei 5% vorliegt. Der selektive IgA-Mangel ist eine seltene Erkrankung, die verschiedene Ursachen haben kann. In der Europäischen Union liegt die Prävalenz bei 0,001%^{62,63}. In der Literatur gibt es bisher keine Studien, die eine Assoziation zwischen IgA-Mangel und CFS untersucht haben. Weitere Untersuchungen sind erforderlich, um einen kausalen Zusammenhang zwischen CFS und IgA-Mangel aufzudecken.

4.3.3. Selektiver IgG-, IgG₃- und IgG₄-Subklassenmangel

Die Datenlage zum IgG-Mangel, zu den Subklassen und zum CFS ist gegenwärtig sehr widersprüchlich. Einige Studien weisen auf einen Zusammenhang zwischen CFS und IgG- oder IgG-Subklassenmangel hin⁶⁴⁻⁶⁶. 1998 haben die Forscher Natelson et al. in einer Untersuchung von 71 CFS Patienten gezeigt, dass die IgG-, IgG₁- und IgG₃-Spiegel signifikant niedriger lagen als bei gesunden Kontrollen^{67,68}. Dieser Befund wurde als Folge der Erkrankung interpretiert⁴⁰. Begründet wird dies auch damit, dass durch Substitution von Immunglobulinen keine wesentliche Besserung der CFS-

Symptomatik herbeigeführt werden konnte⁶⁹. Die Gruppe von Wakefield et al. fand in einer Studie mit 78 Patienten heraus, dass IgG, IgG₁, IgG₂ und IgG₃ signifikant niedriger lagen als bei gesunden Kontrollen, und dass IgG₁ und IgG₃ signifikant niedriger im Vergleich zur WHO's Referenzbereiche für IgG-Subklassen lagen⁷⁰. Im Gegensatz dazu fanden wir nur IgG₃ und 4-Mangel, was möglicherweise an Unterschieden in den Referenzwerten liegt.

4.3.4. Erhöhte IgM-Produktion

In der vorliegenden Arbeit haben wir 8% der CFS-Patienten mit einem auffällig erhöhten IgM-Spiegel gesehen. Dies könnte auf eine chronisch aktive Infektion mit EBV zurück zu führen zu sein^{71,72}. Darüber hinaus gibt es Untersuchungen die für eine IgM-vermittelte Autoimmunantwort sprechen. IgM-Antikörper sind gezielt gegen neoantigene Epitope (hauptsächlich Palmitinsäure, Myristinsäure, S-Farnesyl-L-Cysteine) und NO-Phenylalanine gerichtet^{16,17} und gegen zerbrochene Lipid-Membran-Komponenten und Spaltprodukte aus Lipidelementen und Lipidperoxidation. Weiterhin fand Maes et al. heraus, dass dieser hohe IgM-Spiegel mit der Schwere der CFS-Erkrankung korreliert⁷³. Neoepitope werden normalerweise vom Immunsystem gut toleriert, scheinen aber erst dann immunogen zu werden, nachdem sie einer oxidativen oder nitrosativen Schädigung ausgesetzt werden. Zusätzlich gibt es Hinweise, die darauf deuten, dass besonders virale Infektionen einen adversen Effekt auf die Zellmembranstrukturen, insbesondere auf die Synthese und Funktionalität von Eicosanoiden haben, etwa durch eine gestörte Biosynthese von mehrfach ungesättigten Fettsäuren⁷⁴.

4.3.5. EBNA-IgG-Verlust und IgG-Mangel

Bei 22% der untersuchten CFS-Patienten wurde laborchemisch ein erniedrigter anti-EBNA-1-IgG-Spiegel (EBNA-IgG-Verlust) entdeckt, davon hatte jedoch keiner dieser Patienten einen manifesten IgG-(Subklassen)-Mangel, so dass sich ein EBNA-IgG-Verlust nicht durch einen primären IgG-Mangel erklären lässt. Möglicherweise aber durch eine chronische EBV-Reaktivierung. Das EBNA-1 ist eins von mehreren Latenzproteinen, das eine zentrale Rolle zur viralen Genomerhaltung innerhalb der Wirtszelle übernimmt. Das Auftreten von EBNA-1-Antikörper (anti-EBNA-1-IgG) signalisiert den Übergang von einer aktiven Phase in die Latenzphase⁷⁵. Nachweisbare anti-EBNA-1-IgG im peripheren Blut sind Ausdruck einer latenten EBV-Infektion und

bleiben in der Regel ein Leben lang erhalten. Sie können aber bei einer chronischen Infektion auch abfallen⁷⁶.

4.4. CFS und chronische T-Zellaktivierung

Lymphozyten spielen eine kritische Rolle in der adäquaten Modulation einer inflammatorischen Antwort. Eine Aktivierung dieser Zellen führt zum Verbrauch und letztendlich zur Reduzierung ihrer Anzahl. Die dauerhafte Inflammation induziert eine zelluläre Erschöpfung, Desensitivierung und Herunterregulation von Lymphozyten, was eine Lymphopenie darstellt⁷⁷. Neuere Untersuchungen haben belegt, dass eine Störung im Inflammationsmuster wie exzessive Inflammation, Persistenz einer Inflammation oder das Fehlen einer anti-inflammatorischen Antwort mit einer erhöhten Sterblichkeitsrate bei Menschen einhergeht^{78,79}. In unseren Analysen fiel bei 25% der CFS-Patienten eine Lymphopenie auf, die mit chronischen Immunaktivierungsparametern (HLA-DR⁺CD4⁺) assoziiert waren.

Eine chronische Antigen-Stimulation führt zu einer graduellen Akkumulation von spät differenzierten, antigen-spezifischen T-Lymphozyten, insbesondere innerhalb der CD8⁺-Population. CD8⁺-T-Lymphozyten spielen eine kritische Rolle in der Erkennung und Beseitigung von Zellen, die durch intrazelluläre Pathogene infiziert wurden⁸⁰. Allerdings erfordert es ein zweites kostimulatorisches Signal um eine Aktivierung der CD8⁺-T-Lymphozyten zu erreichen⁸¹⁻⁸³. Drei wichtige kostimulatorische Marker (CD11a, CD28 und CD57) haben wir auch in zytotoxischen T-Lymphozyten untersucht, von denen der wichtigste CD28 ist⁸⁴.

Bei 15% der CFS-Patienten konnten wir eine erhöhte Expression der Oberflächenmoleküle CD11a und CD28 auf CD8⁺-T-Lymphozyten sehen, die sich durch eine Verschiebung von naiven T-Lymphozyten auf Gedächtnis-T-Lymphozyten erklären lässt. Diese Ergebnisse bestätigen die Interpretationen von a) Shimaoka und Pavlick, die herausfanden, dass CD11a eine kostimulatorische Signalfunktion bei den Lymphozyten übernimmt, in dem es die Aktivierungsschwelle bei naiven virus-spezifischen CD8⁺-T-Lymphozyten reduziert^{85,86} und b) Acuto und Sperling, die dem CD28-Molekül eine zentrale Rolle zur Aufrechterhaltung der T-Zellaktivierung⁸⁷, der anschließenden Proliferation, Regulation der Zelldifferenzierung zu T-Effektor-Zellen sowie die Induktion der klonalen Expansion naiver T-Lymphozyten und die

Verhinderung eines anergen Status⁸⁸⁻⁹¹ zugeschrieben. Darüber hinaus spielt CD28 eine wichtige Rolle zur Erhaltung von regulatorischen T-Lymphozyten (CD25⁺CD4⁺)⁹², welche wiederum in der Entwicklung der Eigentoleranz und T-Zellaktivierung eine Rolle spielen. Über diesen Mechanismus werden pathologische Immunantworten verhindert, die gegen eigene Moleküle gerichtet sind^{87,93,94}.

Der Gegenspieler von CD28 ist das *cytotoxic T-lymphocyte antigen-4* (CTLA-4) oder CD152, ein negativ kostimulatorisches Molekül und Koinhibitor der T-Zellaktivierung⁹⁵⁻⁹⁸. CTLA-4 hemmt die Aktivität von CD28 über eine kompetitive Blockierung des gemeinsamen B7-Liganden (CD80) sowie über die durch den T-Zellrezeptor (TZR) vermittelte Signalwirkung^{99,100}. Außerdem verhindert CTLA-4 die Synthese von IL-2, hemmt die Zyklusprogression von T-Lymphozyten und terminiert T-Zellantworten^{101,102}. Untersuchungen haben gezeigt, dass eine Blockade von CTLA-4 die T-Zelltoleranz aufheben kann^{101,103}. Dagegen ließ sich bei *in-vivo*-Experimenten zur CTLA-4/B7-Interaktion eine Aufhebung der Eigentoleranz nicht nachweisen^{104,105}. CTLA-4 scheint auch eine fundamentale Rolle bei Tumorerkrankungen, Abstoßungsreaktionen, Allergien und Autoimmunerkrankungen zu spielen¹⁰⁶⁻¹⁰⁸. CTLA-4 ist in der Lage, eine Immunantwort zu induzieren und die konsekutive T-Zellaktivierung zu regulieren. Dabei vermag CTLA-4 den Schwellenwert zur T-Zellaktivierung zu erhöhen und schützt somit vor einer unerwünschten Aktivierung durch schwache TZR-Signale. Oosterwegel et al. konnten nachweisen, dass dieser Schutz für das Überleben der naiven und der Gedächtnis-T-Lymphozyten notwendig ist, um dadurch autoimmune Erkrankungen zu verhindern⁹⁹. CTLA-4 ist auch bei der Regulation zur Differenzierung von T-Helfer-Zellen beteiligt. Während CD28 die Differenzierung zu TH₂-Zellen fördert, antagonisiert CTLA-4 TH₂-Zytokine und wirkt somit atopischen Krankheiten entgegen^{109,110}.

CD28 galt bislang als unbestrittener Kostimulator für die T-Zell-Funktion. Inzwischen gibt es Untersuchungen darüber, dass CD28 nicht zwangsläufig an einer T-Zellaktivierung beteiligt sein muss. Aktuelle Arbeiten weisen auf alternative intrazelluläre Signalwege wie z.B. das ICAM-1 (*intracellular adhesion molecule-1*)¹¹¹ hin. Dieser Signalweg scheint vor allem dann favorisiert zu werden, wenn ausreichend IL-2¹¹², IL-12¹¹³ produziert wird oder eine ausreichende Antigenmenge¹¹⁴ verfügbar ist.

Vor allem scheint eine CD28-Kostimulation auf CD8⁺-Zellen entbehrlich zu sein, wenn ausreichend T-Helferzellen zur Verfügung stehen¹¹⁵. Bei 25% der CFS-Patienten konnten jedoch eine Lymphopenie festgestellt werden. Folglich auch eine erniedrigte T-Helferzahl, so dass eine Aktivierung über intrazelluläre Signalwege unwahrscheinlich ist. Eigene Messungen zu CD28-Zellen weisen bei 16% der CFS-Patienten pathologisch erniedrigte Werte (also CD28^{negativ}) auf, was angesichts der Studienlage den Rückschluss zulässt, dass eine kompetitive CD28-Inhibierung, auch durch gesteigerte CTLA-4, stattfinden könnte.

Das CD57-Antigen ist ein sulfatiertes Glykoepitop, das als Marker für Enddifferenzierung¹¹⁶ und klonale Erschöpfung¹¹⁷ von CD8⁺-T-Lymphozyten bereits erkannt wurde. In der Literatur wird eine Serie von Fällen beschrieben, die mit einer erhöhten zytotoxischen (CD57⁺CD8⁺-T-Lymphozyten) Aktivität einhergehen¹¹⁸. Unter einer persistierenden Antigenstimulation, die repetitive Aktivierungs- und Proliferationszyklen verursachen, werden CD28-Moleküle auf CD8⁺-T-Lymphozyten progressiv und irreversibel herunter reguliert. Dies führt zur Akkumulation von hoch antigen-spezialisierten (CD28^{negativ}!) CD28⁻CD8⁺-Zellen mit verkürzten Telomeren^{82,84} und zum Verlust ihrer Proliferationsfähigkeit. Mit dem Verlust der CD28-Moleküle wird die Expression von CD57 stimuliert^{119,120} und die Zytotoxizität gesteigert^{82,121-123}. Strioga et al. beschreiben in einer Übersichtsarbeit, dass auch chronisch virale Infektionen wie HIV, Hepatitis C, HPV und EBV mit einer erhöhten CD57⁺CD8⁺-Zytotoxizität einhergehen¹²⁴. Ein Teil unserer CFS-Patienten (33%) hatte eine pathologisch erhöhte zytotoxische Aktivität, so dass zusammenfassend festgehalten werden kann, dass sich dieser Anteil der CFS-Patienten der *Cytokines*^{low}-Gruppe zuordnen lassen können, weil diese eine niedrige IL-2-Produktion, eine verminderte CD28- und eine erhöhte CD57-Expression auf T-Lymphozyten hatten.

Im folgenden Abschnitt wird u.a. das Phänomen der schwachen Zytokinproduktion im Rahmen einer Zytokingruppeneinteilung von CFS-Patienten genauer erläutert.

4.5. CFS und Zytokinmuster

Stimulierte lymphoide Zellen exprimieren oder induzieren die Expression einer heterogenen Gruppe von löslichen Mediatoren in andere Effektorzellen, die entweder effektorische oder regulatorische Funktionen haben. Diese Mediatoren sind Zytokine, Hormone oder andere Neurotransmitter, welche wiederum das Immunsystem beeinflussen und viele pathologische Manifestationsformen im Rahmen eines CFS haben. Zytokine, die von stimulierten T-Lymphozyten produziert werden, lassen sich im Wesentlichen in zwei große Gruppen einteilen. T-Helfer 1 (TH₁) und T-Helfer 2 (TH₂) Zellen, je nachdem welche Effektorzellen von den Zytokinen favorisiert werden. TH₁-Typ Zytokine sind Interleukin-2 (IL-2) und Interferon- γ (IFN- γ), während zu den TH₂-Typen die Zytokine IL-4, IL-5 und IL-10 gehören.

In der vorliegenden Arbeit konnten gezeigt werden, dass CFS-Patienten anhand ihres funktionellen Immunstatus, ein auffälliges Zytokinmuster zeigen. Diese lassen sich in vier Gruppen (*Cytokines*^{low}, *IL-2*^{high}, *IL-5*^{high} und unauffälliges Zytokinmuster) einteilen. Drei Gruppen davon (*Cytokines*^{low}, *IL-2*^{high} und *IL-5*^{high}) weisen auf eine Immundeviation hin, die in den folgenden Abschnitten diskutiert werden.

Bei der *Cytokines*^{low}-Gruppe, mit einem Anteil von 21%, wurde zusätzlich eine Lymphopenie ($p = 0,0005$) und eine T-Zellaktivierung (CD57⁺CD8⁺, $p = 0,0005$) beobachtet. Eine Erklärung, warum die gemessenen Zytokine in niedrigen Messbereichen liegen, ist, dass die zytokin-produzierenden T-Lymphozyten aus den Gefäßen in die Peripherie wandern und dort eine lokal begrenzte, im Serum schwer nachweisbare, T-Zellaktivierung induzieren. Alternativ kann aber auch eine Schwäche der regulatorischen T-Lymphozyten im Rahmen einer Autoimmunerkrankung diskutiert werden, z.B. durch Fehlregulation von CD28 und CTLA-4, wie bereits besprochen.

Interleukin-2 (IL-2) ist ein wichtiger Parameter für die T-Zellaktivierung, das unter anderem von CD4-T-Lymphozyten exprimiert wird¹²⁵⁻¹²⁸. In unseren Untersuchungen hatten 18% der CFS-Patienten eine erhöhte IL-2-Produktion. Allerdings bleibt unklar, warum diese Subgruppe nicht mit einer erhöhten T-Zellaktivierung korreliert. Eine mögliche Erklärung wäre, dass die Stimulation mit mitogenen Substanzen *in-vitro* durch indirekte Tests durchgeführt wurde¹²⁵⁻¹²⁷. Eine Weiterentwicklung direkter Tests zur Messung von Zytokinpotentialen könnte dieses Problem umgehen.

Interleukin-5, ein Protein, das von T-Helferzellen vom Typ 2 und Mastzellen produziert wird, wirkt positiv chemotaktisch auf eosinophile Granulozyten und ist mit Allergie und IgE-Synthese assoziiert^{129,130}. In unserer Auswertung konnten viele CFS-Patienten mit einem hohen IL-5-Spiegel von den anderen Zytokingruppen klar abgegrenzt werden. Obwohl wir bei diesen Patienten keinen signifikanten Zusammenhang zwischen IgE und IL-5 nachweisen konnten, weisen diese Daten aber auf eine positive korrelative Tendenz hin. Die zu Grunde liegende Fallzahl ist möglicherweise zu gering, um einen direkten Zusammenhang nachweisen zu können. Dennoch gehen wir von einer TH₂-Verschiebung aus, weil auch eine hohe anti-inflammatorische Aktivität von IL-10 nicht nur eine TH₁-vermittelte Antwort inhibiert, sondern auch eine TH₂-Antwort über die Hochregulation von Chemokinen induziert¹³¹. Shen et al. haben in ihren Untersuchungen einen Zusammenhang zwischen IL-5 und verschiedenen allergischen Krankheiten beobachtet¹³². Auch Skowera et al. haben bei 35 Patienten nach polyklonaler Stimulation von CD4- und CD8-Lymphozyten eine in Richtung TH₂-Antwort verschiebende Zytokinproduktion festgestellt¹⁵. Ein Zusammenhang von allergischer Diathese mit TH₂-Shift und CFS wird kontrovers diskutiert¹³³. Da eine Allergianamnese unserer untersuchten Patienten nicht immer erfasst wurde, konnten wir diese Daten diesbezüglich nicht analysieren. Eine aktuelle Studie aus unserer Arbeitsgruppe zeigt jedoch keinen Zusammenhang zwischen erhöhtem IL-5 und Allergianamnese bei CFS-Patienten.

Die Ursache für eine erhöhte IL-5-Synthese bei CFS-Patienten bleibt derzeit noch unklar. Die Hypothese, dass eine IL-5-Produktion von kürzlich durch Ikutani et al. entdeckten angeborenen natürlichen T-Helferzellen stammen könnte¹³⁴, bietet eine neue Grundlage für weitere Forschungen und Diskussionen. Es erklärt aber möglicherweise die bei CFS-Patienten oft beobachtete hohe Rate an multiplen Allergien und Unverträglichkeiten.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass die neue Erkenntnis über die Eingruppierung von CFS-Patienten in Zytokinmuster helfen, ein immunologisches Profil über diese zu erstellen. Für den behandelnden Arzt könnte es ein wichtiger Schritt zum Verständnis der Pathogenese des CFSs beitragen und eine Entscheidungshilfe für eine adäquate Therapieform sein.

4.6. MCHC korreliert positiv mit IL-5 und IL-10

In unserem Patientenkollektiv fielen 25% mit einem auffälligen MCHC (MCHC, *mean corpuscular hemoglobin concentration*) auf. Aktuelle Daten, die in der Zwischenzeit in der Arbeitsgruppe erhoben wurden, zeigen eine signifikante Korrelation ($n = 47$, $p = 0,017$, $r^2=0,109$) zwischen erhöhtem MCHC und oxLDL, einem Parameter für oxidativen und/oder nitrosativen Stress. Aktuelle Arbeiten von Maes et al. belegen einen Zusammenhang von Plasmaperoxiden und oxidierten LDL-Antikörpern (oxLDL)¹⁷. Hier wurde bei 56 CFS-Patienten ein erhöhter Spiegel von Plasmaperoxiden und oxidierten LDL-Antikörpern versus Kontrollen¹³⁵ beobachtet, die sich mit unseren Ergebnissen decken. Die MCHC hat klinisch betrachtet keine große Bedeutung, bis auf drei Krankheitsbilder, bei denen eine erhöhte MCHC und eine erhöhte RDW einen Hinweis auf eine hereditäre Sphärozytose, Sichelzellanämie oder Kälteagglutinin geben können. Gleichwohl wird in der Literatur die MCHC als oxidativer und/oder nitrosativer Stressparameter beschrieben^{16,135-138}. Bei CFS-Patienten würde man erwarten, dass durch Immobilisation der Stoffwechsel herunterreguliert wird. Paradoxe Weise weisen die Forschungsergebnisse von Maes et al.^{16,17} und unsere eigenen Daten auf das Gegenteil hin. Erklären ließe sich dieses Phänomen damit, dass aufgrund der Immunaktivierung und -dysregulation auch ein gesteigerter Energieumsatz vorliegt¹³⁵. In Zusammenhang mit einer Immunaktivierung zeigen unsere Analysen, dass MCHC stark positiv mit IL-5 und stark negativ mit IL-10 korreliert.

Weitere Untersuchungen sind erforderlich, um eine qualitative und quantitative Bestimmung eines metabolischen Profils bei CFS-Erkrankten durchzuführen, um eine mögliche metabolische Störung - gegebenenfalls eine Kachexie - aufzudecken.

4.7. Methodische Schwächen

Es handelt sich hier um eine retrospektive Analyse. Ein wichtiger Kritikpunkt in der retrospektiven Analyse ist die Unvollständigkeit der erhobenen anamnestischen und klinischen Daten. Die Daten wurden nicht standardisiert mittels Fragebogen erhoben, sondern waren abhängig vom untersuchenden Arzt.

Des Weiteren wurden nicht bei allen Patienten alle Laborwerte gemessen, weil sie ebenfalls abhängig von der Diagnostikanforderung des untersuchenden Arztes waren. Somit gibt es keine einheitlichen Patientenzahlen in den entsprechenden Laborwerten.

Ein weiterer Kritikpunkt ist eine fehlende Kontrollgruppe von Gesunden. Dies war aus Kostengründen nicht realisierbar. Deshalb wurden für alle Laborwerte validierte Referenzwerte aus dem Institut für Labormedizin und Pathobiochemie herangezogen.

5. Zusammenfassung und Ausblick

Das Chronische Erschöpfungssyndrom (Chronic Fatigue Syndrome, CFS) ist eine komplexe Erkrankung mit einer Prävalenz von 0,3% in Deutschland mit bislang unbekannter Ursache, das sich primär durch extreme Erschöpfung und Verschlechterung des Allgemeinzustandes mit substantieller Minderung der Lebensqualität manifestiert. Das Erkrankungsalter liegt zwischen 20 und 40 Jahren wobei Frauen häufiger betroffen sind als Männer.

Eine kausale Therapie für das CFS gibt es zurzeit nicht. Allgemeine Behandlungsempfehlungen beschränken sich auf die individuelle Symptomatik eines Patienten. Insbesondere gelten die Behandlung von chronischen Infektionen, sowie der Ausgleich von Mangelernährung, physio-, verhaltens- und schmerztherapeutischen Ansätzen als mögliche Strategien, Symptomen entgegen zu wirken.

Ziel dieses Promotionsvorhabens ist die retrospektive Analyse von phänotypischen und funktionellen immunologischen Laborparametern bei Patienten mit dem Verdacht oder einer gesicherten Diagnose eines Chronischen Erschöpfungssyndrom, die sich in der Ambulanz für Immundefekte am Institut für Medizinische Immunologie vorstellen. Zur Erfassung und Aufbereitung von laborchemischen, biometrischen, epidemiologischen und klinischen Daten wurde eine Datenbank erstellt, die komplexe Analysen und Zusammenhänge zu weiteren Korrelationsparametern ermöglichen soll.

Es wurden 226 Patienten auf phänotypische und funktionelle Biomarker untersucht, die sich mit dem Verdacht oder einer gesicherten CFS-Symptomatik vorstellten. Für die Analyse und Korrelierung von Laborparametern mit klinischen Daten wurde eine spezielle Datenbank entwickelt. Dazu wurden Daten aus dem elektronischen Epikrisenbestand im Zeitraum von 2005 – 2011 importiert.

Das mediane Alter dieser Population liegt bei 44 ± 12 SD. Mit einem Geschlechterverhältnis von 64% sind mehr Frauen als Männer betroffen. Bei allen Patienten wurden die Fukuda-Kriterien erhoben. 157 (69%) der Patienten erfüllten die Kriterien eines CFS (G93.3V), bei 69 (31%) Patienten wurde die Diagnose eines Fatigues unklarer Genese (F48.0G) gestellt.

Bei den eingeschlossenen Patienten wurde eine Autoimmunthyreoiditis bei ca. 11% beobachtet. Im Rahmen der immunologischen Diagnostik wurde bei 31% der CFS-Patienten ein Immunglobulin-Mangel, darunter bei 5% ein IgA-Mangel, bei 6% ein IgG-Hauptklassen-Mangel, bei 10% ein selektiver IgG₃-Mangel und bei 10% einen selektiver IgG₄-Mangel beobachtet. 8% hatten ein erhöhtes IgM.

Im zellulären Immunstatus zeigten 32% der CFS-Patienten eine T-Zellaktivierung über eine vermehrte Expression der Aktivierungsmarker CD11a, CD28 und CD57 auf CD8⁺-T-Lymphozyten. Bei 15% der CFS-Patienten konnte eine pathologische Erhöhung des Aktivierungsmarkers CD11a und eine pathologische Erniedrigung des Aktivierungsmarkers CD28 auf CD8⁺ T-Lymphozyten festgestellt werden, die für eine chronische zytotoxische T-Zellaktivierung sprechen. Außerdem wurden bei 33% eine pathologische hohe CD57⁺-T-Zellaktivität festgestellt, die sich durch eine zu erwartende Verschiebung von naiven zytotoxischen T-Lymphozyten auf zytotoxische Gedächtnis-T-Lymphozyten erklären lässt. Bei der Bestimmung der T-Zellzytokinantwort *in vitro* fiel auf, dass CFS-Patienten mehrheitlich eine Immundeavation aufweisen, die sich durch ihr Zytokinmuster in vier Gruppen einteilen lassen.

Es konnten zwei Gruppen mit respektive hohen IL-2- und IL-5-Werten von einander abgegrenzt werden. Eine Gruppe zeigte eine verminderte Zytokinantwort, die überwiegend gleichzeitig eine T-Zellaktivierung und Lymphopenie aufwies. 26% der Patienten zeigte keine abnorme Zytokinproduktion.

Bei etwa 22% der untersuchten Patienten fanden wir einen EBNA-IgG-Mangel als möglichen Hinweis auf eine chronische EBV-Reaktivierung. Ein Zusammenhang zwischen EBNA-IgG-Verlust und dem IgG-Mangel konnte nicht nachgewiesen werden.

15% der Patienten hatten eine Leukopenie, 25% eine Lymphopenie und 6% ein erniedrigtes Hämoglobin. Nebenbefundlich wurde bei 25% der CFS-Patienten eine erhöhte MCHC festgestellt, welche stark positiv mit IL-5 und stark negativ mit IL-10 korreliert. MCHC wird als oxidativer und/oder nitrosativer Stressparameter diskutiert. Weitere Analysen sind erforderlich, um das metabolische Profil zu messen und einen oxidativen und/oder nitrosativen Stress, eine metabolische Imbalance, eine Insulinresistenz oder eine mögliche Kachexie bei CFS-Patienten aufzudecken.

Zusammenfassend zeigen die vorliegenden Ergebnisse, dass Patienten mit einem chronischen Erschöpfungssyndrom eine chronische Immunaktivierung und eine Immundeviation zeigen, die eine Einteilung in vier immunologische Subgruppen zulassen. Diese Subgruppen sollten in prospektiven Studien weiter untersucht werden. Zudem wurde festgestellt, dass ein oxidativer und/oder nitrosativer Stress bei CFS-Patienten offenbar eine Rolle spielt, was im Rahmen weiterer Studien genauer untersucht werden sollte. Die neu gewonnenen Erkenntnisse tragen zum Verständnis der Pathogenese von CFS bei und sind Grundlage für die Entwicklung neuer Behandlungskonzepte.

6. Quellenverzeichnis

6.1. Literatur

William Collinge: Das chronische Müdigkeitssyndrom. Erkennen - lindern - überwinden
Oesch, Zürich 1995, ISBN 3-85833-471-5

Peter A. Berg (Hrsg.): Chronisches Müdigkeits- und Fibromyalgiesyndrom. Mit 27
Tabellen. 2. Aufl. Springer, Berlin u.a. 2003, ISBN 3-540-44194-8

Werner Zenker: Das chronische Erschöpfungssyndrom. Wege zur Hilfe und Selbsthilfe
bei CFS. ECON-Taschenbuch, Düsseldorf 1996, ISBN 3-612-20547-1

Renate Dorrestein: Heute ich, morgen du ... Mein Leben mit dem chronischen
Müdigkeitssyndrom (CFS). Claassen, Hildesheim 1995, ISBN 3-546-00092-7

Jens Gaab, Ulrike Ehlert: Chronische Erschöpfung und Chronisches
Erschöpfungssyndrom. Hogrefe, Göttingen u.a. 2005, ISBN 3-8017-1608-2

Jan Eujen-Schröder: Lebensqualität beim Chronischen Erschöpfungssyndrom (CFS).
Med. Diss. Hamburg 2005.

Roberto Patarca-Montero: Chronic Fatigue Syndrome, Genes, and Infection Haworth
Medical Press, Oktober 2003, ISBN 0789017946

Roberto Patarca-Montero: Chronic Fatigue Syndrome and the Body's Immune Defense
System Haworth Press, März 2003, ISBN 0789015293

Kenny Demeirleir & Patrick Englebienne: Chronic Fatigue Syndrome CRC Press, 2002,
ISBN 0849310466

A. Hilgers/I. Hoffmann: CFS - Chaos im Immunsystem. Lübbe, Berg. Gladb. 2002, ISBN
3-4046-6291-1 (Download; PDF, 450 KB)

6.2. Videomaterial

Interviews aus England u.a. mit Dr. Kerr

Vortrag von Dr. Paul Cheney

CDC Teaching People about Chronic Fatigue Syndrome

TV- und Radiospots der Spark-Kampagne

Ausschnitte von der Pressekonferenz zur offiziellen Eröffnung der Spark-Kampagne am
3. November 2006 in Washington, DC

6.3. Weblinks

Überblicksseiten

Fatigatio e.V. - Bundesverband Chronisches Erschöpfungssyndrom

CFS-Portal mit vielen nützlichen Informationen

CFS aktuell

CFS-Info - Informationsportal Chronisches Erschöpfungssyndrom

International Association for CFS (englisch)

6.4. Sonstige Quellen

Centers for Disease Control and Prevention (englisch)

Spark! The campaign to ignite CFS awareness (englisch)

action for M.E. (englisch)

CFIDS Association of America (englisch)

Pharmacogenomics Ausgabe vom April 2006 (englisch)

Patentanmeldung: MATERIALS AND METHODS FOR DIAGNOSIS AND TREATMENT OF CHRONIC FATIGUE SYNDROME (englisch)

Assessment and Treatment of Patients with ME/CFS: Clinical Guidelines for Psychiatrists (englisch)

Australischer Leitfaden für Ärzte einschließlich einer Darstellung der Kanadischen Klinischen Definition

Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome: Clinical Working Case Definition, Diagnostic and Treatment Protocols (englisch)

Pearce JMS: The Enigma of Chronic Fatigue. European Neurology 2006; 56: 31 - 36 (englisch)

Von „http://de.wikipedia.org/wiki/Chronisches_Ersch%C3%B6pfungssyndrom“

Kategorien: Krankheitsbild in der Inneren Medizin | Immunologie

7. Literaturverzeichnis

1. Stouten B. Identification of ambiguities in the 1994 chronic fatigue syndrome research case definition and recommendations for resolution. *BMC Health Serv Res.* 2005;5:37.
2. Komaroff AL, Buchwald DS. CHRONIC FATIGUE SYNDROME: An Update. *Annual Review of Medicine.* 1998;49:1-13.
3. Chronic Fatigue Syndrome. General information. Vol 2011: Centers for Disease Control and Prevention; 2010.
4. Grabar E. Chronisches Erschöpfungssyndrom: Wenn das Leben nur noch eine Last ist. Vol PP1: Deutsches Ärzteblatt; 2002:421.
5. Nijhof SL, Maijer K, Bleijenberg G, Uiterwaal CSPM, Kimpen JL, van der Putte EM. Adolescent Chronic Fatigue Syndrome; Prevalence, Incidence, and Morbidity. *Pediatrics.* 2011;127:e1169-1175.
6. Swanink CM, Vercoulen JH, Galama JM, et al. Lymphocyte subsets, apoptosis, and cytokines in patients with chronic fatigue syndrome. *J Infect Dis.* 1996;173:460-463.
7. Hanson SJ, Gause W, Natelson B. Detection of immunologically significant factors for chronic fatigue syndrome using neural-network classifiers. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2001;8:658-662.
8. Rook GA, Zumla A. Is the Gulf War syndrome an immunologically mediated phenomenon? *Hosp Med.* 1998;59:10-11.
9. Rook GA, Zumla A. Gulf War syndrome: is it due to a systemic shift in cytokine balance towards a Th2 profile? *Lancet.* 1997;349:1831-1833.
10. Klimas NG, Salvato FR, Morgan R, Fletcher MA. Immunologic abnormalities in chronic fatigue syndrome. *Journal of clinical microbiology.* 1990;28:1403-1410.
11. Dietert RR, Dietert JM. Possible role for early-life immune insult including developmental immunotoxicity in chronic fatigue syndrome (CFS) or myalgic encephalomyelitis (ME). *Toxicology.* 2008;247:61-72.
12. Torres-Harding S, Sorenson M, Jason LA, Maher K, Fletcher MA. Evidence for T-helper 2 shift and association with illness parameters in chronic fatigue syndrome (CFS). *Bulletin of the IACFS/ME.* 2008;16:19-33.
13. Marshall L, Born J. Brain-immune interactions in sleep. *International review of neurobiology.* 2002;52:93-131.

14. Lorusso L, Mikhaylova SV, Capelli E, Ferrari D, Ngonga GK, Ricevuti G. Immunological aspects of chronic fatigue syndrome. *Autoimmunity reviews*. 2009;8:287-291.
15. Skowera A, Cleare A, Blair D, Bevis L, Wessely SC, Peakman M. High levels of type 2 cytokine-producing cells in chronic fatigue syndrome. *Clin Exp Immunol*. 2004;135:294-302.
16. Maes M, Mihaylova I, Kubera M, Leunis JC, Twisk FN, Geffard M. IgM-mediated autoimmune responses directed against anchorage epitopes are greater in Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome (ME/CFS) than in major depression. *Metabolic brain disease*. 2012;27:415-423.
17. Maes M, Mihaylova I, De Ruyter M. Lower serum zinc in Chronic Fatigue Syndrome (CFS): relationships to immune dysfunctions and relevance for the oxidative stress status in CFS. *Journal of affective disorders*. 2006;90:141-147.
18. Klimas N, Koneru A. Chronic fatigue syndrome: inflammation, immune function, and neuroendocrine interactions. *Curr Rheumatol Rep*. 2007;9:482-487.
19. Prins JB, van der Meer JW, Bleijenberg G. Chronic fatigue syndrome. *Lancet*. 2006;367:346-355.
20. Wallace HL, Natelson B, Gause W, Hay J. Human herpesviruses in chronic fatigue syndrome. *Clin Diagn Lab Immunol*. 1999;6:216-223.
21. Cameron B, Flamand L, Juwana H, et al. Serological and virological investigation of the role of the herpesviruses EBV, CMV and HHV-6 in post-infective fatigue syndrome. *Journal of medical virology*. 2010;82:1684-1688.
22. Nijs J, Nicolson GL, De Becker P, Coomans D, De Meirleir K. High prevalence of Mycoplasma infections among European chronic fatigue syndrome patients. Examination of four Mycoplasma species in blood of chronic fatigue syndrome patients. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2002;34:209-214.
23. Natelson BH, Ye N, Moul DE, et al. High titers of anti-Epstein-Barr virus DNA polymerase are found in patients with severe fatiguing illness. *Journal of medical virology*. 1994;42:42-46.
24. Jones JF, Williams M, Schooley RT, Robinson C, Glaser R. Antibodies to Epstein-Barr virus-specific DNase and DNA polymerase in the chronic fatigue syndrome. *Arch Intern Med*. 1988;148:1957-1960.
25. Matthews DA, Lane TJ, Manu P. Antibodies to Epstein-Barr virus in patients with chronic fatigue. *Southern medical journal*. 1991;84:832-840.

26. Gold D, Bowden R, Sixbey J, et al. Chronic fatigue. A prospective clinical and virologic study. *JAMA*. 1990;264:48-53.
27. Hellinger WC, Smith TF, Van Scoy RE, Spitzer PG, Forgacs P, Edson RS. Chronic fatigue syndrome and the diagnostic utility of antibody to Epstein-Barr virus early antigen. *JAMA*. 1988;260:971-973.
28. Koo D. Chronic fatigue syndrome. A critical appraisal of the role of Epstein-Barr virus. *The Western journal of medicine*. 1989;150:590-596.
29. Berends GM, Peeters MF, Lepoutre JM, van Liebergen FJ, Kurstjens RM, Koolen MI. [Chronic fatigue syndrome; is there a connection with the Epstein-Barr virus?]. *Nederlands tijdschrift voor geneeskunde*. 1988;132:874-878.
30. Sumaya CV. Serologic and virologic epidemiology of Epstein-Barr virus: relevance to chronic fatigue syndrome. *Reviews of infectious diseases*. 1991;13 Suppl 1:S19-25.
31. Kawai K, Kawai A. Studies on the relationship between chronic fatigue syndrome and Epstein-Barr virus in Japan. *Intern Med*. 1992;31:313-318.
32. Satterfield BC, Garcia RA, Jia H, Tang S, Zheng H, Switzer WM. Serologic and PCR testing of persons with chronic fatigue syndrome in the United States shows no association with xenotropic or polytropic murine leukemia virus-related viruses. *Retrovirology*. 2011;8:12.
33. Furuta RA, Miyazawa T, Sugiyama T, et al. No association of xenotropic murine leukemia virus-related virus with prostate cancer or chronic fatigue syndrome in Japan. *Retrovirology*. 2011;8:20.
34. Lombardi VC, Ruscetti FW, Das Gupta J, et al. Detection of an infectious retrovirus, XMRV, in blood cells of patients with chronic fatigue syndrome. *Science*. 2009;326:585-589.
35. van Kuppeveld FJ, Jong AS, Lanke KH, et al. Prevalence of xenotropic murine leukaemia virus-related virus in patients with chronic fatigue syndrome in the Netherlands: retrospective analysis of samples from an established cohort. *BMJ*. 2010;340:c1018.
36. Hohn O, Strohschein K, Brandt AU, et al. No Evidence for XMRV in German CFS and MS Patients with Fatigue Despite the Ability of the Virus to Infect Human Blood Cells In Vitro. *PLoS One*. 2010;5:e15632.
37. Booth NE, Myhill S, McLaren-Howard J. Mitochondrial dysfunction and the pathophysiology of Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome

- (ME/CFS). *International journal of clinical and experimental medicine*. 2012;5:208-220.
38. Kerr JR, Petty R, Burke B, et al. Gene expression subtypes in patients with chronic fatigue syndrome/myalgic encephalomyelitis. *J Infect Dis*. 2008;197:1171-1184.
 39. Holmes GP, Kaplan JE, Gantz NM, et al. Chronic fatigue syndrome: a working case definition. *Ann Intern Med*. 1988;108:387-389.
 40. Fukuda K, Straus SE, Hickie I, Sharpe MC, Dobbins JG, Komaroff AL. The chronic fatigue syndrome: a comprehensive approach to its definition and study. International Chronic Fatigue Syndrome Study Group. *Ann Intern Med*. 1994;121:953-959.
 41. Carruthers BM. Definitions and aetiology of myalgic encephalomyelitis: how the Canadian consensus clinical definition of myalgic encephalomyelitis works. *J Clin Pathol*. 2007;60:117-119.
 42. Kennedy G, Abbot NC, Spence V, Underwood C, Belch JJF. The Specificity of the C D C-1994 criteria for chronic fatigue syndrome: comparison of health status in three groups of patients who fulfill the criteria. *Annals of Epidemiology*. 2003;14:95-100.
 43. Jason LA, Richman JA, Rademaker AW, et al. A community-based study of chronic fatigue syndrome. *Arch Intern Med*. 1999;159:2129-2137.
 44. Stone PC, Minton O. Cancer-related fatigue. *European journal of cancer*. 2008;44:1097-1104.
 45. Dodson S, Baracos VE, Jatoi A, et al. Muscle Wasting in Cancer Cachexia: Clinical Implications, Diagnosis, and Emerging Treatment Strategies. *Annual review of medicine*. 2010;62:265-279.
 46. Fuller-Thomson E, Nimigon J. Factors associated with depression among individuals with chronic fatigue syndrome: findings from a nationally representative survey. *Family practice*. 2008;25:414-422.
 47. Dansie EJ, Furberg H, Afari N, et al. Conditions comorbid with chronic fatigue in a population-based sample. *Psychosomatics*. 2012;53:44-50.
 48. Nater UM, Jones JF, Lin JM, Maloney E, Reeves WC, Heim C. Personality features and personality disorders in chronic fatigue syndrome: a population-based study. *Psychotherapy and psychosomatics*. 2010;79:312-318.

49. Bell SD. *The Doctor's Guide to Chronic Fatigue Syndrome: Understanding, Treating and Living with CFIDS*.
50. Hilgers A, Frank J. Chronic fatigue syndrome: immune dysfunction, role of pathogens and toxic agents and neurological and cardiac changes. *Wien Med Wochenschr*. 1994;144:299-406.
51. Wilson A, Hickie I, Lloyd A, et al. Longitudinal study of outcome of chronic fatigue syndrome. *BMJ*. 1994;308:756-759.
52. Rowe KS. Double-blind randomized controlled trial to assess the efficacy of intravenous gammaglobulin for the management of chronic fatigue syndrome in adolescents. *J Psychiatr Res*. 1997;31:133-147.
53. Strayer DR, Carter WA, Brodsky I, et al. A controlled clinical trial with a specifically configured RNA drug, poly(I).poly(C12U), in chronic fatigue syndrome. *Clin Infect Dis*. 1994;18:88-95.
54. McKenzie R, O'Fallon A, Dale J, et al. Low-dose hydrocortisone for treatment of chronic fatigue syndrome: a randomized controlled trial. *JAMA*. 1998;280:1061-1066.
55. See DM, Tilles JG. alpha-Interferon treatment of patients with chronic fatigue syndrome. *Immunol Invest*. 1996;25:153-164.
56. Cleare A, O'Keane V, Miell J. Plasma leptin in chronic fatigue syndrome and a placebo-controlled study of the effects of low-dose hydrocortisone on leptin secretion. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2001;55:113-119.
57. Blockmans D, Persoons P, Van Houdenhove B, Bobbaers H. Does methylphenidate reduce the symptoms of chronic fatigue syndrome? *Ann J Med*. 2006;119:e23-30.
58. Fluge O, Bruland O, Risa K, et al. Benefit from B-lymphocyte depletion using the anti-CD20 antibody rituximab in chronic fatigue syndrome. A double-blind and placebo-controlled study. *PLoS One*. 2011;6:e26358.
59. Martin A, Gaab J. Chronisches Erschöpfungssyndrom - Evidenzbasierte Psychotherapie bei chronisch organisch unklarer Erschöpfung. *Psychotherapeut*. 2011;3:231-238.
60. Nawroth P, Zieger R. Autoimmunthyreoiditis. *Klinische Endokrinologie und Stoffwechsel*. Berlin: Springer-Verlag; 2001:115.
61. Laurberg P, Andersen S, Bülow Pedersen I, Carlé A. Hypothyroidism in the elderly: pathophysiology, diagnosis and treatment. *Drugs Aging*. 2005;22:23-38.

62. Hammarstrom L, Vorechovsky I, Webster D. Selective IgA deficiency (SIgAD) and common variable immunodeficiency (CVID). *Clin Exp Immunol.* 2000;120:225-231.
63. Ballou M. Primary immunodeficiency disorders: antibody deficiency. *J Allergy Clin Immunol.* 2002;109:581-591.
64. Linde A, Hammarstrom L, Smith CI. IgG subclass deficiency and chronic fatigue syndrome. *Lancet.* 1988;1:885-886.
65. Bennett AL, Fagioli LR, Schur PH, Schacterle RS, Komaroff AL. Immunoglobulin subclass levels in chronic fatigue syndrome. *Journal of clinical immunology.* 1996;16:315-320.
66. Komaroff AL, Geiger AM, Wormsely S. IgG subclass deficiencies in chronic fatigue syndrome. *Lancet.* 1988;1:1288-1289.
67. Natelson BH, LaManca JJ, Denny TN, et al. Immunologic parameters in chronic fatigue syndrome, major depression, and multiple sclerosis. *The American journal of medicine.* 1998;105:43S-49S.
68. Natelson BH, Ellis SP, Braonain PJ, DeLuca J, Tapp WN. Frequency of deviant immunological test values in chronic fatigue syndrome patients. *Clin Diagn Lab Immunol.* 1995;2:238-240.
69. Vollmer-Conna U, Hickie I, Hadzi-Pavlovic D, et al. Intravenous immunoglobulin is ineffective in the treatment of patients with chronic fatigue syndrome. *The American journal of medicine.* 1997;103:38-43.
70. Wakefield D, Lloyd A, Brockman A. Immunoglobulin subclass abnormalities in patients with chronic fatigue syndrome. *The Pediatric infectious disease journal.* 1990;9:S50-53.
71. Vilibic-Cavlek T, Ljubin-Sternak S, Kos L, Mlinaric-Galinovic G. The role of IgG avidity determination in diagnosis of Epstein-Barr virus infection in immunocompetent and immunocompromised patients. *Acta microbiologica et immunologica Hungarica.* 2011;58:351-357.
72. Lerner AM, Beqaj SH, Deeter RG, Fitzgerald JT. IgM serum antibodies to Epstein-Barr virus are uniquely present in a subset of patients with the chronic fatigue syndrome. *In Vivo.* 2004;18:101-106.
73. Maes M, Mihaylova I, Leunis JC. Chronic fatigue syndrome is accompanied by an IgM-related immune response directed against neopitopes formed by

- oxidative or nitrosative damage to lipids and proteins. *Neuro endocrinology letters*. 2006;27:615-621.
74. Puri BK. Long-chain polyunsaturated fatty acids and the pathophysiology of myalgic encephalomyelitis (chronic fatigue syndrome). *J Clin Pathol*. 2007;60:122-124.
 75. Tierney RJ, Steven N, Young LS, Rickinson AB. Epstein-Barr virus latency in blood mononuclear cells: analysis of viral gene transcription during primary infection and in the carrier state. *Journal of virology*. 1994;68:7374-7385.
 76. Niller HH, Wolf H, Minarovits J. Regulation and dysregulation of Epstein-Barr virus latency: implications for the development of autoimmune diseases. *Autoimmunity*. 2008;41:298-328.
 77. Menges T, Engel J, Welters I, et al. Changes in blood lymphocyte populations after multiple trauma: association with posttraumatic complications. *Critical care medicine*. 1999;27:733-740.
 78. Ward NS, Casserly B, Ayala A. The compensatory anti-inflammatory response syndrome (CARS) in critically ill patients. *Clinics in chest medicine*. 2008;29:617-625, viii.
 79. Xu YX, Ayala A, Chaudry IH. Prolonged immunodepression after trauma and hemorrhagic shock. *The Journal of trauma*. 1998;44:335-341.
 80. Nagata T, Koide Y. Induction of Specific CD8 T Cells against Intracellular Bacteria by CD8 T-Cell-Oriented Immunization Approaches. *Journal of biomedicine & biotechnology*. 2010;2010:764542.
 81. Bernard A, Lamy, Alberti I. The two-signal model of T-cell activation after 30 years. *Transplantation*. 2002;73:S31-35.
 82. Vallejo AN. CD28 extinction in human T cells: altered functions and the program of T-cell senescence. *Immunological reviews*. 2005;205:158-169.
 83. Boesteanu AC, Katsikis PD. Memory T cells need CD28 costimulation to remember. *Seminars in immunology*. 2009;21:69-77.
 84. Arosa FA. CD8+CD28- T cells: certainties and uncertainties of a prevalent human T-cell subset. *Immunology and cell biology*. 2002;80:1-13.
 85. Shimaoka M, Xiao T, Liu JH, et al. Structures of the alpha L I domain and its complex with ICAM-1 reveal a shape-shifting pathway for integrin regulation. *Cell*. 2003;112:99-111.

86. Pavlick KP, Ostanin DV, Furr KL, et al. Role of T-cell-associated lymphocyte function-associated antigen-1 in the pathogenesis of experimental colitis. *International immunology*. 2006;18:389-398.
87. Lenschow DJ, Walunas TL, Bluestone JA. CD28/B7 system of T cell costimulation. *Annual review of immunology*. 1996;14:233-258.
88. Acuto O, Michel F. CD28-mediated co-stimulation: a quantitative support for TCR signalling. *Nature reviews. Immunology*. 2003;3:939-951.
89. Sperling AI, Auger JA, Ehst BD, Rulifson IC, Thompson CB, Bluestone JA. CD28/B7 interactions deliver a unique signal to naive T cells that regulates cell survival but not early proliferation. *J Immunol*. 1996;157:3909-3917.
90. Löffler G, Petrides PE. *Biochemie und Pathobiochemie, Springer-Verlag Berlin Heidelberg*. New York 1997.
91. Appleman LJ, Boussiotis VA. T cell anergy and costimulation. *Immunological reviews*. 2003;192:161-180.
92. Keir ME, Sharpe AH. The B7/CD28 costimulatory family in autoimmunity. *Immunological reviews*. 2005;204:128-143.
93. Salomon B, Lenschow DJ, Rhee L, et al. B7/CD28 costimulation is essential for the homeostasis of the CD4+CD25+ immunoregulatory T cells that control autoimmune diabetes. *Immunity*. 2000;12:431-440.
94. Jordan MS, Boesteanu A, Reed AJ, et al. Thymic selection of CD4+CD25+ regulatory T cells induced by an agonist self-peptide. *Nature immunology*. 2001;2:301-306.
95. Linsley PS, Greene JL, Tan P, et al. Coexpression and functional cooperation of CTLA-4 and CD28 on activated T lymphocytes. *The Journal of experimental medicine*. 1992;176:1595-1604.
96. Linsley PS, Brady W, Urnes M, Grosmaire LS, Damle NK, Ledbetter JA. CTLA-4 is a second receptor for the B cell activation antigen B7. *The Journal of experimental medicine*. 1991;174:561-569.
97. Walunas TL, Lenschow DJ, Bakker CY, et al. CTLA-4 can function as a negative regulator of T cell activation. *Immunity*. 1994;1:405-413.
98. Boussiotis VA, Freeman GJ, Gribben JG, Daley J, Gray G, Nadler LM. Activated human B lymphocytes express three CTLA-4 counterreceptors that costimulate T-cell activation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1993;90:11059-11063.

99. Oosterwegel MA, Greenwald RJ, Mandelbrot DA, Lorscheid RB, Sharpe AH. CTLA-4 and T cell activation. *Current opinion in immunology*. 1999;11:294-300.
100. Wang S, Chen L. Co-signaling molecules of the B7-CD28 family in positive and negative regulation of T lymphocyte responses. *Microbes and infection / Institut Pasteur*. 2004;6:759-766.
101. Krummel MF, Allison JP. CTLA-4 engagement inhibits IL-2 accumulation and cell cycle progression upon activation of resting T cells. *The Journal of experimental medicine*. 1996;183:2533-2540.
102. Sharpe AH, Freeman GJ. The B7-CD28 superfamily. *Nature reviews. Immunology*. 2002;2:116-126.
103. Sotomayor EM, Borrello I, Tubb E, Allison JP, Levitsky HI. In vivo blockade of CTLA-4 enhances the priming of responsive T cells but fails to prevent the induction of tumor antigen-specific tolerance. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1999;96:11476-11481.
104. Boussiotis VA, Freeman GJ, Berezovskaya A, Barber DL, Nadler LM. Maintenance of human T cell anergy: blocking of IL-2 gene transcription by activated Rap1. *Science*. 1997;278:124-128.
105. Greenwald RJ, Boussiotis VA, Lorscheid RB, Abbas AK, Sharpe AH. CTLA-4 regulates induction of anergy in vivo. *Immunity*. 2001;14:145-155.
106. Leach DR, Krummel MF, Allison JP. Enhancement of antitumor immunity by CTLA-4 blockade. *Science*. 1996;271:1734-1736.
107. Perrin PJ, Maldonado JH, Davis TA, June CH, Racke MK. CTLA-4 blockade enhances clinical disease and cytokine production during experimental allergic encephalomyelitis. *J Immunol*. 1996;157:1333-1336.
108. Kucharska AM, Gorska E, Wasik M, Pyrzak B. Decreased CD4+CD152+ T cell subset and its correlation with the level of antithyroid antibodies in children with chronic autoimmune thyroiditis. *European journal of medical research*. 2010;15 Suppl 2:72-75.
109. Mathur M, Herrmann K, Qin Y, et al. CD28 interactions with either CD80 or CD86 are sufficient to induce allergic airway inflammation in mice. *American journal of respiratory cell and molecular biology*. 1999;21:498-509.
110. Larche M, Till SJ, Haselden BM, et al. Costimulation through CD86 is involved in airway antigen-presenting cell and T cell responses to allergen in atopic asthmatics. *J Immunol*. 1998;161:6375-6382.

111. Gaglia JL, Greenfield EA, Mattoo A, Sharpe AH, Freeman GJ, Kuchroo VK. Intercellular adhesion molecule 1 is critical for activation of CD28-deficient T cells. *J Immunol.* 2000;165:6091-6098.
112. McAdam AJ, Gewurz BE, Farkash EA, Sharpe AH. Either B7 costimulation or IL-2 can elicit generation of primary alloreactive CTL. *J Immunol.* 2000;165:3088-3093.
113. Makrigiannis AP, Musgrave BL, Haeryfar SM, Hoskin DW. Interleukin-12 can replace CD28-dependent T-cell costimulation during nonspecific cytotoxic T lymphocyte induction by anti-CD3 antibody. *Journal of leukocyte biology.* 2001;69:113-122.
114. Green JM, Noel PJ, Sperling AI, et al. Absence of B7-dependent responses in CD28-deficient mice. *Immunity.* 1994;1:501-508.
115. Zhan Y, Corbett AJ, Brady JL, Sutherland RM, Lew AM. CD4 help-independent induction of cytotoxic CD8 cells to allogeneic P815 tumor cells is absolutely dependent on costimulation. *J Immunol.* 2000;165:3612-3619.
116. Abo T, Balch CM. A differentiation antigen of human NK and K cells identified by a monoclonal antibody (HNK-1). *J Immunol.* 1981;127:1024-1029.
117. Wood KL, Twigg HL, 3rd, Doseff AI. Dysregulation of CD8+ lymphocyte apoptosis, chronic disease, and immune regulation. *Frontiers in bioscience : a journal and virtual library.* 2009;14:3771-3781.
118. Focosi D, Bestagno M, Burrone O, Petrini M. CD57+ T lymphocytes and functional immune deficiency. *Journal of leukocyte biology.* 2010;87:107-116.
119. Merino J, Martinez-Gonzalez MA, Rubio M, Inoges S, Sanchez-Ibarrola A, Subira ML. Progressive decrease of CD8high+ CD28+ CD57- cells with ageing. *Clin Exp Immunol.* 1998;112:48-51.
120. Bandres E, Merino J, Vazquez B, et al. The increase of IFN-gamma production through aging correlates with the expanded CD8(+high)CD28(-)CD57(+) subpopulation. *Clin Immunol.* 2000;96:230-235.
121. Weng NP, Akbar AN, Goronzy J. CD28(-) T cells: their role in the age-associated decline of immune function. *Trends in immunology.* 2009;30:306-312.
122. Valenzuela HF, Effros RB. Divergent telomerase and CD28 expression patterns in human CD4 and CD8 T cells following repeated encounters with the same antigenic stimulus. *Clin Immunol.* 2002;105:117-125.

123. Abedin S, Michel JJ, Lemster B, Vallejo AN. Diversity of NKR expression in aging T cells and in T cells of the aged: the new frontier into the exploration of protective immunity in the elderly. *Experimental gerontology*. 2005;40:537-548.
124. Strioga M, Pasukoniene V, Characiejus D. CD8+ CD28- and CD8+ CD57+ T cells and their role in health and disease. *Immunology*. 2011;134:17-32.
125. Watson J, Mochizuki D. Interleukin 2: a class of T cell growth factors. *Immunological reviews*. 1980;51:257-278.
126. Watson JD, Mochizuki DY, Gillis S. Molecular characterization of interleukin 2. *Federation proceedings*. 1983;42:2747-2752.
127. Gillis S, Mochizuki DY, Conlon PJ, et al. Molecular characterization of interleukin 2. *Immunological reviews*. 1982;63:167-209.
128. Morgan DA, Ruscetti FW, Gallo R. Selective in vitro growth of T lymphocytes from normal human bone marrows. *Science*. 1976;193:1007-1008.
129. Walker C, Checkel J, Cammisuli S, Leibson PJ, Gleich GJ. IL-5 production by NK cells contributes to eosinophil infiltration in a mouse model of allergic inflammation. *J Immunol*. 1998;161:1962-1969.
130. Matsumoto T, Goto Y, Miike T. Markedly high eosinophilia and an elevated serum IL-5 level in an infant with cow milk allergy. *Annals of allergy, asthma & immunology : official publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology*. 1999;82:253-256.
131. Jung M, Sabat R, Kratzschmar J, et al. Expression profiling of IL-10-regulated genes in human monocytes and peripheral blood mononuclear cells from psoriatic patients during IL-10 therapy. *European journal of immunology*. 2004;34:481-493.
132. Shen HH, Ochkur SI, McGarry MP, et al. A causative relationship exists between eosinophils and the development of allergic pulmonary pathologies in the mouse. *J Immunol*. 2003;170:3296-3305.
133. Lyall M, Peakman M, Wessely S. A systematic review and critical evaluation of the immunology of chronic fatigue syndrome. *Journal of psychosomatic research*. 2003;55:79-90.
134. Ikutani M, Yanagibashi T, Ogasawara M, et al. Identification of innate IL-5-producing cells and their role in lung eosinophil regulation and antitumor immunity. *J Immunol*. 2012;188:703-713.

135. Maes M, Kubera M, Uytterhoeven M, Vrydags N, Bosmans E. Increased plasma peroxides as a marker of oxidative stress in myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome (ME/CFS). *Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research*. 2011;17:SC11-15.
136. Branth S, Hambræus L, Piehl-Aulin K, et al. Metabolic stress-like condition can be induced by prolonged strenuous exercise in athletes. *Ups J Med Sci*. 2009;114:12-25.
137. Temiz A, Baskurt OK, Pekcetin C, Kandemir F, Gure A. Leukocyte activation, oxidant stress and red blood cell properties after acute, exhausting exercise in rats. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2000;22:253-259.
138. Maes M, Mihaylova I, Kubera M, Leunis JC, Geffard M. IgM-mediated autoimmune responses directed against multiple neoepitopes in depression: new pathways that underpin the inflammatory and neuroprogressive pathophysiology. *Journal of affective disorders*. 2011;135:414-418.

Eidesstattliche Erklärung

„Ich, Michael Knops, erkläre an Eides statt, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift
mit dem Thema:

Charakterisierung des phänotypischen und funktionellen Immunstatus bei Patienten mit
Chronischem Erschöpfungssyndrom,

selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt,
ohne die unzulässige Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopie anderer
Arbeiten dargestellt habe.“

Berlin, den 18. Dezember 2012

.....
Michael Knops

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Prof. Dr. Carmen Scheibenbogen für die Überlassung der Arbeit und für die fachkundige, geduldige und bedingungslose Betreuung dieser Dissertation.

Mein besonderer Dank gilt auch Prof. Dr. Hans-Dieter Volk für die Ermöglichung der Laborarbeit und die Bereitstellung sämtlicher Ressourcen des Instituts für Medizinische Immunologie und Berlin-Brandenburg Center für Regenerative Therapien (BCRT).

Bedanken möchte ich mich auch bei Petra Katz, die in ihrer Stellung als Sekretärin des Instituts für Medizinische Immunologie stets den kurzen Draht zum Chef ermöglichte und für gute Laune sorgte.

Mein Dank an Prof. Dr. Dr. Wolfram Döhner aus dem Centrum für Schlaganfallforschung Berlin (CSB) für den unschätzbaren fachlichen Beistand und das in mich gesetzte Vertrauen.

Herzlichen Dank für die finanzielle Unterstützung durch die gewährte Forschungsförderung für zwei Jahre des Selbsthilfeverein Fatigatio e.V. und der Prämierung der Deutschen Gesellschaft für Luft- und Raumfahrtmedizin e.V. (DGRLM)

Mein tiefster Dank gilt auch an Dr. Christian Meisel, Nadine Unterwalder, Dr. Sybill Thomas, Dr. Uwe Kölsch, Kerstin Strohschein, Hilke Schmidts, Sandra Bauer aus dem Institut für Medizinische Immunologie für den substantiellen Support, die großartige Zusammenarbeit und für die daraus entstandenen Freundschaften.

Danke an meine Eltern und meiner Familie, für die moralische Unterstützung und das entgegengebrachte Vertrauen.

Ebenfalls bedanken möchte ich mich bei Dipl.-Ing. Michael Süß, für seine bedingungslose, fortwährende Geduld, sein Verständnis und innere Ruhe, die mir den nötigen Ausgleich gewährten, ohne dessen Hilfe und Unterstützung die Vollendung nicht möglich gewesen wäre.

Für Marla und Tiger

Lebenslauf

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

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

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

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

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

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

Publikationsliste:

- 2013 Knops M, Fiebach F, Dreier JB, Werner C, Meisel A, Heuschmann PU, Jungehülsing G, Dirnagl U, Anker SD, Doehner D: Exploring changes in body composition, metabolic profile and functional muscle strength in ischemic stroke patients: The rationale and design of the Body Size in Stroke Study (BoSSS). *J Cachexia Sarcopenia Muscle*, 2013. In press.
- 2012 Knops M, Doehner W: Insulin sensitivity, but not hyperglycaemia, may be superior as a prognostic marker and therapeutic target for diabetes in heart failure. *Am J Cardiol*, 2012. 1;110:1070
- 2012 Knops M, Doehner W: Insulinresistenz bei chronischer Herzinsuffizienz – pathophysiologisches Charakteristikum, Messmethoden und therapeutische Relevanz. *Diabetes, Stoffwechsel und Herz*, 2012. 21:295–306
- 2011 Knops M, Koelsch U, Hoffmeister B, Doehner W, Volk H-D, Scheibenbogen C: Mean Corpuscular Haemoglobin Concentration (MCHC): A marker for metabolic stress and immune-activation in immobilisation and chronic fatigue? *J Cachexia Sarcopenia Muscle*, 2011. 2:240–241(A)