

Aus der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktor: Prof. Dr. H.-J. Möller

Untersuchungen zur Monozyten-Stimulierbarkeit  
bei Tourette-Syndrom

Dissertation

**zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin**

**an der Medizinischen Fakultät der**

**Ludwig-Maximilians-Universität zu München**

Vorgelegt von  
Agnes Sarah Wildenauer  
aus Kassel

2011

**Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München**

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Dipl.-Psych. Norbert Müller

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Michèle Noterdaeme  
Priv. Doz. Dr. Cornelis Stadtland

Mitbetreuung durch den  
promovierten Mitarbeiter: Priv. Doz. Dr. med. Rudolf Gruber

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h. c. M. Reiser, FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 24.11.2011

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung.....</b>	<b>1</b>
1.1	Tourette-Syndrom.....	1
1.1.1	Historischer Überblick.....	1
1.1.2	Definition des Tourette-Syndroms.....	1
1.1.3	Epidemiologie.....	2
1.1.4	Tics.....	3
1.1.5	Differentialdiagnosen.....	4
1.1.6	Komorbiditäten.....	5
1.1.7	Ätiologie.....	6
1.1.7.1	Neuroanatomie und Bildgebung.....	6
1.1.7.2	Neurotransmittersysteme.....	7
1.1.7.3	Neurophysiologie.....	7
1.1.7.4	Genetik.....	8
1.1.7.5	Immunologie und Umweltfaktoren.....	8
1.1.7.6	Tiermodelle.....	10
1.1.8	Therapie.....	10
1.2	Immunologie.....	12
1.2.1	Angeborenes und erworbenes Immunsystem.....	12
1.2.2	Monozyten.....	12
1.2.3	HLA-DR.....	14
1.2.4	Zytokine.....	14
1.2.4.1	Tumor-Nekrose-Faktor-alpha (TNF- $\alpha$ ).....	14
1.2.4.2	Interleukin-1 (IL-1).....	15
1.2.4.3	Interleukin-6 (IL-6).....	15
1.2.4.4	Interleukin-10 (IL-10).....	16
1.2.5	Toll-Like-Rezeptoren (TLR-2, TLR-3, TLR-4).....	16
1.3	Problemstellung.....	18
<b>2</b>	<b>Material und Methoden.....</b>	<b>19</b>

2.1	Patienten und Probanden .....	19
2.2	Material .....	20
2.2.1	Labormaterialien .....	20
2.2.2	Geräte .....	22
2.2.3	Antikörper .....	22
2.3	Methoden .....	23
2.3.1	Blutproben .....	23
2.3.1.1	Vollblutprobengewinnung und Lagerung .....	23
2.3.1.2	Vorbereitung der Blutproben für die Immunfluoreszenzfärbung .....	24
2.3.1.3	Differentialblutbild und klinische Chemie .....	25
2.3.2	Durchflußzytometrie .....	26
2.3.2.1	Grundlagen der Durchflußzytometrie .....	26
2.3.2.2	Aufbau eines Durchflußzytometers .....	28
2.3.2.3	Immunfluoreszenzfärbung .....	29
2.3.2.4	Messung mit dem Durchflußzytometer .....	31
2.3.2.5	Darstellung der Messergebnisse .....	31
2.3.2.6	Definition der Auswertefenster .....	31
<b>3</b>	<b>Ergebnisteil .....</b>	<b>33</b>
3.1	Die Bildung von Untergruppen: Motivation und Grenzen .....	33
3.2	Datenauswertung (Statistik) .....	35
3.2.1	Vergleich der Messdaten bei verschiedenen Ansätzen .....	35
3.2.2	Datenauswertungen mit mehreren statistischen Verfahren .....	36
3.2.3	Gruppenvergleich mit der Mann-Whitney-U Methode .....	36
3.2.4	Gruppenvergleich mit der Methode der (Log-) linearen Regression: Modell für die (Log-) lineare Regression .....	43
3.3	Übergreifende Gesichtspunkte .....	55
3.4	Differentialblutbild, Monozytenzahl/nl und CRP .....	56
3.5	HLA-DR .....	58
3.6	TNF- $\alpha$ .....	64
3.7	TLR-4 .....	71
3.8	IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, TLR-2 und TLR-3 .....	75

3.9	Übersicht der Ergebnisse.....	75
<b>4</b>	<b>Diskussion.....</b>	<b>79</b>
4.1	Diskussion der Methoden .....	79
4.2	Diskussion der Ergebnisse .....	80
4.2.1	HLA-DR .....	80
4.2.2	TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10 .....	83
4.2.3	TLR-4, TLR-3 und TLR-2 .....	86
4.2.4	Einfluss von Psychopharmaka .....	88
4.2.5	Korrelationen.....	90
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>91</b>
<b>6</b>	<b>Verzeichnisse .....</b>	<b>92</b>
6.1	Abbildungsverzeichnis .....	92
6.2	Tabellenverzeichnis .....	94
6.3	Abkürzungsverzeichnis .....	97
6.4	Literaturverzeichnis.....	100
<b>7</b>	<b>Anhang.....</b>	<b>114</b>
<b>8</b>	<b>Danksagung .....</b>	<b>125</b>

# 1 Einleitung

## 1.1 Tourette-Syndrom

### 1.1.1 Historischer Überblick

Niemand weiß, wie lange es das Tourette-Syndrom schon gibt. Beschreibungen Betroffener finden sich in fast allen geschichtlichen Epochen. Fälle von „Zuckungen, Grimassenschneiden, Gebell, plötzlichen Flüchen und unvermittelten blasphemischen Äußerungen“ wurden vor ungefähr 2000 Jahren zum ersten Mal von dem griechischen Gelehrten, Arzt und Hippokrates-Schüler Aretios von Kappadokien beschrieben. Aufgrund Mangels an wissenschaftlichen Beweisen wurde der Einfluss der Götter für dieses ungewöhnliche Verhalten verantwortlich gemacht. Erst dem Neurologen George Gilles de la Tourette (1857-1904) gelang es 1885 die historischen Beobachtungen durch eigene Studien zu erklären. Er versuchte, eine charakteristische Symptomatik zu entdecken und das rätselhafte Syndrom von anderen Erkrankungen zu unterscheiden. Er beobachtete insgesamt neun Patienten, unter ihnen auch die adlige Madame de Dampierre, deren Fall George Gilles de la Tourette von seinem Vorgänger, dem französischen Arzt Jaques Itard, übernahm. Die Madame litt zunächst an Tics in den Armen, später auch an Körperdrehungen, außerordentlichen Grimassen, bizarrem Schreien und Koprovalie. Madame de Dampierre verstarb im Alter von 86 Jahren, ohne ihre gesellschaftliche Stellung durch das Tourette-Syndrom verloren zu haben. Heutzutage leiden viele Betroffene aufgrund der bizarren Symptomatik des Tourette-Syndroms an der massiven Stigmatisierung, die diese Krankheit häufig mit sich bringt. Umso wichtiger ist es, neue Erkenntnisse bei noch unbefriedigender Forschungslage zu erhalten, um neue Therapieansätze und Behandlungsstrategien schaffen zu können (Hartung, 1995; Riederer et al., 2002).

### 1.1.2 Definition des Tourette-Syndroms

Das Tourette-Syndrom ist definiert als das Auftreten multipler motorischer und mindestens eines vokalen Tics. Motorische und vokale Tics müssen jedoch nicht gleichzeitig auftreten. Tics treten über einen Zeitraum von mindestens einem Jahr in unterschiedlicher Frequenz pro Tag auf, wobei keine ticfreien Perioden von mehr als drei aufeinanderfolgenden Monaten vorkommen. Der Beginn der Erkrankung liegt in der Kindheit oder der Adoleszenz (Dilling et al., 2005). Im deutschen Sprachraum gilt die Klassifikation nach ICD-10, im angloamerikanischen Sprachraum nach DSM-IV-Kriterien (Tabelle 1-1).

Tabelle 1-1 Diagnosekriterien für das Tourette-Syndrom nach ICD-10 und DSM-IV

<b>ICD-10</b> <b>F95.2 Tourette-Syndrom</b>	<b>DSM-IV</b> <b>307.23 Tourette-Störung</b>
<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Multiple motorische und ein oder mehrere vokale Tics, nicht notwendigerweise gleichzeitig</li> <li>2. Tics bestehen länger als ein Jahr</li> <li>3. Beginn der Erkrankung in Kindheit oder Adoleszenz</li> <li>4. Persistenz der Erkrankung üblicherweise bis ins Erwachsenenalter</li> </ol> <p>(Dilling et al. 2005)</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Multiple motorische Tics und mindestens ein vokaler Tic, nicht notwendigerweise gleichzeitig</li> <li>2. Tics treten in unterschiedlicher Frequenz für einen Zeitraum von mindestens einem Jahr auf, wobei ticfreie Intervalle nicht länger als drei aufeinanderfolgende Monate dauern</li> <li>3. Die Erkrankung führt zu starker innerer Anspannung oder verursacht Beeinträchtigungen in wichtigen Funktionsbereichen</li> <li>4. Erkrankungsbeginn vor dem 18. Lebensjahr</li> <li>5. Die Erkrankung ist nicht medikamentös-toxisch oder organisch bedingt</li> </ol> <p>(APA 2000)</p>

### 1.1.3 Epidemiologie

Exakte epidemiologische Daten sind aufgrund von unterschiedlichen Definitionen unsicher (Möller, 2001). Die Amerikanische Gesellschaft für Psychiatrie schätzt die Prävalenz des Tourette-Syndroms auf 4-5/10.000 Personen, d.h. 0,04-0,05% (APA 2000). Die Prävalenz des Tourette-Syndroms wird bei Kindern und Jugendlichen heutzutage weit höher geschätzt. Robertson et al. beschreiben in einer Metaanalyse über insgesamt 15 Studien, dass die Prävalenz bei Schulkindern, zwischen 5 und 18 Jahren, zwischen 0,4% und 3,8% liegt. Nach einer zusammenfassenden Berechnung gibt Robertson eine Prävalenz von 1% in den meisten Kulturen an (Robertson et al., 2009). Bei Erwachsenen liegt die Prävalenz zwischen 0,3-0,5% (Stern et al., 2005). Das Tourette-Syndrom tritt bei Männern mit einem Verhältnis von 4:1 häufiger auf als bei Frauen (Freeman et al., 2000).

### 1.1.4 Tics

Tics sind anfallsartige, unwillkürliche, schnelle, nichtrhythmische Bewegungen (motorische Tics) oder Lautproduktionen (vokale Tics). Diese können in einfach motorische, komplex motorische, einfach vokale und komplex vokale Tics differenziert werden. Tabelle 1-2 zeigt eine Übersicht über die häufigsten Tics bei Patienten mit Tourette-Syndrom (Müller, 2007; Müller et al., 1995; Pringsheim et al., 2003). Die Koprolalie ist eine Bezeichnung für den zwanghaften Gebrauch obszöner Ausdrücke und sicherlich das einprägsamste Symptom des Tourette-Syndroms. Die Konsequenz dieser Tics äußert sich in einer gesellschaftlichen Stigmatisierung. Allerdings leiden weniger als die Hälfte der Patienten an der Koprolalie (Jankovic, 2001). Tics können meist nur für kurze Zeit willkürlich unterdrückt werden und verstärken sich in Stresssituationen. Oftmals wird vor dem Auftreten eines Tics ein generalisiertes Gefühl der Anspannung empfunden, welches nach dem Tic rückläufig ist. Während des Erkrankungsverlaufs zeigen sich Unterschiede in Ausprägung, Intensität, Frequenz, Art und Lokalisation (APA 2000). Obwohl lange angenommen wurde, dass Tics im Schlaf nicht auftreten, zeigen verschiedene Studien, dass dies in allen Schlafphasen möglich ist (Rothenberger et al. 2001).



*Tabelle 1-2 Beispiele für einfache und komplexe motorische und vokale Tics bei Tourette-Syndrom*

<b>Motorische Tics</b>	<b>Vokale Tics</b>
<p><b>Einfach motorisch</b></p> <p>Blinzeln</p> <p>Schulter zucken</p> <p>Lippen lecken</p> <p>Kopf drehen</p> <p>Grimassieren</p> <p>Schleudern/Zucken von Extremitäten</p>	<p><b>Einfach vokal</b></p> <p>Hüsteln</p> <p>Räuspern</p> <p>Schnüffeln</p> <p>Pfeifen</p> <p>Schniefen</p> <p>Schreien</p>
<p><b>Komplex motorisch</b></p> <p>Touching (Berühren von Personen, Gegenständen oder sich selbst)</p> <p>Echopraxie (Nachahmen von Bewegungen)</p> <p>Selbstverletzungen</p> <p>Komplexe Bewegungsabfolgen</p> <p>Springen, Rückwärtsgehen, flaches Hinlegen</p>	<p><b>Komplex vokal</b></p> <p>Koprolalie (Aussprechen von Wörtern unanständigen, obszönen Charakters)</p> <p>Echolalie (Nachsprechen von Gesagtem fremden Ursprungs)</p> <p>Palilalie (Wiederholen von Wörtern oder Phrasen eigenen Ursprungs)</p> <p>Imitationen von Geräuschen</p>

### 1.1.5 Differentialdiagnosen

Vom Tourette-Syndrom abzugrenzen, sind vorübergehende Ticstörungen (ICD-10: F95.0), die nicht länger als zwölf Monate anhalten und eine chronische motorische oder vokale Ticstörung (ICD-10: F95.1), die länger als ein Jahr dauert, wobei es allerdings entweder zu motorischen oder vokalen Tics kommt. Ist eine exakte Zuordnung zu einer der oben genannten Diagnosen oder zum Tourette-Syndrom nicht möglich, existiert als Restkategorie eine nicht näher bezeichnete Ticstörung (ICD-10: F95.9). Eine Übersicht über weitere Differentialdiagnosen bietet Tabelle 1-3 (Jankovic et al., 2001).

Tabelle 1-3 Übersicht über verschiedene Differentialdiagnosen des Tourette-Syndroms

Primäre Ursachen für Tic-ähnliche Bewegungen	Sekundäre Ursachen für Tic-ähnliche Bewegungen
Dystonien (z. B.: Torticollis spasmodicus, Blepharospasmus etc.)	Tardive Dyskinesien durch z. B.: Antipsychotika, L-Dopa, Antikonvulsiva
Neuroankanthozytose	Tic-ähnliche Bewegungen bei organisch bedingten Hirnschäden (z.B.: Trauma, Raumforderungen, Infektionen, Toxine)
Corea Huntington	
Chorea Sydenham (= Chorea minor)	Tic-ähnliche Störungen bei genetischen Krankheitsbildern (z.B.: Down-Syndrom)
Stoffwechselerkrankungen (z.B.: Morbus Wilson)	Tic-ähnliche Störungen bei autistischen Krankheitsbildern (z.B.: Asperger-Syndrom)
Neurodegenerativen Erkrankungen	Schizophrene Stereotypien

### 1.1.6 Komorbiditäten

Das Tourette-Syndrom ist oftmals mit einer Reihe von psychiatrischen Störungen assoziiert. Am häufigsten sind hier Zwangsstörungen, das Aufmerksamkeitsdefizit-Hyperaktivitätssyndrom (ADHS), affektive Störungen, das Restless-Leg-Syndrom, Angststörungen und Störungen der Impulsivität zu nennen (Riederer et al., 2002). Freeman et al. konnten in ihrer Studie mit 3500 Tourette-Patienten aus 22 Ländern zeigen, dass 88% der Patienten Komorbiditäten aufwiesen (Freeman et al., 2000). Zwischen 40% und 90% der Patienten mit TS leiden an Zwangsstörungen (Müller, 2007). Die Abgrenzung zu komplex motorischen Tics ist hierbei nicht immer eindeutig möglich (Riederer et al., 2002; Freeman et al., 2000), allerdings stehen bei Zwangsstörungen oft die Zwangsgedanken im Vordergrund (Müller et al., 1995). Ob Zwangsstörungen im Rahmen eines Tourette-Syndroms, als Komorbidität oder als Symptom der Grunderkrankung zu sehen sind, ist Diskussionsgrundlage zahlreicher Studien (Robertson, 1989; Kushner, 2008; Olson et al., 2006). Vermutlich liegt einigen Zwangs- und Tic-Störungen ein gemeinsamer genetischer Defekt zugrunde.

## 1.1.7 Ätiologie

Die Ätiologie des Tourette-Syndroms ist bis heute nicht eindeutig geklärt. Am ehesten ist von einer multifaktoriellen Genese auszugehen. Es werden sowohl Umweltfaktoren, immunologische Mechanismen, eine genetische Prädisposition als auch Störungen der Neurotransmitter-Systeme in den Basalganglien diskutiert.

### 1.1.7.1 Neuroanatomie und Bildgebung

Es ist inzwischen eindeutig, dass bei der Entstehung des Tourette-Syndroms anatomische und funktionelle Störungen der Basalganglien und der kortiko-striato-thalamo-kortikalen Regulationssysteme eine wesentliche Rolle spielen. Ursprünglich resultierte dies als Vermutung aus der Beobachtung anderer Bewegungsstörungen wie Chorea Huntington, Chorea Sydenham und Parkinson. Zu den Basalganglien zählt man anatomisch das Striatum (Nucleus caudatus und Putamen), den Globus pallidus und funktionell die Substantia nigra und den Nucleus subthalamicus. Die komplexe Funktion der Basalganglien ist bis heute nur ansatzweise geklärt. Sie scheinen zum einen maßgeblich an der Selektion und Prozessierung von aktuell erforderlichen motorischen Handlungsmustern beteiligt zu sein, zum anderen spielen sie eine bedeutende Rolle bei der Suppression bzw. Inhibition aktuell nicht geforderter und damit zu unterdrückender Aktivierungsmuster. Die Eingangsstation in die Basalganglien stellt das Striatum dar. Seine Funktion besteht hauptsächlich in der Inhibition motorischer Impulse. Es enthält Afferenzen aus dem Kortex, der Substantia nigra über den Transmitter Glutamat (exzitatorisch) und aus dem Thalamus über den Transmitter Dopamin (exzitatorisch). Efferenzen sendet das Striatum zum Globus pallidus und zur Substantia nigra, welche als Ausgangsstation der Basalganglien betrachtet werden können. Von hier gelangt die von den Basalganglien verarbeitete Endinformation mit Hilfe des inhibitorischen Transmitters GABA zum Thalamus und von hier zurück zum frontalen Kortex (Trepel, 1999; Singer und Minzer, 2003). In der aktuellen Forschung werden sowohl morphometrische als auch funktionelle bildgebende Verfahren wie die Positronenemissionstomographie (PET), die Singlephotonenemissionstomographie (SPECT) und die funktionelle Magnetresonanztomographie (fMRI) eingesetzt, um mögliche pathophysiologische Zusammenhänge zu untersuchen. In der Literatur sind zahlreiche Studien zu finden, die Volumenunterschiede in den Basalganglien und in anderen kortikalen Regionen zwischen Tourette-Patienten und gesunden Kontrollen beschreiben. So zeigt sich bei Tourette-Patienten ein reduziertes Nucleus caudatus-Volumen (Singer, 1997; Peterson et al., 2001; Peterson et al., 2003). Ebenso wird ein signifikant größeres Volumen des Hippocampus und der Amygdala nachgewiesen. Die Volumengröße scheint mit dem Alter zu korrelieren, so zeigt sich bei Kindern mit Tourette-Syndrom ein größeres Volumen dieser Hirnregionen im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe und bei Erwachsenen ein kleineres Volumen im Vergleich zu den Gesunden. Des Weiteren ergaben sich Auffälligkeiten bezüglich der Korrelation zwischen Volumen und Schweregrad der Tics

(Peterson et al., 2007). Funktionelle bildgebende Verfahren ermöglichen die Bestimmung der regionalen zerebralen Stoffwechselaktivitäten. So deuten einige PET- und SPECT-Untersuchungen auf eine verminderte Stoffwechselaktivität in den Basalganglien im orbitofrontalen Kortex und im Mittelhirn hin (Braun et al., 1993; Eidelberg et al., 1997). Eine vermehrte Stoffwechselaktivität wurde in sensomotorischen und supplementärmotorischen Bereichen gefunden (Eidelberg et al., 1997; Bohlhalter et al., 2006). Auch Auffälligkeiten in MRT-Untersuchungen im Sinne von Hyperintensitäten im Bereich der Basalganglien und des Thalamus (Amat et al., 2006) werden ebenso wie eine mögliche Beteiligung des Gyrus cinguli an der Entstehung von Tics (Weeks et al., 1996) in der Literatur beschrieben.

### **1.1.7.2 Neurotransmittersysteme**

Eine Beteiligung der verschiedenen Neurotransmitter-Systeme bei Tourette-Syndrom wird aufgrund von erfolgreicher Pharmakotherapie, bildgebenden und neuropathologischen Verfahren angenommen. Es werden Störungen im kortiko-striato-thalamo-kortikalen System vermutet. Hier sind vor allem das dopaminerge, noradrenerge, cholinerge, serotonerge, glutamerge und das GABAerge System betroffen (Jankovic, 2001, Riederer et al., 2002). Das dopaminerge System hat aufgrund der erfolgreichen Therapie mit Neuroleptika eine besondere Bedeutung. Es wurde beobachtet, dass eine durch Neuroleptika verursachte Blockade der postsynaptischen Dopaminrezeptoren eine Reduktion der Tics bewirken konnte (Riederer et al., 2002). Einige Studien weisen auf Auffälligkeiten in den Basalganglien hin. In dieser speziellen Hirnregion ist Dopamin ein wichtiger Botenstoff. Fehlfunktionen äußern sich in extrapyramidalen Störungen wie zum Beispiel in Tics (Dale, 2003). Des Weiteren wurden mit Hilfe von PET- (Positronenemissionstomographie) und SPECT- (Singlephotonenemissionstomographie) Untersuchungen sowohl die striatale Dopaminrezeptordichte als auch die Dichte der präsynaptischen Dopamintransporter untersucht. Die Ergebnisse sind hier jedoch sehr unterschiedlich. In Zusammenschau der Ergebnisse dürften die Dopaminsynthese und die striatalen Dopaminrezeptoren unverändert sein. Eine erhöhte Dichte der präsynaptischen Dopamintransporter konnte von einigen Autoren nachgewiesen werden (Cheon et al., 2004), hat sich aber in anderen Studien nicht bestätigen lassen (Riederer et al., 2002, Stamenkovic et al., 2001). Aufgrund von Methodenunterschieden sowie verschiedenen Einflussfaktoren in den einzelnen Studien existieren teilweise inhomogene Ergebnisse bezüglich der verschiedenen Transmittersysteme und ihrer Beteiligung an der Pathogenese des Tourette-Syndroms. Ein Zusammenspiel von mehreren Transmittersystemen durch komplexe Wechselwirkungen untereinander wäre bei der Entstehung und Unterhaltung des Tourette-Syndroms durchaus denkbar.

### **1.1.7.3 Neurophysiologie**

Zahlreiche neurophysiologische Verfahren, wie Elektroencephalographie (EEG), Elektromyographie (EMG), evozierte Potentiale (ERP= event related potentials) und

somnographische Untersuchungen wurden bereits durchgeführt. Basierend auf den Ergebnissen einer ERP-Studie von O'Connor et al. wird eine veränderte Modulation von motorischen Aktivierungs- und Inhibitions-Systemen angenommen. In EEG-Untersuchungen konnte allerdings kein passendes pathologisches Korrelat ausfindig gemacht werden. Des Weiteren ließen sich bei den Tourette-Patienten vermehrt Schlafstörungen sowie eine veränderte Schlafqualität nachweisen (Singer und Minzer, 2003).

#### **1.1.7.4 Genetik**

Eine genetische Transmission ist trotz bisher ungeklärtem Übertragungsmechanismus anzunehmen. Hierfür sprechen Zwillings- und Familienuntersuchungen, welche Konkordanzraten von 89-94% beschreiben (Hyde et al., 1992). In einer weiteren Studie wurden Konkordanzraten von 53% bei monozygoten und 8% bei dizygoten Zwillingen beschrieben. Nach einer Erweiterung der Diagnosekriterien um jegliche Art von Tic-Störung in einer Verlaufsuntersuchung erhöhten sich die Konkordanzraten bei monozygoten Zwillingen auf etwa 80% und bei dizygoten Zwillingen auf etwa 20% (Price et al., 1985). Dieser Befund unterstützt die Annahme, dass sowohl genetische als auch nicht-genetische Faktoren wie zum Beispiel Umweltfaktoren in Hinblick auf die Ätiologie und phänotypische Ausprägung von Tic-Störungen eine Rolle spielen. Man geht heute davon aus, dass es sich wahrscheinlich um einen autosomal dominanten Erbgang mit unterschiedlicher Expression handelt. Zum anderen ist die Penetranz zwischen den Geschlechtern sehr unterschiedlich. So scheint sich die Erkrankung bei Jungen stärker zu manifestieren. Alternativ wird ein kombiniertes additives genetisches Modell mit einem Hauptlocus diskutiert. Bisher wurden verschiedene Kandidatengene ohne ausreichenden Erfolg untersucht, insbesondere Gene des dopaminergen Systems einschließlich des Dopamintransporters sowie verschiedene Gene des noradrenergen und serotonergen Systems (Leckmann, 2002).

#### **1.1.7.5 Immunologie und Umweltfaktoren**

Neben genetischen Mechanismen scheinen Umwelteinflüsse wie bakterielle und virale Infektionen, postinfektiöse Immunreaktionen und Autoimmunprozesse zumindest bei einer Untergruppe von Tourette-Patienten an der Entstehung und Manifestation der Erkrankung beteiligt zu sein. In der Literatur werden mögliche Zusammenhänge zwischen Tourette-Syndrom und bakteriellen Infektionen wie Lyme Borreliose (Riedel et al., 1998), Mykoplasmeninfektionen (Müller et al., 2000a, 2004) und Streptokokkeninfektionen (Müller et al., 2000b) diskutiert. Auch Zusammenhänge mit viralen Infektionen wurden untersucht (Budmann et al., 1997). Die Chorea Sydenham, auch als Chorea minor bezeichnet, ist eine neuropsychiatrische Erkrankung mit postinfektiöser Genese. Sie ist eine mögliche Manifestationsform des rheumatischen Fiebers und tritt nach einer Infektion mit beta-hämolyisierenden Streptokokken der Gruppe A auf. Es können unter anderem Symptome wie Hyperkinesien, aber auch motorische und vokale Tics, Zwangs- und ADH-Symptome beobachtet

werden. Demnach wäre eine gemeinsame Ätiologie der Chorea Sydenham und des Tourette-Syndroms durchaus denkbar. Müller und Kollegen konnten in diesem Zusammenhang erhöhte Antistreptolysin-O und Anti-DNase-Titer bei Tourette-Patienten im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe nachweisen (Müller et al., 2000b). Des Weiteren fand man signifikant erhöhte Antikörper gegen die mit dem zentralen Nervensystem (ZNS) kreuzreagierenden Streptokokkenproteine M12 und M19 bei Tourette-Patienten, wohingegen Antikörper gegen M1, M4 und M6, welche nicht mit ZNS-Strukturen reagieren, keine Signifikanzen gegenüber gesunden Probanden aufwiesen (Müller et al., 2001). Seit einigen Jahren wird das sogenannte PANDAS-Syndrom (Pediatric Autoimmune Neuropsychiatric Disorders associated with Streptococcal infection) als Entstehungsmechanismus für das Tourette-Syndrom oder für Zwangserkrankungen im Kindesalter diskutiert. Die Datenlage hierzu ist allerdings recht inhomogen. Folgende Kriterien müssen erfüllt sein: Vorhandensein von Zwangssymptomen und/oder Tics, Manifestation in der Kindheit, ein episodischer Verlauf, ein zeitlicher Zusammenhang von Infektionen mit Streptokokken der Gruppe A und Symptomverschlechterung, choreoforme Bewegungen während der Symptomverschlechterung (Swedo et al., 1998; Singer et al., 2008; Leslie et al., 2008). Dieses Konzept muss kritisch betrachtet werden, da für die Diagnosestellung kein Nachweis des Anti-Streptokokken-Titers gefordert wird. Des Weiteren ist das PANDAS-Konzept sehr eng begrenzt, da es sich ausschließlich auf Kinder/Jugendliche und nur auf eine Infektion mit Streptokokken bezieht und so andere bakterielle Infektionen wie oben beschrieben ausgrenzt (Müller, 2007). Ein weiterer Hinweis für eine autoimmune Genese ist der Nachweis von erhöhten antinukleären und antineuronalen Antikörpern bei Tourette-Patienten. Die Datenlage ist hier allerdings, nicht zuletzt durch methodische Unterschiede, sehr inkonstant (Martino et al., 2009). Ebenso konnten Kawikova et al. eine verminderte Anzahl an regulatorischen T-Zellen (Treg) in einem Untersuchungskollektiv aus Kindern mit Tourette-Syndrom und/oder einer Zwangserkrankung im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe nachweisen. Dies lässt vermuten, dass Tourette-Syndrom-Patienten nur eingeschränkt in der Lage sind Autoaktivierungen des Immunsystems zu unterdrücken (Kawikova et al., 2007). Auch entzündungshemmende und immunmodulatorische Therapieansätze in der Pharmakotherapie des Tourette-Syndroms (siehe Kapitel 1.1.8) stützen die Hypothese einer entzündlichen oder postentzündlichen Pathogenese.

In den letzten Jahren wurden Zytokinuntersuchungen bei Tourette- und Zwangspatienten durchgeführt. Eine durch Zytokine induzierte neuronale Dysfunktion bei Tourette-Patienten ist bisher allerdings nicht bewiesen. In Anbetracht dieser Datenlage wurde der Fokus dieser Arbeit vor allem auf proinflammatorische Zytokine und Rezeptorexpressionen des angeborenen Immunsystems gelegt. Leckmann und Kollegen konnten erhöhte Konzentrationen von Tumor-Nekrose-Faktor-alpha (TNF- $\alpha$ ) und Interleukin-12 (IL-12) zeigen (Leckmann et al., 2005). Es existieren Berichte über eine erniedrigte Konzentration von TNF- $\alpha$  und Interleukin-1 (IL-1) bei Zwangspatienten.

ten (Denys et al., 2004; Monteleone et al., 1998; Brambilla et al., 1997). In einer aktuellen post-mortem-Studie wurden die Basalganglien von Tourette-Patienten und gesunden Probanden hinsichtlich verschiedener Genexpressionen untersucht. Es wird über eine erhöhte Expression von Genen, welche inflammatorische Faktoren wie MCP-1 (monocyte- chemotactic-protein-1) und Interleukin-2 (IL-2) kodieren, berichtet. Dies unterstützt den Verdacht auf eine mögliche Beteiligung eines chronischen Entzündungsprozesses in den Basalganglien von Tourette-Patienten (Morer et al., 2010) (siehe auch Kapitel 4.2.1).

#### **1.1.7.6 Tiermodelle**

Es gibt keine Tiermodelle des Tourette-Syndroms im Sinne von Knock-out Mäusen, daher sind kontrollierte Experimente schwierig und Studien mit unmittelbaren Manipulationen des Gehirns unmöglich. Hallett et al. und Taylor et al. konnten durch intrastriatale Mikroinfusion von Serum oder IgG von Tourette-Patienten in Ratten eine veränderte neuronale Funktion in den Basalganglien auslösen. Die Tiere zeigten sowohl motorische Stereotypen wie z. B. Zunge lecken oder Kopfschütteln (Taylor et al., 2002), als auch Vokalisationen (Hallett et al., 2000). Auch eine Infusion von Serum von Tourette-Patienten in denen erhöhte antinukleäre und antineuronale Antikörperkonzentrationen nachgewiesen werden konnten, führten bei den infundierten Ratten zu oralen Stereotypen (Taylor et al., 2002). Die Ergebnisse waren in anderen Studien nicht replizierbar (Loiselle et al., 2004; siehe auch: Swerdlow und Sutherland, 2005). Zudem wurde das PANDAS-Konzept (siehe Kapitel 1.1.7.5) mit Hilfe von Tierversuchen untersucht. So wurden Mäuse mit  $\beta$ -hämolyisierenden Streptokokken der Gruppe A immunisiert. Die Tiere zeigten eine Hyperaktivität, welche mit IgG-Ablagerungen in verschiedenen Hirnregionen korrelierte. Dies würde die Vermutung stützen, dass Antikörper gegen  $\beta$ -hämolyisierenden Streptokokken der Gruppe A mit Gehirnstrukturen kreuzreagieren und so bei der Entstehung von neuropsychiatrischen Erkrankungen wie auch dem Tourette-Syndrom eine entscheidende Rolle spielen (Hoffmann et al., 2004).

#### **1.1.8 Therapie**

Die Behandlung des Tourette-Syndroms erfolgt aufgrund der bisher ungeklärten Ätiologie rein symptomatisch. Eine ursächliche Behandlung oder gar Heilung ist somit noch nicht möglich. Im Folgenden soll in Anlehnung an den aktuellen Stand der Forschung ein Überblick über mögliche Therapieansätze und Behandlungsstrategien des Tourette-Syndroms gegeben werden. Eine medikamentöse Therapie sollte vor allem dann erfolgen, wenn eine subjektive Belastung des Patienten besteht, Tics stark ausgeprägt oder störend sind oder wenn Komplikationen wie zum Beispiel Selbstverletzung drohen. Als Therapieoption erster Wahl sind die Neuroleptika (Dopaminantagonisten) zu nennen. Hier haben sich einige Substanzen wie Tiaprid, Pimozid, Risperidon, Sulpirid, Haloperidol und Olanzapin als wirksam erwiesen. Al-

lerdings sind bei fast allen Substanzen eine Reihe von Nebenwirkungen bekannt. So gilt Haloperidol seit vielen Jahren als wirksam, die Einnahme ist jedoch mit vielen negativen Begleiterscheinungen, wie zum Beispiel extrapyramidalen Syndromen oder Spätdyskinesien verbunden. Die Behandlung mit Olanzapin zeigt nicht nur eine Reduktion der Tics, sondern scheint sich auch positiv auf Zwangssymptome auszuwirken und tendenziell weniger Nebenwirkungen als andere Präparate wie zum Beispiel Pimozid zu haben (van den Eynde et al., 2005). Auch Sulpirid (Robertson et al., 1990) und Risperidon (Robertson et al., 2000) werden in Studien mit einer positiven Wirkung auf Tics beschrieben. In einer Studie von Gilbert et al. war Risperidon bei Tic-Erkrankungen gegenüber Pimozid überlegen (Gilbert et al., 2004). Therapieversuche mit Clonidin, einem Alpha-2-Rezeptoragonisten wirkten sich zunächst positiv aus und zeigten eine Reduktion der Tics, allerdings wurde nach plötzlichem Absetzen des Medikaments eine paradoxe Zunahme der Tics beobachtet (Leckmann et al., 1985, 1986, 1991; Kessler et al., 2001; Sandor, 2003). Des Weiteren ließen sich Erfolge mit intramuskulären Injektionen von Botulinumtoxin verzeichnen (Marras et al., 2001; Sandor, 2003). Ebenso erwies sich Delta-9-Tetrahydrocannabinol (THC) (Müller-Vahl et al., 2003; Müller-Vahl, 2003) und Pergolid, ein Dopaminagonist (Gilbert et al., 2000), als wirksam bezüglich einer Reduktion von motorischen und vokalen Tics. Von großer Bedeutung sind auch psychotherapeutische Behandlungsmethoden, progressive Muskelrelaxation, autogenes Training und das Erlernen von Bewältigungsstrategien (Müller, 2007). Bei therapierefraktären Patienten stehen heutzutage alternative Therapieansätze wie Elektrokrampftherapie (Strassnig et al., 2004), repetitive transkranielle Magnetstimulation (Mantovani et al., 2006, 2007, 2010), neurochirurgische Eingriffe (Temel und Visser-Vandewalle, 2004), tiefe Hirnstimulation (DBS = deep brain stimulation) (Visser-Vandewalle, 2006, 2007; Servello et al., 2008) zur Verfügung. Angesichts der Tatsache, dass Infektionen und postinflammatorische Reaktionen an der Entstehung und Ausprägung des Tourette-Syndroms beteiligt sein könnten, spielen vor allem entzündungshemmende und immunmodulatorische Therapieansätze eine bedeutende Rolle. Erfolgreiche Behandlungsversuche mit Antibiotika werden in der Literatur mehrfach beschrieben (Snider et al., 2005; Riedel et al., 1998; Murphy et al., 2002). Auch der entzündungshemmende Cyclooxygenase-2-Hemmer (COX-2-Inhibitor) (Müller, 2004), Plasmapherese (Perlmutter et al., 1999) und Immunglobulintherapie (Perlmutter et al., 1999; Müller et al., 1997) hatten auf einen Teil der Tourette-Patienten positive Auswirkungen.



## 1.2 Immunologie

### 1.2.1 Angeborenes und erworbenes Immunsystem

Die Funktion des Immunsystems ist es, den Organismus vor Infektionen zum Beispiel durch Bakterien, Viren, Pilze, Parasiten und Tumorzellen zu schützen. Man unterscheidet eine angeborene und eine erworbene Immunantwort. Die angeborene Immunantwort dient der ersten Abwehr von Krankheitserregern, wobei keine spezifische Erkennung der Erreger erfolgt und auch kein gezielter Schutz gegen eine erneute Infektion (= immunologisches Gedächtnis) aufgebaut wird. Hauptbestandteile des angeborenen Immunsystems sind die Phagozyten (Monozyten, Makrophagen und Granulozyten), akzessorische Zellen, verschiedene chemische Botenstoffe (z.B.: Zytokine) und das Komplementsystem. Gelingt es dem angeborenen Immunsystem nicht, den Erreger einzudämmen, kommt es zur Auslösung einer spezifischen Immunabwehr. Diese zeichnet sich durch die Spezifität der Antigenerkennung und durch das immunologische Gedächtnis aus. Das erworbene Immunsystem besteht aus den beiden Komponenten von zellulärer und humoraler Immunität. Die Effektoren der zellulären Immunität sind T-Lymphozyten, während B-Lymphozyten die Effektoren der humoralen Immunität darstellen. Alle hämatopoetischen Zelltypen entstehen aus pluripotenten hämatopoetischen Stammzellen im Knochenmark. Die lymphatische Stammzelle ist Vorläufer sowohl der B- als auch der T-Lymphozyten. Das Knochenmark ist wesentlicher Ort der Reifung von B-Zellen, Monozyten, Makrophagen und Granulozyten. T-Zell-Vorläufer befinden sich zur Reifung im Thymus. Nach der Reifung besiedeln die verschiedenen Zellen periphere Lymphorgane wie Lymphknoten, Milz und das MALT = mucosa associated lymphoid tissue (Tonsillen, Peyer-Plaques, Appendix, Schleimhäute) und verbleiben dort bis es zu einer Aktivierung durch Antigene kommt. Voraussetzung jeder Lymphozytenaktivierung ist die Präsentation von Antigenen durch Antigen-präsentierenden Zellen (APC) mittels eines spezifischen Rezeptors des MHC (major histocompatibility complex) (siehe Kapitel 1.2.3) (Janeway et al., 2002; Vollmar und Dingermann, 2005; Dietel et al., 2005)

### 1.2.2 Monozyten

Monozyten sind im Blut zirkulierende Zellen der angeborenen Immunität. Sie stammen der myeloiden Zellreihe ab und sind Vorläufer der in Gewebe lokalisierten Makrophagen. Diese zerstören körperfremde Strukturen durch Phagozytose und aktivieren mittels Antigenpräsentation die erworbene Immunabwehr. Monozyten haben eine Lebensdauer von ein bis drei Tagen, bevor sie die periphere Zirkulation verlassen und in Gewebe einwandern. Nach Ausdifferenzierung zu Makrophagen leben sie mehrere Wochen bis Monate. Monozyten besitzen verschiedene Rezeptoren und Oberflächenmoleküle, die unter anderem eine wichtige Rolle in der autokrinen und parakrinen Zellkommunikation spielen und zur Unterscheidung der einzelnen Zellpopulationen dienen. Diese Zelloberflächenmoleküle werden als Lymphozytenmarker

bezeichnet und durch die CD-Nomenklatur (CD = Cluster of Differentiation) vereinheitlicht. Da bisher kein Oberflächenmarker bekannt ist, der ausschließlich auf Monozyten expremiert wird, müssen Kombinationen von Oberflächenmarkern verwendet werden, um die Monozyten im Durchflusszytometer eindeutig zu identifizieren. Klassische Monozyten sind durch CD45 (Panleukozytenmarker), CD14 und HLA-DR gekennzeichnet. Folgende Tabelle gibt einen Überblick über in dieser Arbeit verwendete Oberflächenmoleküle.

*Tabelle 1-4 Übersicht über in dieser Studie verwendete Oberflächenmoleküle (Janeway et al., 2002)*

CD-Antigen	Expression	Funktion	Familie	Isotyp
CD14	Myelomonozytische Zellen	Rezeptor für den Komplex aus Lipopolysaccharid (LPS) und lipopolysaccharidbindendem Protein (LBP)		
CD33	Myeloide Vorläuferzellen, Monozyten	Bindet Sialyl-Konjugate	Immunglobulin	
CD45	Alle hämatopoetischen Zellen	Tyrosinphosphatase; erhöht die Signalvermittlung über den Antigenrezeptor von B- und T-Zellen	Fibronectin Typ III	LCA = leukocyte common antigen

Neben ihrer Aufgabe als Antigen-präsentierende Zellen, haben Monozyten eine Reihe weiterer wichtiger Funktionen in der Initiierung von Immunantworten des erworbenen Immunsystems wie zum Beispiel LPS-Bindung, Sekretion von Zytokinen, die eine zentrale Rolle in der antigenspezifischen Aktivierung von B- und T-Lymphozyten spielen. (siehe Kapitel 1.2.4). Auch die Expression von Toll-like-Rezeptoren (siehe 1.2.5), die essentiell an der Signalübertragung zur Abwehr von Entzündungszeichen beteiligt sind, wird von Monozyten und Makrophagen gewährleistet (Janeway et al., 2002; Dietel et al., 2005; Vollmar und Dingermann, 2005).

### 1.2.3 HLA-DR

Das Haupthistokompatibilitätssystem (Major Histocompatibility Complex = MHC) des Menschen wird als HLA-System (Human leucocyte antigen) bezeichnet. T-Lymphozyten verfügen über Rezeptoren (TCR), die prozessierte Antigene erkennen. Die Präsentation dieser Antigenfragmente erfolgt durch Antigen-präsentierende Zellen (APC) mit Hilfe von Glykoproteinen des MHC. Zu den APC gehören dendritische Zellen, Makrophagen, Monozyten und B-Lymphozyten. Die MHC-Moleküle werden in zwei Klassen unterteilt. MHC-Klasse-I-Moleküle (HLA-A, -B, -C) befinden sich auf allen kernhaltigen Zellen und präsentieren zytoplasmatische Antigene wie zum Beispiel virale Proteine für CD8-positive T-Zellen (zytotoxische T-Zellen). MHC-Klasse-II-Moleküle (HLA-DR, -DP, -DQ) kommen nur auf professionellen APC vor und präsentieren extrazelluläre Antigene wie zum Beispiel Bakterien oder Toxine für CD4-positive T-Lymphozyten (T-Helferzellen) (Janeway et al., 2002; Schütt und Bröker, 2006; Ferenčík et al., 2006).

### 1.2.4 Zytokine

Zytokine sind Glykoproteine, die von unterschiedlichen Zellen des Organismus freigesetzt werden und über ihre Bindung an spezifische Rezeptoren verschiedene Reaktionen auslösen. Sie induzieren vor allem die Proliferation und Differenzierung von Zielzellen und haben sowohl autokrine als auch parakrine Eigenschaften. Einige stimulieren die Hämatopoese und werden als Wachstumsfaktoren bezeichnet, andere spielen eine wichtige Rolle für immunologische Reaktionen und werden dann Mediatoren genannt. Es werden im Wesentlichen fünf Hauptgruppen von Zytokinen unterschieden: Interferone, Interleukine, kolonie-stimulierende Faktoren, Tumornekrosefaktoren und Chemokine (Janeway et al., 2002; Vollmar und Dingermann, 2005).

#### 1.2.4.1 Tumor-Nekrose-Faktor-alpha (TNF- $\alpha$ )

Tumornekrosefaktoren spielen eine zentrale Rolle bei der Eindämmung von lokalen Entzündungsprozessen. TNF-alpha wird vor allem von Monozyten, Makrophagen und aktivierten T<sub>H</sub>1-Zellen produziert. So gut wie alle Zellen des menschlichen Organismus scheinen Rezeptoren für TNF- $\alpha$  zu besitzen, so dass es eine Vielzahl von biochemischen Prozessen auslösen kann. So führt eine Aktivierung der Zielzelle zur Induktion verschiedener Gene, die zur Entzündungsreaktion, Akut-Phase-Reaktion der Leber, Freisetzung proinflammatorischer Zytokine wie IL-1 $\beta$  und IL-6, Erhöhung der Gefäßpermeabilität und dadurch bedingte Steigerung der Leukozytenmigration beitragen. Des Weiteren fördert TNF- $\alpha$  die Proliferation aktivierter B- und T-Lymphozyten, aktiviert Monozyten und Makrophagen und erhöht die Phagozytosefähigkeit, die Bildung von Sauerstoffradikalen und niederermolekularen Mediatoren wie Prostaglandin und den Plättchen-aktivierenden Faktor. Kommt es im

Rahmen der Infektion zu einer Kontaminierung des Blutkreislaufs und somit zur Sepsis, hat die systemische Freisetzung von TNF- $\alpha$  schwere Komplikationen wie die Auslösung eines septischen Schocks oder einer disseminierten, intravasalen Gerinnung zur Folge (Janeway et al., 2002; Vollmar und Dingermann, 2005).

#### **1.2.4.2 Interleukin-1 (IL-1)**

IL-1 wird hauptsächlich von Monozyten, Makrophagen und Endothelzellen produziert und besteht aus den beiden Untereinheiten IL-1 $\alpha$  und IL-1 $\beta$ . Zusammen mit dem IL-1-Rezeptorantagonisten (IL-1-ra), der die proinflammatorische Wirkung von IL-1 verhindert, bildet es ein hochempfindliches System. Neben der Beteiligung an der Akut-Phase-Reaktion und Eigenschaft als endogenes Pyrogen spielt eine Störung des oben genannten Systems eine entscheidende Rolle bei chronischen Entzündungen wie zum Beispiel Arthritiden (Arend, 2001; Janeway et al., 2002).

#### **1.2.4.3 Interleukin-6 (IL-6)**

IL-6 wird von Monozyten, Makrophagen, T-Zellen und Endothelzellen produziert und spielt eine zentrale Rolle in der Differenzierung von B- und T-Lymphozyten. Durch Anwesenheit von IL-6 reifen die B-Zellen zu Plasmazellen und werden zur Produktion von Immunglobulinen (IgM, IgG, IgA) angeregt. In T-Helferzellen wird die Produktion weiterer Zytokine aktiviert. Zusätzlich ist IL-6 zusammen mit IL-1 und TNF-alpha an der Auslösung der Akut-Phase-Reaktion und an der Entstehung von Fieber beteiligt (Janeway et al., 2002). Siehe auch Abbildung 1-1.

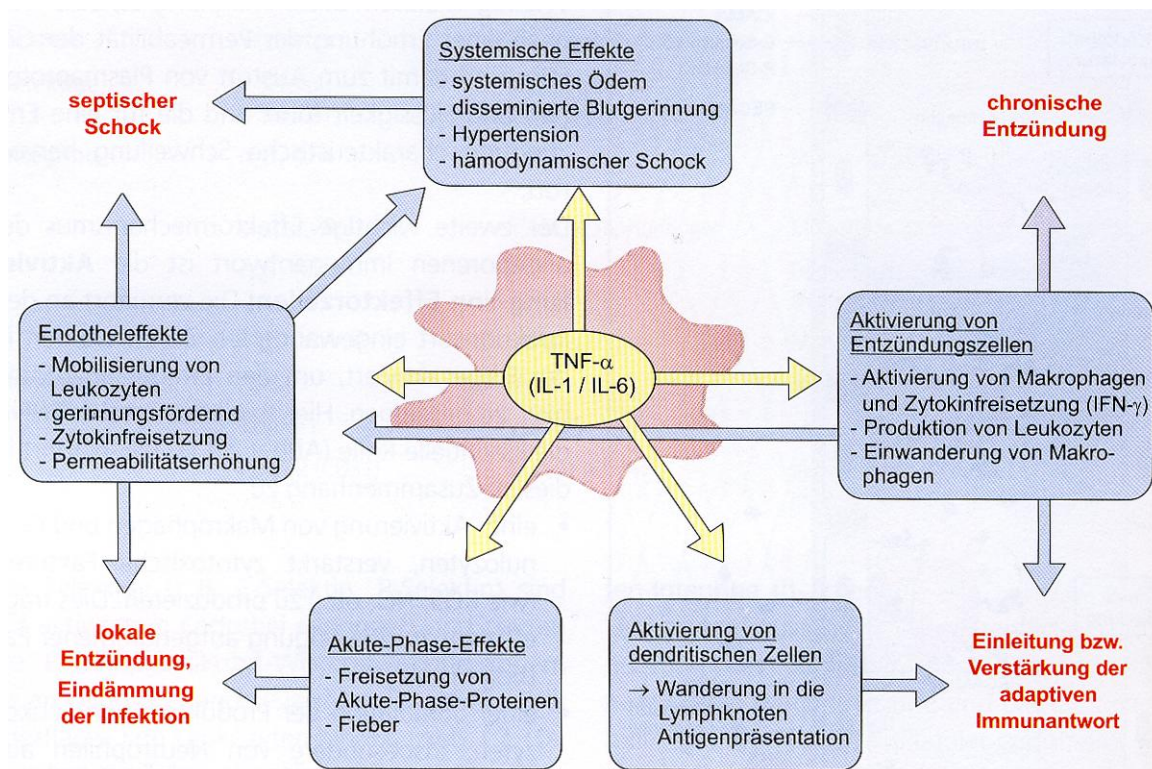


Abbildung 1-1 Haupteffekte von TNF-α, IL-1 und IL-6 und ihre pathogenen Auswirkungen (Vollmar und Dingermann, 2005)

### 1.2.4.4 Interleukin-10 (IL-10)

IL-10 wird von Monozyten, Makrophagen und T<sub>H</sub>2-Zellen gebildet, ist ein wirksamer Inhibitor von Makrophagenfunktionen und schützt so den Körper davor, sich durch überschießende Entzündungsreaktionen selbst zu zerstören. IL-10 ist somit eines der bedeutendsten antientzündlichen Zytokine und wichtig zur Entwicklung der Immuntoleranz. Es hemmt die Bildung der proinflammatorischen Interleukine (IL-1, IL-2, IL-6 und TNF-α) in antigenpräsentierenden Zellen und damit die Aktivierung von T-Lymphozyten, gleichzeitig wirkt es fördernd auf die Proliferation und Differenzierung von B-Lymphozyten (Janeway et al., 2002; Dietel et al., 2005). Grütz konnte in seiner Studie zeigen, dass myeloide Zellen, die mit IL-10 behandelt wurden, nicht mehr in der Lage waren, auf den Stimulus durch das Endotoxin Lipopolysaccharid (LPS) mit einer Produktion von proinflammatorischen Zytokinen zu reagieren (Grütz, 2005).

### 1.2.5 Toll-Like-Rezeptoren (TLR-2, TLR-3, TLR-4)

Toll-Like-Rezeptoren sind Teil der angeborenen Immunantwort und haben ihre Aufgabe in der Signalübertragung, d.h. in der Induktion von Entzündungsreaktionen. Sie gehören zur Gruppe der PRR (Pattern Recognition Receptors) und dienen der Erkennung von PAMPs (Pathogen Associated Molecular Patterns), welche Bestandteil von Krankheitserregern sind. In Säugetieren kommen ungefähr dreizehn verschiede-

ne TLR vor. Sie unterscheiden sich in ihrer Funktion, durch ihre Ligandenspezifität und durch die Notwendigkeit bestimmter akzessorischer Proteine. Nach Bindung an einen Liganden kommt es zur Aktivierung unterschiedlicher Gene, deren Produkte sowohl die angeborene aber auch die erworbene Immunantwort beeinflussen. Die den TLR nachgeschaltete intrazelluläre Signaltransduktion ist komplex und schließt intrazelluläre Proteine wie den Myeloid-Differenzierungsfaktor 88 (MyD88), die IL-1-Rezeptor assoziierten Kinasen (IRAK) 1-4 und den TNF- $\alpha$ -Rezeptor (TRAF) 6 ein. Die durch diese Moleküle gebildete Signalkaskade führt zur Aktivierung des Transkriptionsfaktors NF- $\kappa$ B (Akira et al., 2006). Die Aktivierung von NF- $\kappa$ B führt letztendlich zur Freisetzung proinflammatorischer Moleküle wie TNF- $\alpha$ , Stickstoffoxid (NO) und verschiedener Interleukine, die die Grundlage entzündlicher Prozesse sind. In dieser Arbeit wurden drei TLR genauer untersucht. Der TLR-4 signalisiert das Vorhandensein von LPS, welches in gramnegativen Bakterien vorkommt, durch Assoziation mit CD14, dem Makrophagenrezeptor für LPS. Der TLR-2 signalisiert das Vorhandensein einer Gruppe von mikrobiellen Bestandteilen, beispielsweise der Proteoglykane grampositiver Bakterien. Die breite Erkennungsfähigkeit von TLR-2 lässt sich zum Teil durch seine Kooperationsfähigkeit mit zwei weiteren TLR (TLR-1, TLR-6) erklären. Der TLR-3 wird fast ausschließlich von dendritischen Zellen gebildet und erkennt virale doppelsträngige RNA (Janeway et al., 2002).

### 1.3 Problemstellung

Die Ätiologie des Tourette-Syndroms ist bis heute ungeklärt. In der aktuellen Forschung werden mögliche Zusammenhänge des Tourette-Syndroms untersucht. Insbesondere sind in der Literatur verschiedene Hypothesen bezüglich immunologischer Veränderungen beim Tourette-Syndrom beschrieben. Ferner verweist die Literatur darauf, dass Syndromen unterschiedliche Ursachen zugrunde liegen können. Somit existieren möglicherweise Untergruppen von Patienten mit Tourette-Syndrom, denen unterschiedliche Krankheitsbilder zu Grunde liegen und deren Ursachen differenziert zu betrachten sind.

Ziel dieser Arbeit ist die Untersuchung des monozytären Systems vor und nach Simulation einer bakteriellen bzw. viralen Infektion, um Hinweise auf Veränderungen der angeborenen Immunität bei Tourette-Syndrom-Patienten oder deren Untergruppen zu erhalten.

Zur Erreichung des Ziels wurden in dieser prospektiven Studie mit Hilfe der Vierfarben-Durchflußzytometrie Monozytensubpopulationen dargestellt und ausgewertet. Besonderes Augenmerk wurde auf die Betrachtung der intrazellulären Konzentrationen von Zytokinen (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10) und die Expression von Toll-like-Rezeptoren (TLR-2, TLR-3, TLR-4) und HLA-DR im unstimulierten Zustand im Vergleich zum aktivierten Zustand nach Simulation einer bakteriellen oder viralen Stimulation gelegt. Als Modell für eine bakterielle bzw. virale Infektion diente eine in-vitro-Stimulation mit LPS (bakteriell) und Poly I:C (viral). Daneben wurden, in einer weiteren Doktorarbeit das große Blutbild und bestimmte Parameter der klinische Chemie bestimmt, sowie der Schweregrad der Erkrankung und assoziierte Komorbiditäten mittels Anamnese und dem Einsatz von Fragebögen (Yale Global Tic Severity Scale = YGTSS) ermittelt.

Die Gruppe der 33 untersuchten Tourette-Patienten wurde mit einer Kontrollgruppe von 31 gesunden Probanden verglichen, die aus Gründen der Objektivität eine ähnliche Alters- und Geschlechtsverteilung aufweisen. Um möglichst detaillierte Erkenntnisse über die einzelnen Parameter zu erhalten, erfolgt ferner die Bildung verschiedener Untergruppen. Es werden Unterscheidungen bezüglich medikamentöser Therapien vorgenommen, da diese mit dem Neurotransmitter- und Immunsystem in Wechselwirkung stehen können. Des Weiteren werden Untergruppen zur Beurteilung der Auswirkung vorhandener Komorbiditäten gebildet. Die erzielten Ergebnisse wurden hinsichtlich der verwendeten Methoden bewertet. Auf ihre Reproduzierbarkeit wurde Wert gelegt, um zusätzliche Absicherungen mit größerem Datenumfang zu unterstützen.

## **2 Material und Methoden**

### **2.1 Patienten und Probanden**

Die Untersuchung wurde von der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität genehmigt. Von November 2006 bis November 2007 nahmen insgesamt 33 Tourette-Patienten und 31 gesunde Probanden teil. Die Patienten und Probanden wurden über die Ziele und Inhalte der Untersuchung aufgeklärt und gaben ihr freiwilliges Einverständnis zur Teilnahme. Einschlusskriterien waren für die Patienten das Vorliegen eines Tourette-Syndroms nach den Diagnosekriterien des ICD-10 oder des DSM-IV und die Einwilligungsfähigkeit. Ausschlusskriterien waren sowohl in der Gruppe der Tourette-Patienten, als auch in der Kontroll-Gruppe das Vorliegen von akuten Infektionen, schweren körperlichen, neurologischen und psychischen Erkrankungen. In der Kontrollgruppe durften keine Ticstörungen und sonstigen psychischen Erkrankungen vorliegen. Es erfolgte eine genaue Anamnese bezüglich Medikamenteneinnahme wie z. B.: Antibiotika, Immunglobuline, etc. (siehe Anhang I) und Vorerkrankungen wie z. B.: Allergien, Autoimmunerkrankungen, Infektionserkrankungen, Drogen-/Alkohol- und Nikotinkonsum und sonstigen organischen, neurologischen oder psychischen Erkrankungen, sowie eine Familien- und Sozialanamnese. Des Weiteren wurde ein großes Blutbild angefertigt und weitere Laborparameter der klinischen Chemie erhoben, um akute Entzündungen und organische Erkrankungen auszuschließen. In dieser Studie wurden zur Erfassung des Schweregrades der Erkrankung und zur Erfassung von Komorbiditäten verschiedene Fragebögen eingesetzt (Siehe Tabelle 2-1). Die Auswertung der Anamnesedaten, des großen Blutbilds und der Laborparameter der klinischen Chemie erfolgten im Rahmen einer weiteren Dissertation.



*Tabelle 2-1 Übersicht über in dieser Studie verwendeten Fragebögen zur Beurteilung des Schweregrades der Erkrankung und der Komorbiditäten*

	Tourette-Patienten	gesunde Probanden
Schweregrad der Erkrankung	Yale Global Tic Severity Scale (YGTSS)	Clinical Global Impression (CGI)
Fragebögen zur Komorbidität	<p><b>Erwachsene:</b></p> <p>Beck Depression Inventory (BDI)</p> <p>Yale-Brown Obsessive Compulsive Scale (Y-BOCS)</p> <p>Adult ADHD Self-Report-Scale (ASRS)</p> <p>State-Trait Anxiety Inventory for Adults (STAI)</p> <p><b>Kinder:</b></p> <p>Children Yale-Brown Obsessive Compulsive Scale (CY-BOCS)</p> <p>ADHD-Rating Scale-IV (ADHD-RS-IV)</p>	

## 2.2 Material

### 2.2.1 Labormaterialien

Chemikalien zur Stimulation der Proben:

*Tabelle 2-2 Chemikalien zur Durchführung der Stimulation*

Material	Firma	Lagerung
Lipopolysaccharid (LPS) 1mg (Verwendung siehe Kapitel 2.3.1.2)	Sigma	Kühlschrank 4°C
Polyinosinic-polycytosilic acid sodium salt gamma irradiated (Poly I:C)10mg	Sigma	Gefrierschrank -20°C

(Verwendung siehe Kapitel 2.3.1.2)		
Brefeldin A Solution (BFA) (Verwendung siehe Kapitel 2.3.1.2)	NatuTec	Gefrierschrank -20°C

Chemikalien zum Färben der Proben:

*Tabelle 2-3 Chemikalien zum Färben der Proben*

<b>Material</b>	<b>Firma</b>	<b>Lagerung</b>
PBS	Eigenherstellung siehe Kapitel 2.3.1.2	Kühlschrank 4°C
PFA	Eigenherstellung siehe Kapitel 2.3.1.2	Kühlschrank 4°C
Lysing Solution (vor Gebrauch Verdünnung 1:10 mit destilliertem Wasser)	Becton&Dickinson	Kühlschrank 4°C
FACS Permeabilizing Solution (vor Gebrauch Verdünnung 1:10 mit destilliertem Wasser)	Becton&Dickinson	Raumtemperatur
Destilliertes Wasser		Kühlschrank 4°C

Verbrauchsmaterialien:

*Tabelle 2-4 Übersicht über in dieser Studie verwendeten Verbrauchsmaterialien*

<b>Material</b>	<b>Firma</b>	<b>Lagerung</b>
Rundbodenröhrchen mit Deckel Falcon Röhrchen	BD Bioscience	Raumtemperatur
Eppendorf Tubes/Aliquots	Eppendorf/Sarstedt	Raumtemperatur

Pipettenspitzen	Eppendorf/Sarstedt	Raumtemperatur
Latexhandschuhe	Kimberly-Clark	Raumtemperatur

## 2.2.2 Geräte

*Tabelle 2-5 Übersicht über in dieser Studie verwendeten Geräte*

Gerät	Hersteller
Durchflußzytometer FACS Calibur	Becton&Dickinson
Zentrifuge Rotina 46 R, Ident.Nr.: T-1025456	Hettich
Vortex-Genie, Ident.Nr.: T105005	Scientific-Industries
Eppendorf-Pipetten 10-100 µl	Eppendorf
Software	CellQuest, MultiTEST

## 2.2.3 Antikörper

*Tabelle 2-6 Übersicht über in dieser Studie verwendeten Antikörper mit den jeweiligen Endkonzentrationen und Fluoreszenzfarbstoffen*

Antikörper gegen	Fluoreszenzfarbstoff	Endkonzentration	Firma
CD14	FITC	1:20	CALTAC
CD33	Cy 5,5	1:20	CALTAC
CD45	APC	1:100	CALTAC
IL-1 $\beta$	FITC	1:5	CALTAC
IL-6	PE	1:40	NatuTec
IL-10	PE	1:10	SEROTEC
TLR-2	APC	1:10	eBioscience
TLR-3	PE	1:20	eBioscience

TLR-4	PE	1:10	eBioscience
HLA-DR	Cy 5,5	1:20	CALTAC
TNF- $\alpha$	FITC	1:10	SEROTEC
Isotypkontrolle	PE	1:10	eBioscience

Für die Versuche wurden monoklonale Antikörper verwendet, die mit vier verschiedenen Fluoreszenzen markiert waren (Tabelle 2-6). In mehreren Vorversuchen wurde die Endkonzentration mittels Titration festgelegt. Die Lagerung erfolgte lichtgeschützt im Kühlschrank bei 4°C.

## 2.3 Methoden

### 2.3.1 Blutproben

#### 2.3.1.1 Vollblutprobengewinnung und Lagerung

Nach schriftlicher Einverständniserklärung der Probanden wurde pro Person insgesamt 35,2 ml Blut mit folgenden Monovetten abgenommen (Tabelle 2-7).

*Tabelle 2-7 Übersicht über in dieser Studie verwendeten Monovetten*

Monovette (Sarstedt)	Menge	Verwendungszweck
CPDA	8,5 ml	Durchflußzytometrie
Serum	7,5 ml	Einfrieren für weitere Tests
Serum	7,5 ml	Bestimmung von Erythropoetin
Serum	4,5 ml	Klinische Chemie
Li-Heparin	4,5 ml	Klinische Chemie
EDTA	2,7 ml	Differentialblutbild

Nach Entnahme der Blutproben (größtenteils vormittags) wurden diese bei Raumtemperatur gelagert und innerhalb der nächsten Stunden (maximal sechs Stunden) weiterverarbeitet. Das Serum-Röhrchen wurde zentrifugiert (4000rpm, 25°C, 10 Minuten) und in vier Aliquots mit ca. je 500 $\mu$ l bei -20°C für weitere Tests eingefroren.

Die Auswertung der klinischen Chemie, des Erythropoetins und des Differentialblutbildes erfolgte im Labor der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie in München.

### 2.3.1.2 Vorbereitung der Blutproben für die Immunfluoreszenzfärbung

Das CPDA-Röhrchen wurde für die Messung mit der Durchflußzytometrie in insgesamt acht Ansätze mit je einem ml Blut aufgeteilt. Ansatz 1 wurde sofort zentrifugiert (4000rpm, 25°C, 10 Minuten), der Überstand in zwei Aliquots mit ca. je 250µl abpipettiert und bei -20°C eingefroren. Die weiteren Ansätze wurden wie folgt weiter verarbeitet (Tabelle 2-8).

*Tabelle 2-8 Übersicht über die Zusammensetzung der in dieser Studie verwendeten Ansätze mit Angabe zur Stimulation, Inkubationszeit und Temperatur*

	Stimulation	Zugabe von BFA nach 2 Stunden	Inkubationszeit	Temperatur
Ansatz 2	keine	Keine	4 Stunden	Raumtemperatur
Ansatz 3	keine	Keine	4 Stunden	Brutschrank 37°C
Ansatz 4	keine	10µl	4 Stunden	Brutschrank 37°C
Ansatz 5	LPS 1µl	Keine	4 Stunden	Brutschrank 37°C
Ansatz 6	LPS 1µl	10µl	4 Stunden	Brutschrank 37°C
Ansatz 7	Poly I:C 50µl	Keine	4 Stunden	Brutschrank 37°C
Ansatz 8	Poly I:C 50µl	10µl	4 Stunden	Brutschrank 37°C

Nach der Inkubation wurden die Ansätze 3, 5 und 7 wie Ansatz 1 zentrifugiert und eingefroren. Die Ansätze 2, 4, 6 und 8 wurden für die durchflußzytometrische Messung vorbereitet (siehe Kapitel 2.3.2.3).

#### **Herstellung von Poly I:C-Stammlösung:**

10mg Poly I:C/10ml NaCl (150mM) → 1000µg/ml → 50µg/ml Blut → Volumen = 50µl. Es wurden Aliquots mit je 100µl bei -20°C bis zur Verwendung tiefgefroren.

### Herstellung von Brefeldin A (BFA)-Stammlösung

3µg BFA/1000µl → 1µl BFA/999µl PBS → 3000µg/ml → 300µg/100µl → 300µg/100µl+200µl PBS → 1µg/1µl → 10µl/ml Blut wenn eine Konzentration 10µg BFA pro Probenröhrchen erreicht werden soll.

### Inhaltsstoffe von Phosphate-Buffered Saline Solution (PBS):

Natriumchlorid 8,0g, Kaliumchlorid 0,2g, Dinatriumhydrogenphosphat-Dihydrat 1,15g, Kaliumhydrogenphosphat 0,2g; Gesamtvolumen 1000ml

### Inhaltsstoffe von Paraformaldehyd (PFA):

10g PFA/1000ml destilliertes Wasser → 1% Paraformaldehyd

#### 2.3.1.3 Differentialblutbild und klinische Chemie

Das Differentialblutbild und die Parameter der klinischen Chemie wurden im Zentral-labor der Ziemsenstrasse 1 bestimmt. Für das Differentialblutbild wurde hierbei das Gerät Coulter LH 750 Analyzer der Firma Coulter Beckmann, für die Parameter der klinischen Chemie das Gerät COBAS Integra 800 der Firma Roche, verwendet. Die Bestimmung des IgE und TSH basal erfolgte mit dem Gerät Elecsys 2010 der Firma Roche. Kupfer wurde im Hauptlabor von Großhadern mit dem Gerät Atomic Absorption Spectrometer 3110 der Firma Perkin Elmer bestimmt. Die Referenzwerte der jeweiligen Parameter befinden sich in Tabelle 2-9.

*Tabelle 2-9 Differentialblutbild und Parameter der klinischen Chemie: Referenzwerte*

Parameter	Referenzbereich	Einheit	Parameter	Referenzbereich	Einheit
Leukozyten	4,0 – 11,0	G/l	Natrium	135 – 145	Mmol/l
Erythrozyten	4,5 – 6,3	T/l	Kalium	3,5 – 5,0	Mmol/l
Hämoglobin	14 – 18	g/dl	Calcium	2,15 – 2,60	Mmol/l
Hämatokrit	0,38 – 0,52		Harnstoff	9 – 23	mg/dl
MCV	78,0 – 98,0	Fl	Kreatinin	0,5 – 1,2	mg/dl
MCH	26,0 – 32,0	Pg	Bilirubin ge-samt	<1,1	mg/dl
MCHC	32,0 – 36,0	g/dl	GOT	<40	U/l
Thrombozyten	150 – 440	G/l	GPT	<45	U/l
Segmentierte	40 – 70	%	Gamma-GT	<55	U/l
Eosinophile	2 – 4	%	Alk. Phosphatase	<135	U/l

Basophile	0 – 2	%	Amylase	<100	U/l
Monozyten	4 – 10	%	Lipase	<60	U/l
Lymphozyten	25 – 40	%	Kupfer	75,0 – 130,0	µg/dl
CRP	<0,50	mg/dl	Coeruloplasmin	20,0 – 60,0	mg/dl
Haptoglobin	30,0 – 200,0	mg/dl	Cu/Coerul.	6,3 – 7,4	mol/mol
CK-Gesamt	<180	U/l	IgE	<100,0	IU/ml
LDH	<250	U/l	TSH basal	0,30 – 4,00	µU/ml

## 2.3.2 Durchflußzytometrie

### 2.3.2.1 Grundlagen der Durchflußzytometrie

Ein Durchflusszytometer ist ein optisches Messsystem, welches Streulicht- und Fluoreszenzsignale einzelner Zellen in einem Flüssigkeitsstrom analysiert. Die Durchflusszytometrie ist eine gebräuchliche Methode zur quantitativen Bestimmung von zellulären Oberflächenmolekülen oder intrazellulären Molekülen einzelner Zellen. Voraussetzung ist die Markierung der Zellen mit fluoreszenzgekoppelten Antikörpern. Es handelt sich dabei um spezifische Fluoreszenzfarbstoffe, deren Fluoreszenz mit einer Lichtquelle angeregt und deren Emission mit dem Gerät gemessen werden kann. Für unsere Untersuchungen wurde ein Argonlaser mit 488nm und ein HeNe-Laser mit 635 nm Wellenlänge verwendet.

Unter Fluoreszenz versteht man die nach Absorption energiereicher Strahlung rasch abklingende Lichtemission. Die absorbierte Lichtenergie der fluoreszierenden Verbindungen liegt in einem für diese Verbindungen charakteristischen Wellenlängenbereich. Die Lichtabsorption führt zur Anhebung der Elektronen auf ein höheres Energieniveau, bei Rücksprung auf das Ausgangsniveau kommt es zur Emission eines Photons. Da bei der Rückkehr auf das Ausgangsniveau ein Teil der Energie in Form von Wärme verloren geht, ist das gebildete Licht energieärmer und somit langwelliger als das Anregungslicht.

In dieser Arbeit wurden vier Fluorochrome mit einem Exzitationsbereich um 488 nm verwendet. Die benutzten Antikörper sind mit je einem dieser Fluorochrome markiert. Die unterschiedlichen Emissionswellenlängen ermöglichen die gleichzeitige Messung von vier Farben (siehe Tabelle 2-10).

*Tabelle 2-10 Übersicht über in dieser Studie verwendeten Fluorochrome und deren Exzitations- und Emissionsbereich und die jeweiligen Wellenlängen*

Fluorochrom	Exzitation (nm)	Fuoreszenz/Emission (nm)
Fluorescein (FITC)	495	525

Phycoerythrin (PE)	488	578
Cy 5,5	470	680
Allophycocyanin (APC)	650	660

Neben der Fluoreszenz wird als weiterer Parameter das Streulicht gemessen. So können Informationen über Zellgröße und Zellgranularität gewonnen werden. Die Lichtstreuung wird durch verschiedene physikalische Zelleigenschaften beeinflusst und streut daher nicht gleichmäßig. Die größte Lichtstreuung befindet sich im Kleinwinkelbereich ( $0-10^\circ$ ) und wird als Vorwärtsstreulicht bzw. Forward Angle Light Scatter (FSC) bezeichnet. Dieses ist sensitiv für die Querschnittsfläche der Zelle und ermöglicht so Rückschlüsse auf deren Größe. Ein geringer Teil des Lichts streut seitwärts ( $90^\circ$ ) und wird als Seitwärtsstreulicht bzw. Side Angle Light Scatter (SSC) bezeichnet. Dieses entspricht dem Refraktionsindex und liefert Informationen über die Granularität der Zelle. Die Darstellung von Vorwärts- und Seitwärtsstreulicht in einem Koordinatensystem ermöglicht somit eine Unterscheidung der einzelnen Leukozytengruppen (siehe Abbildung 2-1).

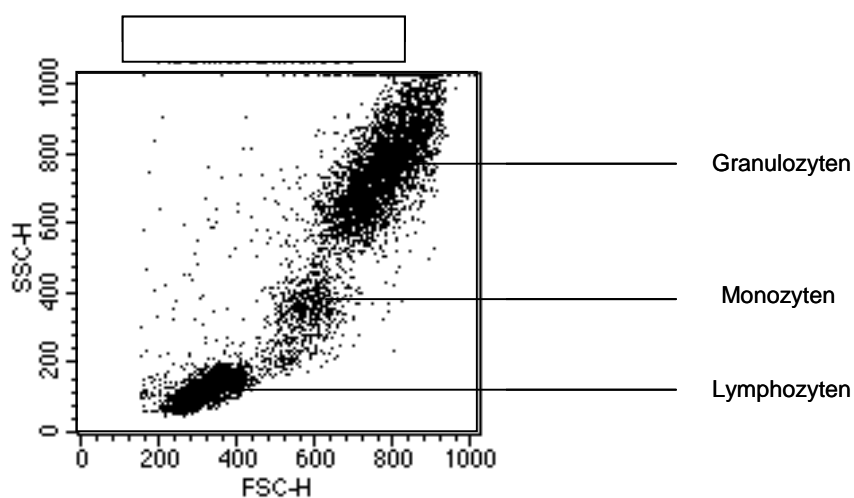


Abbildung 2-1 Darstellung von Leukozytensubpopulationen in der Zweiparameterdarstellung. FSC=Vorwärtsstreulicht, SSC=Seitwärtsstreulicht. Anhand der Zellgröße (x-Achse) und der Granularität (y-Achse) lassen sich die einzelnen Zellpopulationen (Granulozyten, Monozyten und Lymphozyten) voneinander abgrenzen.





tendatei. Die Messwerte der Zellen werden in der gleichen Reihenfolge, in der sie den Ausgangspunkt passieren gespeichert und stehen so für eine quantitative Auswertung zur Verfügung.

### 2.3.2.3 Immunfluoreszenzfärbung

Die Messung erfolgte aus dem Vollblut (CPDA). Die vier verschiedenen Ansätze A2, A4, A6 und A8 (siehe Kapitel 2.3.1) wurden jeweils mit 5 verschiedenen Antikörper-Kombinationen gefärbt.

Die Antikörperkonzentrationen sollten standardisiert sein um reproduzierbare Ergebnisse zu liefern. Zur Ermittlung der verwendeten Konzentrationen wurden die Antikörper unter standardisierten Bedingungen mit unterschiedlichen Konzentrationen titriert.

Jede der Proben wurde mit einer Kombination aus vier verschiedenen Antikörpern gefärbt und analysiert (Tabelle 2-11).

*Tabelle 2-11 Übersicht über die in dieser Studie verwendeten Antikörperkombinationen mit den jeweiligen Fluoreszenzfarbstoffen und Endkonzentrationen*

Antikörper-Kombination	Antikörper	Fluoreszenz	Endverdünnung
1	TNF- $\alpha$	FITC	1:10
	IL-10	PE	1:10
	CD33	Cy 5,5	1:20
	CD45	APC	1:100
2	IL-1 $\beta$	FITC	1:5
	IL-6	PE	1:40
	CD33	Cy 5,5	1:20
	CD45	APC	1:100
3	CD14	FITC	1:20
	TLR-4	PE	1:10
	HLA-DR	Cy 5,5	1:20
	TLR-2	APC	1:10
4	CD14	FITC	1:20

	TLR-3	PE	1:20
	HLA-DR	Cy 5,5	1:20
	CD45	APC	1:100
5	CD14	FITC	1:20
	Isotypkontrolle	PE	1:10
	HLA-DR	Cy 5,5	1:20
	CD45	APC	1:100

Folgende Protokolle dienen als Vorlage:

Probennummern 1-20 (es wurde jeweils A2, A4, A6, A8 mit AK 1- AK 5 gefärbt):

1. Pro Röhrchen 90 µl CPDA-Blut
2. x µl Antikörper (extrazellulär) dazugeben
3. Mischen
4. 10-15 Minuten im Dunkeln inkubieren (zusätzlich mit Alu-Folie abdichten)
5. 3 ml Lyse-Lösung dazugeben; Verdünnung: 1:10 (Lyse : dest. Wasser); (bei 20 Röhrchen: 60 ml + Reserve = 70 ml, d.h. 7 ml Lyse mit 63 ml dest. Wasser)
6. Deckel auf Röhrchen und gut mischen (Vortex-Genie)
7. 5 Minuten im Dunkeln inkubieren (Lsg. wird klar)
8. Zentrifugieren: 5 min / 1500rpm / 25°C
9. Überstand abkippen
10. Aufratschen (weißes Gitter)
11. 2ml PBS
12. Zentrifugieren
13. Abkippen
14. Aufratschen
15. **extrazellulär:** 200µl PFA
16. **intrazellulär:** 500 µl FACS-Permeabilizing Solution; Verdünnung 1:10 (50 µl Lösung mit 450 µl dest. Wasser), insgesamt 13 x 500 µl (12 Ansätze + Reserve)
17. 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren
18. Mit 2 ml PBS auffüllen
19. Zentrifugieren: 5 min / 1500rpm / 25°C
20. Überstand abkippen, aufratschen
21. x µl Antikörper (intrazellulär) (IL1, IL6, IL 10, TNFα, Isotyp-Kontrolle) dazugeben
22. 30 Minuten im Dunkeln inkubieren (zusätzlich mit Alu-Folie abdichten)
23. Mit 2 ml PBS waschen
24. Zentrifugieren: 5 min. / 1500rpm / 25°C
25. Überstand abkippen und aufratschen
26. 200 µl 1% PFA

Bis zur Messung mit dem Durchflußzytometer wurden die Ansätze im Dunkeln im Kühlschrank bei 4°C gelagert. Paraformaldehyd (PFA) diente bei den extrazellulären Ansätzen als Fixierlösung. Die Messung erfolgte binnen weniger Stunden.

### **Prinzip der intrazellulären Zytokinmessung**

Monozyten beginnen unmittelbar nach Stimulation mit LPS oder Ploy-IC Zytokine wie IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10 oder TNF- $\alpha$  zu sezernieren. Um die Exkretion der Zytokine zu verhindern, wurde der intrazelluläre Proteintransport mittels Brefeldin A (BFA) blockiert. BFA blockiert den vesikulären Proteintransport vom rauen endoplasmatischen Retikulum zum Golgiapparat und führt so zu einer Akkumulation von Zytokinen in Zellen. Die Zytokinproduktion kann somit in Zellen, nach intrazellulärer Färbung mit fluoreszenzmarkierten Antikörpern, mittels Durchflusszytometrie gemessen werden. Die Phänotypisierung von Monozyten im Vollblut erfolgte durch spezifische fluorochromkonjugierte Antikörper gegen das CD14 bzw. CD45 Oberflächenantigen.

#### **2.3.2.4 Messung mit dem Durchflußzytometer**

Zur Korrektur der spektralen Überlagerung der Fluoreszenzfarbstoffe wurde zu Beginn jeder Messung die Kompensation eingestellt. Der Durchflußzytometer (FACScalibur) wurde regelmäßig neu kalibriert um gerätebedingte Fehler zu minimieren.

#### **2.3.2.5 Darstellung der Messergebnisse**

Zur graphischen Darstellung der Messdaten wurde die korrelierte Zweiparameter-Punktehistogramm-Darstellung (Dot Plot) verwendet. Bei dieser Betrachtungsweise stehen die zwei Zelleigenschaften Größe (FSC) und Granularität (SSC) in Korrelation zueinander. Jeder Punkt stellt die Messwerte einer Zelle dar. Auf diese Weise lassen sich die Leukozytensubpopulationen wie Lymphozyten, Monozyten und Granulozyten mit ihren charakteristischen Eigenschaften identifizieren. (siehe Kapitel 2.3.2.1 und Abbildung 2-1)

#### **2.3.2.6 Definition der Auswertefenster**

In dieser Arbeit wurden ausschließlich die Monozyten als Leukozytensubpopulation betrachtet. Um diese möglichst genau zu differenzieren wurden für jede Antikörper-Kombination drei verschiedene Dot Plots betrachtet und jeweils die Subgruppe der Monozyten mit einem Gate (Fenster) versehen (siehe Abbildung 2-3).

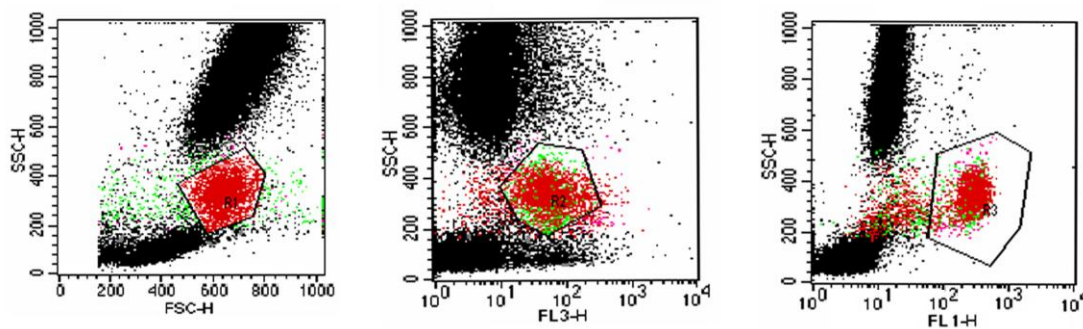
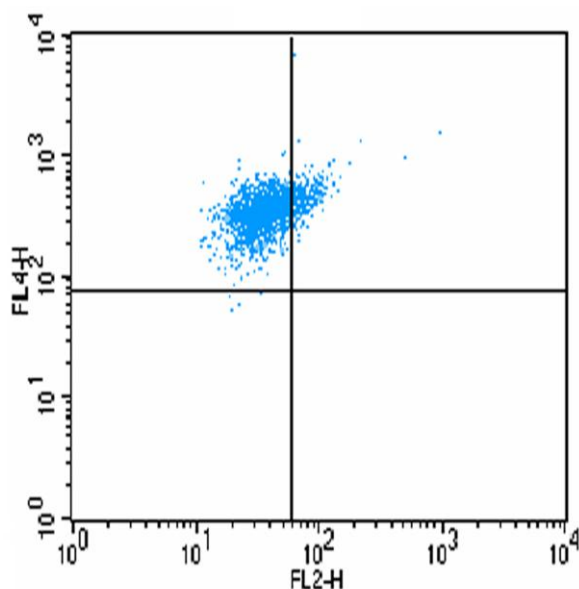


Abbildung 2-3 Eingrenzung der Monozyten in drei Regionen (R1, R2 und R3), deren Inhalt für die weitere Auswertung verwendet wurde. SSC = Side Angle Light Scatter, FSC = Forward Angle Light Scatter, FL3 = Fluoreszenz 3 = HLA-DR, FL1-Fluoreszenz 1 = CD14

Die weitere Auswertung der durch Gates definierten Monozyten erfolgte statistisch mittels einer Quadrantenanalyse (Abbildung 2-4).



Quadrant Statistics

File: TS 32.005 Log Data Units: Linear Values  
 Sample ID: TS 32 Patient ID:  
 Tube: Panel:  
 Acquisition Date: 11-May-07 Gate: Minos  
 Gated Events: 2129 Total Events: 42579  
 X Parameter: FL2-H (Log) Y Parameter: FL4-H (Log)  
 Quad Location: 61, 78

Quad	Events	% Gated	% Total	X Mean	X Geo Mean	Y Mean	Y Geo Mean
UL	1856	87.22	4.26	39.07	34.40	359.05	341.16
UR	268	12.59	0.61	86.28	80.58	536.76	495.77
LL	4	0.19	0.01	24.01	23.34	67.14	66.56
LR	0	0.00	0.00	***	***	***	***

Abbildung 2-4 Beispiel für die Darstellung der Expression von TLR-4 und TLR-2 nach Stimulation mit LPS an Hand einer Quadrantenanalyse (FL2=TLR-4, FL4=TLR-2). Im rechten oberen Quadranten befinden sich die Monozyten, die nach Stimulation mit LPS vermehrt TLR-4 exprimieren. Im linken oberen Quadranten die Monozyten die nach Stimulation mit LPS vermehrt TLR-2 exprimieren.

## 3 Ergebnisteil

### 3.1 Die Bildung von Untergruppen: Motivation und Grenzen

Eine Motivation zur Bildung von Untergruppen bei den Tourette-Syndrom-Patienten ist es, möglichst detaillierte Ergebnisse über diese Krankheit zu erzielen. Es interessieren Erkenntnisse über die Wirkung von Symptomen (z.B. Zwänge) des Tourette-Syndroms, verschiedenen psychiatrischen Therapien und möglichen sonstigen Einflussgrößen (z.B. Altersklasse) auf die intrazellulären Zytokinkonzentrationen TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 und IL-10 sowie die Rezeptorexpressionen TLR-4, TLR-3, TLR-2 und HLA-DR.

Ein weiteres Motiv zur Untersuchung von Untergruppen ergibt sich aus folgender Überlegung zur Überlagerung von Effekten. Für das Ziel dieser Arbeit wäre es ideal, könnte man das Blut von vielen Tourette-Syndrom-Patienten mit möglichst geringen Verfälschungen durch äußere Einflüsse (wie z.B. auch Therapien) untersuchen. Die damit erzielten Ergebnisse könnten dann durch zusätzliche Studien über den Einfluss von psychiatrischen Therapien, etc. ergänzt werden. Es stellt sich die Frage, ob sich ein Tourette-Syndrom Patient mit Therapie bezüglich gewisser Werte eher wie ein Gesunder oder Kranker verhält.

Die idealen Versuchsverhältnisse sind jedoch aus medizinischen Gründen kaum möglich. In der Realität hat man es mit einer heterogenen Gruppe von Tourette-Syndrom-Patienten zu tun, die mit verschiedenen Therapien manchmal auch in Kombination behandelt werden. Diese Tatsache erschwert einerseits unsere Untersuchung. Andererseits könnte es durch Bildung von Untergruppen gelingen, den Einfluss von Therapien zu analysieren und Rückschlüsse auf die heterogene Ausgangsgruppe zu ziehen.

Die Vorgehensweise der Bildung und Untersuchung von Untergruppen stößt allerdings an eine systematische Grenze, die in der Anwendung von statistischen Methoden und Verfahren begründet liegt. Diese erfordern einen ausreichend großen Datenumfang. Jedoch haben die Untergruppen natürlich einen geringeren Datenumfang als die Ausgangsgruppen mit 33 Tourette-Syndrom-Patienten und 31 Gesunden. Um dieser Situation Rechnung zu tragen beschränken wir uns auf Untergruppen, die nicht sehr klein sind. Um diese Vorgehensweise an einem Beispiel zu erläutern, beziehen wir uns auf zwei psychiatrische Therapien mit insgesamt 32 Probanden. Hierbei sind 4 Untergruppen möglich, die sich nicht überschneiden, nämlich

Untergruppe 1: keine psychiatrische Therapie (5 Probanden)

Untergruppe 2: psychiatrische Therapie 1 ausschließlich (4 Probanden mit psychiatrischer Medikation ohne Neuroleptika)

Untergruppe 3: psychiatrische Therapie 2 ausschließlich (13 Probanden mit Neuroleptika Therapie)

Untergruppe 4: psychiatrische Therapie 1 und 2 (10 Probanden)

Eine Zusammenfassung ist folgendermaßen möglich:

Untergruppe T<sub>1</sub>: höchstens eine psychiatrische Therapie (22 Fälle)

Untergruppe T<sub>2</sub>: psychiatrische Therapie 1 und 2 (10 Fälle)

Für beide Untergruppen wurden interessante Ergebnisse erzielt.

Wir unterscheiden Klassifikationen, die sowohl bei den Tourette-Syndrom-Patienten als auch der Vergleichsgruppe der Gesunden anwendbar sind (z.B. Altersklassen, allgemeine Medikation) und solche Klassifikationen, die nur bei den Tourette-Syndrom-Patienten Sinn ergeben (zusätzliche Erkrankungen, Symptome und Therapie des Tourette-Syndroms). Wir betrachten die folgenden Klassifikationen.

1. Psychiatrische Medikation: Wir können zwischen verschiedenen psychiatrischen Therapien unterscheiden, nämlich der Neuroleptika Therapie und einer anderen psychiatrischen Therapie. Dabei beziehen wir uns im Wesentlichen auf die aktuelle Medikation. Wichtige Ergebnisse wurden erzielt.
2. Klinisch ausgeprägte Zwangssymptomatik: Es gibt allerdings nur 3 Probanden. Statistische Auswertungen sind deshalb nicht möglich.
3. Komorbidität: Um bei den Tourette-Syndrom-Patienten zu einer größeren Untergruppe als beim Zwang zu kommen, fassen wir unter dem Begriff Komorbidität die Patienten mit dem Hinweis auf Depression oder ADHS oder Zwang zusammen. Die Gruppe der Komorbiden T<sub>komorbid</sub> umfasst 12 Patienten, die Gruppe der nicht komorbiden Patienten T<sub>nicht komorbid</sub> besteht aus 10 Personen und bei 11 Tourette-Syndrom-Patienten kann wegen fehlender Daten keine Zuordnung zu den beiden zuerst genannten Gruppen getroffen werden. Somit sind trotz der Zusammenfassung nur kleine Gruppen entstanden, die sich nur bedingt zur statistischen Auswertung eignen. Die Auswertungen wurden dennoch durchgeführt, haben aber zu keinen gesicherten Erkenntnissen geführt.
4. Altersklassen: Wir beziehen uns auf das Alter bis einschließlich 18 Jahre (Kind/jugendlich) bzw. älter als 18 Jahre. Es gibt bei den Tourette-Syndrom-Patienten nur 8 und bei den Gesunden nur 5 bis 18 Jahre. Statistische Auswertungen sind deshalb nicht erfolgt.
5. Nicht-psychiatrische Medikation: Hier liegen für die Vergleichsgruppe der Gesunden keine Daten vor.

Bei der Erstellung dieser Arbeit hat sich die Erfahrung erhärtet, dass die Bildung von Untergruppen bei den Tourette-Syndrom-Patienten zwei gegenläufigen Effekten unterliegt.

- Die Reduzierung des Datenumfangs durch die Betrachtung einer Untergruppe statt der Ausgangsgruppe erschwert die Anwendbarkeit der statistischen Verfahren und vermindert somit die Zuverlässigkeit der gelieferten Ergebnisse.
- Die Untergruppen können aussagekräftiger für die Lösung des gestellten Problems sein, was die Anwendbarkeit der statistischen Verfahren erleichtert und somit die Zuverlässigkeit der gelieferten Ergebnisse erhöht.

Ob sich einer der beiden Effekte durchsetzt und wenn ja welcher, hängt vom konkreten Einzelfall ab. Für unsere Untersuchung ist der Fall von Bedeutung, bei dem der Nachteil des geringeren Datenumfangs durch die Bildung einer Untergruppe durch den Vorteil einer aussagekräftigeren Untergruppe überwogen wird. Die Verhältnisse können nicht vorab, d.h. a priori sondern erst a posteriori geklärt werden. Man wird also im konkreten Fall die Gründe nennen, die für die Aussagekraft der Ergebnisse der Untergruppe sprechen.

## 3.2 Datenauswertung (Statistik)

### 3.2.1 Vergleich der Messdaten bei verschiedenen Ansätzen

Es geht hier um Methoden zur Bewertung der Veränderung durch eine Stimulation.

#### Vergleichsmethode 1 mittels normierter Vergleichswerte

Eine Möglichkeit besteht darin, aus den Daten von Ansätzen vor und nach der Stimulation Vergleichswerte zu berechnen und auf diese statistische Verfahren anzuwenden. Um die Wirkung einer Stimulation beurteilen zu können, ist der Vergleich des Wertes  $W_n$  nach der Stimulation mit dem Wert  $W_v$  vor der Stimulation wichtig. Dieser Vergleich vor und nach der Stimulation soll dabei so erfolgen, dass mehrere Simulationsvorgänge quantitativ verglichen werden können. Diese Anforderungen werden von folgendem Vergleichswert  $V$  erfüllt:

$$V := (W_n - W_v) / W_v = W_n / W_v - 1$$

Berechnet wird also die Veränderung durch die Simulation, nämlich die Differenz zwischen dem Wert nach und vor der Stimulation, diese wird durch den unstimulierten Wert dividiert (Normierung).

$V$  ist positiv: Stimulierung ergibt Steigerung, die Steigerung ist das  $V$ -fache von  $W_v$

$V = 0$ : keine Veränderung durch Stimulierung

$V$  ist negativ: Stimulierung ergibt Abschwächung, die Abschwächung ist das  $|V|$ -fache von  $W_v$

Im Folgenden verwenden wir beispielsweise die Bezeichnungsweise

$$\text{Vgl } A8\text{zu}A4 \text{ HLA-DR} = \text{HLA-DR}_{A8} / \text{HLA-DR}_{A4} - 1$$



für den Messwert HLA-DR, die Stimulation A8 und den unstimulierten Ansatz A4. Diese Bezeichnungsweise verwenden wir sinngemäß auch für andere Rezeptorexpressionen bzw. Zytokinkonzentrationen und andere Ansätze (A6, A8 stimuliert und A2, A4 unstimuliert).

### **Vergleichsmethode 2 mittels der linearen Regression**

Es wird direkt die statistische Methode der linearen Regression angewandt, die Daten aus verschiedenen Ansätzen erfordert.

### **3.2.2 Datenauswertungen mit mehreren statistischen Verfahren**

Auch statistische Verfahren unterliegen gewissen Einschränkungen (siehe unten). Deshalb ist es wichtig, gewonnene Ergebnisse durch mehrere statistische Verfahren abzusichern. In dieser Arbeit verwenden wir deshalb bei jeder Auswertung konsequent zwei Verfahren, nämlich die Mann-Whitney-U Methode und die Methode der linearen Regression.

Einschränkung hinsichtlich der Anwendbarkeit eines Verfahrens: Natürlich wollen wir Verfahren mit einer großen Aussagekraft. Andererseits ist bekannt, je höher die Aussagekraft des Verfahrens, desto mehr Voraussetzungen für die Anwendbarkeit des Verfahrens sind in der Regel zu erfüllen. Ob die Voraussetzungen für ein statistisches Verfahren erfüllt sind, lässt sich jedoch nicht mit letzter Sicherheit nachweisen.

Wenn ein Ergebnis nur mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit (Signifikanz) zutrifft, hängt die Akzeptanz von der Festlegung eines Grenzwertes und einem Konsens der Beteiligten ab.

Frage zur Klärung eines Kausalzusammenhangs: Statistische Verfahren liefern im Allgemeinen keinen Kausalzusammenhang sondern Indizien hierzu. Somit ergibt sich eine starke Motivation, die Klärung eines Kausalzusammenhangs mit zusätzlichen Untersuchungen abzuklären.

### **3.2.3 Gruppenvergleich mit der Mann-Whitney-U Methode**

Lesehinweis: Dieser und der folgende Abschnitt dienen der Nachprüfbarkeit der Ergebnisse dieser Arbeit und erleichtern ferner die Arbeit für fortführende Studien. Die vorwiegend an den positiven Ergebnissen interessierten Leser können diese beiden Abschnitte überspringen und bei Kapitel 3.3 weiterlesen.

In diesem Abschnitt erfolgt die Prüfung von je zwei Vergleichsgruppen auf signifikant unterschiedliches, gleiches oder nicht entscheidbares Verhalten bei dem jeweils betrachteten Blutwert und Ansatz (bzw. Vergleich von Ansätzen) mit der Mann-Whitney-U Methode.

## Vergleichsgruppen

Die beiden Gruppen der 33 Tourette-Syndrom-Patienten und der 31 Gesunden sind naheliegende Vergleichsgruppen (Fall 1). Als zweiten Fall betrachten wir neben den Gesunden die Gruppe der stark therapierten Tourette-Syndrom-Patienten, nämlich präziser die Gruppe der aktuell mit Neuroleptika und einer anderen aktuellen psychiatrischen Therapie behandelten 10 Patienten. Bei diesen beiden Gruppen könnte gleiches Verhalten wahrscheinlich sein. Dann wäre interessant, wie sich die Restgruppe der Tourette-Syndrom-Patienten zu den Gesunden verhält (Fall 3). Im Fall 3 betrachten wir also 22 Tourette-Syndrom-Patienten mit aktuell höchstens einer psychiatrischen Therapie mit 31 Gesunden. Schließlich betrachten wir im vierten Fall die Gruppen der Tourette-Syndrom-Patienten von Fall 3 und 2 miteinander.

## Mann-Whitney-U Methode und ihre Interpretation

Für jeden einzelnen Wert (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, TLR-4, TLR-3, TLR-2, HLA-DR) wird für jeden beliebigen Ansatz (A2, A4, A6, A8) und Vergleichswert zu zwei Ansätzen (A6 zu A2, A8 zu A2, A6 zu A4, A8 zu A4) mit der Mann-Whitney-U Methode geklärt, wie wahrscheinlich eine gleiches, unterschiedliches bzw. nicht entscheidbares Verhalten des Blutwertes bezüglich der betrachteten Gruppen ist.

Für die weiteren Untersuchungen legen wir die Grenzwerte mittels der von der Mann-Whitney-U Methode gelieferten Signifikanz  $p$  folgendermaßen fest.

$p \leq .050$  Vergleichsgruppen signifikant unterschiedlich

$.050 < p \leq .100$  Vergleichsgruppen dicht bei signifikant unterschiedlich

$.100 < p \leq .900$  keine Aussage über die Vergleichsgruppen im Verhalten zueinander

$.900 < p \leq .950$  Vergleichsgruppen dicht bei signifikant gleich

$.950 < p$  Vergleichsgruppen signifikant gleich

Viele statistische Methoden setzen eine Normalverteilung der Messwerte voraus. Wir können jedoch nicht von einer Normalverteilung bei den gemessenen Blutwerten ausgehen, was Überprüfungen gezeigt haben. Die Mann-Whitney-U Methode ist geeignet. Sie setzt keine Normalverteilung voraus.

## Auswertungstabellen

Die Ergebnisse der Anwendung der Mann-Whitney-U Methode sind für alle 4 Fälle von je zwei Vergleichsgruppen in 4 Tabellen dargestellt.

Tabelle 1: Vergleich von 33 Tourette-Syndrom-Patienten mit 31 Gesunden

Tabelle 2: Vergleich von 10 Tourette-Syndrom-Patienten mit aktueller Neuroleptika und zusätzlicher aktueller psychiatrischer Therapie mit 31 Gesunden

Tabelle 3: Vergleich von 22 Tourette-Syndrom-Patienten mit aktuell höchstens einer psychiatrischen Therapie mit 31 Gesunden

Tabelle 4: Vergleich von 22 Tourette-Syndrom-Patienten mit aktuell höchstens einer psychiatrischen Therapie mit 10 Tourette-Syndrom-Patienten mit aktueller Neuroleptika und zusätzlich aktueller psychiatrischer Therapie.

In jedem Fall sind alle betrachteten Zytokinkonzentrationen TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 und IL-10 sowie Rezeptorexpressionen TLR-4, TLR-3, TLR-2 und HLA-DR in den Fällen unstimuliert, stimuliert mit LPS (Simulation eines bakteriellen Infektes) und stimuliert mit Poly I:C (Simulation eines viralen Infektes) untersucht worden. Damit haben wir für jeden der vier Fälle von je zwei Vergleichsgruppen eine vollständige Untersuchung mit der Mann-Whitney-U Methode.



Tabelle 3-2 Übersicht der Ergebnisse nach Mann-Whitney-U

**Signifikanz p nach Mann-Whitney-U Test**

p < .050

Vergleichsgruppen signifikant unterschiedlich

.050 < p < .100 Vergleichsgruppen dicht bei signifikant unterschiedlich

.100 < p < .900 keine Aussage über die Vergleichsgruppe im Verhalten zueinander (Werte in Tabellen weggelassen)

.900 < p < .950 Vergleichsgruppen dicht bei signifikant gleich

.950 < p Vergleichsgruppen signifikant gleich

**Tabelle 3: Vergleich von 22 Tourette Syndrom Patienten mit aktuell höchstens einer psychiatrischen Therapie mit 31 Gesunden**

Antikörper-Kombination	unstimulierte Ansätze		stimulierte Ansätze		Vergleich stimuliert zu A2		Vergleich stimuliert zu A4	
	A2	A4	LPS bakteriell	Poly I:C viral	LPS bakteriell	Poly I:C viral	LPS bakteriell	Poly I:C viral
AK1			A6	A8	A6 zu A2	A8 zu A2	A6 zu A4	A8 zu A4
			0,043	0,047			0,007	0,003
	TNF-α							
	IL-10	0,971						
AK2								
	IL-1							
	IL-6						0,986	
AK3								
	TLR-4	0,957	0,049	0,060	0,041	0,060		
	TLR-2	0,041			0,083			
AK4								
	TLR-3							
	HLA-DR	0,914				0,035	0,068	0,008

**Tabelle 4: Vergleich von 22 Tourette Syndrom Patienten mit aktuell höchstens einer psychiatrischen Therapie**

**mit 10 Tourette Syndrom Patienten mit aktueller Neuroleptika und zusätzlich aktueller psychiatrischer Therapie**

Antikörper-Kombination	unstimulierte Ansätze		stimulierte Ansätze		Vergleich stimuliert zu A2		Vergleich stimuliert zu A4	
	A2	A4	LPS bakteriell	Poly I:C viral	LPS bakteriell	Poly I:C viral	LPS bakteriell	Poly I:C viral
AK1			A6	A8	A6 zu A2	A8 zu A2	A6 zu A4	A8 zu A4
			0,074		0,015		0,004	0,003
	TNF-α	0,046			0,968		0,935	
	IL-10							
AK2		0,067						0,042
	IL-1							
	IL-6							
AK3								
	TLR-4							
	TLR-2		0,968					
AK4								
	TLR-3				0,903			0,051
	HLA-DR			0,935				0,038

## Interpretation der Auswertungstabellen

Bei der Suche nach Treffern beachten wir, dass wir ein signifikant unterschiedliches Verhalten der Gruppe der Tourette-Syndrom-Patienten oder einer Teilgruppe davon zur Gruppe der Gesunden benötigen. Zu diesem Zweck ziehen wir die Tabellen 1 und 3 heran und werten sie für jeden einzelnen Wert aus. Sollte sich für einen Wert auf diese Weise kein Treffer ergeben, liegt für diesen Wert ein negatives Ergebnis vor. Im anderen Fall schließen sich weitere Betrachtungen an.

Treffer, die im Folgenden weiter betrachtet werden, gibt es für HLA-DR, TNF- $\alpha$  und TLR-4, die sich alle wie folgt erhärten lassen.

### HLA-DR

*Tabelle 3-3 Signifikanz  $p$  für HLA-DR bei verschiedenen Ansätzen und Gruppen/Untergruppen durch die Mann-Whitney-U-Methode.  $T_1$ =TS mit höchstens einer psychiatrischen Therapie,  $T_2$ =TS mit 2 psychiatrischen Therapien. A8=Poly I:C, A6=LPS, A4=37°C, A2=Raumtemperatur*

	Vergleich A6 zu A2 (LPS)	Vergleich A8 zu A2 (Poly I:C)	Vergleich A6 zu A4 (LPS)	Vergleich A8 zu A4 (Poly I:C)
<i>TS und gesunde Probanden</i>	$p = 0,071$	$p = 0,037$	$p = 0,127$	$p = 0,039$
<i>T<sub>2</sub> und gesunde Probanden</i>	$p = 0,202$	$p = 0,448$	$p = 0,785$	$p = 0,976$
<i>T<sub>1</sub> und gesunde Probanden</i>	$p = 0,149$	$p = 0,035$	$p = 0,068$	$p = 0,008$
<i>T<sub>1</sub> und T<sub>2</sub></i>	$p = 0,807$	$p = 0,542$	$p = 0,167$	$p = 0,038$

Bei HLA-DR ist die Stimulation mit Poly I:C (viral) bezogen auf die unstimulierten Ansätze A4 und A2 signifikant. Dabei wird das prägnantere Ergebnis im Vergleich zum Ansatz A4 erzielt.

**TNF- $\alpha$** 

Tabelle 3-4 Signifikanz  $p$  für TNF- $\alpha$  bei verschiedenen Ansätzen und Gruppen/Untergruppen durch die Mann-Whitney-U-Methode.  $T_1$ =TS mit höchstens einer psychiatrischen Therapie,  $T_2$ =TS mit 2 psychiatrischen Therapien. A8=Poly I:C, A6=LPS, A4=37°C, A2=Raumtemperatur

	A6 (LPS)	A8 (Poly I:C)	Vergleich A6 zu A4 (LPS)	Vergleich A8 zu A4 (Poly I:C)
<i>T<sub>1</sub> und gesunde Probanden</i>	$p = 0,160$	$p = \mathbf{0,052}$	$p = 0,164$	$p = \mathbf{0,034}$
<i>T<sub>2</sub> und gesunde Probanden</i>	$p = 0,606$	$p = 0,412$	$p = 0,192$	$p = 0,785$
<i>T<sub>1</sub> und gesunde Probanden</i>	$p = \mathbf{0,043}$	$p = \mathbf{0,047}$	$p = \mathbf{0,007}$	$p = \mathbf{0,003}$
<i>T<sub>1</sub> und T<sub>2</sub></i>	$p = \mathbf{0,074}$	$p = 0,569$	$p = \mathbf{0,004}$	$p = \mathbf{0,003}$

Bei TNF- $\alpha$  haben wir sowohl bei der Stimulation mit Poly I:C (viral) als auch bei der Stimulation mit LPS (bakteriell) signifikante Ergebnisse.

Bei der Stimulation mit LPS lieferte erst die Aufteilung der Tourette-Syndrom-Patienten in Untergruppen signifikante Ergebnisse, allerdings sowohl beim Ansatz A6 als auch bei

$$(\text{TNF-}\alpha_{A6} - \text{TNF-}\alpha_{A4}) / \text{TNF-}\alpha_{A4} = \text{TNF-}\alpha_{A6} / \text{TNF-}\alpha_{A4} - 1,$$

dem Ansatz A6 im Vergleich zum unstimulierten Ansatz A4.

Durch die Aufteilung in Untergruppen sinkt zwangsläufig der Datenumfang. Dieser Nachteil kann durch den Vorteil einer aussagekräftigeren Untergruppe überwogen werden. Die Verhältnisse können nicht vorab, d.h. a priori sondern erst a posteriori geklärt werden. Im vorliegenden Fall überzeugt uns das Vorliegen der Signifikanz in zwei Fällen, nämlich bei A6 als auch bei A6 im Vergleich zu A4.

**TLR-4**

Tabelle 3-5 Signifikanz  $p$  für TLR-4 bei verschiedenen Ansätzen und Gruppen/Untergruppen durch die Mann-Whitney-U-Methode.  $T_1$ =TS mit höchstens einer psychiatrischen Therapie,  $T_2$ =TS mit 2 psychiatrischen Therapien. A8=Poly I:C, A6=LPS, A4=37°C, A2=Raumtemperatur

	A6 (LPS)	A8 (Poly I:C)	Vergleich A6 zu A2 (LPS)	Vergleich A8 zu A2 (Poly I:C)
$T_2$ und gesunde Probanden	$p = 0,362$	$p = 0,448$	$p = 0,064$	$p = 0,182$
$T_1$ und gesunde Probanden	$p = 0,049$	$p = 0,060$	$p = 0,041$	$p = 0,060$
$T_1$ und $T_2$	$p = 0,255$	$p = 0,272$	$p = 0,839$	$p = 0,745$

Bei TLR-4 und der Stimulation mit LPS (bakteriell) liefert die Gesamtgruppe der Tourette-Syndrom-Patienten und die Aufteilung in Untergruppen signifikante Ergebnisse beim Ansatz A6 als auch bei

$$(\text{TLR-4}_{A6} - \text{TLR-4}_{A2}) / \text{TLR-4}_{A2} = \text{TLR-4}_{A6} / \text{TLR-4}_{A2} - 1,$$

dem Ansatz A6 im Vergleich zum unstimulierten Ansatz A2. Die Aufteilung der Tourette-Syndrom-Patienten in Untergruppen bringt jedoch in beiden Fällen keine Verbesserung gegenüber der Gesamtgruppe der Tourette-Syndrom-Patienten.

### 3.2.4 Gruppenvergleich mit der Methode der (Log-) linearen Regression: Modell für die (Log-) lineare Regression

Es wurde eine Regressionsanalyse durchgeführt, wobei die Werte TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, TLR-4, TLR-3, TLR-2 und HLA-DR nach Stimulation (Ansatz 6 bzw. Ansatz 8) als Zielvariablen dienten. Der Wert aus der unstimulierten Messung (Ansatz 4) wurde als unabhängige Variable in das Modell aufgenommen. Somit modelliert man den Wert nach Stimulation ( $X_{A6}$  bzw.  $A_8$ , kurz  $X_{A6|A8}$ ), wobei man auf den unstimulierten Wert  $X_{A4}$  aufsetzt. Dies ist eine übliche Vorgehensweise bei Messwiederholungen. Die jeweiligen X Werte wurden nach Bedarf logarithmiert, um der Normalverteilungsannahme besser gerecht zu werden bzw. um das Gewicht der Ausreißer zu mindern.



Modellgleichung:

$$\log(X_{A6IA8}) = \beta_0 + \beta_1 * \text{GruppeT} + \beta_2 * \log(X_{A4}) + \varepsilon$$

mit  $\text{GruppeT} := 1$  oder  $0$  (1 bei Tourette-Syndrom-Patienten, 0 bei Gesunden)

Die dargestellte Vorgehensweise zur Anwendung der (Log-) linearen Regression dient auch zum Vergleich der Ergebnisse mit den Ergebnissen anderer Methoden. Durch die Verwendung mehrerer Methoden erhält man ein differenziertes Bild der Ergebnisse, das eine Bewertung zwischen erhärteten Ergebnissen und noch weiter zu untersuchenden Ergebnissen zulässt.

**Interpretation des Modells**

Der Gruppeneffekt Tourette bezieht sich immer auf die Referenzkategorie Gesund. Er stellt also die geschätzte Differenz in der Zielgröße zwischen den Tourette Patienten im Vergleich zur Kontrollgruppe der Gesunden dar. Außerdem muss bei der Interpretation der Koeffizienten die Logarithmierung beachtet werden:

$\text{GruppeT} := 1$  oder  $0$  (1 bei Tourette-Syndrom-Patienten, 0 bei Gesunden)

$$\log(X_{A6IA8}) = \beta_0 + \beta_1 * \text{GruppeT} + \beta_2 * \log(X_{A4})$$

<=>

$$X_{A6IA8} = \exp(\beta_0 + \beta_1 * \text{GruppeT} + \beta_2 * \log(X_{A4}))$$

$$= \exp(\beta_0) * \exp(\beta_1 * \text{GruppeT}) * \exp(\beta_2 * \log(X_{A4}))$$

Die Koeffizienten wirken also in multiplikativer Form auf den unlogarithmierten Wert. Wenn man also z.B. im Regressionsmodell für  $\beta_1$  (Tourette) eine Schätzung von  $-0.1762$  erhält, kann man daraus ableiten, dass im Mittel die Tourette Patienten den  $\exp(-0.1762) = 0.8384503$  fachen Wert bei  $X_{A6IA8}$  haben als die Gesunden. Ist der geschätzte Koeffizient  $\beta_1$  kleiner als Null, erkennt man einen negativen Effekt, bei größer Null einen positiven. Ist der Wert nahe Null oder nicht signifikant

(siehe  $\text{Pr}(> |t|)$ ) kann kein Effekt der Krankheit nachgewiesen werden.

Eine anschauliche Interpretation der durchgeführten Regressionsanalyse wird ferner im Kapitel 3 im Zusammenhang mit der grafischen Darstellung der Ergebnisse in Streudiagrammen gegeben.

**Auswertungen mit der (Log-) linearen Regression**

Erläuterung zu Tabelle 3-6 Tabelle 3-38: Die Regressionsanalyse mit SPSS liefert Zahlenwerte für die im Modell angesetzten Größen  $\beta_0$ ,  $\beta_1$  und  $\beta_2$  (Tabelle 3-6 bis Tabelle 3-21) bzw.  $\beta_0$ ,  $\beta_{11}$ ,  $\beta_{12}$  und  $\beta_2$  (Tabelle 3-22 bis Tabelle 3-38), für die Signifikanz  $R^2$  des Modells als auch die Signifikanz  $\text{Pr}(>|t|)$  zu jeder Größe  $\beta_0$ ,  $\beta_1$  und  $\beta_2$  (Tabelle 3-6 bis Tabelle 3-21) bzw.  $\beta_0$ ,  $\beta_{11}$ ,  $\beta_{12}$  und  $\beta_2$  (Tabelle 3-22 bis Tabelle 3-38) zur Beurteilung der Brauchbarkeit des Modells. Diese Beurteilung befasst sich mit der Frage, ob sich die gefundenen Zusammenhänge verallgemeinern lassen, nämlich nicht nur

für die gerade vorliegenden Daten gelten. Die Kennzahl  $R^2$  mit  $0 \leq R^2 \leq 1$  ist eine Zahl zur Bewertung der Güte des Regressionsmodells. Je größer  $R^2$  ist, desto besser ist das Modell geeignet. Jedoch lässt  $R^2$  nicht auf einen kausalen Zusammenhang schließen. Ferner werden zur Beurteilung der Brauchbarkeit der Regressionsanalyse die Signifikanzen  $\Pr(>|t|)$  herangezogen. Je kleiner der jeweilige Wert  $\Pr(>|t|)$  ist, desto größer ist die Wahrscheinlichkeit, dass die dem  $\beta$ -Wert zugehörige Variable mit der abhängigen Variablen korreliert. Der t-Wert ist die normierte Mittelwertsdifferenz.

*Tabelle 3-6 Antikörper-Kombination 1, AK1.A6.TNF- $\alpha$   $R^2 = 0.31$*

	Koeffizient	Standardfehler	t Wert	$\Pr(> t )$
$\beta_0$	1.8270	0.5370	3.40	0.0010
$\beta_1$	-0.1910	0.1060	-1.80	0.0770
$\beta_2$	0.6650	0.1310	5.09	0.0000

*Tabelle 3-7 Antikörper-Kombination 1, AK1.A8.TNF- $\alpha$   $R^2 = 0.44$*

	Koeffizient	Standardfehler	t Wert	$\Pr(> t )$
$\beta_0$	1.4820	0.4190	3.54	0.0010
$\beta_1$	-0.2150	0.0830	-2.60	0.0120
$\beta_2$	0.6690	0.1020	6.57	0.0000

*Tabelle 3-8 Antikörper-Kombination 1, AK1.A6.IL-10  $R^2 = 0.60$*

	Koeffizient	Standardfehler	t Wert	$\Pr(> t )$
$\beta_0$	1.3365	0.4038	3.31	0.0016
$\beta_1$	0.0148	0.0536	0.28	0.7834
$\beta_2$	0.8289	0.0862	9.62	0.0000

Tabelle 3-9 Antikörper-Kombination 1, AK1.A8.IL-10  $R^2 = 0.64$ 

	Koeffizient	Standardfehler	t Wert	Pr(> t )
$\beta_0$	1.5564	0.3456	4.50	0.0000
$\beta_1$	-0.0080	0.0460	-0.17	0.8621
$\beta_2$	0.7633	0.0737	10.35	0.0000

Tabelle 3-10 Antikörper-Kombination 2, AK2.A6.IL-1 $\beta$   $R^2 = 0.29$ 

	Koeffizient	Standardfehler	t Wert	Pr(> t )
$\beta_0$	1.6406	0.2777	5.91	0.0000
$\beta_1$	-0.0101	0.0913	-0.11	0.9122
$\beta_2$	0.5815	0.1120	5.19	0.0000

Tabelle 3-11 Antikörper-Kombination 2, AK2.A8.IL-1 $\beta$   $R^2 = 0.43$ 

	Koeffizient	Standardfehler	t Wert	Pr(> t )
$\beta_0$	1.2924	0.2179	5.93	0.0000
$\beta_1$	-0.0661	0.0716	-0.92	0.3598
$\beta_2$	0.6024	0.0878	6.86	0.0000

Tabelle 3-12 Antikörper-Kombination 2, AK2.A6.IL-6  $R^2 = 0.29$ 

	Koeffizient	Standardfehler	t Wert	Pr(> t )
$\beta_0$	2.1283	0.5779	3.68	0.0005
$\beta_1$	0.0001	0.0667	0.00	0.9989
$\beta_2$	0.6425	0.1231	5.22	0.0000

Tabelle 3-13 Antikörper-Kombination 2, AK2.A8.IL-6  $R^2 = 0.41$ 

	Koeffizient	Standardfehler	t Wert	Pr(> t )
$\beta_0$	1.8964	0.4687	4.05	0.0001
$\beta_1$	-0.0219	0.0541	-0.41	0.6866
$\beta_2$	0.6725	0.0999	6.73	0.0000

Tabelle 3-14 Antikörper Kombination 3, AK3.A6.TLR-4  $R^2 = 0.62$ 

	Koeffizient	Standardfehler	t Wert	Pr(> t )
$\beta_0$	1.7923	0.2433	7.37	0.0000
$\beta_1$	-0.1468	0.0858	-1.71	0.0923
$\beta_2$	0.7653	0.0777	9.85	0.0000

Tabelle 3-15 Antikörper Kombination 3, AK3.A8.TLR-4  $R^2 = 0.69$ 

	Koeffizient	Standardfehler	t Wert	Pr(> t )
$\beta_0$	1.8437	0.2095	8.80	0.0000
$\beta_1$	-0.1306	0.0739	-1.77	0.0822
$\beta_2$	0.7557	0.0669	11.30	0.0000

Tabelle 3-16 Antikörper Kombination 3, AK3.A6.TLR-2  $R^2 = 0.82$ 

	Koeffizient	Standardfehler	t Wert	Pr(> t )
$\beta_0$	0.7052	0.2785	2.53	0.0139
$\beta_1$	0.0172	0.0922	0.19	0.8530
$\beta_2$	0.9774	0.0579	16.88	0.0000

Tabelle 3-17 Antikörper Kombination 3, AK3.A8.TLR-2  $R^2 = 0.81$ 

	Koeffizient	Standardfehler	t Wert	Pr(> t )
$\beta_0$	0.4584	0.3000	1.53	0.1316
$\beta_1$	-0.0541	0.0994	-0.54	0.5883
$\beta_2$	1.0255	0.0624	16.45	0.0000

Tabelle 3-18 Antikörper Kombination 4, AK4.A6.TLR-3  $R^2 = 0.37$ 

	Koeffizient	Standardfehler	t Wert	Pr(> t )
$\beta_0$	1.8749	0.4003	4.68	0.0000
$\beta_1$	-0.1199	0.0883	-1.36	0.1794
$\beta_2$	0.7130	0.1170	6.09	0.0000

Tabelle 3-19 Antikörper Kombination 4, AK4.A8.TLR-3  $R^2 = 0.45$ 

	Koeffizient	Standardfehler	t Wert	Pr(> t )
$\beta_0$	1.9043	0.3334	5.71	0.0000
$\beta_1$	-0.0263	0.0735	-0.36	0.7213
$\beta_2$	0.7087	0.0975	7.27	0.0000

Tabelle 3-20 Antikörper Kombination 4, AK4.A6.HLA-DR  $R^2 = 0.66$ 

	Koeffizient	Standardfehler	t Wert	Pr(> t )
$\beta_0$	1.2827	0.3548	3.62	0.0006
$\beta_1$	-0.1784	0.0971	-1.84	0.0712
$\beta_2$	0.9679	0.0885	10.94	0.0000

Tabelle 3-21 Antikörper Kombination 4, AK4.A8.HLA-DR  $R^2 = 0.67$ 

	Koeffizient	Standardfehler	t Wert	Pr(> t )
$\beta_0$	1.3332	0.3213	4.15	0.0001
$\beta_1$	-0.1762	0.0880	-2.00	0.0496
$\beta_2$	0.9046	0.0801	11.29	0.0000

### Modell für die (Log-) lineare Regression mit Untergruppen bei den Tourette-Syndrom-Patienten

Wie wir aus 3.1 bereits wissen, kann die Aufteilung der Tourette-Syndrom-Patienten in Untergruppen für unsere Untersuchung nützlich sein. Um statistische Auswertungen zu ermöglichen, passen wir die Modellgleichung für die (Log-) lineare Regression im Folgenden in ganz naheliegender Weise an. Statt bisher eine Gruppe T betrachten wir deshalb zwei Gruppen  $T_1$  und  $T_2$  der Tourette-Syndrom-Patienten, die später je nach Anwendung definiert werden können. Zur Einbeziehung dieser Gruppen im Modell ersetzen wir den bekannten Formelteil  $\beta_1 * \text{GruppeT}$  durch  $\beta_{11} * \text{GruppeT}_1 + \beta_{12} * \text{GruppeT}_2$  und definieren für  $i = 1, 2$  die  $\text{GruppeT}_i := 1$  oder  $0$  (1 bei Patienten von  $T_i$ , 0 sonst).

Wir erhalten die Modellgleichung

$$\log(X_{A6IA8}) = \beta_0 + \beta_{11} * \text{GruppeT}_1 + \beta_{12} * \text{GruppeT}_2 + \beta_2 * \log(X_{A4}) + \varepsilon$$

Dabei darf eine der Gruppen  $T_1, T_2$  auch entfallen.

### Interpretation des Modells mit Untergruppen

Des zu Beginn von 3.2.4 für nur eine Gruppe der Tourette-Syndrom-Patienten gesagte, gilt ganz analog für zwei Gruppen  $T_1$  und  $T_2$ . Aufgrund dieser früheren Überlegungen gilt entsprechend

$$X_{A6IA8} = \exp(\beta_0) * \exp(\beta_{11} * \text{GruppeT}_1) * \exp(\beta_{12} * \text{GruppeT}_2) * \exp(\beta_2 * \log(X_{A4}))$$

Die Koeffizienten wirken also in multiplikativer Form auf den unlogarithmierten Wert. Wenn man also z.B. im Regressionsmodell für  $\beta_{11}$  (bzw.  $\beta_{12}$ ) eine Schätzung von  $-0.1762$  erhält, kann man daraus ableiten, dass im Mittel die Tourette-Patienten von  $T_1$  (bzw.  $T_2$ ) den  $\exp(-0.1762) = 0.8384503$  fachen Wert bei  $X_{A6IA8}$  haben als die Gesunden. Ist der geschätzte Koeffizient  $\beta_{11}$  bzw.  $\beta_{12}$  kleiner als Null, erkennt man einen negativen Effekt, bei größer Null einen positiven. Ist der Wert nahe Null oder nicht signifikant (siehe  $\text{Pr}(> |t|)$ ) kann kein Effekt der Krankheit nachgewiesen werden. Eine anschauliche Erklärung der Regressionsanalyse wird in 3.3 vor den dann folgenden grafischen Darstellungen der Ergebnisse gegeben.

### Auswertungen mit der (Log-) linearen Regression mit Untergruppen hinsichtlich der Medikation

In diesem Abschnitt betrachten wir die beiden Gruppen  $T_1$  und  $T_2$  der Tourette-Syndrom-Patienten mit

$T_1$ : Patienten mit aktuell höchstens einer psychiatrischen Therapie (22 Fälle)

$T_2$ : Patienten mit aktueller Neuroleptika und zusätzlicher aktueller psychiatrischer Therapie (10 Fälle)

Tabelle 3-22 Antikörper-Kombination 1, AK1.A6.TNF- $\alpha$   $R^2 = 0.43$   $\beta_{12}=0$ ,  $T_2$  entfallen

	Koeffizient	Standardfehler	t Wert	Pr(> t )
$\beta_0$	1.444	0.545	2.65	<b>0.011</b>
$\beta_{11}$	<b>-0.350</b>	0.110	-3.18	<b>0.003</b>
$\beta_2$	0.759	0.133	5.72	<b>0.000</b>

Tabelle 3-23 Antikörper-Kombination 1, AK1.A8.TNF- $\alpha$   $R^2 = 0.46$   $\beta_{12}=0$ ,  $T_2$  entfallen

	Koeffizient	Standardfehler	t Wert	Pr(> t )
$\beta_0$	1.387	0.463	2.99	<b>0.004</b>
$\beta_{11}$	<b>-0.303</b>	0.094	-3.23	<b>0.002</b>
$\beta_2$	0.692	0.113	6.13	<b>0.000</b>

Tabelle 3-24 Antikörper-Kombination 1, AK1.A6.IL-10  $R^2 = 0.60$

	Koeffizient	Standardfehler	t Wert	Pr(> t )
$\beta_0$	1.323	0.405	3.27	0.002
$\beta_{11}$	0.008	0.060	0.14	0.890
$\beta_{12}$	0.019	0.077	0.25	0.808
$\beta_2$	0.832	0.086	9.63	0.000

Tabelle 3-25 Antikörper-Kombination 1, AK1.A8.IL-10  $R^2 = 0.64$ 

	Koeffizient	Standardfehler	t Wert	Pr(> t )
$\beta_0$	1.551	0.347	4.47	0.000
$\beta_{11}$	-0.035	0.051	-0.69	0.494
$\beta_{12}$	0.039	0.066	0.59	0.555
$\beta_2$	0.764	0.074	10.33	0.000

Tabelle 3-26 Antikörper-Kombination 2, AK2.A6.IL-1 $\beta$   $R^2 = 0.35$ 

	Koeffizient	Standardfehler	t Wert	Pr(> t )
$\beta_0$	1.595	0.270	5.90	0.000
$\beta_{11}$	-0.120	0.098	-1.23	0.224
$\beta_{12}$	0.201	0.127	1.58	0.119
$\beta_2$	0.600	0.109	5.50	0.000

Tabelle 3-27 Antikörper-Kombination 2, AK2.A8.IL-1 $\beta$   $R^2 = 0.46$ 

	Koeffizient	Standardfehler	t Wert	Pr(> t )
$\beta_0$	1.278	0.216	5.91	0.000
$\beta_{11}$	-0.137	0.078	-1.76	0.084
$\beta_{12}$	0.083	0.102	0.82	0.418
$\beta_2$	0.608	0.087	6.97	0.000

Tabelle 3-28 Antikörper-Kombination 2, AK2.A6.IL-6  $R^2 = 0.30$ 

	Koeffizient	Standardfehler	t Wert	Pr(> t )
$\beta_0$	2.004	0.579	3.46	0.001
$\beta_{11}$	-0.049	0.074	-0.66	0.512
$\beta_{12}$	0.076	0.097	0.79	0.435
$\beta_2$	0.669	0.123	5.43	0.000



Tabelle 3-29 Antikörper-Kombination 2, AK2.A8.IL-6  $R^2 = 0.41$ 

	Koeffizient	Standardfehler	t Wert	Pr(> t )
$\beta_0$	1.837	0.474	3.88	0.000
$\beta_{11}$	-0.045	0.060	-0.75	0.459
$\beta_{12}$	0.003	0.079	0.04	0.969
$\beta_2$	0.685	0.101	6.79	0.000

Tabelle 3-30 Antikörper-Kombination 3, AK3.A6.TLR-4  $R^2 = 0.63$   $\beta_{12}=0, T_2$  entfallen

	Koeffizient	Standardfehler	t Wert	Pr(> t )
$\beta_0$	1.802	0.262	6.89	<b>0.000</b>
$\beta_{11}$	<b>-0.210</b>	0.100	-2.10	<b>0.041</b>
$\beta_2$	0.762	0.084	9.12	<b>0.000</b>

Tabelle 3-31 Antikörper-Kombination 3, AK3.A8.TLR-4  $R^2 = 0.71$   $\beta_{12}=0, T_2$  entfallen

	Koeffizient	Standardfehler	t Wert	Pr(> t )
$\beta_0$	1.874	0.216	8.69	<b>0.000</b>
$\beta_{11}$	<b>-0.193</b>	0.083	-2.34	<b>0.023</b>
$\beta_2$	0.746	0.069	10.82	<b>0.000</b>

Tabelle 3-32 Antikörper-Kombination 3, AK3.A6.TLR-2  $R^2 = 0.83$ 

	Koeffizient	Standardfehler	t Wert	Pr(> t )
$\beta_0$	0.690	0.281	2.46	0.017
$\beta_{11}$	-0.020	0.103	-0.19	0.850
$\beta_{12}$	0.061	0.134	0.45	0.652
$\beta_2$	0.981	0.058	16.81	0.000

Tabelle 3-33 Antikörper-Kombination 3, AK3.A8.TLR-2  $R^2 = 0.81$ 

	Koeffizient	Standardfehler	t Wert	Pr(> t )
$\beta_0$	0.446	0.302	1.47	0.146
$\beta_{11}$	-0.103	0.111	-0.93	0.357
$\beta_{12}$	0.025	0.144	0.17	0.863
$\beta_2$	1.028	0.063	16.36	0.000

Tabelle 3-34 Antikörper-Kombination 4, AK4.A6.TLR-3  $R^2 = 0.37$ 

	Koeffizient	Standardfehler	t Wert	Pr(> t )
$\beta_0$	1.790	0.410	4.36	0.000
$\beta_{11}$	-0.171	0.099	-1.73	0.090
$\beta_{12}$	-0.034	0.129	-0.26	0.795
$\beta_2$	0.738	0.120	6.15	0.000

Tabelle 3-35 Antikörper-Kombination 4, AK4.A8.TLR-3  $R^2 = 0.47$ 

	Koeffizient	Standardfehler	t Wert	Pr(> t )
$\beta_0$	1.785	0.334	5.34	0.000
$\beta_{11}$	-0.097	0.081	-1.20	0.236
$\beta_{12}$	0.091	0.105	0.86	0.391
$\beta_2$	0.744	0.098	7.61	0.000

Tabelle 3-36 Antikörper-Kombination 4, AK4.A6.HLA-DR  $R^2 = 0.64$   $\beta_{12}=0, T_2$  entfallen

	Koeffizient	Standardfehler	t Wert	Pr(> t )
$\beta_0$	1.297	0.404	3.21	<b>0.002</b>
$\beta_{11}$	<b>-0.245</b>	0.115	-2.14	<b>0.038</b>
$\beta_2$	0.964	0.101	9.54	<b>0.000</b>

Tabelle 3-37 Antikörper-Kombination 4, AK4.A8.HLA-DR  $R^2 = 0.66$   $\beta_{12}=0$ ,  $T_2$  entfallen

	Koeffizient	Standardfehler	t Wert	Pr(> t )
$\beta_0$	1.495	0.349	4.28	<b>0.000</b>
$\beta_{11}$	<b>-0.258</b>	0.099	-2.60	<b>0.012</b>
$\beta_2$	0.864	0.087	9.89	<b>0.000</b>

### Auswertungen mit der (Log-) linearen Regression mit Untergruppen hinsichtlich der Komorbidität

In diesem Abschnitt definieren wir die beiden Gruppen  $T_1$  und  $T_2$  durch die folgenden Untergruppen  $T_{\text{komorbid}}$  und  $T_{\text{nicht komorbid}}$  der Tourette-Syndrom-Patienten.

$T_{\text{komorbid}}$  : Tourette-Syndrom-Patienten mit Komorbidität (12 Fälle)

$T_{\text{nicht komorbid}}$  : Tourette-Syndrom-Patienten ohne Komorbidität (10 Fälle)

Wie bereits erwähnt, sind die beiden Gruppen zu klein, um mit statistischen Auswertungen zu gesicherten Erkenntnissen zu gelangen. Bei den trotzdem durchgeführten Auswertungen beschränken wir uns deshalb bei der Darstellung der Auswertungen lediglich auf einen Fall der Antikörper Kombination 1:

Tabelle 3-38 Antikörper-Kombination 1, AK1.A8.TNF- $\alpha$   $R^2 = 0.43$   $\beta_{12}=0$ ,  $T_{\text{nicht komorbid}}$  entfallen

	Koeffizient	Standardfehler	t Wert	Pr(> t )
$\beta_0$	1.573	0.509	3.09	<b>0.004</b>
$\beta_{11}$	<b>-0.277</b>	0.121	-2.29	<b>0.027</b>
$\beta_2$	0.647	0.124	5.21	<b>0.000</b>

### 3.3 Übergreifende Gesichtspunkte

Im Kapitel 3.1 und 3.2 haben wir Daten erhoben und ausgewertet. In diesem Kapitel werden die damit gewonnenen Ergebnisse dargestellt. Dazu eignen sich in besonderer Weise grafische Darstellungen, weil sie auf einen Blick einen sehr guten optischen Eindruck vermitteln. Hierzu verwenden wir Streudiagramme und Boxplots, und zwar für die Gesunden, die Tourette-Syndrom-Patienten (Gruppe T) und zwei disjunkte Untergruppen der Tourette-Syndrom-Patienten (Gruppe  $T_1$  und Gruppe  $T_2$ ):

Gruppe  $T_1$ : mit aktuell höchstens einer psychiatrischen Therapie

Gruppe  $T_2$ : mit aktueller Neuroleptika und zusätzlicher aktueller psychiatrischen Therapie, kurz: mit (aktuell mindestens) zwei psychiatrischen Therapien

Bei den folgenden Streudiagrammen für HLA-DR, TNF- $\alpha$  bzw. TLR-4 für Tourette-Syndrom-Patienten (T oder  $T_1$ ) bzw. die Gesunden wird im x-y-Diagramm für jede Person ein Punkt markiert, wobei der x-Wert dem unstimulierten Wert (Ansatz A4) und der y-Wert dem stimulierten Wert (A6 bzw. A8) entspricht. Damit zeigt die Gerade  $y = x$ , ob die Stimulierung den betrachteten Wert vergrößert, nicht verändert oder verkleinert. Wir verwenden für die x- und y-Achse den logarithmischen Maßstab, d.h. für den jeweiligen Wert von HLA-DR, TNF- $\alpha$  bzw. TLR-4 wird zuerst der natürliche Logarithmus berechnet und dieser für die Grafik verwendet. Im Streudiagramm sind nun viele Punkte für die Gesunden und viele Punkte für die betrachtete Gruppe T bzw.  $T_1$  der Tourette-Syndrom-Patienten zu sehen. Die angewendete Methode der linearen Regression ist nun ganz einfach zu erklären. Sie besteht darin, zwei parallele Geraden so zu bestimmen, dass die eine Gerade die Punkte der Gesunden und die andere die der Tourette-Syndrom-Patienten optimal annähert. Das veränderte Gruppenverhalten wird aus dem Abstand der parallelen Geraden erklärt. Gemessen wird der Abstand der beiden Regressionsgeraden in y-Richtung, ausgehend von der Geraden zur Annäherung der Gesunden. Der Abstand wird mit  $\beta_1$  bei der Gruppe T bzw.  $\beta_{11}$  bei der Gruppe  $T_1$  bezeichnet und ist negativ, wenn sich die Gerade zur Annäherung der Gruppe T bzw. der Gruppe  $T_1$  unter der Geraden zur Approximation der Gesunden liegt. Wie eben beschrieben, können mit den Streudiagrammen auch die Ergebnisse der Methode der linearen Regression veranschaulicht werden.

Ein Boxplot ist bekanntlich ein Diagramm, das die Lage und Verteilung der Werte einer Variablen abbildet. Dargestellt werden die 25%-, 50%- und 75%-Perzentile, Ausreißer, sowie der größte und kleinste Wert, der noch kein Ausreißer ist. Bei den folgenden Boxplots verwenden wir als Variable HLA-DR, TNF- $\alpha$  bzw. TLR-4 bei verschiedenen Ansätzen und daraus abgeleitete Werte. Für die abgeleiteten Werte verwenden wir beispielsweise die Bezeichnungsweise

Vgl  $A8_{zu}A4$  HLA-DR :=  $HLA-DR_{A8} / HLA-DR_{A4} - 1$

für den Messwert HLA-DR, die Stimulation A8 und den unstimulierten Ansatz A4. Diese Bezeichnungsweise verwenden wir sinngemäß auch für andere

Rezeptorexpressionen bzw. Zytokinkonzentrationen und andere Ansätze (A6, A8 stimuliert und A2, A4 unstimuliert). In diesen Boxplots zeigt uns die 0-Linie, ob die Stimulierung die Werte vergrößert, nicht verändert oder verkleinert. Generell stellen wir Boxplots zum vergleichen von Patientengruppen ( $T_1$  und  $T_2$  bzw. T) mit Gesunden nebeneinander und klären mit der Signifikanz  $p$  der Mann-Whitney-U Methode, ob die Verteilungen für diese Gruppen als gleich ( $p > 0,950$ ), unterschiedlich ( $p < 0,050$ ) oder nicht entschieden ( $0,050 < p < 0,950$ ) gewertet werden. Der jeweils ermittelte Wert für  $p$  ist in den folgenden Grafiken zwischen den beiden Boxplots eingetragen. Somit sind die Boxplots geeignet, um zugleich die Ergebnisse der Mann-Whitney-U Methode anzugeben.

Für eine einzelne Person (Tourette-Patient oder gesunde Person) oder einen Vergleich eines Tourette-Patienten mit einer gesunden Person liefern die statistischen Methoden bekanntlich keine Vorhersage. Die Ergebnisse gelten im Folgenden für ein oder mehrere Kollektive.

### 3.4 Differentialblutbild, Monozytenzahl/nl und CRP

*Tabelle 3-39 Auswertung von Differentialblutbild und CRP nach Mann-Whitney-U (Z=Prüfgröße, asymptotische Signifikanz entspricht dem p-Wert)*

	Mann-Whitney-U	Wilcoxon-W	Z	Asymptotische Signifikanz (2-seitig)
Segmentierte	422,000	918,000	-1,204	,229
Eosinophile	419,500	980,500	-1,063	,288
Basophile	397,000	958,000	-1,557	,119
Monozyten	368,000	864,000	-1,965	,049
Lymphozyten	404,500	965,500	-1,440	,150
CRP	401,500	897,500	-1,700	,089

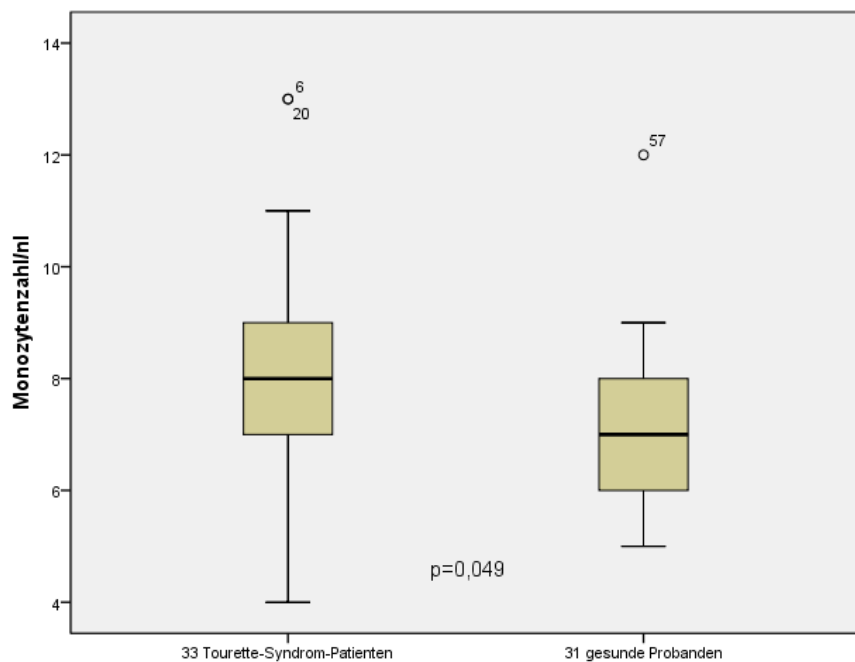


Abbildung 3-1 Vergleich der Monozytenzahl/nl zwischen Tourette-Syndrom-Patienten und gesunden Probanden in Boxplot-Darstellung

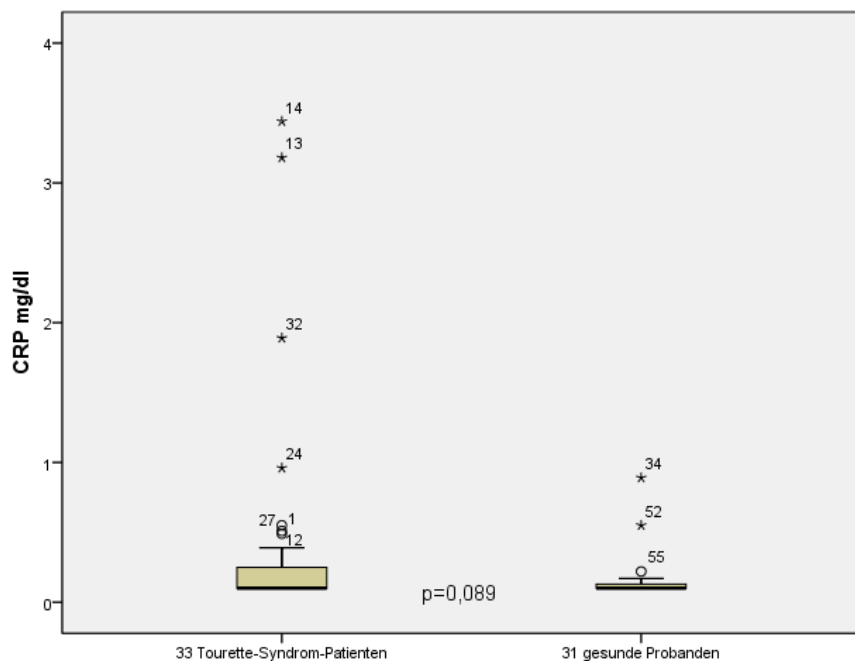


Abbildung 3-2 Vergleich von CRP mg/dl zwischen Tourette-Syndrom-Patienten und gesunden Probanden in Boxplot-Darstellung

### 3.5 HLA-DR

Bei HLA-DR zeigen sich mit der Mann-Whitney-U Methode die Unterschiede der Gruppen der Tourette-Syndrom-Patienten und den Gesunden erst beim Vergleich des stimulierten zum unstimulierten Fall, und zwar besonders ausgeprägt bei der Simulation eines viralen und weniger deutlich bei der Simulation eines bakteriellen Infektes. Besonders eindrucksvoll sind die Ergebnisse bei der Betrachtung von  $(\text{HLA-DR}_{A8} - \text{HLA-DR}_{A4}) / \text{HLA-DR}_{A4} = \text{HLA-DR}_{A8} / \text{HLA-DR}_{A4} - 1$ , siehe Abbildung 3-3. Hier verhalten sich die Tourette-Syndrom-Patienten mit zwei psychiatrischen Therapien statistisch wie die Gesunden ( $p=0,976$ ). Trotzdem ist die Gruppe aller Tourette-Syndrom-Patienten signifikant unterschiedlich zur Gruppe der Gesunden ( $p=0,039$ ). Besonders deutlich ist der signifikante Unterschied der Gruppe der Tourette-Syndrom-Patienten mit aktuell höchstens einer psychiatrischen Therapie im Vergleich zu den Gesunden ( $p=0,008$ ), aber auch zur Gruppe der Tourette-Syndrom-Patienten mit zwei psychiatrischen Therapien ist er noch vorhanden ( $p=0,038$ ).

Die (Log-) lineare Regressionsanalyse ergibt bei HLA-DR bei der viralen Stimulation durch Poly I:C in Abhängigkeit der Werte ohne Stimulation eine Schätzung für den Koeffizienten  $\beta_1 = -0.1762$  für Tourette-Syndrom-Patienten, die besagt, dass im Mittel die Tourette Patienten den  $\exp(-0.1762) = 0.8384503$  fachen Wert bei  $\text{HLA-DR}_{A8}$  haben als die Gesunden, siehe Abbildung 3-5 und Abbildung 3-6. Der Parameter  $\beta_1 = -0.1762$  ist kleiner null, d.h. die Wirkung der Stimulierung durch Poly I:C fällt im Mittel bei Tourette-Syndrom-Patienten geringer aus als bei Gesunden. Die Abbildung 3-4 zeigt dazu kompatible Resultate, nämlich dass die HLA-DR Expression durch die Poly I:C Stimulierung bei den Gesunden statistisch größer als bei den Tourette-Syndrom-Patienten ist, nämlich z.B. beim 25%-, 50%- und 75%-Perzentil.

Betrachtet man bei der (Log-) lineare Regressionsanalyse mit Untergruppen bei den Tourette-Syndrom-Patienten lediglich die Gruppe  $T_1$  (d.h. die Gruppe  $T_2$  entfällt bei der Analyse,  $\beta_{12}=0$ ) erhält man Ergebnisse für HLA-DR sowohl bei der viralen Stimulierung, (siehe Abbildung 3-7 und Abbildung 3-8) mit  $\beta_{11}=-0,258$ ,  $\exp(\beta_{11})= 0,773$  als auch der bakteriellen Stimulierung, siehe Abbildung 3-9 und Abbildung 3-10 mit  $\beta_{11}=-0,245$ ,  $\exp(\beta_{11})= 0,783$ . Der Koeffizient  $\beta_{11}$  ist in beiden Fällen negativ, d.h. die Wirkung der Stimulierung ist bei den Tourette-Syndrom-Patienten  $T_1$  geringer als bei den Gesunden.

Diese Vergleiche der Wirkung der Stimulierung führten zu relativen Ergebnissen, die noch nichts über die absolute Wirkung der Stimulation aussagen. Die 0-Linie bei den Boxplots und die Gerade  $y = x$  bei den Streudiagrammen klären die absolute Veränderung durch die Stimulierungen A8 bzw. A6. Die Stimulierung vergrößert die Werte von HLA-DR bei allen Gesunden, mit zwei Ausnahmen bei  $T$  und  $T_1$  im viralen und mit einer Ausnahme im bakteriellen Fall siehe Abbildung 3-3 bis Abbildung 3-10.

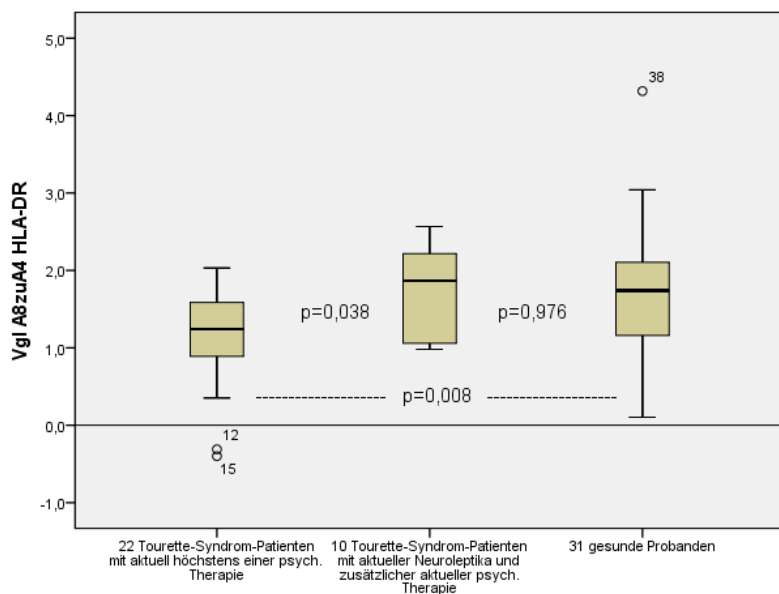


Abbildung 3-3 HLA-DR im Modell der viralen Stimulation mit Poly:IC im Vergleich zum unstimulierten Zustand. Vergleich zwischen 3 Gruppen (T1, T2 und gesunde Probanden).

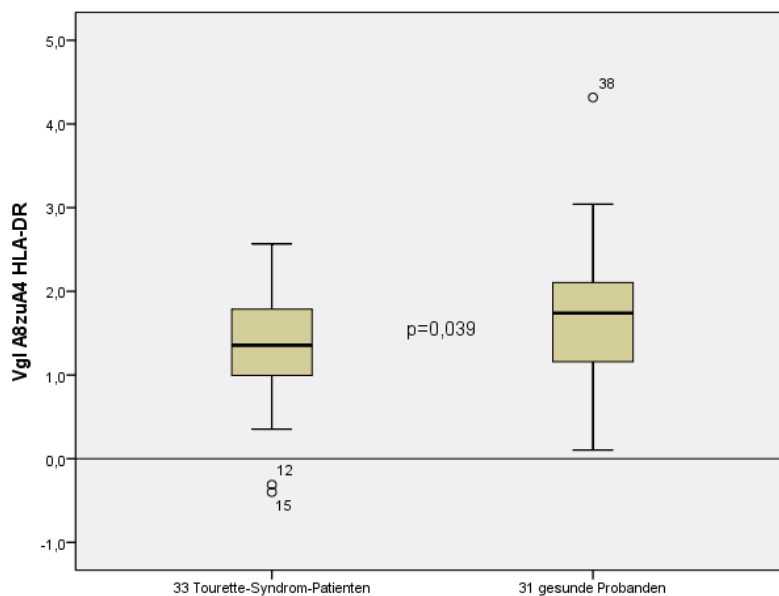


Abbildung 3-4 HLA-DR im Modell der viralen Stimulation mit Poly:IC im Vergleich zum unstimulierten Zustand. Vergleich zwischen 2 Gruppen (Tourette-Syndrom-Patienten und gesunde Probanden).



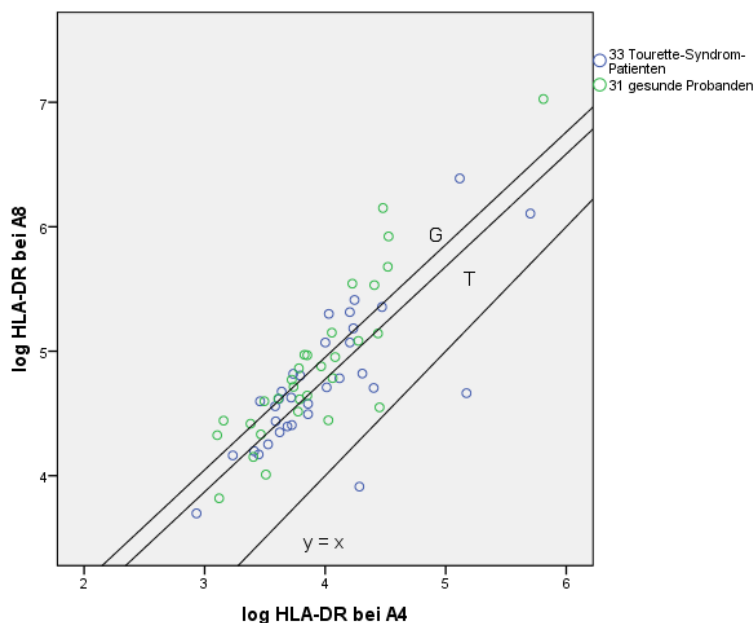


Abbildung 3-5 Streudiagramm und (Log-) lineare Regression für HLA-DR im Modell der viralen Stimulation mit Poly:IC im Vergleich zum unstimulierten Zustand mit Tourette-Syndrom-Patienten und gesunden Probanden. Bei HLA-DR sind jeweils die logarithmierten Werte dargestellt ( $\log \text{HLA-DR} = x$  bedeutet  $\text{HLA-DR} = \exp(x)$ )

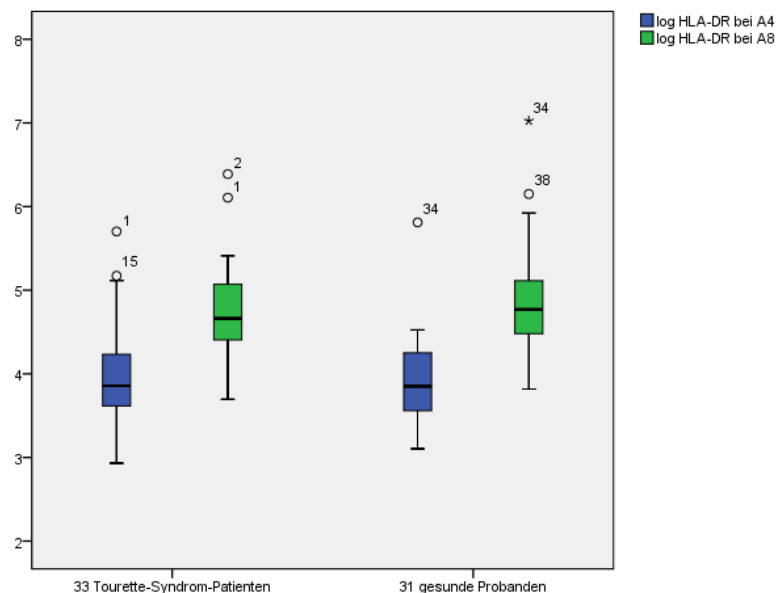


Abbildung 3-6 Boxplots und (Log-) lineare Regression für HLA-DR im Modell der viralen Stimulation mit Poly:IC im Vergleich zum unstimulierten Zustand mit Tourette-Syndrom-Patienten und gesunden Probanden. Bei HLA-DR sind jeweils die logarithmierten Werte dargestellt ( $\log \text{HLA-DR} = x$  bedeutet  $\text{HLA-DR} = \exp(x)$ )

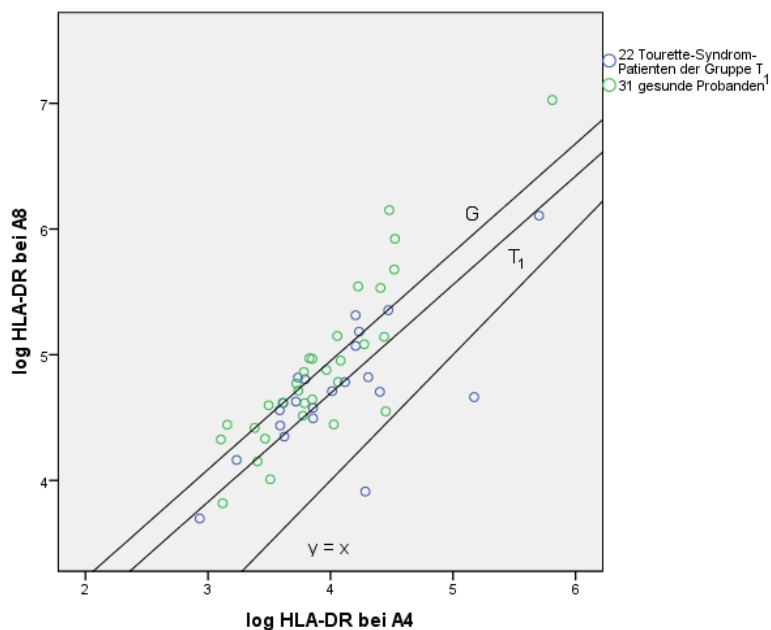


Abbildung 3-7 Streudiagramm und (Log-) lineare Regression für HLA-DR im Modell der viralen Stimulation mit Poly:IC im Vergleich zum unstimulierten Zustand mit Tourette-Syndrom-Patienten der Gruppe T1 und gesunden Probanden. Bei HLA-DR sind jeweils die logarithmierten Werte dargestellt (log HLA-DR = x bedeutet HLA-DR = exp(x))

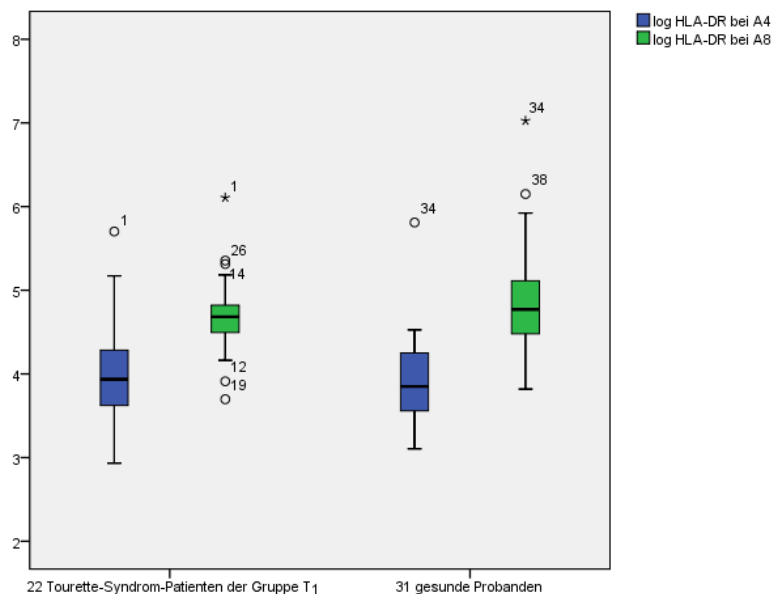


Abbildung 3-8 Boxplots und (Log-) lineare Regression für HLA-DR im Modell der viralen Stimulation mit Poly:IC im Vergleich zum unstimulierten Zustand mit Tourette-Syndrom-Patienten der Gruppe T1 und gesunden Probanden. Bei HLA-DR sind jeweils die logarithmierten Werte dargestellt (log HLA-DR = x bedeutet HLA-DR = exp(x))

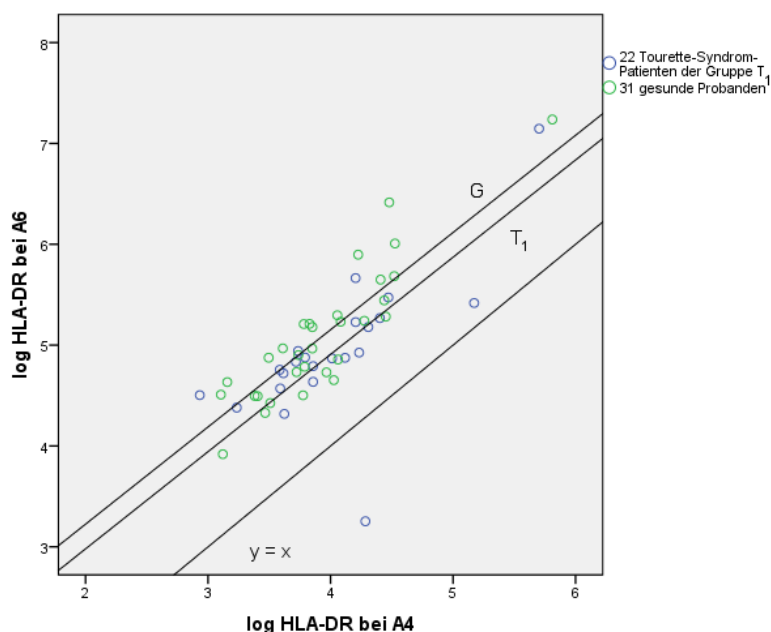


Abbildung 3-9 Streudiagramm und (Log-) lineare Regression für HLA-DR im Modell der bakteriellen Stimulation mit LPS im Vergleich zum unstimulierten Zustand mit Tourette-Syndrom-Patienten der Gruppe T<sub>1</sub> und gesunden Probanden. Bei HLA-DR sind jeweils die logarithmierten Werte dargestellt ( $\log \text{HLA-DR} = x$  bedeutet  $\text{HLA-DR} = \exp(x)$ )

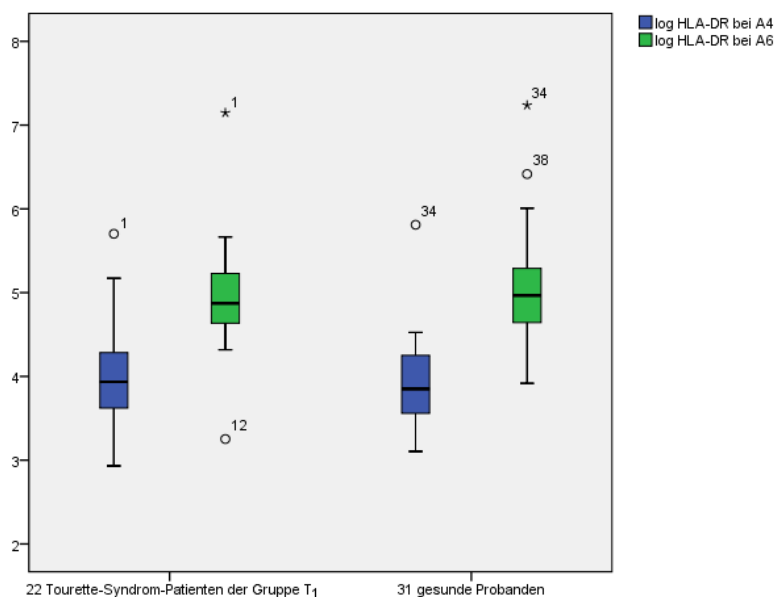


Abbildung 3-10 Boxplots und (Log-) lineare Regression für HLA-DR im Modell der bakteriellen Stimulation mit LPS im Vergleich zum unstimulierten Zustand mit Tourette-Syndrom-Patienten der Gruppe T<sub>1</sub> und gesunden Probanden. Bei HLA-DR sind jeweils die logarithmierten Werte dargestellt ( $\log \text{HLA-DR} = x$  bedeutet  $\text{HLA-DR} = \exp(x)$ )

### Korrelationen zwischen HLA-DR und dem Schweregrad der Erkrankung (YGTSS)

Um zu klären, ob die Schwere der Erkrankung der 33 Tourette-Syndrom-Patienten einen statistischen Einfluss auf Vgl A8zuA4 HLA-DR hat und ggf. welchen, sind im Streudiagramm Abbildung 3-11 diese Werte in Abhängigkeit von YGTSS (Wertebereich 0 für gesund bis 100 für maximal krank) dargestellt.

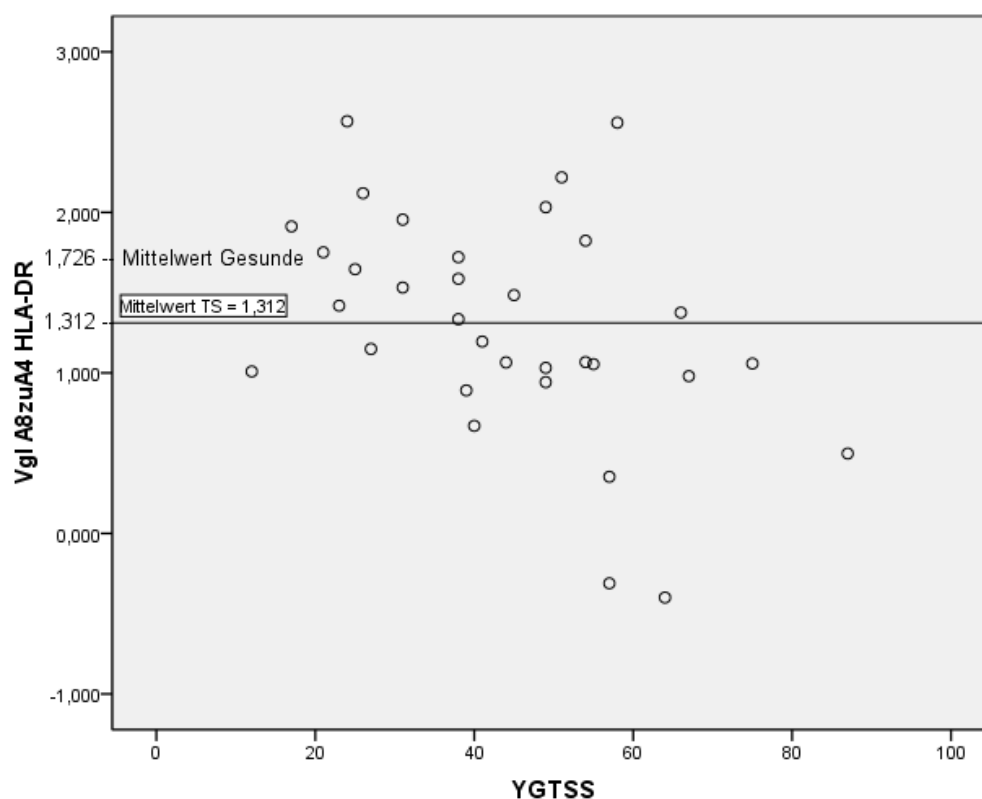


Abbildung 3-11 Vergleich von HLA-DR im Modell der viralen Stimulation mit Poly:IC im Vergleich zum unstimulierten Zustand in Abhängigkeit von YGTSS für 33 Tourette-Syndrom-Patienten.

Durch die Stimulierung wird der Wert von HLA-DR bei den Gesunden im Mittel um den Faktor 2,726 vergrößert. Bei den Tourette Syndrom Patienten ist der Faktor noch 2,312. Eine Verstärkungswirkung ist bei den Tourette Syndrom Patienten mit zwei Ausnahmen vorhanden, wie die 0-Linie zeigen würde. Ferner lässt das Streudiagramm vermuten, dass die Verstärkungswirkung bei den Tourette-Syndrom-Patienten statistisch mit der Schwere der Krankheit (gemessen durch YGTSS) abnimmt. Zur Klärung verwenden wir die statistischen Verfahren von Pearson und Spearman-Rho, die den Korrelationskoeffizienten (Wertebereich -1 bis +1, 0 keine Korrelation und -1 bzw. +1 größtmögliche Korrelation) und die zugehörige Signifikanz berechnen. Das Vorzeichen gibt an, ob mit wachsenden YGTSS-Werten auch Vgl

A8zuA4 HLA-DR im statistischen Mittel wächst (Vorzeichen positiv: positive Korrelation) oder abnimmt (Vorzeichen negativ: negative Korrelation).

*Tabelle 3-40 Korrelationskoeffizient mit Signifikanz für Vgl A8zuA4 HLA-DR und YGTSS*

Korrelation nach Pearson	-0,428
Signifikanz (2-seitig)	0,013
Signifikanz (1-seitig)	0,007
Korrelation nach Spearman-Rho	-0,433
Signifikanz (2-seitig)	0,012
Signifikanz (1-seitig)	0,006

Es handelt sich um eine negative Korrelation mit dem Korrelationskoeffizienten zwischen -0,433 und -0,428, die jedoch nicht sehr stark ausgeprägt ist (Werte liegen nicht auf einer Geraden). Die statistischen Verfahren haben unsere aus dem Streudiagramm abgeleitete Vermutung bestätigt. Jedoch liefern die statistischen Verfahren keinerlei Aussage, ob bei der vorhandenen Korrelation ein Kausalzusammenhang besteht oder nicht.

### 3.6 TNF- $\alpha$

Bei TNF- $\alpha$  und der viralen Stimulation erhalten wir mit der Mann-Whitney-U Methode Ergebnisse zu

$$(TNF \alpha_{A8} - TNF \alpha_{A4}) / TNF \alpha_{A4} = TNF \alpha_{A8} / TNF \alpha_{A4} - 1.$$

Siehe Abbildung 3-12 und Abbildung 3-13. Die Gruppe aller Tourette-Syndrom-Patienten ist signifikant unterschiedlich zur Gruppe der Gesunden ( $p=0,034$ ). Besonders deutlich ist der signifikante Unterschied der Gruppe der Tourette-Syndrom-Patienten mit aktuell höchstens einer psychiatrischen Therapie im Vergleich zu den Gesunden ( $p=0,003$ ), ebenso wie zur Gruppe der Tourette-Syndrom-Patienten mit zwei psychiatrischen Therapien ( $p=0,003$ ).

Bei TNF- $\alpha$  und der bakteriellen Stimulation erhalten wir Ergebnisse zum Ansatz A6 mit  $p=0,043$  (siehe Abbildung 3-18) und

$$(TNF \alpha_{A6} - TNF \alpha_{A4}) / TNF \alpha_{A4} = TNF \alpha_{A6} / TNF \alpha_{A4} - 1$$

mit  $p=0,007$  (siehe Abbildung 3-19) durch die Gruppe der Tourette-Syndrom-Patienten mit aktuell höchstens einer psychiatrischen Therapie im Vergleich zu den Gesunden.

Die (Log-) lineare Regressionsanalyse ergibt bei TNF- $\alpha$  mit der viralen Stimulation durch Poly I:C in Abhängigkeit der Werte ohne Stimulation eine Schätzung für den Koeffizienten  $\beta_1 = -0.215$  für Tourette-Syndrom-Patienten, die besagt, dass im Mittel

die Tourette-Patienten den  $\exp(-0.215) = 0.806541$  fachen Wert bei  $\text{TNF-}\alpha_{A8}$  haben als die Gesunden (siehe Abbildung 3-14 und Abbildung 3-15). Die Abbildung 3-13 zeigt dazu kompatible Resultate, nämlich dass die  $\text{TNF-}\alpha$ -Konzentration durch die Poly I:C Stimulierung bei den Gesunden statistisch größer als bei den Tourette-Syndrom-Patienten ist, nämlich z.B. beim 25%-, 50%- und 75%-Perzentil.

Betrachtet man bei der (Log-) lineare Regressionsanalyse mit Untergruppen bei den Tourette-Syndrom-Patienten lediglich die Gruppe  $T_1$  (d.h. die Gruppe  $T_2$  entfällt bei der Analyse,  $\beta_{12}=0$ ) erhält man Ergebnisse für  $\text{TNF-}\alpha$  sowohl bei der Simulation einer viralen Stimulierung (siehe Abbildung 3-16 und Abbildung 3-17) mit  $\beta_{11}=-0,303$ ,  $\exp(\beta_{11})= 0,739$  als auch der Simulation einer bakteriellen Stimulierung (siehe Abbildung 3-20 und Abbildung 3-21) mit  $\beta_{11}=-0,350$ ,  $\exp(\beta_{11})= 0,705$ . Der Koeffizient  $\beta_{11}$  ist in beiden Fällen negativ, d.h. die Wirkung der Stimulierung ist bei den Tourette-Syndrom-Patienten  $T_1$  geringer als bei den Gesunden.

Die absolute Wirkung der Stimulationen zeigen die 0-Linie bei den Boxplots und die Gerade  $y = x$  bei den Streudiagrammen. Die Werte von  $\text{TNF-}\alpha$  werden durch die Stimulierungen bei den Gruppen  $T$ ,  $T_1$  und bei den Gesunden sowohl vergrößert, nicht verändert als auch verkleinert (siehe Abbildung 3-12 bis Abbildung 3-17, Abbildung 3-19, Abbildung 3-20 und Abbildung 3-21). Allerdings wird bei der Simulation der bakteriellen Stimulierung der Wert von  $\text{TNF-}\alpha$  bei den Gesunden nur in einem Fall verkleinert, in 7 Fällen praktisch nicht verändert und ansonsten vergrößert (siehe Abbildung 3-20 und Abbildung 3-21).

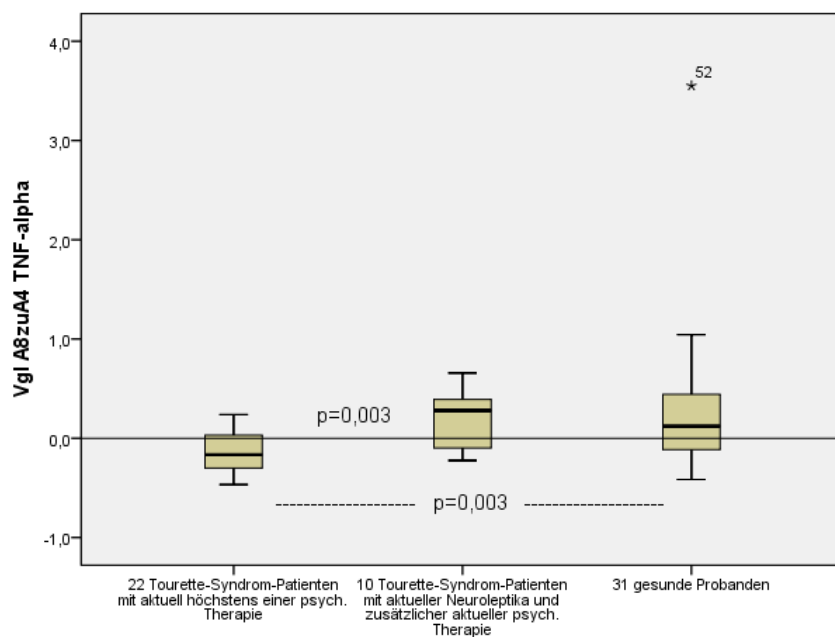


Abbildung 3-12 TNF- $\alpha$  im Modell der viralen Stimulation mit Poly:IC im Vergleich zum unstimulierten Zustand. Vergleich zwischen 3 Gruppen (T1, T2 und gesunde Probanden).

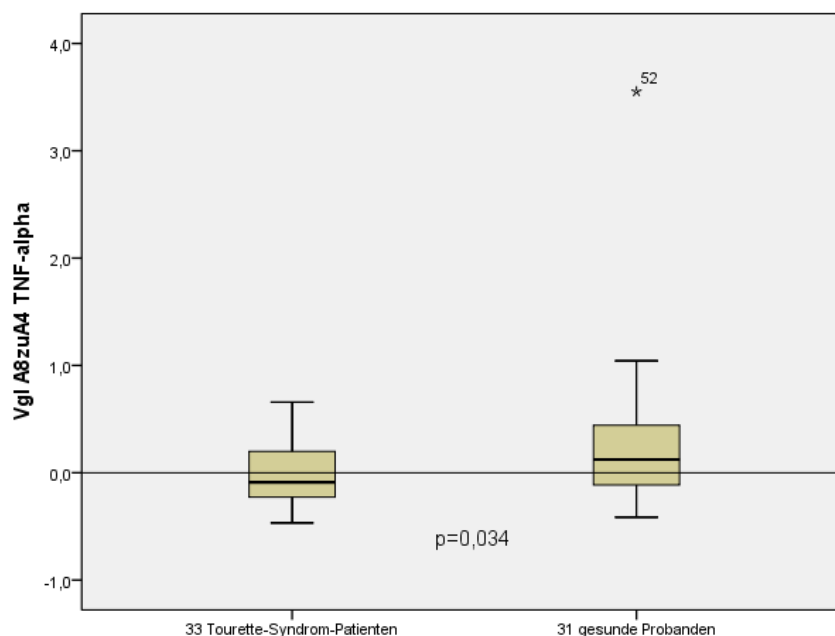


Abbildung 3-13 TNF- $\alpha$  im Modell der viralen Stimulation mit Poly:IC im Vergleich zum unstimulierten Zustand. Vergleich zwischen 2 Gruppen (Tourette-Syndrom-Patienten und gesunde Probanden).

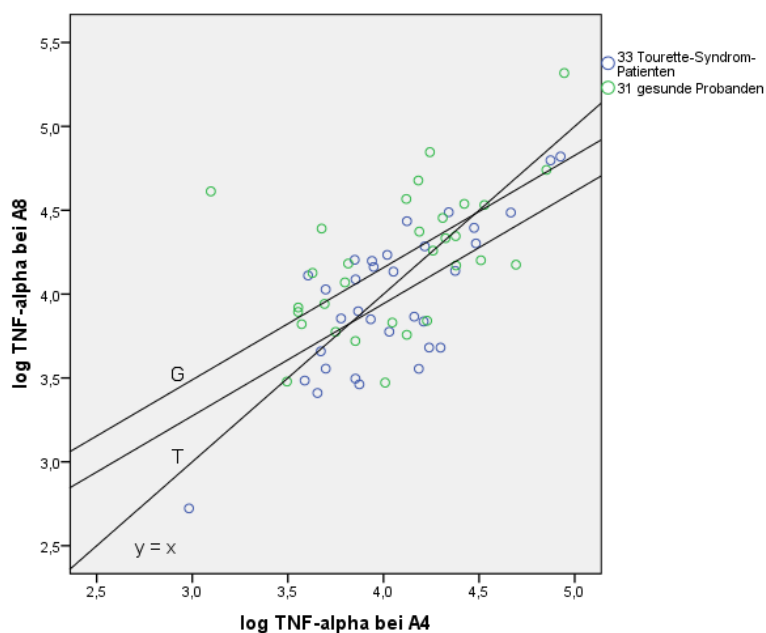


Abbildung 3-14 Streudiagramm und (Log-) lineare Regression für TNF- $\alpha$  im Modell der viralen Stimulation mit Poly:IC im Vergleich zum unstimulierten Zustand mit Tourette-Syndrom-Patienten und gesunden Probanden. Bei TNF- $\alpha$  sind jeweils die logarithmierten Werte dargestellt ( $\log \text{TNF-}\alpha = x$  bedeutet  $\text{TNF-}\alpha = \exp(x)$ )

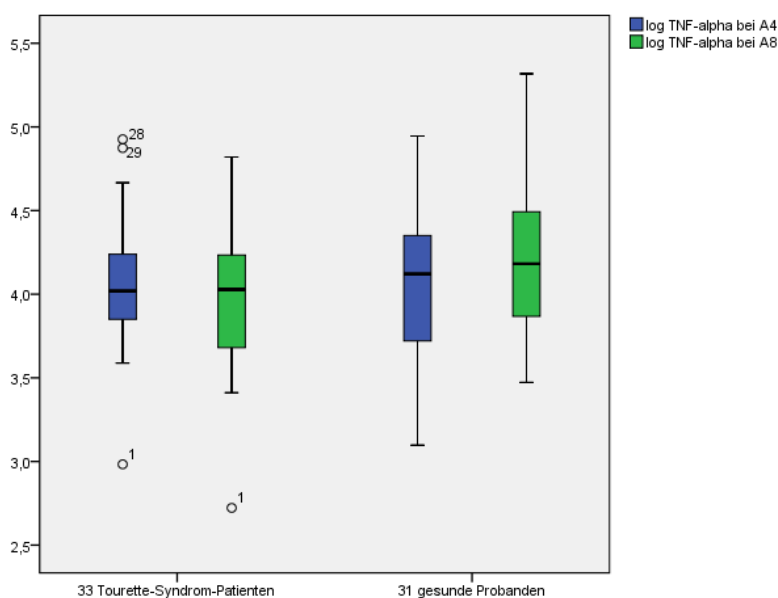


Abbildung 3-15 Boxplots und (Log-) lineare Regression für TNF- $\alpha$  im Modell der viralen Stimulation mit Poly:IC im Vergleich zum unstimulierten Zustand mit Tourette-Syndrom-Patienten und gesunden Probanden. Bei TNF- $\alpha$  sind jeweils die logarithmierten Werte dargestellt ( $\log \text{TNF-}\alpha = x$  bedeutet  $\text{TNF-}\alpha = \exp(x)$ )



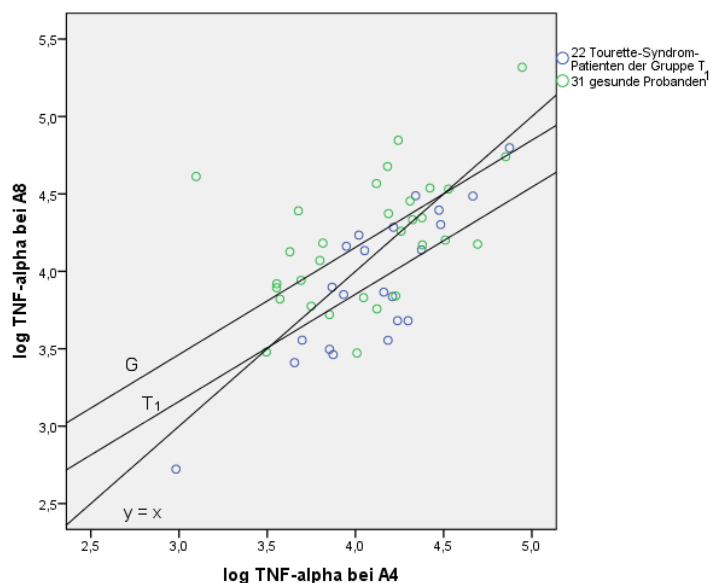


Abbildung 3-16 Streudiagramm und (Log-) lineare Regression für TNF- $\alpha$  im Modell der viralen Stimulation mit Poly:IC im Vergleich zum unstimulierten Zustand mit Tourette-Syndrom-Patienten der Gruppe T<sub>1</sub> und gesunden Probanden. Bei TNF- $\alpha$  sind jeweils die logarithmierten Werte dargestellt ( $\log \text{TNF-}\alpha = x$  bedeutet  $\text{TNF-}\alpha = \exp(x)$ )

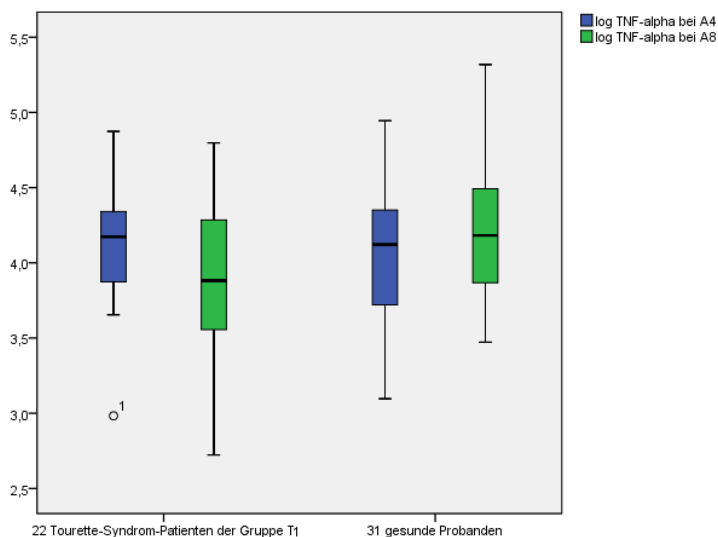


Abbildung 3-17 Boxplots und (Log-) lineare Regression für TNF- $\alpha$  im Modell der viralen Stimulation mit Poly:IC im Vergleich zum unstimulierten Zustand mit Tourette-Syndrom-Patienten und gesunden Probanden. Bei TNF- $\alpha$  sind jeweils die logarithmierten Werte dargestellt ( $\log \text{TNF-}\alpha = x$  bedeutet  $\text{TNF-}\alpha = \exp(x)$ )

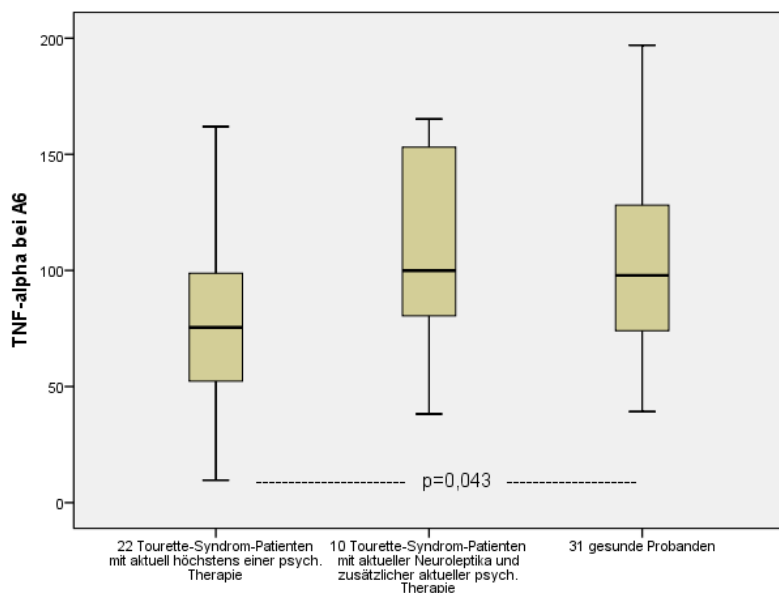


Abbildung 3-18 TNF- $\alpha$  im Modell der bakteriellen Stimulation mit LPS. Vergleich zwischen 3 Gruppen (T1, T2 und gesunde Probanden).

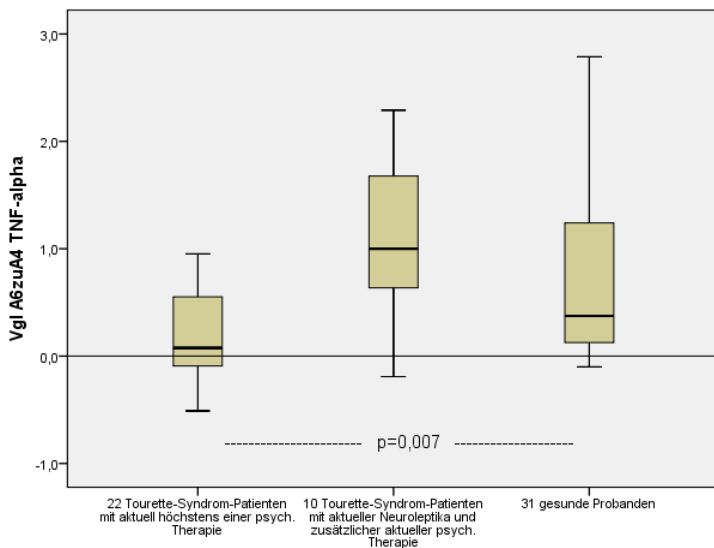


Abbildung 3-19 TNF- $\alpha$  im Modell der bakteriellen Stimulation mit LPS im Vergleich zum unstimulierten Zustand. Vergleich zwischen 3 Gruppen (T1, T2 und gesunde Probanden).

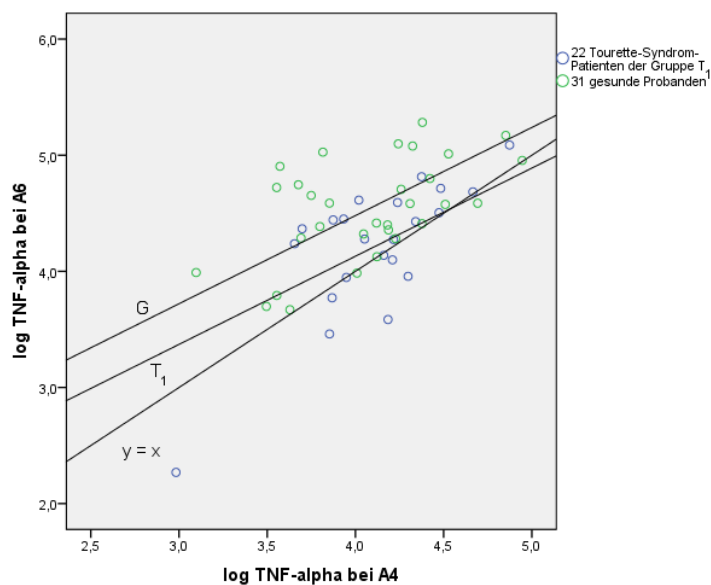


Abbildung 3-20 Streudiagramm und (Log-) lineare Regression für TNF- $\alpha$  im Modell der bakteriellen Stimulation mit LPS im Vergleich zum unstimulierten Zustand mit Tourette-Syndrom-Patienten der Gruppe T1 und gesunden Probanden. Bei TNF- $\alpha$  sind jeweils die logarithmierten Werte dargestellt ( $\log \text{TNF-}\alpha = x$  bedeutet  $\text{TNF-}\alpha = \exp(x)$ )

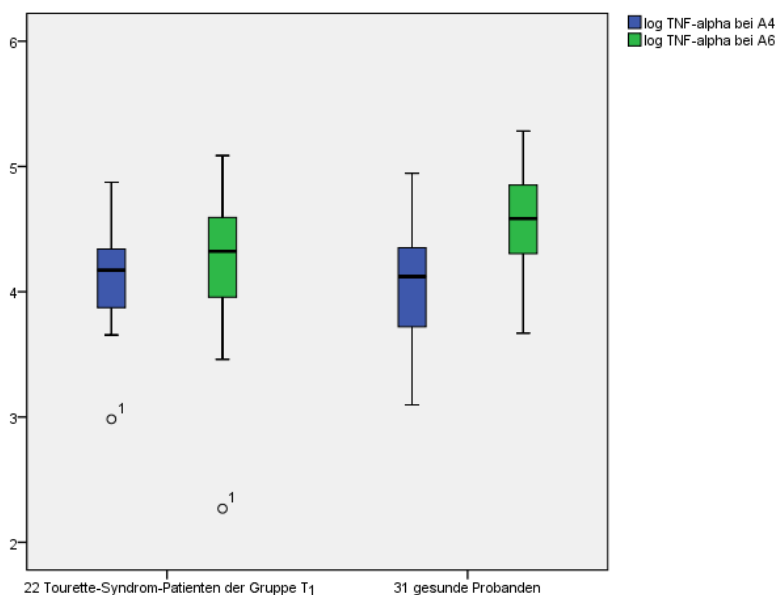


Abbildung 3-21 Boxplots und (Log-) lineare Regression für TNF- $\alpha$  im Modell der bakteriellen Stimulation mit LPS im Vergleich zum unstimulierten Zustand mit Tourette-Syndrom-Patienten der Gruppe T1 und gesunden Probanden. Bei TNF- $\alpha$  sind jeweils die logarithmierten Werte dargestellt ( $\log \text{TNF-}\alpha = x$  bedeutet  $\text{TNF-}\alpha = \exp(x)$ )

### 3.7 TLR-4

Die Mann-Whitney-U Methode ergab bei TLR-4 und der Simulation der bakteriellen Stimulation beim Ansatz A6, dass die Gruppe aller Tourette-Syndrom-Patienten signifikant unterschiedlich mit  $p=0,045$  zur Gruppe der Gesunden ist (siehe Abbildung 3-24). Diese Grafik zeigt ferner, dass die TLR-4-Expression durch die LPS-Stimulierung bei den Gesunden statistisch größer als bei den Tourette-Syndrom-Patienten ist, nämlich z.B. beim 25%-, 50%- und 75%-Perzentil.

Betrachtet man bei der (Log-) lineare Regressionsanalyse mit Untergruppen bei den Tourette-Syndrom-Patienten lediglich die Gruppe  $T_1$  (d.h. die Gruppe  $T_2$  entfällt bei der Analyse,  $\beta_{12}=0$ ) erhält man Ergebnisse für TLR-4 sowohl bei der Simulation der viralen Stimulierung (siehe Abbildung 3-22 und Abbildung 3-23) mit  $\beta_{11}=-0,193$ ,  $\exp(\beta_{11})= 0,824$  als auch der Simulation der bakteriellen Stimulierung (siehe Abbildung 3-25 und Abbildung 3-26) mit  $\beta_{11}=-0,210$ ,  $\exp(\beta_{11})= 0,811$ . Der Koeffizient  $\beta_{11}$  ist in beiden Fällen negativ, d.h. die Wirkung der Stimulierung ist bei den Tourette-Syndrom-Patienten  $T_1$  geringer als bei den Gesunden.

Diese Vergleiche der Wirkung der Stimulierung führten zu relativen Ergebnissen, die noch nichts über die absolute Wirkung der Stimulation aussagen. Die 0-Linie bei den Boxplots und die Gerade  $y = x$  bei den Streudiagrammen klären die absolute Veränderung durch die Stimulierungen A8 bzw. A6. Die Stimulierungen vergrößern die Werte von TLR-4 bei allen Gesunden, bei  $T_1$  mit einer Ausnahme bei der Simulation der viralen und mit zwei Ausnahmen bei der Simulation der bakteriellen Stimulierung (siehe Abbildung 3-22, Abbildung 3-23, Abbildung 3-25 und Abbildung 3-26).

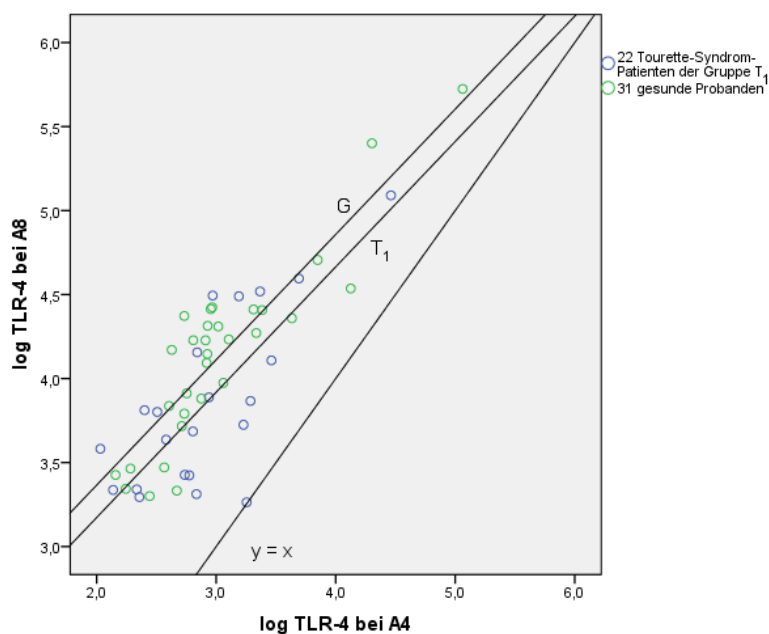


Abbildung 3-22 Streudiagramm und (Log-) lineare Regression für TLR-4 im Modell der viralen Stimulation mit Poly:IC im Vergleich zum unstimulierten Zustand mit Tourette-Syndrom-Patienten der Gruppe T<sub>1</sub> und gesunden Probanden. Bei TLR-4 sind jeweils die logarithmierten Werte dargestellt ( $\log \text{TLR-4} = x$  bedeutet  $\text{TLR-4} = \exp(x)$ )

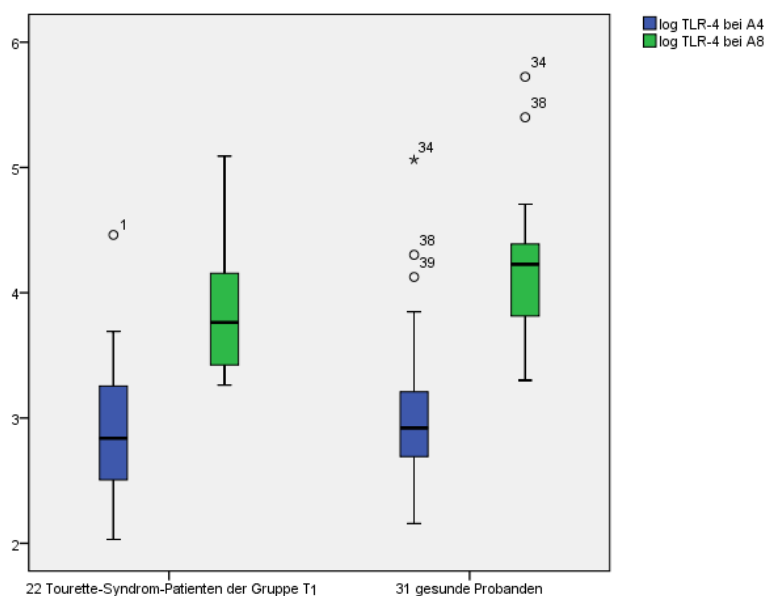


Abbildung 3-23 Boxplots und (Log-) lineare Regression für TLR-4 im Modell der viralen Stimulation mit Poly:IC im Vergleich zum unstimulierten Zustand mit Tourette-Syndrom-Patienten der Gruppe T<sub>1</sub> und gesunden Probanden. Bei TLR-4 sind jeweils die logarithmierten Werte dargestellt ( $\log \text{TLR-4} = x$  bedeutet  $\text{TLR-4} = \exp(x)$ )

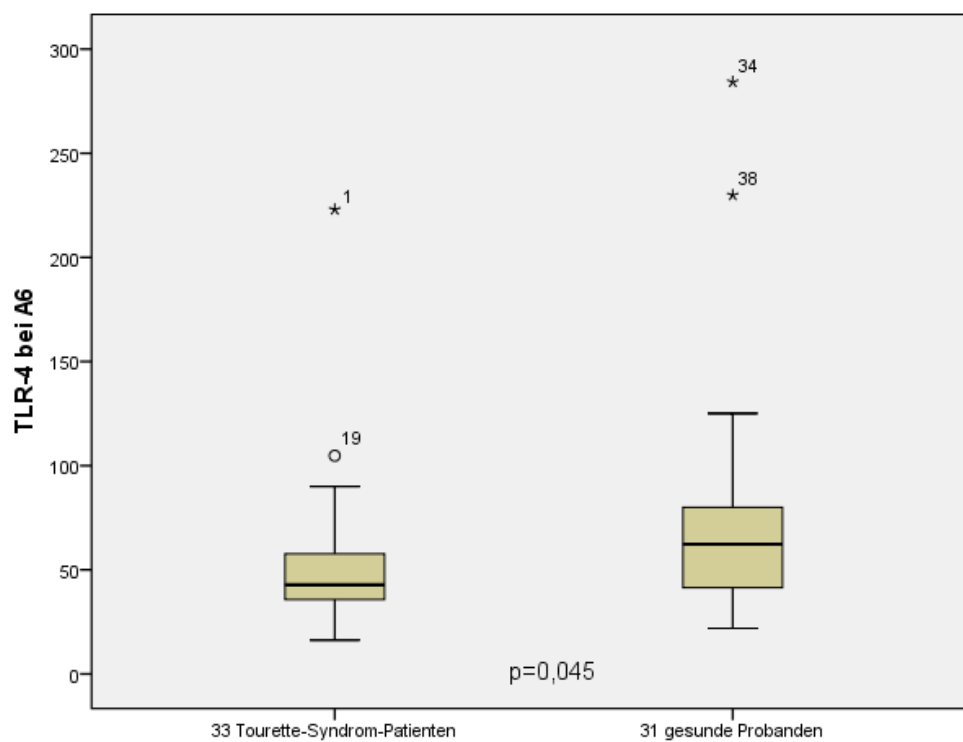


Abbildung 3-24 TLR-4 im Modell der bakteriellen Stimulation mit LPS. Vergleich zwischen 2 Gruppen (Tourette-Syndrom-Patienten und gesunde Probanden).

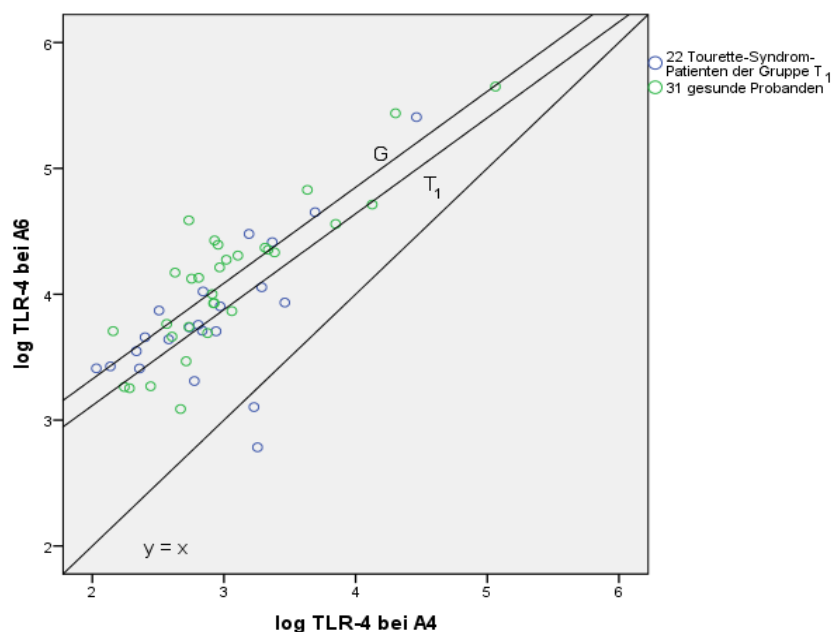


Abbildung 3-25 Streudiagramm und (Log-) lineare Regression für TLR-4 im Modell der bakteriellen Stimulation mit LPS im Vergleich zum unstimulierten Zustand mit Tourette-Syndrom-Patienten der Gruppe T<sub>1</sub> und gesunden Probanden. Bei TLR-4 sind jeweils die logarithmierten Werte dargestellt (log TLR-4 = x bedeutet TLR-4 = exp(x))

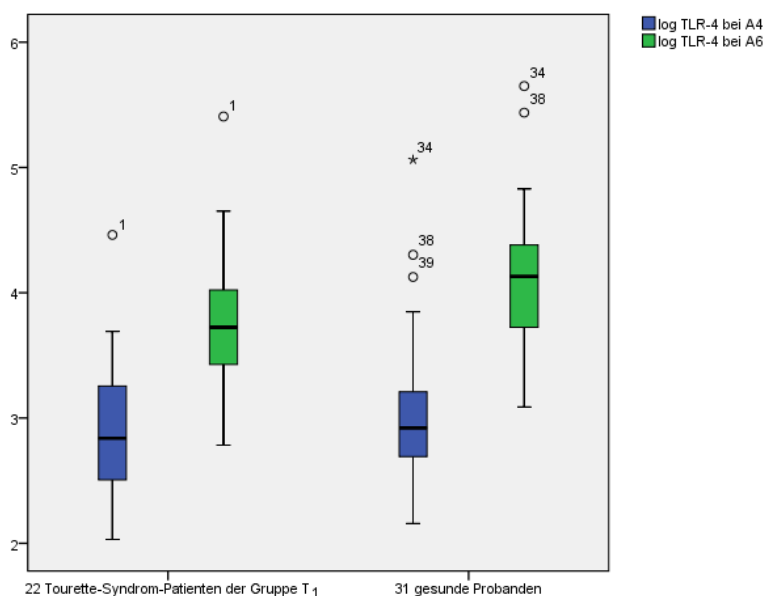


Abbildung 3-26 Boxplots und (Log-) lineare Regression für TLR-4 im Modell der bakteriellen Stimulation mit LPS im Vergleich zum unstimulierten Zustand mit Tourette-Syndrom-Patienten der Gruppe T<sub>1</sub> und gesunden Probanden. Bei TLR-4 sind jeweils die logarithmierten Werte dargestellt (log TLR-4 = x bedeutet TLR-4 = exp(x))

### **3.8 IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, TLR-2 und TLR-3**

Die Zytokinkonzentrationen IL-1, IL-6 und IL-10 sowie die Rezeptorexpressionen TLR-2 und TLR-3 erwiesen sich als nicht aussagekräftig zur Klärung der Untersuchungsziele dieser Arbeit, nämlich sowohl bei der Anwendung der Mann-Whitney-U Methode als auch der Methode der (Log-) linearen Regression mit und ohne Untergruppen bei den Tourette-Syndrom-Patienten.

### **3.9 Übersicht der Ergebnisse**

Die Zytokinkonzentration TNF- $\alpha$  und die Rezeptorexpressionen TLR-4 und HLA-DR haben bei der Anwendung mehrerer statistischer Methoden zu Erkenntnissen bei Tourette-Syndrom geführt.



Tabelle 3-41 Übersicht über die signifikanten Ergebnisse für HLA-DR, TNF- $\alpha$  und TLR-4. Gegenüberstellung der Mann-Whitney-U-Methode und der linearen Regression. T=33 Tourette-Syndrom-Patienten (TS), T<sub>1</sub>= TS mit höchstens einer psychiatrischen Therapie. A8=Poly I:C, A6=LPS, A4=37°C

	Art der Stimulierung	untersuchte Gruppe  Gesunde als Kontrollgruppe	Testergebnis	
			Mann-Whitney-U  Vgl A8zuA4 bzw. Vgl A6zuA4	lineare Regression  stimulierter Wert als Funktion des unstimulierten Wertes von A4
			Signifikanz p	Signifikanz Pr zu $\beta_1$ bzw. $\beta_{11}$
HLA-DR	Ansatz A8 Poly I:C	T	<b>0,039</b>	<b>0,049</b>
		T <sub>1</sub>	<b>0,008</b>	<b>0,012</b>
	Ansatz 6 LPS	T		0,071
		T <sub>1</sub>	0,068	<b>0,038</b>
TNF- $\alpha$	Ansatz A8 Poly I:C	T	<b>0,034</b>	<b>0,012</b>
		T <sub>1</sub>	<b>0,003</b>	<b>0,002</b>
	Ansatz 6 LPS	T		0,077
		T <sub>1</sub>	<b>0,007</b>	<b>0,003</b>
TLR-4	Ansatz A8 Poly I:C	T		0,082
		T <sub>1</sub>		<b>0,023</b>
	Ansatz 6 LPS	T		0,092
		T <sub>1</sub>		<b>0,041</b>

In allen in der Tabelle aufgeführten 8 signifikanten Fällen sind die stimulierten Werte bei der Kontrollgruppe der Gesunden statistisch größer als bei der Gruppe T bzw. T<sub>1</sub>. Diesen Sachverhalt veranschaulichen die Regressionsgeraden für G und T bzw. T<sub>1</sub> in den Streudiagrammen (siehe Abbildung 3-5 bis Abbildung 3-14, Abbildung 3-15, Abbildung 3-16, Abbildung 3-17, Abbildung 3-20, Abbildung 3-21, Abbildung 3-22,

Abbildung 3-23, Abbildung 3-25, Abbildung 3-26, Abbildung 3-10). Im statistischen Mittel ist der Wert nach der Stimulierung bei den Tourette-Syndrom-Patienten um den Faktor  $\exp(\beta_1)$  bzw.  $\exp(\beta_{11})$  geringer (Faktoren  $< 1$ ) als der stimulierte Wert bei den Gesunden (siehe Tabelle 3-422).

*Tabelle 3-42 Übersicht über die Stimulierbarkeit bei Tourette-Syndrom-Patienten und gesunden Probanden. Im statistischen Mittel ist der Wert nach der Stimulierung bei den Tourette-Syndrom-Patienten geringer als bei den gesunden Probanden.*

	Art der Stimulierung	untersuchte Gruppe Gesunde als Kontrollgruppe	Abstand der Regressionsgeraden für Gesunde und T bzw. T <sub>1</sub> : $\beta_1$ bzw. $\beta_{11}$	$\exp(\beta_1)$ bzw. $\exp(\beta_{11})$
HLA-DR	Ansatz 8	T	-0,176	0,838
	Poly I:C	T <sub>1</sub>	-0,258	0,773
	Ansatz 6 LPS	T <sub>1</sub>	-0,245	0,783
TNF- $\alpha$	Ansatz 8	T	-0,215	0,807
	Poly I:C	T <sub>1</sub>	-0,303	0,739
	Ansatz 6 LPS	T <sub>1</sub>	-0,350	0,705
TLR-4	Ansatz 8	T <sub>1</sub>	-0,193	0,824
	Poly I:C	T <sub>1</sub>	-0,210	0,811

Bei der Simulation der bakteriellen Stimulation ergab die Mann-Whitney-U Methode weitere Ergebnisse zu

TNF- $\alpha$  bei A6 mit  $p=0,043$  bei T<sub>1</sub> (Abbildung 3-18),

TLR-4 bei A6 mit  $p=0,045$  bei T (Abbildung 3-24),

im Vergleich zu den Gesunden.

Zusätzlich wurde geklärt, ob die Simulation der viralen und bakteriellen Stimulation eine Vergrößerung der Werte bewirkt. Dieses trifft bei HLA-DR für alle Gesunde, mit zwei Ausnahmen bei T und T<sub>1</sub> im viralen und mit einer Ausnahme im bakteriellen Fall zu (siehe Abbildung 3-3 bis Abbildung 3-10). Ferner trifft dieses bei TLR-4 für alle Gesunde und für T<sub>1</sub> mit einer Ausnahme bei der Simulation der viralen und mit zwei Ausnahmen bei der Simulation der bakteriellen Stimulierung zu (Abbildung 3-22, Abbildung 3-23, Abbildung 3-25, Abbildung 3-26). Bei TNF- $\alpha$  kommen sowohl Verstärkungen als auch Abschwächungen vor (siehe Abbildung 3-12, Abbildung 3-17, Abbildung 3-19, Abbildung 3-20 und Abbildung 3-21).

Ferner erwiesen sich die Zytokinkonzentrationen IL-1 $\beta$ , IL-6 und IL-10 sowie der Rezeptorexpressionen TLR-2 und TLR-3 als nicht aussagekräftig zur Klärung der Untersuchungsziele dieser Arbeit. Dieser Sachverhalt hat sich sowohl bei der durchgeführten Mann-Whitney-U Methode als auch der linearen Regression ergeben.

## 4 Diskussion

### 4.1 Diskussion der Methoden

#### Untersuchungskollektiv

Es wurden 33 Tourette-Patienten und 31 gesunde Probanden in die Studie eingeschlossen. Vor dem Hintergrund der Inhomogenität der Tourette-Patienten vor allem bezüglich der Medikamenteneinnahme ist die Fallzahl in unserer Studie als limitierend anzusehen. Aufgrund der Seltenheit der Erkrankung mussten, zur Gewährleistung einer angemessenen Fallzahl, auch medikamentös behandelte Patienten mit in das Untersuchungskollektiv eingeschlossen werden. Eine genaue Auflistung der entsprechenden Präparate ist im Anhang zu finden. Insgesamt 27,3% der Tourette-Patienten erhielten zum Zeitpunkt der Aufnahme in die Studie keine Neuroleptika. Für diese Substanzklasse ist bereits eine immunmodulatorische Wirkung beschrieben worden (Sugino et al., 2009). Zusätzlich wurden weitere mögliche Einflussfaktoren auf das Immunsystem wie die Geschlechterverteilung, das Alter, Nikotin-, Alkohol- und Drogenkonsum im Gruppenvergleich getestet. Hier ergaben sich keine signifikanten Unterschiede. Lediglich der Alkoholkonsum war in der Gruppe der gesunden Probanden höher, ein Alkoholmissbrauch lag jedoch nicht vor (diese Daten wurden im Rahmen einer weiteren Dissertation erhoben und ausgewertet). Um jahreszeitliche Schwankungen zum Beispiel im Sinne einer Allergie zu minimieren, wurden über den gesamten Studienzeitraum hinweg abwechselnd Patienten und Probanden untersucht.

#### Verarbeitung der Blutproben und Messmethoden

Die Blutentnahme erfolgte hauptsächlich vormittags, um annähernd gleiche Cortisolkonzentrationen zu erhalten. Aufgrund der tageszeitlichen Schwankungen und der immunmodulatorischen Wirkung des Cortisols war dies von Bedeutung. Die Bestimmung der intrazellulären Zytokinkonzentrationen und der extrazellulären Rezeptorexpressionen erfolgte mit Hilfe der Durchflusszytometrie. Es handelt sich hierbei um eine gut etablierte und mittlerweile auch in der klinischen Diagnostik angewandte verlässliche Methode zur Bestimmung von zellulären Subtypen mittels Oberflächenantigenen sowie intrazellulären Antigenen. In dieser Studie wurde CPDA-Blut verwendet, welches innerhalb von wenigen Stunden verarbeitet und gemessen wurde. So konnte am ehesten ein in-vivo-Zustand erfasst und ein rascher Zellerfall vermieden werden. Einschränkend an dieser Studie ist, dass der Fokus ausschließlich auf Monozyten gesetzt wurde. Diverse Zytokine und Oberflächenantigene werden aber nicht nur von Monozyten produziert. So wird zum Beispiel TNF- $\alpha$  auch von Makrophagen, Neutrophilen, T-Zellen und NK-Zellen sezerniert. Der Vergleich mit einer Probe, die verschiedene Zelltypen und ihre sezernierten Zytokine im Gesamtbild berücksichtigt, liegt in der aktuellen Arbeit nicht vor. Des Weiteren han-

delt es sich hier um Einmal-Messungen und somit um Momentaufnahmen. Eine Serie von Messungen sowie ein Vergleich mit anderen Zellpopulationen sollte in nachfolgenden Studien berücksichtigt werden. Um äußere Einflussfaktoren, wie zum Beispiel Temperaturunterschiede, zu berücksichtigen wurden zwei verschiedene Ansätze im Grundzustand angefertigt. Der Ansatz 2 wurde bei Raumtemperatur und der Ansatz 4, zusammen mit Ansatz 6 und Ansatz 8, im Brutschrank bei 37°C inkubiert. Aufgrund der Tatsache, dass Temperatureinflüsse bei den meisten biochemischen Prozessen eine große Rolle zu spielen scheinen, wurde in dieser Arbeit der Ansatz 4 zum weiteren Vergleich herangezogen um so eine bessere Vergleichbarkeit unter standardisierten Bedingungen zu schaffen.

### **Statistik**

Siehe Kapitel 3.2

## **4.2 Diskussion der Ergebnisse**

### **4.2.1 HLA-DR**

Im Folgenden soll das Humane-Leukozyten-Antigen-System (HLA-System) und seine Rolle bei der Entstehung von Immunantworten und Autoimmunerkrankungen im Hinblick auf die Ergebnisse dieser Arbeit beleuchtet werden.

Genetische Studien konnten zeigen, dass gewisse HLA-Allele mit einem erhöhten Erkrankungsrisiko für spezielle Autoimmunerkrankungen einhergehen. Eine ganze Reihe klassischer Autoimmunerkrankungen zeigt solche Assoziationen mit einem oder mehreren HLA-Allelen. Die stärkste Assoziation besteht zwischen dem HLA-B27-Allel und Morbus Bechterew. Die Erkrankung tritt bei Personen, die das HLA-B27-Allel tragen, zehnmal häufiger auf als bei Personen, die dieses Allel nicht besitzen. Weitere Assoziationen konnten unter anderem für die Multiple Sklerose mit dem HLA-DR2-Allel, den insulinabhängigen Diabetes mellitus Typ I mit den HLA-DR3- und -DR4-Allelen und die rheumatoide Arthritis mit dem HLA-DR4 festgestellt werden. Auch für psychiatrische Erkrankungen wie die Schizophrenie wird eine Assoziation mit dem HLA-DR1 Allel vermutet (Sasaki et al., 1999). Die Grundlagen der Assoziation bestimmter Autoimmunerkrankungen mit HLA-Markern sind bis heute nicht vollständig geklärt. In der Literatur finden sich bisher nur wenige Studien, die sich mit einer möglichen Beteiligung des HLA-Systems an der Pathogenese des Tourette-Syndroms auseinandersetzten. Comings et al. untersuchten mittels serologischer Typisierung der HLA-A- und HLA-B-Loci zwölf Tourette Patienten und ihre Familienmitglieder. Es zeigte sich jedoch keine Assoziation eines spezifischen HLA-A- oder HLA-B-Typen mit dem Tourette-Syndrom (Comings et al., 1982). In der zweiten Studie wurde eine Kopplungsuntersuchung zwischen dem Tourette-Syndrom und den HLA-A, -B, -C und -DR-Antigenen durchgeführt. Untersucht wurden fünf Familien mit

zwei bis fünf erkrankten Familienmitgliedern. Es konnte jedoch keine Kopplung zwischen einem möglichen Suszeptibilitätslocus und einem der HLA-Loci festgestellt werden (Caine et al., 1985). Bei der dritten Studie handelt es sich um eine serologische HLA-Typisierung bei 73 koreanischen Tourette-Patienten im Vergleich zu 291 gesunden Probanden. Es wurden 79 HLA-Antigene untersucht. Des Weiteren wurden zwei Untergruppen mit Tic-positiver und Tic-negativer Familienanamnese gebildet. Von den insgesamt 73 Patienten hatten 31 eine positive Familienanamnese, 29 eine negative und bei 13 Patienten konnte die Familienanamnese nicht eindeutig ermittelt werden. Die Ergebnisse zeigten bei der Gruppe mit Tic-negativer Familienanamnese im Vergleich zu den gesunden Kontrollen erhöhte Werte des HLA-DR4-Allels. Die anderen Gruppen wiesen jedoch keine Tendenzen wie diese auf (Min et al., 1991). Die Daten dieser Studie erschweren eine Interpretation, da es sich zum einen um koreanische Patienten handelt, welche ein anderes HLA-Profil als Kaukasier aufweisen. Zum anderen wurde bei der Datenauswertung initial auf eine Korrektur der p-Werte bei multiplen Testen verzichtet, obwohl mehrere Tests durchgeführt wurden. Nach einer anschließenden Korrektur der p-Werte konnte keine statistische Signifikanz mehr erreicht werden. Erschwerend für eine Beurteilung kommt hinzu, dass alle drei Studien ausschließlich die Methode der serologischen HLA-Typisierung verwendet haben. Diese weist jedoch eine unzureichende Genauigkeit und Zuverlässigkeit auf. Bei der klassischen serologischen HLA-Klasse-II-Typisierung sind Fehlerraten bis zu 25% beschrieben (Bein, 1994). Die jüngste Studie aus dem Jahr 2003 von Schoenian und Kollegen verwendete eine PCR-basierte HLA-DRB-Typisierung. Es wurden 83 Tourette-Patienten und deren Eltern auf eine mögliche Assoziation zwischen der Erkrankung und einem oder mehreren HLA-DRB Allelen untersucht. Keines der analysierten HLA-DRB-Allele wurde überzufällig häufig von den Eltern an das erkrankte Kind transmittiert, so dass eine Beteiligung des HLA-DRB-Locus in der Pathogenese des Tourette-Syndroms unwahrscheinlich erscheint.

Bei den oben genannten Studien handelt es sich ausschließlich um Genomanalysen. Eine präzise Beurteilung der HLA-DR-Expression ist somit nicht möglich. Des Weiteren wurden keine immunologischen Daten ermittelt, so dass die Bildung von homogenen auf immunologischen Kriterien basierenden Subgruppen zur Prüfung möglicher infektiologischer und immunologischer Zusammenhänge ebenfalls entfällt.

Nach unseren Recherchen ist diese Dissertation die erste Arbeit die sich speziell mit der HLA-DR-Expression von Monozyten bei Tourette-Syndrom beschäftigt. Der besondere Fokus wurde hier auf die Simulation einer bakteriellen (LPS) bzw. viralen (Poly I:C) Infektion gesetzt. Wie bereits im Kapitel 1.1.7.5 beschrieben, gibt es zahlreiche Hinweise, dass Infektionen und postinflammatorische Mechanismen bei einem Teil der Tourette-Patienten an der Pathogenese beteiligt sind. Bezüglich der HLA-DR-Expression im unstimulierten Zustand (A4=Brutschrank, 37°C) zeigte sich im Vergleich zu den gesunden Kontrollen kein Unterschied. Auch beim unstimulierten Ansatz A2 (A2=Raumtemperatur) ergab sich kein Unterschied zwischen den beiden

Gruppen. Erst beim Vergleich des aktivierten Zustandes zum unstimulierten Zustand zeigt sich in der Gruppe der Tourette-Patienten ein signifikanter Unterschied nach viraler Stimulation mit Poly I:C ( $p=0,039$  und  $P_r=0,049$ ). Die HLA-DR-Expression ist hier im Vergleich zu den gesunden Probanden deutlich vermindert. Ebenso zeigt sich diese Tendenz beim Vergleich des mit LPS stimulierten Ansatzes zum unstimulierten Ansatz A2 ( $P_r=0,071$ ). Diese Ergebnisse verdeutlichen, dass trotz eines identischen Ausgangsniveaus auf einen viralen Stimulus nicht mit einer vermehrten Expression von HLA-DR reagiert werden kann. Dies würde eine eingeschränkte Immunabwehr und somit mangelnden Schutz vor viralen bzw. bakteriellen Infekten bedeuten. Satoh und Kollegen postulieren in ihrer Studie, dass sich die Wirkung der pro- und antiinflammatorischen Effektoren des Immunsystems summativ in der HLA-DR-Expression auf den Monozyten niederschlägt. Eine niedrige HLA-DR-Expression korreliert dabei mit geringer Immunkompetenz. Verschiedene Studien haben die Bedeutung des Parameters HLA-DR als Indikator der in-vivo-Immunkompetenz belegt, dabei sind ebenfalls enge Korrelationen mit dem Funktionstest der LPS induzierten ex-vivo-TNF- $\alpha$ -Produktion beschrieben worden (Docke et al., 1997, Ditschkowski et al., 1999). Bei Erwachsenen im septischen Schock ist die HLA-DR-Rezeptordichte auf Monozyten ein Maß der Immunkompetenz. Ihre, in diesem Fall fehlende, Expression ist ein Prädiktor der sepsisbedingten Mortalität (Satoh et al., 2002).

Auch im zentralen Nervensystem spielt das HLA-System eine entscheidende Rolle bei Immunreaktionen. Die Induktion des MHC-II-Komplexes auf Mikrogliazellen ist ein empfindlicher Marker für neuroentzündliche oder neurodegenerative Prozesse (Kreutzberg, 1995; Schmitt et al., 1998). In diesem Zusammenhang ist eine aktuelle Studie von Morer und Kollegen zu erwähnen. Hier wurden in einer post-mortem Studie Basalganglien von erwachsenen Tourette-Patienten mit einer gesunden Kontrollgruppe verglichen. Untersucht wurde die Expression von Genen, die verschiedene Faktoren des angeborenen Immunsystems, wie zum Beispiel IFN- $\gamma$ , MCP-1, IL-1 $\beta$ , IL-2 und CD45 codieren. Es konnte gezeigt werden, dass MCP-1 und IL-2 in den Basalganglien der Tourette-Patienten vermehrt exprimiert wurden. Die vermehrte Expression dieser proinflammatorischen Marker unterstützt die Hypothese, dass inflammatorische Prozesse im ZNS bei der Pathogenese des Tourette-Syndroms eine Rolle zu spielen scheinen. Leider erfolgte bei oben genannter Studie nur eine quantitative Bestimmung der Expression von mRNA in den Basalganglien, immunhistochemische Verfahren zur Quantifizierung der einzelnen Proteine in der jeweiligen Hirnregion konnten methodenbedingt nicht durchgeführt werden (Morero et al., 2010). Des Weiteren liegen bisher keine Berichte über die Expression von HLA-Markern im ZNS bei Tourette-Patienten vor, so dass oben genannte Ergebnisse nur als Anhaltspunkte gesehen werden können.

Interessant sind auch die Ergebnisse der Untergruppenanalysen bezüglich der medikamentösen Therapie. Auf diese wird später im Kapitel 4.2.4 genauer eingegangen.

## 4.2.2 TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10

Seitdem infektiologische und immunologische Mechanismen in der Genese des Tourette-Syndroms vermutet werden, liegt der Fokus der Forschung hauptsächlich auf der Hypothese einer Autoimmunerkrankung im Sinne der Chorea Sydenham (s. Kapitel 1.1.7.5). Es gibt daher nur wenige Untersuchungen, die sich mit Zytokinkonzentrationen bei Tourette-Syndrom beschäftigt haben. Man weiß inzwischen, dass periphere Zytokine die Blut-Hirnschranke überqueren und so komplexe Hirnfunktionen beeinflussen können (Kronfol und Remick, 2000; Pollmacher et al., 2002). In einer Arbeit von Leckmann et al. wurden bei 46 Patienten (7-17 Jahre) mit Tourette-Syndrom und/oder Zwangsstörungen unter Baseline-Bedingungen und bei Symptomexacerbation zehn verschiedene Zytokine, die die angeborene Immunantwort und die T-Zell-Aktivierung repräsentieren, gemessen. Für TNF- $\alpha$  und IL-12 ergaben sich in dieser Arbeit bei den Patienten höhere Werte als bei den gesunden Probanden. Während der Phasen der Symptomexacerbation wurde eine zusätzliche Erhöhung dieser Zytokine beschrieben. Bei Kindern bei denen PANDAS diagnostiziert wurde, zeigte sich allerdings eine Abnahme der Konzentrationen von TNF- $\alpha$  und IL-12. Des Weiteren war die Zunahme der Werte während einer Symptomexacerbation bei diesen Kindern geringer als bei den gesunden Probanden. Im Gegensatz hierzu konnten Singer et al., welche ausschließlich Patienten, die die PANDAS Kriterien erfüllten in ihre Studie einschlossen, keinen Zusammenhang zwischen Symptomexacerbation und Zytokinkonzentrationen nachweisen (Singer et al., 2008). Für IL-2, welches eine entscheidende Rolle in der Produktion von regulatorischen T-Zellen spielt, ergaben sich keine Unterschiede im Vergleich zu den Kontrollen (Leckmann et al., 2005). Ein Gesichtspunkt in der Arbeit von Leckmann et al. ist, dass Patienten mit Zwangsstörungen ohne Tic-Störung in das Untersuchungskollektiv mit eingeschlossen wurden. Dies könnte die Ergebnisse beeinflusst und so die Aussagekraft herabgesetzt haben. In diesem Zusammenhang haben andere Studien, die Patienten mit Zwangsstörungen ohne Tic-Symptomatik untersucht haben, erniedrigte Werte für TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  und NK-Zellen (Natürliche Killerzellen) sowie erhöhte Werte für IL-6 gefunden (Brambilla et al., 1997; Denys et al., 2004; Monteleone et al., 1998). Brambilla et al. berichten über erniedrigte IL-1 $\beta$ - und TNF- $\alpha$ -Messwerte, Monteleone et al. nur über erniedrigte TNF- $\alpha$ -Konzentrationen bei nicht unterschiedlichen IL-1 $\beta$ - und IL-6-Werten und Denys et al. über erniedrigte TNF- $\alpha$ -Werte und NK-Zellaktivität nach LPS-Stimulation. In einer aktuellen Studie von Gabbay et al. wurden bei 32 Patienten (7-18 Jahre) mit Tourette-Syndrom, mit und ohne Zwangsstörungen, verschiedene Zytokine untersucht. Für IL-12 ergab sich in der Gruppe der Patienten mit Tourette-Syndrom und zusätzlicher Komorbidität im Sinne einer Zwangsstörung ein erhöhter Wert im Vergleich zu den gesunden Probanden. In der Gruppe der Tourette-Patienten ohne Zwangsstörung ergab sich kein Unterschied zu den gesunden Kontrollen. IL-2 war in der Gruppe der Patienten mit Tourette-Syndrom und Zwangsstörung erhöht im Vergleich zur Gruppe der Patienten ohne diese Komorbidität. Für TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  und IL-6 ergaben sich keine Unterschiede zwi-



schen den verschiedenen Gruppen (Gabbay et al., 2009). Die Resultate von IL-12 stehen im Einklang mit den Ergebnissen der Leckmann-Studie, welche als einzige der vorangegangenen Studien ebenfalls Kinder und Jugendliche ins Untersuchungskollektiv einschlossen. Eine neue Studie von Bos-Veneman et al. untersuchte 66 Kinder und Jugendliche (6-18 Jahre) mit einer Tic-Störung im Vergleich zu 71 gesunden Probanden. Es konnten keine Unterschiede in den Zytokinkonzentrationen von IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, IL-12 und TNF- $\alpha$  zwischen Patienten und Kontrollen gefunden werden. Allerdings zeigte sich eine positive Korrelation zwischen der Serumkonzentration von IL-2 und dem Schweregrad der Tic-Erkrankung. Des Weiteren fand sich eine negative Korrelation zwischen der Serumkonzentration von IL-12 und dem Schweregrad der Zwangssymptome (Bos-Veneman et al., 2010). Diese Ergebnisse weisen in dieselbe Richtung wie die beiden erstgenannten Studien von Leckmann et al. und Gabbay et al..

In unserer Arbeit wurden 33 Tourette-Patienten, darunter 7 Kinder untersucht. Zum Zeitpunkt der Untersuchung wiesen drei Patienten eine Zwangssymptomatik auf und bei sieben Patienten bestand eine aktuelle Tic-Symptomatik. Bei den in unserer Arbeit untersuchten Tourette-Patienten standen die Zwangssymptome aufgrund der kleinen Fallzahl nicht im Vordergrund. Für TNF- $\alpha$  ergab sich im unstimulierten Zustand kein Unterschied zwischen den Tourette-Patienten und den gesunden Probanden. Erst beim Vergleich des stimulierten Wertes (Poly I:C) zum unstimulierten Wert ergab sich ein signifikant niedriger Wert ( $p=0,034$ ) in der Gruppe der Tourette-Patienten. Für IL-1 $\beta$ , IL-6 und IL-10 ergaben sich keine signifikanten Ergebnisse. Unsere Ergebnisse weisen in eine ähnliche Richtung wie die Ergebnisse der immunologischen Studien über Patienten mit Zwangsstörungen. Sie deuten aber auch eine gemeinsame Linie mit den Ergebnissen von Gabbay et al. und Bos-Veneman et al. an, wenn man den Vergleich der Gruppe der Tourette-Patienten ohne Zwangsstörung zu den Gesunden betrachtet. Hier sind die Ergebnisse von TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 und IL-10 im unstimulierten Zustand bei allen drei Studien miteinander vereinbar. Erst nach Stimulationsversuchen werden in unserer Arbeit Gruppenunterschiede in der Konzentration von TNF- $\alpha$  sichtbar. Dies legt die Vermutung einer eingeschränkten Immunantwort mit einer gestörten Regulation von TNF- $\alpha$  bei bakteriellen und viralen Infekten nahe. Besonders interessant sind diese Ergebnisse auch im Zusammenhang mit serologischen Daten. So konnten bei Tourette-Patienten erhöhte Antikörpertiter für intrazelluläre Erreger wie Chlamydia trachomatis und Toxoplasma gondii nachgewiesen werden (Krause et al. 2009). Ein direkter Vergleich der oben beschriebenen Studien ist aus mehreren Gründen schwierig. Zum einen gibt es Abweichungen zwischen den Untersuchungskollektiven bezüglich des Alters. So wurden in unserer Arbeit und in den Studien über Zwangspatienten (Brambilla et al. 1997, Monteleone et al. 1998, Denys et al. 2004) hauptsächlich Erwachsene untersucht und in den Studien von Leckmann et al., Gabbay et al. und Bos-Venemann et al. ausschließlich Kinder und Jugendliche. Erschwerend für den Vergleich der Studien untereinander kommt auch die Anwendung verschiedener methodischer Verfah-

ren und die Tatsache hinzu, dass in keiner Studie medikamentennaive Patienten untersucht wurden (s. Kapitel 4.2.4). Ebenso gibt es noch keine Arbeiten über Kinder mit Zwangserkrankungen ohne Tic-Störung, so ist ein Vergleich sowie eine Interpretation der Arbeit von Gabbay et al. mit der unsrigen schwierig, da hier nur in der Gruppe der Patienten mit Tourette-Syndrom und zusätzlicher Zwangsstörung signifikante Ergebnisse erzielt werden konnten.

Die Gründe für die teilweise gegensätzlichen Ergebnisse zwischen Patienten mit einer Zwangserkrankung und Patienten mit einer Zwangsstörung im Rahmen eines Tourette-Syndroms oder einer Tic-Störung sind noch unklar. Möglicherweise unterscheiden sich die neuroimmunologischen Mechanismen, die bei Zwangserkrankungen eine Rolle zu spielen scheinen, von denen des Tourette-Syndroms. Es wäre denkbar, dass bei diesen Erkrankungen mit hoher Komorbidität auch unterschiedliche Hirnareale betroffen sind. Unterstützt würde diese Annahme durch zwei Tiermodell-Studien, welche gezeigt haben, dass TNF- $\alpha$  in unterschiedlichen Hirnregionen unterschiedliche Effekte haben kann. Diese können sich sowohl in einer Erhöhung als auch in einer Verminderung der Konzentration von Monoaminen niederschlagen (Mossner et al., 1998; Brebner et al. 2000). Diese Ergebnisse wären eine mögliche Erklärung für die Divergenz der Ergebnisse zwischen den beiden Komorbiditäten und ihren Kombinationen.

In Zusammenschau aller Ergebnisse wirft sich die Frage auf, ob die Pathophysiologie einer Zwangserkrankung im Rahmen eines Tourette-Syndroms unterschiedlich zur Pathophysiologie einer reinen Zwangsstörung ist. Diese Hypothese wird bisher durch genetische Studien (Miguel et al., 2005), sowie durch klinische Beobachtungen und pharmakologische Therapieerfolge gestützt (Bloch et al., 2006; Coffey et al., 1998; Kwak et al., 2003). Bereits seit längerem gibt es Diskussionen ob Zwangssymptome bei Tourette-Patienten nicht als Komorbidität sondern im Rahmen der Grunderkrankung zu sehen sind (Robertson et al., 1989). In einer Arbeit von Müller et al. werden für das Tourette-Syndrom typische Zwänge, wie zum Beispiel Berührungszwänge beschrieben. Bei einer reinen Zwangsstörung stehen oft Zwangsgedanken im Vordergrund (Müller et al., 1995b).

Zusammenfassend ist zu sagen, dass unsere Ergebnisse die Hypothese einer möglichen immunologischen Beteiligung auf der Ebene der Zytokine unterstützen. Gerade die Tatsache, dass sich erst nach Simulation eines bakteriellen oder viralen Infekts signifikante Ergebnisse zeigen, sollte in folgenden Studien vertieft werden. Hier sind vor allem Studien mit höheren Fallzahlen, medikamentennaiven Patienten sowie zusätzliche Betrachtung anderer Komorbiditäten wie zum Beispiel des ADHS oder auch die Untersuchung weiterer immunologischer Parameter in Kombination mit serologischen Daten nötig.

### 4.2.3 TLR-4, TLR-3 und TLR-2

In diesem Kapitel soll die Funktion der Monozyten im Hinblick auf die Expression von Toll-Like-Rezeptoren und ihre Rolle in der Pathogenese des Tourette-Syndroms diskutiert werden. Monozyten sind ein wichtiger Bestandteil der angeborenen Immunität und stehen mit ihren Funktionen am Anfang einer Kaskade von komplexen Immunantworten. Toll-Like-Rezeptoren auf der Oberfläche der Monozyten sind für deren Aktivierung essentiell.

Bei den in dieser Arbeit untersuchten Tourette-Patienten zeigte sich im Vergleich zu den gesunden Probanden eine signifikant erhöhte Monozytenzahl. Bei der Betrachtung der Expression des TLR-4, TLR-3 sowie des TLR-2 im unstimulierten und stimulierten Zustand, zeigte sich nach Stimulation mit LPS ein signifikanter Unterschied bezüglich des TLR-4 ( $p=0,045$ ). Hierbei fällt auf, dass die Expression des TLR-4 bei den Tourette-Patienten im Vergleich zur Kontrollgruppe vermindert ist. Auch nach Stimulation mit Poly I:C zeigte sich bei den Tourette-Patienten eine niedrigere TLR-4-Konzentration, allerdings ohne signifikantes Ergebnis ( $p=0,063$ ). Diese Tendenz ist vereinbar mit der Tatsache, dass der TLR-4 auch bei viralen Prozessen eine Rolle zu spielen scheint. So konnten Kurt-Jones et al. eine Beteiligung des TLR-4 bei der Immunantwort auf das Respiratory syncytial virus (RSV) nachweisen (Kurt-Jones et al., 2000). Ebenso gibt es Berichte über eine Ko-Stimulierung der verschiedenen TLR durch starke Reize (Roelofs et al., 2005).

Der TLR-4 dient hauptsächlich als Rezeptor für Lipopolysaccharid (LPS), welches ein Hauptbestandteil der äußeren Membran gramnegativer Bakterien ist. Für die empfindliche Erkennung von LPS sind zwei weitere Proteine nötig. Das LBP (LPS-Bindeprotein) und CD14. LBP ist eine Lipid-Transferase, die LPS aus der äußeren Membran der Bakterien zu CD14 transportiert. CD14 wird dabei in zwei Formen exprimiert, einer membranständigen (mCD14) und einer löslich sezernierten Form (sCD14) (Schumann et al., 1990; Wright et al., 1990). Allerdings scheint CD14 nicht für die Signaltransduktion selbst nötig zu sein, sondern wirkt als Verstärker des LPS-induzierten Signals. Des Weiteren wird über die Vermittlung des TLR-4 ein Signal übertragen, das die Sekretion von TNF- $\alpha$  und IL-12 stimuliert. In diesem Zusammenhang konnten erniedrigte Konzentrationen von sCD14 im Serum bei Tourette-Patienten nachgewiesen werden (Nürnberg, 2008). Der Befund einer erniedrigten sCD14-Konzentration bei Tourette-Patienten lässt sich gut mit den erniedrigten TNF- $\alpha$  und den erniedrigten Messwerten von TLR-4 nach Stimulation in Einklang bringen. Des Weiteren sind in der Literatur Beschreibungen über erhöhte Kynureninspiegel zu finden (Dursun et al., 1994; Rickards et al., 1996). Ein erhöhter Kynureninspiegel ist ein bekannter Marker für die Aktivierung des Immunsystems. Ein Anstieg der Kynurenine im Serum kommt durch die Wirkung proinflammatorischer Zytokine wie zum Beispiel IFN- $\gamma$  zustande, welches den Abbau der Aminosäure Tryptophan zu Kynurenin fördert (Yasui et al., 1986). Die Datenlage ist hierzu aber nicht einheitlich, so konnten Hoekstra und Kollegen keine Erhöhung der Kynureninspiegel bei Patien-

tin mit Ticstörung nachweisen (Hoekstra et al., 2007). Interessant sind auch die Ergebnisse bezüglich des Makrophagenaktivierungsmarkers Neopterin. Hier konnten wiederholt erhöhte Werte bei Tourette-Patienten gemessen werden (Hoekstra et al., 2007; Nürnberger, 2008). Neopterin ist bei entzündlichen Prozessen erhöht. So wurden bei bakteriellen Infekten leicht erhöhte Neopterin Spiegel, bei viralen Infekten stärker erhöhte Neopterinwerte beschrieben (Murr et al., 2002). Zusammengefasst stützen oben beschriebene Ergebnisse die These, dass eine latente, chronische Entzündung im Rahmen einer gestörten angeborenen Immunität eine Rolle in der Pathogenese des Tourette-Syndroms spielen könnte.

Das Forschungsgebiet der Psychoneuroimmunologie beschäftigt sich mit den Interaktionen zwischen Immunsystem und Nervensystem. Immunreaktionen im zentralen Nervensystem (ZNS) scheinen eine wichtige Rolle bei der Pathogenese verschiedener Erkrankungen des ZNS zu spielen. Mikrogliazellen entstammen der myeloiden Zellreihe und sind ein wichtiger Bestandteil des ZNS. Sie sind maßgeblich an der Generierung entzündlicher Prozesse beteiligt und repräsentieren als mononukleäre Phagozyten die zelluläre Abwehr des ZNS. Diese Prozesse beinhalten sowohl die Freisetzung proinflammatorischer Zytokine und Chemokine als auch Phagozytose, Zytotoxizität und die Regulation der T-Zell-Antwort durch Antigenpräsentation (Aloisi, 2001; Hanisch, 2002). Die Zellen der angeborenen Immunantwort wie Monozyten, Makrophagen, dendritische Zellen sowie die Mikrogliazellen erkennen Pathogene mit Hilfe der Pattern-Recognition-Rezeptoren (PRR) zu denen auch die TLR gehören. Die Mechanismen der neuronalen oder oligodendroglialen Schädigung durch inflammatorische Prozesse im ZNS sind bis heute unklar. So wird diskutiert ob die inflammatorischen Prozesse der neuronalen oder oligodendroglialen Schädigung vorausgehen oder durch diese erst induziert werden.

Lehnardt S. konnte in ihrer Arbeit zeigen, dass Mikrogliazellen die einzige Zellpopulation im ZNS ist, die TLR-4 exprimiert und in der Lage ist, LPS zu binden. Es konnte gezeigt werden, dass die durch LPS induzierte Toxizität für Vorläuferzellen der Oligodendrozyten spezifisch auf TLR-4 zurückzuführen ist und von Mikrogliazellen vermittelt wird (Lehnardt, 2008). Andere Arbeitsgruppen konnten wiederum belegen, dass die Aktivierung von TLR-4 in Mikrogliazellen zur Remyelinisierung führt und weitere Reparaturprozesse im ZNS aktiviert (Glezer et al., 2006). Des Weiteren wird eine neuroprotektive Eigenschaft der angeborenen Immunität im Kontext des Morbus Alzheimer postuliert. Hier konnte gezeigt werden, dass die Aktivierung von TLR-4 im ZNS zu einer Beseitigung von  $\beta$ -Amyloid führen kann (Fassbender et al., 2004, Chen et al., 2006, Tahara et al., 2006). In Anbetracht der verschiedenen Arbeiten, welche die Rolle der TLR bei verschiedenen zerebralen Schädigungsmustern unterschiedlich beurteilen, ist es sehr wahrscheinlich, dass Rezeptoren des angeborenen Immunsystems im ZNS unterschiedliche Funktionen und somit unterschiedliche pathophysiologische Bedeutung haben können. So wäre eine herabgesetzte Regenerationsfähigkeit des ZNS, basierend auf einer verminderten Expression von TLR-4 bei Tourette-Syndrom durchaus denkbar.

#### Zusammenfassende Diskussion:

In unserer Arbeit wurde ausschließlich das periphere Immunsystem bei Tourette-Patienten im Vergleich zu gesunden Probanden untersucht. Betrachtet man unsere Ergebnisse im wissenschaftlichen Kontext, kann hier vielleicht die Brücke zwischen peripheren und zerebralen Immunmechanismen und ihrer möglichen Beteiligung an der Pathogenese des Tourette-Syndroms geschlagen werden. Trotz insgesamt erhöhter Monozytenzahlen bei den Tourette-Patienten, waren die von Monozyten sezernierten proinflammatorischen Zytokine und die monozytären Rezeptorexpressionen wie TNF- $\alpha$ , TLR-4 und HLA-DR bei den Tourette-Patienten niedriger. Diese Ergebnisse deuten möglicherweise auf eine Störung der Monozytenfunktion hin. Dies könnte eine eingeschränkte Immunantwort und eine reduzierte Abwehrfähigkeit gegenüber pathogenen Krankheitserregern, sowohl peripher als auch zentral, bedeuten. Eine entzündliche Genese als Beitrag zur Pathogenese des Tourette-Syndroms kann hier diskutiert werden. Die Frage, inwieweit das periphere Immunsystem mit den zerebralen Immunmechanismen in Verbindung steht, ist bisher nicht vollständig geklärt. Eine zugrunde liegende chronische Infektion könnte eine gewisse Vulnerabilität in speziellen Gehirnregionen auslösen, in denen letztendlich, durch Veränderungen infolge der Infektion, die Symptomatik des Tourette-Syndroms ausgelöst wird.

Ergänzend ist noch eine aktuelle Arbeit von Lit und Kollegen zu erwähnen. In einer Studie mit 30 Tourette-Patienten (5-16 Jahre) wurden drei altersabhängige Untergruppen gebildet (5-9, 10-12 und 13-16 Jahre) und mit 28 altersangepassten gesunden Probanden im Hinblick auf verschiedene immunologische Genexpressionen verglichen. Es zeigte sich, dass mehrere Gene im Signalweg der TLR bei den Tourette-Patienten in Korrelation zum Alter vermehrt exprimiert wurden. Auch dies lässt eine veränderte erste Immunantwort bei Tourette-Patienten vermuten (Lit et al., 2009).

In Zukunft sind weitere ausführliche Studien nötig um die Gesamtzusammenhänge besser verstehen zu können. Vor allem sollten auch Untersuchungen des Liquor Cerebrospinalis bei Tourette-Patienten Teil nachfolgender Projekte werden.

#### **4.2.4 Einfluss von Psychopharmaka**

Die Interpretation der Ergebnisse wird durch verschiedene Einflussfaktoren erschwert. Um eine ausreichende Fallzahl zu erreichen wurden auch Tourette-Patienten mit medikamentöser Therapie in die Studie eingeschlossen. Es ist bekannt, dass Medikamente wie zum Beispiel Neuroleptika eine Wirkung auf das Immunsystem ausüben. Zur Veranschaulichung etwaiger Einflüsse der Medikamente erfolgte die Bildung und Auswertung verschiedener Untergruppen. Die Bildung und Untersuchung von Untergruppen stößt allerdings an eine systematische Grenze, die in der Anwendung von statistischen Methoden und Verfahren begründet liegt (siehe Kapitel 3.1). Betrachtet man die Ergebnisse für HLA-DR, zeigte sich beim Vergleich der Tourette-Patienten zu den gesunden Probanden eine signifikant niedrigere HLA-

DR-Expression beim Vergleich des mit Poly I:C stimulierten Ansatzes zum unstimulierten Ansatz (A4) (siehe Kapitel 4.2.1). Stellt man sich die Frage, welchen Einfluss die verschiedenen medikamentösen Therapien möglicherweise haben, liefern die Untergruppenanalysen interessante Ergebnisse. Hier zeigt sich in der Gruppe mit einer 2-fach Therapie bestehend aus Neuroleptika und einer weiteren psychiatrischen Medikation beim Vergleich des mit Poly I:C stimulierten Ansatzes zum unstimulierten Ansatz (A4) kein Unterschied zur gesunden Kontrollgruppe ( $p=0,976$ ), wohingegen sich die Gruppe mit nur einem Präparat signifikant zur gesunden Kontrollgruppe unterscheidet ( $p=0,008$ ) und eine niedrigere HLA-DR-Expression zeigt. Auch beim Vergleich des mit LPS stimulierten Ansatzes (A6) zum unstimulierten Ansatz (A4) zeigt sich diese Tendenz ( $p=0,068$ ). Bei der Betrachtung der beiden Tourette-Gruppen untereinander fällt auf, dass sich die Gruppe mit einer 2-fach-Therapie eher wie die gesunde Kontrollgruppe verhält als die Gruppe der Tourette-Patienten mit nur einer psychiatrischen Medikation.

Bei TNF- $\alpha$  ergaben sich bei der Analyse der Untergruppen (siehe Kapitel 3.6 und Tabelle 3-41) Unterschiede, welche eine ähnliche Tendenz wie die Ergebnisse bei HLA-DR zeigten. In der Gruppe mit aktuell einer psychiatrischen Medikation zeigten sich signifikant niedrigere Werte ( $p=0,003$ ,  $P_r=0,002$ ) beim Vergleich des mit Poly I:C stimulierten Ansatzes (A8) zum unstimulierten Ansatz (A4) verglichen mit der gesunden Kontrollgruppe. Bei der Stimulation mit LPS lieferte die Gruppe mit aktuell einer psychiatrischen Medikation signifikante Ergebnisse sowohl bei der Simulation selbst ( $p=0,043$ ) als auch beim Vergleich des stimulierten Wertes (A6) zum unstimulierten Wert (A4) ( $p=0,007$ ,  $P_r=0,003$ ). Auch hier verhielt sich also die Gruppe mit einer 2-fach-Therapie eher wie die Gruppe der gesunden Probanden, wohingegen sich die Tourette-Patienten mit nur einer psychiatrischen Medikation signifikant niedriger stimulieren ließen als die Kontrollgruppe der Gesunden.

Auch bei TLR-4 fällt eine verminderte Stimulierbarkeit bei den Tourette-Syndrom-Patienten mit höchstens einer psychiatrischen Therapie, sowohl beim Vergleich des bakteriellen Ansatzes (A6) zum unstimulierten Ansatz (A4) ( $P_r=0,041$ ) als auch beim Vergleich des viral stimulierten Ansatzes (A8) zum unstimulierten Ansatz (A4) ( $P_r=0,023$ ), auf. Im Vergleich hierzu zeigten sich bei den Tourette-Patienten mit einer 2-fach-Therapie keine signifikanten Ergebnisse.

Ein Einfluss der Medikation auf die Zytokinkonzentrationen und Expression von TLR muss somit diskutiert werden. In der Literatur werden unterschiedliche immunmodulatorische Wirkungen von atypischen Neuroleptika beschrieben. Sugino et al. beschreiben in ihrer Studie eine supprimierende Wirkung von atypischen Neuroleptika wie zum Beispiel Clozapin, Olanzapin und Risperidon auf TNF- $\alpha$  und IL-6 (Sugino et al., 2009). Ebenso wird ein verminderter Plasmaspiegel von IL-6 bei Schizophrenen Patienten unter einer Therapie mit Clozapin gefunden (Lu et al., 2004). Im Gegensatz hierzu werden auch erhöhte Plasmaspiegel von TNF- $\alpha$  und IL-6 bei schi-

zophrenen Patienten unter einer Therapie mit Clozapin beschrieben (Hinze-Selch et al., 1996, Pollmacher et al., 1996, Maes et al., 1994).

Nachdem sich in unserer Studie sowohl die Präparate als auch die Einnahmedauer, die Dosierung und der Einnahmezeitpunkt unterschieden, ist es schwierig, den Einfluss der Medikamente klar herauszuarbeiten. Um genauere Informationen über die pharmakologischen Einflüsse zu gewinnen, wären Studien unter standardisierten Testbedingungen bzw. Studien mit medikamentennaiven Patienten notwendig.

#### **4.2.5 Korrelationen**

Zur Klärung, ob die Zytokinkonzentrationen und die Rezeptorexpressionen mit dem Schweregrad der Erkrankung korrelieren, wurden die signifikanten immunologischen Parameter mit den Daten des YGTSS korreliert. Zwischen HLA-DR und dem Schweregrad der Erkrankung ergab sich eine negative Korrelation. Dies bedeutet, dass die verminderte HLA-DR-Expression bei den Tourette-Patienten umso niedriger ausfällt, je ausgeprägter der Schweregrad der Erkrankung ist. Dieser Befund lässt sich demnach gut mit unserer Hypothese einer möglichen Beteiligung der HLA-DR-Expression an der Pathogenese des Tourette-Syndroms vereinbaren.

## 5 Zusammenfassung

Die Psychoneuroimmunologie ist ein junges interdisziplinäres Forschungsgebiet, das sich mit Wechselwirkungen der Psyche, des Nervensystems, des Hormonsystems und des Immunsystems beschäftigt. Die einzelnen Systeme des Organismus werden nicht mehr getrennt betrachtet, sondern ihre gegenseitige Beeinflussung wird untersucht. Grundlagen sind Theorien über mögliche Zusammenhänge zwischen Veränderungen des Immunsystems und der Entwicklung psychischer Erkrankungen. Infektionen und postinflammatorische Prozesse scheinen bei einer Reihe von neuropsychiatrischen Erkrankungen ein wichtiger pathogenetischer Faktor zu sein. In vorliegender Arbeit wurde diese Hypothese im Hinblick auf das Tourette-Syndrom anhand von Monozyten und deren Zytokinen und Rezeptorexpressionen untersucht. Bei 33 Tourette-Patienten und 31 gesunden Kontrollpersonen wurden in einer explorativen, prospektiven Studie Monozyten und ihre immunologischen Aktivierungsmarker durchflusszytometrisch bestimmt. Es erfolgte die Bestimmung der intrazellulären, proinflammatorischen Zytokine wie TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  und IL-6 sowie die Bestimmung des antiinflammatorischen Zytokins IL-10. Des Weiteren erfolgte eine Untersuchung von verschiedenen Toll-like-Rezeptoren (TLR-2, TLR-3 und TLR-4) und der HLA-DR-Expression auf Monozyten. Die Hypothese, dass Infektionen und postinflammatorische Prozesse bei einer Untergruppe von Tourette-Syndrom-Patienten ein wichtiger pathogenetischer Faktor zu sein scheinen, wird unter anderen von Berichten über Streptokokken- und Mykoplasmeninfektionen im Zusammenhang mit dem Tourette-Syndrom aber auch durch Erfolge mit entzündungshemmenden und antibiotischen Therapien gestützt. Vor diesem Hintergrund wurden in dieser Arbeit Monozyten und ihre Zytokine und Rezeptorexpressionen nicht nur im Grundzustand, sondern auch im Modell einer bakteriellen bzw. viralen Infektion untersucht. Hierbei erfolgte eine in-vitro-Stimulation von Vollblutproben mit Lipopolysaccharid (LPS) und Poly I:C. Die Monozyten/nl waren bei Tourette-Patienten im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe signifikant höher. CRP lag bei beiden Gruppen im Normbereich und zeigte keinen Unterschied zwischen den beiden Gruppen. HLA-DR und TNF- $\alpha$  zeigten sich beim Vergleich des Poly I:C stimulierten zum unstimulierten Ansatz in der Gruppe der Tourette-Patienten signifikant vermindert im Vergleich zur Kontrollgruppe. TLR-4 wurde bei der LPS-Stimulation in der Gruppe der Tourette-Patienten weniger stark exprimiert als in der Kontrollgruppe. Trotz erhöhter Monozytenzahl waren die intrazellulären proinflammatorischen Zytokine, Aktivierungsmarker und Rezeptorexpressionen bei Tourette-Patienten niedriger. Diese Ergebnisse deuten möglicherweise auf eine Störung der Monozytenfunktion bei Tourette-Patienten hin. Die höhere Zahl der Monozyten/nl könnte als Kompensationsmechanismus gedeutet werden. Eine vermehrte Anfälligkeit für Infektionen und eine etwaige Beteiligung an der Pathogenese der Tourette-Syndrom-Erkrankung wäre somit, zumindest bei einer Untergruppe von Tourette-Patienten, denkbar.



## 6 Verzeichnisse

### 6.1 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1-1 Haupteffekte von TNF- $\alpha$ , IL-1 und IL-6 und ihre pathogenen Auswirkungen (Vollmar und Dingermann, 2005)

Abbildung 2-1 Darstellung von Leukozytensubpopulationen in der Zweiparameterdarstellung. FSC=Vorwärtsstreulicht, SSC=Seitwärtsstreulicht. Anhand der Zellgröße (x-Achse) und der Granularität (Y-Achse) lassen sich die einzelnen Zellpopulationen (Granulozyten, Monozyten und Lymphozyten) voneinander abgrenzen.

Abbildung 2-2 Aufbau eines Durchflußzytometers

Abbildung 2-3 Eingrenzung der Monozyten in drei Regionen (R1, R2 und R3), deren Inhalt für die weitere Auswertung verwendet wurde. SSC = Side Angle Light Scatter, FSC = Forward Angle Light Scatter, FL3 = Fluoreszenz 3 = HLA-DR, FL1-Fluoreszenz 1 = CD14

Abbildung 2-4 Beispiel für die Darstellung der Expression von TLR-4 und TLR-2 nach Stimulation mit LPS an Hand einer Quadrantenanalyse (FL2=TLR-4, FL4=TLR-2). Im rechten oberen Quadranten befinden sich die Monozyten, die nach Stimulation mit LPS vermehrt TLR-4 exprimieren. Im linken oberen Quadranten die Monozyten die nach Stimulation mit LPS vermehrt TLR-2 exprimieren.

Abbildung 3-1 Vergleich der Monozytenzahl/nl zwischen Tourette-Syndrom-Patienten und gesunden Probanden in Boxplot-Darstellung

Abbildung 3-2 Vergleich von CRP mg/dl zwischen Tourette-Syndrom-Patienten und gesunden Probanden in Boxplot-Darstellung

Abbildung 3-3 HLA-DR im Modell der viralen Stimulation mit Poly:IC im Vergleich zum unstimulierten Zustand. Vergleich zwischen 3 Gruppen (T1, T2 und gesunde Probanden).

Abbildung 3-4 HLA-DR im Modell der viralen Stimulation mit Poly:IC im Vergleich zum unstimulierten Zustand. Vergleich zwischen 2 Gruppen (Tourette-Syndrom-Patienten und gesunde Probanden).

Abbildung 3-5 Streudiagramm und (Log-) lineare Regression für HLA-DR im Modell der viralen Stimulation mit Poly:IC im Vergleich zum unstimulierten Zustand mit Tourette-Syndrom-Patienten und gesunden Probanden. Bei HLA-DR sind jeweils die logarithmierten Werte dargestellt ( $\log \text{HLA-DR} = x$  bedeutet  $\text{HLA-DR} = \exp(x)$ )

Abbildung 3-6 Boxplots und (Log-) lineare Regression für HLA-DR im Modell der viralen Stimulation mit Poly:IC im Vergleich zum unstimulierten Zustand mit Tourette-Syndrom-Patienten und gesunden Probanden. Bei HLA-DR sind jeweils die logarithmierten Werte dargestellt ( $\log \text{HLA-DR} = x$  bedeutet  $\text{HLA-DR} = \exp(x)$ )

Abbildung 3-7 Streudiagramm und (Log-) lineare Regression für HLA-DR im Modell der viralen Stimulation mit Poly:IC im Vergleich zum unstimulierten Zustand mit Tourette-Syndrom-Patienten der Gruppe T1 und gesunden Probanden. Bei HLA-DR sind jeweils die logarithmierten Werte dargestellt ( $\log \text{HLA-DR} = x$  bedeutet  $\text{HLA-DR} = \exp(x)$ )

Abbildung 3-8 Boxplots und (Log-) lineare Regression für HLA-DR im Modell der viralen Stimulation mit Poly:IC im Vergleich zum unstimulierten Zustand mit Tourette-Syndrom-Patienten der Gruppe T1 und gesunden Probanden. Bei HLA-DR sind jeweils die logarithmierten Werte dargestellt ( $\log \text{HLA-DR} = x$  bedeutet  $\text{HLA-DR} = \exp(x)$ )

Abbildung 3-9 Streudiagramm und (Log-) lineare Regression für HLA-DR im Modell der bakteriellen Stimulation mit LPS im Vergleich zum unstimulierten Zustand mit Tourette-Syndrom-Patienten der Gruppe T1 und gesunden Probanden. Bei HLA-DR sind jeweils die logarithmierten Werte dargestellt ( $\log \text{HLA-DR} = x$  bedeutet  $\text{HLA-DR} = \exp(x)$ )

Abbildung 3-10 Boxplots und (Log-) lineare Regression für HLA-DR im Modell der bakteriellen Stimulation mit LPS im Vergleich zum unstimulierten Zustand mit Tourette-Syndrom-Patienten der Gruppe T1 und gesunden Probanden. Bei HLA-DR sind jeweils die logarithmierten Werte dargestellt ( $\log \text{HLA-DR} = x$  bedeutet  $\text{HLA-DR} = \exp(x)$ )

Abbildung 3-11 Vergleich von HLA-DR im Modell der viralen Stimulation mit Poly:IC im Vergleich zum unstimulierten Zustand in Abhängigkeit von YGTSS für 33 Tourette-Syndrom-Patienten.

Abbildung 3-12 TNF- $\alpha$  im Modell der viralen Stimulation mit Poly:IC im Vergleich zum unstimulierten Zustand. Vergleich zwischen 3 Gruppen (T1, T2 und gesunde Probanden).

Abbildung 3-13 TNF- $\alpha$  im Modell der viralen Stimulation mit Poly:IC im Vergleich zum unstimulierten Zustand. Vergleich zwischen 2 Gruppen (Tourette-Syndrom-Patienten und gesunde Probanden).

Abbildung 3-14 Streudiagramm und (Log-) lineare Regression für TNF- $\alpha$  im Modell der viralen Stimulation mit Poly:IC im Vergleich zum unstimulierten Zustand mit Tourette-Syndrom-Patienten und gesunden Probanden. Bei TNF- $\alpha$  sind jeweils die logarithmierten Werte dargestellt ( $\log \text{TNF-}\alpha = x$  bedeutet  $\text{TNF-}\alpha = \exp(x)$ )

Abbildung 3-15 Boxplots und (Log-) lineare Regression für TNF- $\alpha$  im Modell der viralen Stimulation mit Poly:IC im Vergleich zum unstimulierten Zustand mit Tourette-Syndrom-Patienten und gesunden Probanden. Bei TNF- $\alpha$  sind jeweils die logarithmierten Werte dargestellt ( $\log \text{TNF-}\alpha = x$  bedeutet  $\text{TNF-}\alpha = \exp(x)$ )

Abbildung 3-16 Streudiagramm und (Log-) lineare Regression für TNF- $\alpha$  im Modell der viralen Stimulation mit Poly:IC im Vergleich zum unstimulierten Zustand mit Tourette-Syndrom-Patienten der Gruppe T1 und gesunden Probanden. Bei TNF- $\alpha$  sind jeweils die logarithmierten Werte dargestellt ( $\log \text{TNF-}\alpha = x$  bedeutet  $\text{TNF-}\alpha = \exp(x)$ )

Abbildung 3-17 Boxplots und (Log-) lineare Regression für TNF- $\alpha$  im Modell der viralen Stimulation mit Poly:IC im Vergleich zum unstimulierten Zustand mit Tourette-Syndrom-Patienten und gesunden Probanden. Bei TNF- $\alpha$  sind jeweils die logarithmierten Werte dargestellt ( $\log \text{TNF-}\alpha = x$  bedeutet  $\text{TNF-}\alpha = \exp(x)$ )

Abbildung 3-18 TNF- $\alpha$  im Modell der bakteriellen Stimulation mit LPS. Vergleich zwischen 3 Gruppen (T1, T2 und gesunde Probanden).

Abbildung 3-19 TNF- $\alpha$  im Modell der bakteriellen Stimulation mit LPS im Vergleich zum unstimulierten Zustand. Vergleich zwischen 3 Gruppen (T1, T2 und gesunde Probanden).

Abbildung 3-20 Streudiagramm und (Log-) lineare Regression für TNF- $\alpha$  im Modell der bakteriellen Stimulation mit LPS im Vergleich zum unstimulierten Zustand mit Tourette-

Syndrom-Patienten der Gruppe T1 und gesunden Probanden. Bei TNF- $\alpha$  sind jeweils die logarithmierten Werte dargestellt ( $\log \text{TNF-}\alpha = x$  bedeutet  $\text{TNF-}\alpha = \exp(x)$ )

Abbildung 3-21 Boxplots und (Log-) lineare Regression für TNF- $\alpha$  im Modell der bakteriellen Stimulation mit LPS im Vergleich zum unstimulierten Zustand mit Tourette-Syndrom-Patienten der Gruppe T1 und gesunden Probanden. Bei TNF- $\alpha$  sind jeweils die logarithmierten Werte dargestellt ( $\log \text{TNF-}\alpha = x$  bedeutet  $\text{TNF-}\alpha = \exp(x)$ )

Abbildung 3-22 Streudiagramm und (Log-) lineare Regression für TLR-4 im Modell der viralen Stimulation mit Poly:IC im Vergleich zum unstimulierten Zustand mit Tourette-Syndrom-Patienten der Gruppe T1 und gesunden Probanden. Bei TLR-4 sind jeweils die logarithmierten Werte dargestellt ( $\log \text{TLR-4} = x$  bedeutet  $\text{TLR-4} = \exp(x)$ )

Abbildung 3-23 Boxplots und (Log-) lineare Regression für TLR-4 im Modell der viralen Stimulation mit Poly:IC im Vergleich zum unstimulierten Zustand mit Tourette-Syndrom-Patienten der Gruppe T1 und gesunden Probanden. Bei TLR-4 sind jeweils die logarithmierten Werte dargestellt ( $\log \text{TLR-4} = x$  bedeutet  $\text{TLR-4} = \exp(x)$ )

Abbildung 3-24 TLR-4 im Modell der bakteriellen Stimulation mit LPS. Vergleich zwischen 2 Gruppen (Tourette-Syndrom-Patienten und gesunde Probanden).

Abbildung 3-25 Streudiagramm und (Log-) lineare Regression für TLR-4 im Modell der bakteriellen Stimulation mit LPS im Vergleich zum unstimulierten Zustand mit Tourette-Syndrom-Patienten der Gruppe T1 und gesunden Probanden. Bei TLR-4 sind jeweils die logarithmierten Werte dargestellt ( $\log \text{TLR-4} = x$  bedeutet  $\text{TLR-4} = \exp(x)$ )

Abbildung 3-26 Boxplots und (Log-) lineare Regression für TLR-4 im Modell der bakteriellen Stimulation mit LPS im Vergleich zum unstimulierten Zustand mit Tourette-Syndrom-Patienten der Gruppe T1 und gesunden Probanden. Bei TLR-4 sind jeweils die logarithmierten Werte dargestellt ( $\log \text{TLR-4} = x$  bedeutet  $\text{TLR-4} = \exp(x)$ )

## 6.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1-1 Diagnosekriterien für das Tourette-Syndrom nach ICD-10 und DSM-IV .....	2
Tabelle 1-2 Beispiele für einfache und komplexe motorische und vokale Tics bei Tourette-Syndrom .....	4
Tabelle 1-3 Übersicht über verschiedene Differentialdiagnosen des Tourette-Syndroms.....	5
Tabelle 1-4 Übersicht über in dieser Studie verwendete Oberflächenmoleküle (Janeway et al., 2002).....	13
Tabelle 2-1 Übersicht über in dieser Studie verwendeten Fragebögen zur Beurteilung des Schweregrades der Erkrankung und der Komorbiditäten .....	20
Tabelle 2-2 Chemikalien zur Durchführung der Stimulation .....	20
Tabelle 2-3 Chemikalien zum Färben der Proben .....	21
Tabelle 2-4 Übersicht über in dieser Studie verwendeten Verbrauchsmaterialien .....	21
Tabelle 2-5 Übersicht über in dieser Studie verwendeten Geräte .....	22

Tabelle 2-6 Übersicht über in dieser Studie verwendeten Antikörper mit den jeweiligen Endkonzentrationen und Fluoreszenzfarbstoffen .....	22
Tabelle 2-7 Übersicht über in dieser Studie verwendeten Monovetten .....	23
Tabelle 2-8 Übersicht über die Zusammensetzung der in dieser Studie verwendeten Ansätze mit Angabe zur Stimulation, Inkubationszeit und Temperatur.....	24
Tabelle 2-9 Differentialblutbild und Parameter der klinischen Chemie: Referenzwerte.....	25
Tabelle 2-10 Übersicht über in dieser Studie verwendeten Fluorochrome und deren Exzitations- und Emissionsbereich und die jeweiligen Wellenlängen .....	26
Tabelle 2-11 Übersicht über die in dieser Studie verwendeten Antikörperkombinationen mit den jeweiligen Fluoreszenzfarbstoffen und Endkonzentrationen.....	29
Tabelle 3-1 Übersicht der Ergebnisse nach Mann-Whitney-U .....	39
Tabelle 3-2 Übersicht der Ergebnisse nach Mann-Whitney-U .....	40
Tabelle 3-3 Signifikanz $p$ für HLA-DR bei verschiedenen Ansätzen und Gruppen/Untergruppen durch die Mann-Whitney-U-Methode. $T_1$ =TS mit höchstens einer psychiatrischen Therapie, $T_2$ =TS mit 2 psychiatrischen Therapien. A8=Poly I:C, A6=LPS, A4=37°C, A2=Raumtemperatur .....	41
Tabelle 3-4 Signifikanz $p$ für TNF- $\alpha$ bei verschiedenen Ansätzen und Gruppen/Untergruppen durch die Mann-Whitney-U-Methode. $T_1$ =TS mit höchstens einer psychiatrischen Therapie, $T_2$ =TS mit 2 psychiatrischen Therapien. A8=Poly I:C, A6=LPS, A4=37°C, A2=Raumtemperatur .....	42
Tabelle 3-5 Signifikanz $p$ für TLR-4 bei verschiedenen Ansätzen und Gruppen/Untergruppen durch die Mann-Whitney-U-Methode. $T_1$ =TS mit höchstens einer psychiatrischen Therapie, $T_2$ =TS mit 2 psychiatrischen Therapien. A8=Poly I:C, A6=LPS, A4=37°C, A2=Raumtemperatur .....	43
Tabelle 3-6 Antikörper-Kombination 1, AK1.A6.TNF- $\alpha$ $R^2 = 0.31$ .....	45
Tabelle 3-7 Antikörper-Kombination 1, AK1.A8.TNF- $\alpha$ $R^2 = 0.44$ .....	45
Tabelle 3-8 Antikörper-Kombination 1, AK1.A6.IL-10 $R^2 = 0.60$ .....	45
Tabelle 3-9 Antikörper-Kombination 1, AK1.A8.IL-10 $R^2 = 0.64$ .....	46
Tabelle 3-10 Antikörper-Kombination 2, AK2.A6.IL-1 $\beta$ $R^2 = 0.29$ .....	46
Tabelle 3-11 Antikörper-Kombination 2, AK2.A8.IL-1 $\beta$ $R^2 = 0.43$ .....	46
Tabelle 3-12 Antikörper-Kombination 2, AK2.A6.IL-6 $R^2 = 0.29$ .....	46
Tabelle 3-13 Antikörper-Kombination 2, AK2.A8.IL-6 $R^2 = 0.41$ .....	47
Tabelle 3-14 Antikörper Kombination 3, AK3.A6.TLR-4 $R^2 = 0.62$ .....	47
Tabelle 3-15 Antikörper Kombination 3, AK3.A8.TLR-4 $R^2 = 0.69$ .....	47
Tabelle 3-16 Antikörper Kombination 3, AK3.A6.TLR-2 $R^2 = 0.82$ .....	47
Tabelle 3-17 Antikörper Kombination 3, AK3.A8.TLR-2 $R^2 = 0.81$ .....	48
Tabelle 3-18 Antikörper Kombination 4, AK4.A6.TLR-3 $R^2 = 0.37$ .....	48

Tabelle 3-19 Antikörper Kombination 4, AK4.A8.TLR-3 $R^2 = 0.45$ .....	48
Tabelle 3-20 Antikörper Kombination 4, AK4.A6.HLA-DR $R^2 = 0.66$ .....	48
Tabelle 3-21 Antikörper Kombination 4, AK4.A8.HLA-DR $R^2 = 0.67$ .....	49
Tabelle 3-22 Antikörper-Kombination 1, AK1. <b>A6.TNF-<math>\alpha</math></b> $R^2 = 0.43$ $\beta_{12}=0$ , <b>T<sub>2</sub> entfallen</b> .....	50
Tabelle 3-23 Antikörper-Kombination 1, AK1. <b>A8.TNF-<math>\alpha</math></b> $R^2 = 0.46$ $\beta_{12}=0$ , <b>T<sub>2</sub> entfallen</b> .....	50
Tabelle 3-24 Antikörper-Kombination 1, AK1.A6.IL-10 $R^2 = 0.60$ .....	50
Tabelle 3-25 Antikörper-Kombination 1, AK1.A8.IL-10 $R^2 = 0.64$ .....	51
Tabelle 3-26 Antikörper-Kombination 2, AK2.A6.IL-1 $\beta$ $R^2 = 0.35$ .....	51
Tabelle 3-27 Antikörper-Kombination 2, AK2.A8.IL-1 $\beta$ $R^2 = 0.46$ .....	51
Tabelle 3-28 Antikörper-Kombination 2, AK2.A6.IL-6 $R^2 = 0.30$ .....	51
Tabelle 3-29 Antikörper-Kombination 2, AK2.A8.IL-6 $R^2 = 0.41$ .....	52
Tabelle 3-30 Antikörper-Kombination 3, AK3. <b>A6.TLR-4</b> $R^2 = 0.63$ $\beta_{12}=0$ , <b>T<sub>2</sub> entfallen</b> .....	52
Tabelle 3-31 Antikörper-Kombination 3, AK3. <b>A8.TLR-4</b> $R^2 = 0.71$ $\beta_{12}=0$ , <b>T<sub>2</sub> entfallen</b> .....	52
Tabelle 3-32 Antikörper-Kombination 3, AK3.A6.TLR-2 $R^2 = 0.83$ .....	52
Tabelle 3-33 Antikörper-Kombination 3, AK3.A8.TLR-2 $R^2 = 0.81$ .....	53
Tabelle 3-34 Antikörper-Kombination 4, AK4.A6.TLR-3 $R^2 = 0.37$ .....	53
Tabelle 3-35 Antikörper-Kombination 4, AK4.A8.TLR-3 $R^2 = 0.47$ .....	53
Tabelle 3-36 Antikörper-Kombination 4, AK4. <b>A6.HLA-DR</b> $R^2 = 0.64$ $\beta_{12}=0$ , <b>T<sub>2</sub> entfallen</b> ....	53
Tabelle 3-37 Antikörper-Kombination 4, AK4. <b>A8.HLA-DR</b> $R^2 = 0.66$ $\beta_{12}=0$ , <b>T<sub>2</sub> entfallen</b> ....	54
Tabelle 3-38 Antikörper-Kombination 1, AK1. <b>A8.TNF-<math>\alpha</math></b> $R^2 = 0.43$ $\beta_{12}=0$ , <b>T<sub>nicht</sub> komorbid entfallen</b> .....	54
Tabelle 3-39 Auswertung von Differentialblutbild und CRP nach Mann-Whitney-U (Z=Prüfgröße, asymptotische Signifikanz entspricht dem p-Wert) .....	56
Tabelle 3-40 Korrelationskoeffizient mit Signifikanz für Vgl A8zuA4 HLA-DR und YGTSS... ..	64
Tabelle 3-41 Übersicht über die signifikanten Ergebnisse für HLA-DR, TNF- $\alpha$ und TLR-4. Gegenüberstellung der Mann-Whitney-U-Methode und der linearen Regression. T=33 Tourette-Syndrom-Patienten (TS), T <sub>1</sub> = TS mit höchstens einer psychiatrischen Therapie. A8=Poly I:C, A6=LPS, A4=37°C .....	76
Tabelle 3-42 Übersicht über die Stimulierbarkeit bei Tourette-Syndrom-Patienten und gesunden Probanden. Im statistischen Mittel ist der Wert nach der Stimulierung bei den Tourette-Syndrom-Patienten geringer als bei den gesunden Probanden. ....	77

### 6.3 Abkürzungsverzeichnis

A	Ansatz
ADHS	Aufmerksamkeits-Defizit-Hyperaktivitäts-Syndrom
AK	Antikörperkombination
APA	American Psychiatric Association
APC	Allophycocyanin/Antigen-präsentierende-Zellen
BFA	Brefeldin A
Bzw.	Beziehungsweise
CD	Cluster of Differentiation
CGI	Clinical Global Impression
COX 2	Cyclooxygenase 2
CPDA	citrate-phosphate-dextrose-adenine
CRP	C-reaktives Protein
Cy	Cyanine
d.h.	Das heisst
DBS	Deep brain stimulation
DSM	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EEG	Elektroencephalographie
EMG	Elektromyographie
ERP	Event Related Potentials
FACS	Fluorescence Activated Cell Sorting
FITC	Fluorescein
FL	Fluoreszenz
fMRI	Funktionelle Magnetresonanztomographie
FSC	Forward Angle Light Scatter
GABA	Gamma-Aminobuttersäure
GOT	Glutamat-Oxalacetat Transaminase

GPT	Glutamat-Pyruvat Transaminase
He-Ne	Helium-Neon
HLA	Human Leucocyte Antigen
ICD-10	International Classification of Diseases 10
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
IL1-ra	Interleukin 1 Rezeptor-Antagonist
INF	Interferon
IRAK	IL-1-Rezeptor assoziierten Kinasen
Lithium-Heparin	Li-Heparin
LPB	Lipopolysaccharidbindendem Protein
LPS	Lipopolysaccharid
MALT	mucosa associated lymphoid tissue
mCD14	Membranständiges CD14
MCP-1	monocyte- chemotactic-protein-1
MHC	major histocompatibility complex
MRT	Magnetresonanztomographie
MyD88	Myeolid-Differenzierungsfaktor 88
N	Anzahl
NF-κB	nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B-cells
NO	Stickstoff
PAMPs	Pathogen Associated Molecular Patterns
PANDAS	Pediatric Autoimmune Neuropsychiatric Disorders Associated with Streptococcal Infections
PBS	Phosphate-Buffered Saline Solution
PE	R-Phycoerythrin
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
PFA	Paraformaldehyde
Poly I:C	Polyinosinic-polycytosilic acid sodium salt gamma irradiated

PRR	Pattern Recognition Receptors
R	Korrelationskoeffizient
sCD14	Soluble CD14
SD	Standardabweichung
SPECT	Single Photon Emission Computed Tomography
SPSS	Statistiksoftware
SSC	Side Angle Light Scatter
TCR	T cell receptor
TH	T-Helfer-Zellen
THC	Tetrahydrocannabinol
TLR	Toll-Like-Rezeptor
TNF	Tumor-Nekrose-Faktor
TRAF	TNF- $\alpha$ -Rezeptor
Treg	Regulatorische T-Zellen
TS	Tourette-Syndrom
TSH	Thyroid stimulating hormon
UV	Ultraviolett
z.B.	Zum Beispiel
ZNS	Zentrales Nervensystem
$\mu$ GT	Gamma-Glutamyltransferase



## 6.4 Literaturverzeichnis

Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell* 2006; 124: 783-801

Aloisi F. Immune function of microglia. *Glia* 2001; 36: 165-79

Amat JA, Bronen RA, Saluja S, Sato N, Zhu H, Gorman DA, Royal J, Peterson BS. Increased number of subcortical hyperintensities on MRI in children and adolescents with Tourette's syndrome, obsessive-compulsive disorder, and attention deficit hyperactivity disorder. *Am J Psychiatry* 2006; 163: 1106-8

APA. Diagnostic and statistical manual of mental disorders, 4 ed. Washington: American Psychiatric Association Press

Arend WP. Cytokine imbalance in the pathogenesis of rheumatoid arthritis: the role of interleukin-1 receptor antagonist. *Semin Arthritis Rheum* 2001; 30: 1-6

Bein G. [HLA diagnosis and DNA technology]. *Infusionsther Transfusionsmed* 1994; 21 Suppl 3: 23-28

Bloch MH, Landeros-Weisenberger A, Kelmendi B, Coric V, Bracken MB, Leckman JF. A systematic review: antipsychotic augmentation with treatment refractory obsessive-compulsive disorder. *Mol Psychiatry* 2006; 11: 622-32

Bohlhalter S, Goldfine A, Matteson S, Garraux G, Hanakawa T, Kansaku K, Wurzman R, Hallett M. Neural correlates of tic generation in Tourette syndrome: an event-related functional MRI study. *Brain* 2006; 129: 2029-37

Brambilla F, Perna G, Bellodi L, Arancio C, Bertani A, Perini G, Carraro C, Gava F. Plasma interleukin-1 beta and tumor necrosis factor concentrations in obsessive-compulsive disorders. *Biol Psychiatry* 1997; 42: 976-81

Braun AR, Stoetter B, Randolph C, Hsiao JK, Vladar K, Gernert J, Carson RE, Herscovitch P, Chase TN. The functional neuroanatomy of Tourette's syndrome: an

FDG-PET study. I. Regional changes in cerebral glucose metabolism differentiating patients and controls. *Neuropsychopharmacology* 1993; 9: 277-91

Brebner K, Hayley S, Zacharko R, Merali Z, Anisman H. Synergistic effects of interleukin-1beta, interleukin-6, and tumor necrosis factor-alpha: central monoamine, corticosterone, and behavioral variations. *Neuropsychopharmacology* 2000; 22: 566-80

Budman CL, Kerjakovic M, Bruun RD. Viral infection and tic exacerbation. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 1997; 36: 162

Caine ED, Weitkamp LR, Chiverton P, Guttormsen S, Yagnow R, Hempfling S, Kennelly D. Tourette syndrome and HLA. *J Neurol Sci* 1985; 69: 201-6

Chen K, Iribarren P, Hu J, Chen J, Gong W, Cho EH, Lockett S, Dunlop NM, Wang JM (2006) Activation of Toll-like receptor 2 on microglia promotes cell uptake of Alzheimer disease-associated amyloid beta peptide. *J Biol Chem* 281:3651-3659.

Cheon KA, Ryu YH, Namkoong K, Kim CH, Kim JJ, Lee JD. Dopamine transporter density of the basal ganglia assessed with [123I]IPT SPECT in drug-naive children with Tourette's disorder. *Psychiatry Res* 2004; 130: 85-95

Coffey BJ, Miguel EC, Biederman J, Baer L, Rauch SL, O'Sullivan RL, Savage CR, Phillips K, Borgman A, Green-Leibovitz MI, Moore E, Park KS, Jenike MA. Tourette's disorder with and without obsessive-compulsive disorder in adults: are they different? *J Nerv Ment Dis* 1998; 186: 201-6

Comings DE, Gurse BT, Hecht T, Blume K. HLA typing in Tourette syndrome. *Adv Neurol* 1982; 35: 251-53

Cook DN, Pisetsky DS, Schwartz DA. Toll-like receptors in the pathogenesis of human disease. *Nat Immunol* 2004; 5: 975-79

Dale RC. Autoimmunity and the basal ganglia: new insights into old diseases. *QJM* 2003; 96: 183-91

Dale RC. Post-streptococcal autoimmune disorders of the central nervous system. *Dev Med Child Neurol* 2005; 47: 785-91

Denys D, Fluitman S, Kavelaars A, Heijnen C, Westenberg H. Decreased TNF-alpha and NK activity in obsessive-compulsive disorder. *Psychoneuroendocrinology* 2004; 29: 945-52

Dietel M., Suttrop N., Zeitz M., Kasper D.L., Braunwald E., Fauci A.S., Hauser S.L., Longo D.L., Jameson J.L., *Harrisons Innere Medizin*, 16. Auflage, 2005, ABW Wissenschaftsverlag GmbH

Dilling H., Mombour W. and Schmidt M.H., 2005. Weltgesundheitsorganisation. Internationale Klassifikation psychischer Störungen. ICD-10 Kapitel V (F). Klinisch-diagnostische Leitlinien., 5edn. Verlag Hans Huber, Bern.

Ditschkowski M, Kreuzfelder E, Rebmann V, Ferencik S, Majetschak M, Schmid EN, Obertacke U, Hirche H, Schade UF, Grosse-Wilde H: HLA-DR expression and soluble HLA-DR levels in septic patients after trauma. *Ann Surg* 1999;229:246–254.

Docke WD, Randow F, Syrbe U, Krausch D, Asadullah K, Reinke P, Volk HD, Kox W: Monocyte deactivation in septic patients: Restoration by IFN- $\gamma$  treatment. *Nat Med* 1997;3: 678–681.

Dursun SM, Farrar G, Handley SL, Rickards H, Betts T, Corbett JA. Elevated plasma kynurenine in Tourette syndrome. *Mol Chem Neuropathol* 1994; 21: 55-60

Eidelberg D, Moeller JR, Antonini A, Kazumata K, Dhawan V, Budman C, Feigin A. The metabolic anatomy of Tourette's syndrome. *Neurology* 1997; 48: 927-34

Fassbender K, Walter S, Kuhl S, Landmann R, Ishii K, Bertsch T, Stalder AK, Muehlhauser F, Liu Y, Ulmer AJ, Rivest S, Lentschat A, Gulbins E, Jucker M, Staufenbiel M, Brechtel K, Walter J, Multhaup G, Penke B, Adachi Y, Hartmann T, Beyreuther K (2004) The LPS receptor (CD14) links innate immunity with Alzheimer's disease. *Faseb J* 18:203-205.

Ferenčík M., Rovenský J., Mat'ha V., Herold M. Kompendium der Immunologie: Grundlagen und Klinik, Wien: Springer-Verlag 2006

Freeman RD, Fast DK, Burd L, Kerbeshian J, Robertson MM, Sandor P. An international perspective on Tourette syndrome: selected findings from 3,500 individuals in 22 countries. *Dev Med Child Neurol* 2000; 42: 436-47

Gilbert DL, Sethuraman G, Sine L, Peters S, Sallee FR. Tourette's syndrome improvement with pergolide in a randomized, double-blind, crossover trial. *Neurology* 2000; 54: 1310-1315

Gilbert DL, Batterson JR, Sethuraman G, Sallee FR. Tic reduction with risperidone versus pimozide in a randomized, double-blind, crossover trial. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2004; 43: 206-14

Glezer I, Lapointe A, Rivest S. Innate immunity triggers oligodendrocyte progenitor reactivity and confines damages to brain injuries. *FASEB J* 2006; 20: 750-752

Grutz G. New insights into the molecular mechanism of interleukin-10-mediated immunosuppression. *J Leukoc Biol* 2005; 77: 3-15

Hallett JJ, Harling-Berg CJ, Knopf PM, Stopa EG, Kiessling LS. Anti-striatal antibodies in Tourette syndrome cause neuronal dysfunction. *J Neuroimmunol* 2000; 111: 195-202

Hanisch UK. Microglia as a source and target of cytokines. *Glia* 2002; 40: 140-155

Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med* 2005; 352: 1685-95

Hartung S. "...sonst bin ich ganz normal". Leben mit dem Tourette-Syndrom. Hamburg: Rasch und Röhring, 1995.

Hinze-Selch D, Becker EW, Stein GM, Berg PA, Mullington J, Holsboer F, Pollmacher T. Effects of clozapine on in vitro immune parameters: a longitudinal study in clozapine-treated schizophrenic patients. *Neuropsychopharmacology* 1998; 19: 114-22

Hoekstra PJ, Kallenberg CG, Korf J, Minderaa RB. Is Tourette's syndrome an autoimmune disease? *Mol Psychiatry* 2002; 7: 437-45

Hoekstra PJ, Anderson GM, Troost PW, Kallenberg CG, Minderaa RB. Plasma kynurenine and related measures in tic disorder patients. *Eur Child Adolesc Psychiatry* 2007; 16 Suppl 1: 71-77

Hoffman KL, Hornig M, Yaddanapudi K, Jabado O, Lipkin WI. A murine model for neuropsychiatric disorders associated with group A beta-hemolytic streptococcal infection. *J Neurosci* 2004; 24: 1780-1791

Hyde TM, Aaronson BA, Randolph C, Rickler KC, Weinberger DR. Relationship of birth weight to the phenotypic expression of Gilles de la Tourette's syndrome in monozygotic twins. *Neurology* 1992; 42: 652-58

Janeway C. A., Travers P., Walport M., Shlomchik M. *Immunologie*; 3. Auflage Heidelberg; Berlin: Spektrum Akademischer Verlag GmbH, 2002

Jankovic J. Tourette's syndrome. *N Engl J Med* 2001; 345: 1184-92

Kawikova,I., Leckman,J.F., Kronig,H., Katsoyich,L., Bessen,D.E., Ghebremichael,M. and Bothwell,A.L., 2007. Decreased numbers of regulatory T cells suggest impaired immune tolerance in children with tourette syndrome: a preliminary study. *Biol Psychiatry*. 61, 273-278.

Kessler AR. Clonidine treatment increases tics in patients with Tourette syndrome: case report. *J Child Neurol* 2001; 16: 380-381

Krause D, Matz J, Weidinger E, Wagner J, Wildenauer A, Obermeier M, Riedel M, Muller N. Association between intracellular infectious agents and Tourette's syndrome. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 2010; 260: 359-63

Kreutzberg GW. Microglia, the first line of defence in brain pathologies. *Arzneimittelforschung* 1995; 45: 357-60

Kronfol Z , Remick DG. Cytokines and the brain: implications for clinical psychiatry. *Am J Psychiatry* 2000; 157: 683-94

Kurt-Jones EA, Popova L, Kwinn L, Haynes LM, Jones LP, Tripp RA, Walsh EE, Freeman MW, Golenbock DT, Anderson LJ, Finberg RW. Pattern recognition receptors TLR4 and CD14 mediate response to respiratory syncytial virus. *Nat Immunol* 2000; 1: 398-401

Kushner HI. History as a medical tool. *Lancet* 2008; 371: 552-53

Kwak C, Dat VK, Jankovic J. Premonitory sensory phenomenon in Tourette's syndrome. *Mov Disord* 2003; 18: 1530-1533

Leckman JF, Detlor J, Harcherik DF, Ort S, Shaywitz BA, Cohen DJ. Short- and long-term treatment of Tourette's syndrome with clonidine: a clinical perspective. *Neurology* 1985; 35: 343-51

Leckman JF, Ort S, Caruso KA, Anderson GM, Riddle MA, Cohen DJ. Rebound phenomena in Tourette's syndrome after abrupt withdrawal of clonidine. Behavioral, cardiovascular, and neurochemical effects. *Arch Gen Psychiatry* 1986; 43: 1168-76

Leckman JF, Hardin MT, Riddle MA, Stevenson J, Ort SI, Cohen DJ. Clonidine treatment of Gilles de la Tourette's syndrome. *Arch Gen Psychiatry* 1991; 48: 324-28

Leckman JF. Tourette's syndrome. *Lancet* 2002; 360: 1577-86

Leckman JF, Katsovich L, Kawikova I, Lin H, Zhang H, Kronig H, Morshed S, Parveen S, Grantz H, Lombroso PJ, King RA. Increased serum levels of interleukin-12 and tumor necrosis factor-alpha in Tourette's syndrome. *Biol Psychiatry* 2005; 57: 667-73

Lehnardt S. Die Bedeutung der Toll-like-Rezeptoren für neuronale und gliale Schädigung im Zentralen Nervensystem, Habilitationsschrift Charité Berlin: Medizinische Fakultät 2008

Leslie DL, Kozma L, Martin A, Landeros A, Katsovich L, King RA, Leckman JF. Neuropsychiatric disorders associated with streptococcal infection: a case-control study among privately insured children. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2008; 47: 1166-72

Lit L, Enstrom A, Sharp FR, Gilbert DL. Age-related gene expression in Tourette syndrome. *J Psychiatr Res* 2009; 43: 319-30

Loiselle CR, Lee O, Moran TH, Singer HS. Striatal microinfusion of Tourette syndrome and PANDAS sera: failure to induce behavioral changes. *Mov Disord* 2004; 19: 390-396

Lu LX, Guo SQ, Chen W, Li Q, Cheng J, Guo JH. [Effect of clozapine and risperidone on serum cytokine levels in patients with first-episode paranoid schizophrenia]. *Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao* 2004; 24: 1251-54

Maes M, Meltzer HY, Bosmans E. Immune-inflammatory markers in schizophrenia: comparison to normal controls and effects of clozapine. *Acta Psychiatr Scand* 1994; 89: 346-51

Mantovani A, Lisanby SH, Pieraccini F, Ulivelli M, Castrogiovanni P, Rossi S. Repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) in the treatment of obsessive-compulsive disorder (OCD) and Tourette's syndrome (TS). *Int J Neuropsychopharmacol* 2006; 9: 95-100

Mantovani A, Leckman JF, Grantz H, King RA, Sporn AL, Lisanby SH. Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation of the Supplementary Motor Area in the treatment of Tourette Syndrome: report of two cases. *Clin Neurophysiol* 2007; 118: 2314-15

Mantovani A, Westin G, Hirsch J, Lisanby SH. Functional magnetic resonance imaging guided transcranial magnetic stimulation in obsessive-compulsive disorder. *Biol Psychiatry* 2010; 67: e39-e40

Marras C, Andrews D, Sime E, Lang AE. Botulinum toxin for simple motor tics: a randomized, double-blind, controlled clinical trial. *Neurology* 2001; 56: 605-10

Martino D, Dale RC, Gilbert DL, Giovannoni G, Leckman JF. Immunopathogenic mechanisms in tourette syndrome: A critical review. *Mov Disord* 2009; 24: 1267-79

Miguel EC, Leckman JF, Rauch S, do Rosario-Campos MC, Hounie AG, Mercadante MT, Chacon P, Pauls DL. Obsessive-compulsive disorder phenotypes: implications for genetic studies. *Mol Psychiatry* 2005; 10: 258-75

Min SK, Lee H, Park KI, Park MS, Namkoong K. Tourette disorder and HLA typing. *Yonsei Med J* 1991; 32: 315-18

Möller HJ, *Psychiatrie und Psychotherapie*, 2. vollst. Überarbeitete und erweiterte Auflage-Stuttgart: Thieme, 2001

Monteleone P, Catapano F, Fabrazzo M, Tortorella A, Maj M. Decreased blood levels of tumor necrosis factor-alpha in patients with obsessive-compulsive disorder. *Neuropsychobiology* 1998; 37: 182-85

Morer A, Chae W, Henegariu O, Bothwell AL, Leckman JF, Kawikova I. Elevated expression of MCP-1, IL-2 and PTPR-N in basal ganglia of Tourette syndrome cases. *Brain Behav Immun* 2010; 24: 1069-73

Mossner R, Heils A, Stober G, Okladnova O, Daniel S, Lesch KP. Enhancement of serotonin transporter function by tumor necrosis factor alpha but not by interleukin-6. *Neurochem Int* 1998; 33: 251-54

Müller-Vahl KR. Cannabinoids reduce symptoms of Tourette's syndrome. *Expert Opin Pharmacother* 2003; 4: 1717-25

Müller-Vahl KR, Schneider U, Prevedel H, Theloe K, Kolbe H, Daldrup T, Emrich HM. Delta 9-tetrahydrocannabinol (THC) is effective in the treatment of tics in Tourette syndrome: a 6-week randomized trial. *J Clin Psychiatry* 2003; 64: 459-65

Müller N, Putz A, Straube A, Kathmann N. [Compulsive disorder and Gilles de la Tourette syndrome. On the differential diagnosis of organic and psychogenic compulsive symptoms]. *Nervenarzt* 1995; 66: 372-78



- Müller N, Putz A, Straube A, Kathmann N. Zwangsstörung und Gilles-de-la-Tourette-Syndrom. *Nervenarzt* 1995b;372-78.
- Müller N, Riedel M, Forderreuther S, Blendinger C, bele-Horn M. Tourette's syndrome and mycoplasma pneumoniae infection. *Am J Psychiatry* 2000a; 157: 481-82
- Müller N, Riedel M, Straube A, Gunther W, Wilske B. Increased anti-streptococcal antibodies in patients with Tourette's syndrome. *Psychiatry Res* 2000b; 94: 43-49
- Müller N, Kroll B, Schwarz MJ, Riedel M, Straube A, Lutticken R, Reinert RR, Reineke T, Kuhnemund O. Increased titers of antibodies against streptococcal M12 and M19 proteins in patients with Tourette's syndrome. *Psychiatry Res* 2001; 101: 187-93
- Müller N, Riedel M, Blendinger C, Oberle K, Jacobs E, bele-Horn M. Mycoplasma pneumoniae infection and Tourette's syndrome. *Psychiatry Res* 2004; 129: 119-25
- Müller N. Tourette's syndrome: clinical features, pathophysiology, and therapeutic approaches. *Dialogues Clin Neurosci* 2007; 9: 161-71
- Murphy ML , Pichichero ME. Prospective identification and treatment of children with pediatric autoimmune neuropsychiatric disorder associated with group A streptococcal infection (PANDAS). *Arch Pediatr Adolesc Med* 2002; 156: 356-61
- Murr C, Widner B, Wirleitner B, Fuchs D. Neopterin as a marker for immune system activation. *Curr Drug Metab* 2002; 3: 175-87
- Nürnberg J. Tourette-Syndrom: Immunologische Untersuchungen von Monozyten und Zytokinen, Dissertation LMU München: Medizinische Fakultät 2008
- Olson LL, Singer HS, Goodman WK, Maria BL. Tourette syndrome: diagnosis, strategies, therapies, pathogenesis, and future research directions. *J Child Neurol* 2006; 21: 630-641
- Perlmutter,S.J., Leitman,S.F., Garvey,M.A., Hamburger,S., Feldman,E., Leonard, H.L. and Swedo,S.E., 1999. Therapeutic plasma exchange and intravenous

immunoglobulin for obsessive-compulsive disorder and tic disorders in childhood. *Lancet*. 354, 1153-1158.

Peterson BS, Staib L, Scahill L, Zhang H, Anderson C, Leckman JF, Cohen DJ, Gore JC, Albert J, Webster R. Regional brain and ventricular volumes in Tourette syndrome. *Arch Gen Psychiatry* 2001; 58: 427-40

Peterson BS, Thomas P, Kane MJ, Scahill L, Zhang H, Bronen R, King RA, Leckman JF, Staib L. Basal Ganglia volumes in patients with Gilles de la Tourette syndrome. *Arch Gen Psychiatry* 2003; 60: 415-24

Peterson BS, Choi HA, Hao X, Amat JA, Zhu H, Whiteman R, Liu J, Xu D, Bansal R. Morphologic features of the amygdala and hippocampus in children and adults with Tourette syndrome. *Arch Gen Psychiatry* 2007; 64: 1281-91

Pollmacher T, Hinze-Selch D, Mullington J. Effects of clozapine on plasma cytokine and soluble cytokine receptor levels. *J Clin Psychopharmacol* 1996; 16: 403-9

Pollmacher T, Haack M, Schuld A, Reichenberg A, Yirmiya R. Low levels of circulating inflammatory cytokines--do they affect human brain functions? *Brain Behav Immun* 2002; 16: 525-32

Price RA, Kidd KK, Cohen DJ, Pauls DL, Leckman JF. A twin study of Tourette syndrome. *Arch Gen Psychiatry* 1985; 42: 815-20

Pringsheim T, Davenport WJ, Lang A. Tics. *Curr Opin Neurol* 2003; 16: 523-27

Rickards H, Dursun SM, Farrar G, Betts T, Corbett JA, Handley SL. Increased plasma kynurenine and its relationship to neopterin and tryptophan in Tourette's syndrome. *Psychol Med* 1996; 26: 857-62

Riedel M, Straube A, Schwarz MJ, Wilske B, Muller N. Lyme disease presenting as Tourette's syndrome. *Lancet* 1998; 351: 418-19

Riederer F, Stamenkovic M, Schindler SD, Kasper S. [Tourette's syndrome - a review]. *Nervenarzt* 2002; 73: 805-19

Robertson MM. The Gilles de la Tourette syndrome: the current status. *Br J Psychiatry* 1989; 154: 147-69

Robertson MM, Schnieden V, Lees AJ. Management of Gilles de la Tourette syndrome using sulpiride. *Clin Neuropharmacol* 1990; 13: 229-35

Robertson MM, Stern JS. Gilles de la Tourette syndrome: symptomatic treatment based on evidence. *Eur Child Adolesc Psychiatry* 2000; 9 Suppl 1: I60-I75

Robertson MM, Eapen V, Cavanna AE. The international prevalence, epidemiology, and clinical phenomenology of Tourette syndrome: a cross-cultural perspective. *J Psychosom Res* 2009; 67: 475-83

Roelofs MF, Joosten LA, Abdollahi-Roodsaz S, van Lieshout AW, Sprong T, van den Hoogen FH, van den Berg WB, Radstake TR. The expression of toll-like receptors 3 and 7 in rheumatoid arthritis synovium is increased and costimulation of toll-like receptors 3, 4, and 7/8 results in synergistic cytokine production by dendritic cells. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 2313-22

Rothenberger A, Kostanecka T, Kinkelbur J, Cohrs S, Woerner W, Hajak G. Sleep and Tourette syndrome. *Adv Neurol* 2001; 85: 245-59

Sandor P. Pharmacological management of tics in patients with TS. *J Psychosom Res* 2003; 55: 41-48

Sasaki T, Matsushita M, Nanko S, Fukuda R, Kennedy JL, Tokunaga K. Schizophrenia and the HLA-DRB1 gene in the Japanese population. *Am J Psychiatry* 1999; 156: 771-73

Satoh A, Miura T, Satoh K, Masamune A, Yamagiwa T, Sakai Y, Shibuya K, Takeda K, Kaku M, Shimosegawa T: Human leukocyte antigen-DR expression on peripheral monocytes as a predictive marker of sepsis during acute pancreatitis. *Pancreas*

2002;25:245–250.

Schmitt AB, Brook GA, Buss A, Nacimiento W, Noth J, Kreutzberg GW. Dynamics of microglial activation in the spinal cord after cerebral infarction are revealed by expression of MHC class II antigen. *Neuropathol Appl Neurobiol* 1998; 24: 167-76

Schumann RR, Leong SR, Flaggs GW, Gray PW, Wright SD, Mathison JC, Tobias PS, Ulevitch RJ. Structure and function of lipopolysaccharide binding protein. *Science* 1990; 249: 1429-31

Schütt C. und Bröker B. *Grundwissen Immunologie*; 1. Auflage München: Elsevier GmbH Spektrum Akademischer Verlag, 2006

Servello D, Porta M, Sassi M, Brambilla A, Robertson MM. Deep brain stimulation in 18 patients with severe Gilles de la Tourette syndrome refractory to treatment: the surgery and stimulation. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2008; 79: 136-42

Singer HS. Neurobiology of Tourette syndrome. *Neurol Clin* 1997; 15: 357-79

Singer HS , Minzer K. Neurobiology of Tourette's syndrome: concepts of neuroanatomic localization and neurochemical abnormalities. *Brain Dev* 2003; 25 Suppl 1: S70-S84

Singer HS, Gause C, Morris C, Lopez P. Serial immune markers do not correlate with clinical exacerbations in pediatric autoimmune neuropsychiatric disorders associated with streptococcal infections. *Pediatrics* 2008; 121: 1198-205

Snider LA, Lougee L, Slattery M, Grant P, Swedo SE. Antibiotic prophylaxis with azithromycin or penicillin for childhood-onset neuropsychiatric disorders. *Biol Psychiatry* 2005; 57: 788-92

Stamenkovic M, Schindler SD, Asenbaum S, Neumeister A, Willeit M, Willinger U, de ZM, Riederer F, Aschauer HN, Kasper S. No change in striatal dopamine re-uptake site density in psychotropic drug naive and in currently treated Tourette's disorder patients: a [(123)I]-beta-CIT SPECT-study. *Eur Neuropsychopharmacol* 2001; 11: 69-74

Stern JS, Burza S, Robertson MM. Gilles de la Tourette's syndrome and its impact in the UK. *Postgrad Med J* 2005; 81: 12-19

Strassnig M, Riedel M, Muller N. Electroconvulsive therapy in a patient with Tourette's syndrome and co-morbid Obsessive Compulsive Disorder. *World J Biol Psychiatry* 2004; 5: 164-66

Sugino H, Futamura T, Mitsumoto Y, Maeda K, Marunaka Y. Atypical antipsychotics suppress production of proinflammatory cytokines and up-regulate interleukin-10 in lipopolysaccharide-treated mice. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2009; 33: 303-7

Swedo SE, Leonard HL, Garvey M, Mittleman B, Allen AJ, Perlmutter S, Lougee L, Dow S, Zamkoff J, Dubbert BK. Pediatric autoimmune neuropsychiatric disorders associated with streptococcal infections: clinical description of the first 50 cases. *Am J Psychiatry* 1998; 155: 264-71

Swerdlow NR , Sutherland AN. Using animal models to develop therapeutics for Tourette Syndrome. *Pharmacol Ther* 2005; 108: 281-93

Tahara K, Kim HD, Jin JJ, Maxwell JA, Li L, Fukuchi K (2006) Role of toll-like receptor signalling in Abeta uptake and clearance. *Brain* 129:3006-3019.

Taylor JR, Morshed SA, Parveen S, Mercadante MT, Scahill L, Peterson BS, King RA, Leckman JF, Lombroso PJ. An animal model of Tourette's syndrome. *Am J Psychiatry* 2002; 159: 657-60

Temel Y , Visser-Vandewalle V. Surgery in Tourette syndrome. *Mov Disord* 2004; 19: 3-14

Trepel M. *Neuroanatomie: Struktur und Funktion*, 2 ed. München; Jena: Urban und Fischer, 1999.

Van den Eynde EF, Naudts KH, De SS, van HC, Audenaert K. Olanzapine in Gilles de la Tourette syndrome: beyond tics. *Acta Neurol Belg* 2005; 105: 206-11

Visser-Vandewalle V, Ackermans L, van der LC, Temel Y, Tijssen MA, Schruers KR, Nederveen P, Kleijer M, Boon P, Weber W, Cath D. Deep brain stimulation in Gilles de la Tourette's syndrome. *Neurosurgery* 2006; 58: E590

Visser-Vandewalle V. DBS in tourette syndrome: rationale, current status and future prospects. *Acta Neurochir Suppl* 2007; 97: 215-22

Vollmar A. und Dingermann T. Immunologie: Grundlagen und Wirkstoff; Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 2005

Weeks RA, Turjanski N, Brooks DJ. Tourette's syndrome: a disorder of cingulate and orbitofrontal function? *QJM* 1996; 89: 401-8

Winter C, Djodari-Irani A, Sohr R, Morgenstern R, Feldon J, Juckel G, Meyer U. Prenatal immune activation leads to multiple changes in basal neurotransmitter levels in the adult brain: implications for brain disorders of neurodevelopmental origin such as schizophrenia. *Int J Neuropsychopharmacol* 2009; 12: 513-24

Wright SD, Ramos RA, Tobias PS, Ulevitch RJ, Mathison JC. CD14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein. *Science* 1990; 249: 1431-33

Yasui H, Takai K, Yoshida R, Hayaishi O. Interferon enhances tryptophan metabolism by inducing pulmonary indoleamine 2,3-dioxygenase: its possible occurrence in cancer patients. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1986; 83: 6622-26

## 7 Anhang

### Medikamente

#### Medikamentendaten I Medikation: Häufigkeiten

	Tourette-Patienten [%] N=33	gesunde Kontrollen [%] N=31
NL	72,7	0
FNL	78,8	0
APM	42,4	0
ANPM	30,3	16,1

NL=aktuelle Einnahme von Neuroleptika; FNL=früher eingenommene Neuroleptika; APM=aktuell psychiatrische Medikation außer Neuroleptika; ANPM=aktuell nicht psychiatrische Medikation

#### Medikamentendaten II Neuroleptika

		Tourette-Patienten [N]	gesunde Kontrollen [N]
NL	Solian	1	0
	Aripripazol	11	0
	Risperidon	2	0
	Tiapridex	7	0
	Pimozid	1	0
	Quetiapin	2	0
	Clozapin	1	0
FNL		26	0

NL=aktuelle Einnahme von Neuroleptika; FNL=früher eingenommene Neuroleptika

#### Medikamentendaten III aktuell psychiatrische Medikation außer Neuroleptika

		Tourette-Patienten [N]	gesunde Kontrollen [N]
Antidepressiva	Sertralin	1	0
	Fluoxetin	1	0
	Escitalopram	1	0
	Citalopram	3	0
	Amitryptilinoxid	1	0
	Moclobemid	0	0
	Mirtazapin	1	0
	Trimipramin	1	0
	L-Tryptophan	0	0
Antiepileptika	Valproat	2	0
Benzodiazepine	Lorazepam	2	0
	Diazepam	1	0
Hypnotika/Sedativa	Zopiclon	1	0
zentrale Sympathomimetika	Methylphenidat	2	0
Mood Stabilizer	Lithium	1	0
Antiparkinson	L-Dopa +Benserazid	1	0

Medikamentendaten IV *aktuelle nicht-psychiatrische Medikation*

	Tourette-Patienten [N]	gesunde Kontrollen [N]
Pille	1	1
beta-Blocker	1	1
Theophyllin	1	0
Kreatinmonohydrat	1	0
L-Thyroxin	1	4
Antibiotika	1	1
Vitaminpräparat	1	0
Marcumar	1	0
beta2-Sympathomimetikum	1	0
Simvastatin	1	0
Clonidin	1	0
ACE-I + HCT	1	0
Tilidin + Naloxon	1	0
AT1-Antagonist + HCT	0	1
Paracetamol	0	1
Fenistil [Tbl.]	0	0
Cefaklivan	0	0

## Somatische Erkrankungen

		Tourette-Pat. [N]	gesunde Kontrolle [N]
<b>Autoimmunerkrankung</b>	Psoriasis	0	1
<b>Z.n. Tumorleiden</b>	Wilms-Tumor	0	1
	Uterusmyom	0	0
<b>kardiale Erkrankung</b>	Hypertonie	1	2
	Vorhofflimmern	1	0
	Z.n. Herzklappen-OP	0	0
<b>Schilddrüsenerkrankung</b>		1	4
<b>Schlafapnoe</b>		2	0
<b>Gicht</b>		1	0
<b>Glaukom</b>		0	0
<b>Z.n. Pankreatitis</b>		0	0
<b>Z.n. Pneumothorax</b>		0	0
<b>Asthma</b>		1	1
<b>Neurodermitis</b>		1	0
<b>Allergie</b>		12	11

## Familienanamnese

Folgende Tabelle stellt eine Auflistung positiver Familienanamnesen für psychiatrische Erkrankungen bei den Studienteilnehmern dar.

	Tourette-Pat. [N]	gesunde Kontrollen [N]
<b>Tourette-Syndrom</b>	4	0
<b>Schizophrenie</b>	1	0
<b>Depression</b>	4	2
<b>Zwänge</b>	6	0
<b>Tics</b>	7	0
<b>Autismus</b>	1	0
<b>andere psychiatrische Erkrankungen</b>	4	0



## Mittelwerte der signifikanten Ergebnisse

		Studienkollektiv		
		33 Tourette Syndrom Pati- enten	31 Gesunde	Insgesamt
AK4.A4.HLA-DR	Mittelwert	64,208	61,323	62,810
	Standardabweichung	54,300	54,914	54,182
AK4.A6.HLA-DR	Mittelwert	184,849	216,224	200,046
	Standardabweichung	216,822	246,678	230,445
AK4.A8.HLA-DR	Mittelwert	138,461	176,540	156,905
	Standardabweichung	110,918	199,705	160,026
AK4.Vgl A8zuA4.HLA-DR	Mittelwert	1,312	1,726	1,5124
	Standardabweichung	,690	,825	,781
AK1.A4.TNF alpha	Mittelwert	61,605	64,091	62,809
	Standardabweichung	25,915	27,939	26,728
AK1.A6.TNF alpha	Mittelwert	85,428	101,638	93,280
	Standardabweichung	37,829	41,641	40,240
AK1.A8.TNF alpha	Mittelwert	58,053	73,255	65,417
	Standardabweichung	24,824	34,547	30,659
AK1.Vgl A6zuA4.TNF alpha	Mittelwert	,470	,737	,599
	Standardabweichung	,683	,789	,742
AK1.Vgl A8zuA4.TNF alpha	Mittelwert	-,032	,260	,109
	Standardabweichung	,278	,713	,550
AK3.A4.TLR 4	Mittelwert	20,335	26,797	23,465
	Standardabweichung	13,915	28,414	22,213
AK3.A6.TLR 4	Mittelwert	53,893	73,738	63,506
	Standardabweichung	36,625	55,712	47,532
AK3.A8.TLR 4	Mittelwert	54,861	74,063	64,162
	Standardabweichung	29,664	56,092	45,153

Monozyten	Mittelwert	7,910	7,060	7,500
	Standardabweichung	2,227	1,526	1,952
CRP	Mittelwert	,444	,187	,319
	Standardabweichung	,817	,244	,620

## Mittelwerte der signifikanten Ergebnisse bei den Untergruppen

### Zusammenfassung von Fällen

		Gruppe T1 und Gesunde		
		22 Tourette Syndrom Pati- enten, Gruppe T1	31 Gesunde	Insgesamt
AK4.A4.HLA-DR	Mittelwert	69,302	61,323	64,635
	Standardabweichung	60,598	54,914	56,907
AK4.A6.HLA-DR	Mittelwert	190,680	216,224	205,621
	Standardabweichung	248,180	246,678	245,238
AK4.A8.HLA-DR	Mittelwert	128,171	176,540	156,462
	Standardabweichung	83,773	199,705	162,548
AK4.Vgl A8zuA4.HLA-DR	Mittelwert	1,125	1,726	1,477
	Standardabweichung	,652	,8245	,808
AK1.A4.TNF alpha	Mittelwert	65,238	64,091	64,567
	Standardabweichung	24,212	27,939	26,218
AK1.A6.TNF alpha	Mittelwert	76,795	101,638	91,326
	Standardabweichung	33,916	41,641	40,220
AK1.A8.TNF alpha	Mittelwert	56,130	73,255	66,147
	Standardabweichung	24,970	34,547	31,827
AK1.Vgl A6zuA4.TNF alpha	Mittelwert	,188	,737	,509
	Standardabweichung	,427	,789	,712
AK1.Vgl A8zuA4.TNF alpha	Mittelwert	-,140	,260	,094
	Standardabweichung	,211	,713	,592
AK3.A4.TLR 4	Mittelwert	21,998	26,797	24,805
	Standardabweichung	16,665	28,414	24,159
AK3.A6.TLR 4	Mittelwert	54,358	73,738	65,694
	Standardabweichung	43,357	55,712	51,408
AK3.A8.TLR 4	Mittelwert	54,392	74,063	65,898

	Standardabweichung	33,560	56,092	48,640
Monozyten	Mittelwert	8,180	7,060	7,530
	Standardabweichung	2,218	1,526	1,908
CRP	Mittelwert	,450	,187	,296
	Standardabweichung	,786	,244	,549

## Mittelwerte HLA-DR

		Studienkollektiv		
		33 Tourette Syndrom Pati- enten	31 Gesunde	Insgesamt
AK4.A4.HLA-DR	Mittelwert	64,208	61,323	62,810
	Standardabweichung	54,300	54,914	54,182
AK4.A6.HLA-DR	Mittelwert	184,849	216,224	200,046
	Standardabweichung	216,822	246,678	230,445
AK4.A8.HLA-DR	Mittelwert	138,461	176,540	156,905
	Standardabweichung	110,918	199,705	160,026
AK4.Vgl A8zuA4.HLA-DR	Mittelwert	1,312	1,726	1,5124
	Standardabweichung	,690	,825	,781

## Mittelwerte HLA-DR Untergruppen

		Gruppe T1 und Gesunde		
		22 Tourette Syndrom Pati- enten, Gruppe T1	31 Gesunde	Insgesamt
AK4.A4.HLA-DR	Mittelwert	69,302	61,323	64,635
	Standardabweichung	60,598	54,914	56,907
AK4.A6.HLA-DR	Mittelwert	190,680	216,224	205,621
	Standardabweichung	248,180	246,678	245,238
AK4.A8.HLA-DR	Mittelwert	128,171	176,540	156,462
	Standardabweichung	83,773	199,705	162,548
AK4.Vgl A8zuA4.HLA-DR	Mittelwert	1,125	1,726	1,477
	Standardabweichung	,652	,8245	,808

## Mittelwerte TNF- $\alpha$

		Studienkollektiv		
		33 Tourette Syndrom Pati- enten	31 Gesunde	Insgesamt
AK1.A4.TNF alpha	Mittelwert	61,605	64,091	62,809
	Standardabweichung	25,915	27,939	26,728
AK1.A6.TNF alpha	Mittelwert	85,428	101,638	93,280
	Standardabweichung	37,829	41,641	40,240
AK1.A8.TNF alpha	Mittelwert	58,053	73,255	65,417
	Standardabweichung	24,824	34,547	30,659
AK1.Vgl A6zuA4.TNF alpha	Mittelwert	,470	,737	,599
	Standardabweichung	,683	,789	,742
AK1.Vgl A8zuA4.TNF alpha	Mittelwert	-,032	,260	,109
	Standardabweichung	,278	,713	,550

## Mittelwerte TNF- $\alpha$ Untergruppen

		Gruppe T1 und Gesunde		
		22 Tourette Syndrom Pati- enten, Gruppe T1	31 Gesunde	Insgesamt
AK1.A4.TNF alpha	Mittelwert	65,238	64,091	64,567
	Standardabweichung	24,212	27,939	26,218
AK1.A6.TNF alpha	Mittelwert	76,795	101,638	91,326
	Standardabweichung	33,916	41,641	40,220
AK1.A8.TNF alpha	Mittelwert	56,130	73,255	66,147
	Standardabweichung	24,970	34,547	31,827
AK1.Vgl A6zuA4.TNF alpha	Mittelwert	,188	,737	,509
	Standardabweichung	,427	,789	,712
AK1.Vgl A8zuA4.TNF alpha	Mittelwert	-,140	,260	,094
	Standardabweichung	,211	,713	,592

## Mittelwerte TLR-4

		Studienkollektiv		
		33 Tourette Syndrom Pati- enten	31 Gesunde	Insgesamt
AK3.A4.TLR 4	Mittelwert	20,335	26,797	23,465
	Standardabweichung	13,915	28,414	22,213
AK3.A6.TLR 4	Mittelwert	53,893	73,738	63,506
	Standardabweichung	36,625	55,712	47,532
AK3.A8.TLR 4	Mittelwert	54,861	74,063	64,162
	Standardabweichung	29,664	56,092	45,153

## Mittelwerte TLR-4 Untergruppen

		Gruppe T1 und Gesunde		
		22 Tourette Syndrom Pati- enten, Gruppe T1	31 Gesunde	Insgesamt
AK3.A4.TLR 4	Mittelwert	21,998	26,797	24,805
	Standardabweichung	16,665	28,414	24,159
AK3.A6.TLR 4	Mittelwert	54,358	73,738	65,694
	Standardabweichung	43,357	55,712	51,408
AK3.A8.TLR 4	Mittelwert	54,392	74,063	65,898
	Standardabweichung	33,560	56,092	48,640

## Mittelwerte CRP und Monozyten

		Studienkollektiv		
		33 Tourette Syndrom Pati- enten	31 Gesunde	Insgesamt
Monozyten	Mittelwert	7,910	7,060	7,500
	Standardabweichung	2,227	1,526	1,952
CRP	Mittelwert	,444	,187	,319
	Standardabweichung	,817	,244	,620



## Mittelwerte CRP und Monozyten Untergruppen

		Gruppe T1 und Gesunde		
		22 Tourette Syndrom Pati- enten, Gruppe T1	31 Gesunde	Insgesamt
Monozyten	Mittelwert	8,180	7,060	7,530
	Standardabweichung	2,218	1,526	1,908
CRP	Mittelwert	,450	,187	,296
	Standardabweichung	,786	,244	,549

## 8 Danksagung

Besonderen Dank möchte ich meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. Dipl.-Psych. Norbert Müller aussprechen, der mich während der Durchführung dieser Arbeit hervorragend und stets engagiert betreut und gefördert hat.

Ich möchte mich ganz herzlich bei Frau Dr. med. Judith Matz und Frau Dr. med. Daniela Krause bedanken, die mir während meiner Laborzeit zur Seite standen und immer ein offenes Ohr für Diskussionsfragen hatten.

Besonderer Dank gilt allen Labormitarbeiterinnen der verschiedenen Labors in der Psychiatrischen Klinik und der Medizinischen Poliklinik der LMU München, die kontinuierlich große Unterstützung leisteten.

Ganz herzlich möchte ich mich auch bei meiner Mit-Doktorandin Frau Elif Weidinger für die immer nette und produktive Zusammenarbeit bedanken.

Zuletzt bedanke ich mich ganz herzlich bei meinem Vater Prof. a.D. Dr. Peter Wildenauer und bei meiner Mutter Beate Wildenauer, die mich immer hartnäckig motivierten und mich während meines Studiums sehr unterstützten. Außerdem danke ich meinem Freund Sebastian Sper für seine Unterstützung und seine Beratung. Auch meiner ganzen Familie und allen Freunden herzlichen Dank für die stetige Begleitung und Motivation.