

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

Direktor: Prof. Dr. H.-J. Möller

Tourette-Syndrom:
Immunologische Untersuchungen
von Monozyten und Zytokinen

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

Vorgelegt von

Judith Nürnberger

aus München

2008

Mit Genehmigung der Ludwig-Maximilians-Universität München

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

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. Günter Stalla
Priv. Doz. Dr. med. Rudolf Rupec
Priv. Doz. Dr. med. Stefan Lorenzl

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

Dekan: Prof. Dr. med. Dietrich Reinhardt

Tag der mündlichen Prüfung: 05.06.2008

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	3
1.1	ALLGEMEINE EINFÜHRUNG	3
1.2	PSYCHONEUROENDOKRINO – IMMUNOLOGIE.....	3
1.3	TOURETTE-SYNDROM.....	5
1.3.1	<i>Geschichte des Tourette-Syndroms</i>	5
1.3.2	<i>Heutige Klassifikation des Tourette-Syndroms</i>	6
1.3.3	<i>Tics</i>	8
1.3.4	<i>Komorbiditäten</i>	10
1.3.5	<i>Differentialdiagnosen</i>	10
1.3.6	<i>Epidemiologie</i>	11
1.3.7	<i>Therapiemöglichkeiten</i>	11
1.3.8	<i>Ätiologie</i>	13
1.4	IMMUNOLOGIE.....	20
1.4.1	<i>Angeborenes und erworbenes Immunsystem</i>	20
1.4.2	<i>Monozyten</i>	22
1.4.3	<i>Tumor-Nekrose-Faktor-alpha (TNF-α)</i>	24
1.4.4	<i>Interleukin-6 (IL-6)</i>	24
1.4.5	<i>Interleukin-1-Rezeptor-Antagonist (IL1-ra)</i>	25
1.4.6	<i>Löslicher TNF-Rezeptor 1 (sTNF-R1)</i>	25
1.4.7	<i>Lösliches CD14 (sCD14)</i>	25
1.4.8	<i>Neopterin</i>	26
1.4.9	<i>C-reaktives Protein (CRP)</i>	26
1.5	ZIELSETZUNG	27
2	Material und Methoden.....	28
2.1	UNTERSUCHUNGSKOLLEKTIV	28
2.2	BEURTEILUNGSMETHODEN DER PSYCHOPATHOLOGIE	29
2.2.1	<i>Tourette`s Syndrome Global Scale</i>	29
2.2.2	<i>Clinical Global Impression</i>	29
2.2.3	<i>Maudsley Obsessive Compulsive Inventory</i>	30
2.3	BLUTPROBEN	30
2.4	DIFFERENTIALBLUTBILD UND KLINISCHE CHEMIE	31
2.5	BESTIMMUNG VON MONOZYTENSUBPOPULATIONEN	32
2.5.1	<i>Prinzip der Durchflusszytometrie</i>	32
2.5.2	<i>Antikörper, Labormaterialien und Geräte</i>	34
2.5.3	<i>Probenverarbeitung</i>	36
2.5.4	<i>Messung der Proben, Darstellung und Auswertung der Messwerte</i>	38
2.6	BESTIMMUNG VON TNF-ALPHA UND IL-6.....	44
2.6.1	<i>Prinzip</i>	44
2.6.2	<i>Labormaterialien und Geräte</i>	44
2.6.3	<i>Probenverarbeitung</i>	45
2.6.4	<i>Messung und Auswertung der Proben</i>	46
2.7	BESTIMMUNG VON SCD14, NEOPTERIN, IL1-RA, sTNF-R1	46
2.7.1	<i>Prinzip des Sandwich ELISA`s</i>	46
2.7.2	<i>Labormaterialien und Geräte</i>	47
2.7.3	<i>Probenverarbeitung</i>	48

2.7.4	<i>Messung und Auswertung der Proben</i>	52
2.8	STATISTISCHE AUSWERTUNG	52
3	Ergebnisse	53
3.1	ANAMNESEDATEN	53
3.2	TSGS, CGI UND MOCI.....	56
3.3	KLINISCHE CHEMIE MIT CRP	57
3.4	LEUKOZYTENSUBPOPULATIONEN IM DIFFERENTIALBLUTBILD	58
3.5	MONOZYTENSUBPOPULATIONEN	59
3.6	TNF-ALPHA UND IL-6	64
3.7	sTNF-R1	67
3.8	NEOPTERIN	68
3.9	IL1-RA.....	71
3.10	sCD14.....	75
3.11	ZUSAMMENFASSUNG DER WICHTIGSTEN ERGEBNISSE	78
4	Diskussion	85
4.1	DISKUSSION DER METHODIK	85
4.2	DISKUSSION DER ERGEBNISSE	87
5	Zusammenfassung	96
6	Literaturverzeichnis	97
7	Abkürzungsverzeichnis	106
8	Anhang	108

1 Einleitung

1.1 Allgemeine Einführung

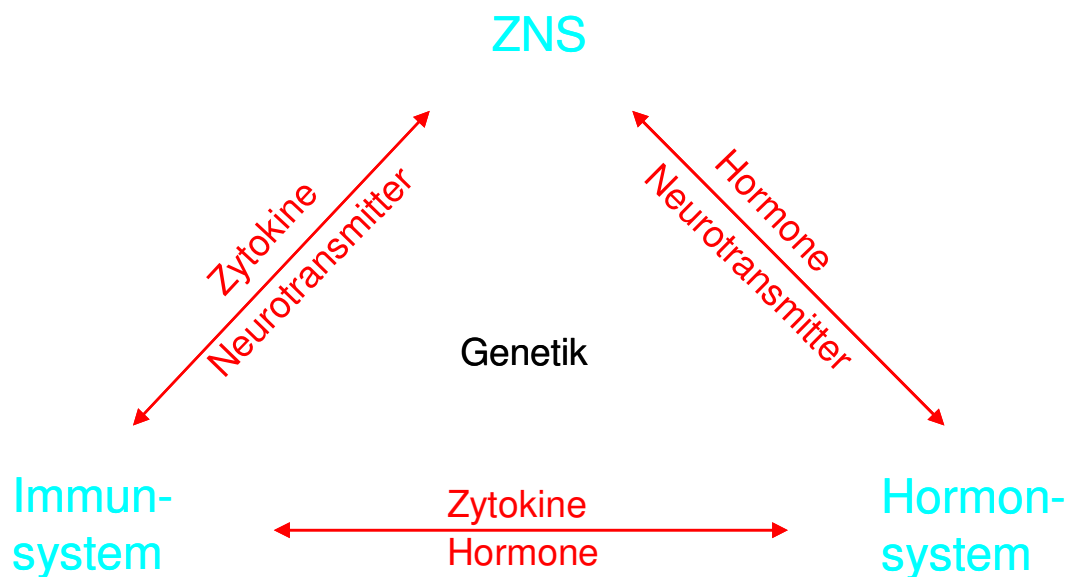
Das Tourette-Syndrom ist eine neuropsychiatrische Erkrankung, die durch multiple motorische Tics und mindestens einen vokalen Tic im Krankheitsverlauf gekennzeichnet ist. Die Symptome beginnen meist im Vorschulalter und führen für die Betroffenen zu einer extremen Stigmatisierung. Häufig assoziierte Erkrankungen sind Zwänge, das Aufmerksamkeitsdefizit-Hyperaktivitäts-Syndrom (ADHS) oder Depressionen. Die Ätiologie des Tourette-Syndroms ist bisher nicht geklärt. Ein Zusammenspiel von genetischen und Umweltfaktoren wird vermutet. Es gibt viele Hinweise, dass Infektionen oder postinflammatorische Mechanismen als auslösendes Agens zumindest bei einer Untergruppe von Tourette-Patienten eine wichtige Rolle spielen. In der nachfolgenden Arbeit soll vor diesem Hintergrund im Kontext der Psychoneuroimmunologie bei Tourette-Patienten im Vergleich zu Gesunden insbesondere das angeborene Immunsystem, das zur ersten Abwehr von Pathogenen dient, untersucht werden.

1.2 Psychoneuroendokrino – Immunologie

Die Psychoneuroendokrino-Immunologie ist ein interdisziplinäres junges 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. Untersuchungen zeigten, dass Neurotransmitter auf das Immunsystem und Botenstoffe des Immunsystems auf das Nervensystem wirken. Es handelt sich um eine bidirektionale Kommunikation über afferente und efferente Nervenbahnen und über humorale Faktoren wie Hormone, Neuropeptide, Neurotransmitter und Zytokine. Man weiß mittlerweile, dass die verschiedenen Systeme jeweils Faktoren der anderen Systeme herstellen können, d.h. z.B. dass Immunzellen auch Hormone und Neurotransmitter produzieren oder endokrine Zellen und

Neurone Zytokine ausschütten können. Die bidirektionalen Wechselwirkungen ermöglichen Erklärungen über Zusammenhänge zwischen psychischen und körperlichen Prozessen (Abbildung 1). Beispiele sind mögliche Einflüsse akuter oder chronischer Infektionen auf die Entwicklung von psychischen Störungen, Zusammenhänge zwischen Stress und psychischen Erkrankungen oder Befunde von Besserungen oder auch Verschlechterungen verschiedener psychischer Erkrankungen durch Immuntherapien.

Abbildung 1
Bildliche Darstellung der Interaktionen der „Supersysteme“,
in Anlehnung an (Straub 2006)



1.3 Tourette-Syndrom

1.3.1 Geschichte des Tourette-Syndroms

Namensgeber des Tourette-Syndroms war der Franzose Georges Albert Edouard Brutus Gilles de la Tourette (1857–1904), ein Schüler des Neurologen Jean Martin Charcot (1825-1893) am Krankenhaus Salpêtrière in Paris. 1885 veröffentlichte Gilles de la Tourette in der Zeitschrift „Archive de Neurologie“ einen zweiteiligen Artikel mit neun Fallbeschreibungen mit dem Originaltitel „Etude sur une affection nerveuse caractérisée par l'incoordination motrice accompagnée d'écholalie et de coprolalie“ (frei übersetzt: Studie über eine Erkrankung des Nervensystems, die durch motorische Dekoordination in Kombination mit Echolalie und Kopro-lalie charakterisiert ist) (Gilles de la Tourette 1885). Neben sechs Eigenbeobachtungen von Erkrankungsfällen übernahm er drei Aufzeichnungen anderer Mediziner, unter anderem auch von Jaques Itard (1774-1838), einem französischen Arzt und Psychologen, der 1825 schon eine Beschreibung dieser Erkrankung dokumentiert hatte. Es handelte sich um den Fallbericht über die französische Adelige Marquise de Dampierre, die seit ihrem siebten Lebensjahr zunächst unter Kontraktionen der Gesichts-, Hand-, Arm-, Hals- und Schultermuskulatur, später auch an Körperverdrehungen, außerordentlichen Grimassen, bizarrem Schreien und dem Aussprechen von obszönen Wörtern litt (Itard 1825). Gilles de la Tourette bezeichnete die Erkrankung als „Maladie de Tics“. Er ging über das Beschreiben hinaus und begann genauer zu beobachten. Er stellte fest, dass mehr Männer als Frauen betroffen und dass viele Patienten überdurchschnittlich intelligent waren. Er hielt außerdem fest, dass Kopro-lalie und Echolalie nicht bei allen seinen Patienten zu beobachten waren. Es gelang ihm, das Syndrom von der Epilepsie abzugrenzen, mit der die Erkrankung damals oft verwechselt wurde (Hartung 1995). Bereits Gilles de la Tourette beschrieb eine familiäre Häufung von Tic-Störungen.

Nach dem Tod Gilles de la Tourettes gab es verschiedene Erklärungsversuche der Erkrankung. Die unterschiedlichen Betrachtungsweisen lassen sich in ca. sieben Perioden einteilen, die jeweils durch verschiedene Theorien und daraus resultierenden Behandlungsversuchen charakterisiert sind:

1. 1825-1900: Vererbungstheorie
 2. 1900-1921: Frühes psychologisches Theoretisieren
 3. 1921-1955: Psychoanalyse
 4. 1954-1965: Epidemiologische Studien
 5. seit 1961: Beginn der erfolgreichen Behandlung mit Haloperidol
 6. seit 1961: Parallel experimentalpsychologische Vorgehensweisen
- seit 1975: Biologisch-datenorientierte Phase (Rothenberger 1991)

Das Tourette-Syndrom ist heutzutage immer noch wenig bekannt. Aufgrund der Symptomatik kommt es oft zu einer massiven Stigmatisierung, was den Leidensdruck der Betroffenen erhöht. Deshalb ist es umso wichtiger, die Ursachen des Tourette-Syndroms weiter zu erforschen, vor allem auch um Grundlagen für neue Behandlungsansätze zu gewinnen.

1.3.2 Heutige Klassifikation des Tourette-Syndroms

Das Tourette-Syndrom ist nach heutiger Klassifikation eine neuropsychiatrische Erkrankung, die durch das Auftreten multipler motorischer und mindestens eines vokalen Tics gekennzeichnet ist. Vokale und motorische Tics müssen jedoch nicht gleichzeitig auftreten oder aufgetreten sein. Tics treten mehrmals täglich auf, über einen Zeitraum von mindestens einem Jahr, wobei es keine Tic-freie Periode von mehr als drei aufeinander folgenden Monaten gibt. Der Beginn der Erkrankung liegt in der Kindheit oder in der Adoleszenz. Im deutschen Sprachraum gilt die Klassifikation nach ICD-10-, im angloamerikanischen Sprachraum nach DSM-IV-Kriterien. Vom Tourette-Syndrom abzugrenzen sind die vorübergehende Ticstörung (ICD-10: F95.0), meist im Alter von vier bis fünf Jahren, bei der Tics nicht länger als zwölf Monate anhalten und die chronische motorische oder vokale Ticstörung (ICD-10: F95.1), bei der entweder motorische oder vokale Tics auftreten, die länger als ein Jahr andauern. Als Restkategorie existiert eine nicht näher bezeichnete Ticstörung (ICD-10: F95.9) für Fälle, die den anderen Subkategorien nicht zugeordnet werden können. Kurz zusammengefasst müssen nach ICD10- bzw. DSM-IV-Klassifikation jeweils folgende Kriterien erfüllt sein (Tabelle 1):

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

ICD-10-Klassifikation	DSM-IV-Klassifikation
<ul style="list-style-type: none"> • multiple motorische und ein oder mehrere vokale Tics, nicht notwendigerweise gleichzeitig • Tics bestehen länger als ein Jahr • Beginn der Erkrankung in Kindheit oder Adoleszenz • Erkrankung persistiert üblicherweise bis ins Erwachsenenalter <p>(Dilling et al. 2004)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • multiple motorische Tics und mindestens ein vokaler Tic, jedoch nicht unbedingt gleichzeitig • Tics treten mehrmals täglich auf, gleichzeitig oder zu verschiedenen Zeiten, über einen Zeitraum von mindestens einem Jahr, keine Tic-freie Periode von mehr als drei aufeinanderfolgenden Monaten • Die Erkrankung führt zu starker innerer Anspannung oder verursacht Beeinträchtigungen in wichtigen Funktionsbereichen • Erkrankungsbeginn vor dem 18. Lebensjahr • Die Störung ist nicht organisch oder medikamentös-toxisch bedingt <p>(APA 2000)</p>

1.3.3 Tics

Tics sind paroxysmal auftretende, schnelle, nicht-rhythmische, stereotype, unwillkürliche Muskelkontraktionen, die alle Regionen des Körpers betreffen können. Es werden einfach motorische, komplex motorische, einfach vokale und komplex vokale Tics unterschieden. Tabelle 2 zeigt einen Überblick über häufig vorkommende einfache und komplexe Tics bei Patienten mit Tourette-Syndrom (Alsobrook und Pauls 2002; Müller et al. 1995). Komplexe motorische Tics haben häufig einen langsameren Ablauf und können wie Zwangshandlungen anmuten. Koprologie, d.h. das Aussprechen von Wörtern obszönen Charakters, tritt bei weniger als 10 % der Tourette-Patienten auf (APA 2000; Stern et al. 2005). Tics können meist nicht oder nur für kurze Zeit willkürlich unterdrückt werden. Viele Patienten verspüren vor dem Auftreten der Tics eine Art körperliche Anspannung, die nach dem Tic häufig als vermindert angegeben wird. Im Laufe der Erkrankung zeigen sich zu verschiedenen Zeiten Unterschiede in der Art und Lokalisation der motorischen Tics, in der Art der vokalen Tics, in der Kombination, der Frequenz, der Komplexität und im Schweregrad der Tics. Durch Entspannung, Konzentration oder Aktivität werden Tics häufig vermindert, durch Stress verstärkt. Im Schlaf treten Tics normalerweise nicht auf (APA 2000).

Tabelle 2

Beispiele für einfache und komplexe motorische und vokale Tics bei Tourette-Syndrom

MOTORISCHE TICS	VOKALE TICS
<p><u>einfach motorisch</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Blinzeln • Lippen lecken • Schulterzucken • Kopfdrehen • Mundöffnen • Grimassieren • Zunge herausstrecken • Arm- oder Handzucken • Beinbewegungen 	<p><u>einfach vokal</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Grunzen • Schnüffeln • Hüsteln • Räuspern • Schniefen • Spucken • Schreien • Summen • Laute
<p><u>komplex motorisch</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • komplexe Bewegungsabfolgen • Beriechen von Gegenständen oder Personen • Berühren von Gegenständen, Personen oder sich selbst (Touching) • Springen, Stampfen • Selbstverletzungen • Nachahmen von Bewegungen (Echopraxie) 	<p><u>komplex vokal</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Echolalie (Nachsprechen von Gesagtem fremden Ursprungs) • Palilalie (Wiederholen von Wörtern oder Phrasen eigenen Ursprungs) • Kopro-lalie (Aussprechen von Wörtern unanständigen, obszönen Charakters) • Imitation von Geräuschen

1.3.4 Komorbiditäten

Freeman et al. erstellten eine internationale multizentrische Datenbank, in der sie bei 3500 Tourette-Patienten in 22 verschiedenen Ländern assoziierte Störungen des Tourette-Syndroms erfassten. Nur 11 – 12 % der untersuchten Tourette-Patienten wiesen bei dieser Untersuchung keine assoziierten psychiatrischen Störungen auf (Freeman et al. 2000). Am häufigsten assoziierte Störungen waren Zwangsstörungen (30 - 65 %), ADHS (50 - 75 %), affektive Störungen (20 - 23 %), das Restless-Legs-Syndrom (59 %), Angststörungen (19 %) und Störungen der Impulsivität (10 - 37 %) (Riederer et al. 2002). Zwangshandlungen weisen häufig eine phänomenologische Ähnlichkeit zu komplexen motorischen Tics auf. Es gibt Diskussionen, Zwangsstörungen im Rahmen eines Tourette-Syndroms nicht als Komorbidität zu sehen, sondern als integralen Teil des symptomatischen Spektrums der Grunderkrankung (Robertson 1989). Die Abgrenzung ist schwierig. Müller et al. beschreiben für das Tourette-Syndrom typische Zwänge, wie z.B. Berührungszwänge. Bei reinen Zwangsstörungen stehen oft Zwangsgedanken im Vordergrund (Müller et al. 1995).

1.3.5 Differentialdiagnosen

Differentialdiagnostisch sind von Tic-Störungen (siehe Kapitel 1.1.2) und dem Tourette-Syndrom andere Bewegungsstörungen wie Dystonien abzugrenzen (Blepharospasmus, oromandibuläre Dystonie, Meige-Syndrom). Dystonien treten kontinuierlich auf und sind meist langsamer als Tics. Abzugrenzen ist auch der Spasmus hemifacialis, der nur einseitig auftritt und ausschließlich vom N. facialis innervierte Muskeln betrifft. Es resultieren hochsynchron, tonische und klonische Zuckungen der mimischen Muskeln. Bei der Chorea minor, auch Chorea Sydenham genannt, können Tic-ähnliche Bewegungen auftreten. Diese sind allerdings kontinuierlich und choreiform. Auch die Chorea Huntington und die Choreoakanthozytose (Saiki et al. 2004) können zu Beginn dem Tourette-Syndrom ähneln. Zu unterscheiden sind auch sekundär durch Antipsychotika induzierte Dyskinesien oder Tic-ähnliche Bewegungen durch organisch bedingte Gehirnschäden (Infektionen, Toxine, Trauma, Raumforderung). Außerdem können Tic-ähnliche Störungen bei autistischen Krankheitsbildern (z.B. Asperger-Syndrom), genetischen Erkrankungen (z.B. Down-Syndrom, Klinefelter-Syndrom),

neurodegenerativen Erkrankungen oder Stoffwechselerkrankungen (z.B. M. Wilson) auftreten (Jankovic 2001).

1.3.6 Epidemiologie

Zur Prävalenz des Tourette-Syndroms gibt es unterschiedliche Aussagen, was auf verschiedenen Studiendesigns, Einschlusskriterien und Studienpopulationen beruht. Die Amerikanische Psychiatrische Gesellschaft schätzt die Prävalenz des Tourette-Syndroms auf 4-5/10000, d.h. 0,04 - 0,05 % (APA 2000). Stern et al beschreiben in ihrer Übersichtsarbeit, dass in mehreren Studien, insbesondere in zwei großen epidemiologischen Studien an Schulen in Schweden und Italien (Hornse et al. 2001; Lanzi et al. 2004) gezeigt wurde, dass die Prävalenz des Tourette-Syndroms bei Schulkindern weit höher, nämlich zwischen 0,6 % und 1 % geschätzt werden kann. Bei Erwachsenen liegt die Prävalenz nach Leckman zwischen 0,3 und 0,5 % (Stern et al. 2005). Das Tourette-Syndrom kommt in allen Völkern und sozialen Schichten vor. Das männliche Geschlecht ist in etwa vier Mal häufiger betroffen als das weibliche (Bruun und Budman 1997; Freeman et al. 2000).

1.3.7 Therapiemöglichkeiten

Da die Ätiologie des Tourette-Syndroms bis jetzt noch nicht geklärt ist, gibt es bisher keine ursächliche Behandlung der Erkrankung. Eine medikamentöse Therapie sollte erfolgen, wenn die Tics stark ausgeprägt sind, wenn Komplikationen wie z.B. Selbstverletzungen drohen bzw. je nach subjektiver Belastung des Patienten. Eine komplette Remission der Symptomatik wird nur selten erreicht. Als Therapieoption der ersten Wahl gelten Dopaminantagonisten. Bevorzugt eingesetzte Substanzen sind Tiaprid oder die Antipsychotika Pimozid und Sulpirid. Das atypische Antipsychotikum Risperidon zeigte in verschiedenen Studien eine positive Wirkung auf Tics (Robertson und Stern 2000). Auch von Olanzapin (Van den et al. 2005) und Aripiprazol (Dehning et al. 2005), dem eine dopaminanta- und agonistische Wirkung zugeschrieben wird, werden in Fallberichten positive Effekte vermerkt. In einigen Studien werden Behandlungserfolge von Clonidin, einem zentral wirksamen Alpha-2-Rezeptor-Agonisten beschrieben (Robertson und Stern 2000; Sandor 2003). Kleinere Untersuchungen zeigten, dass sich Botulinumtoxin als positiv in der Behandlung von umschriebenen Tics vor allem im Gesichts- und Kopfbereich erweisen kann (Sandor 2003). In kleineren Studien führte die Behandlung mit Delta-9-

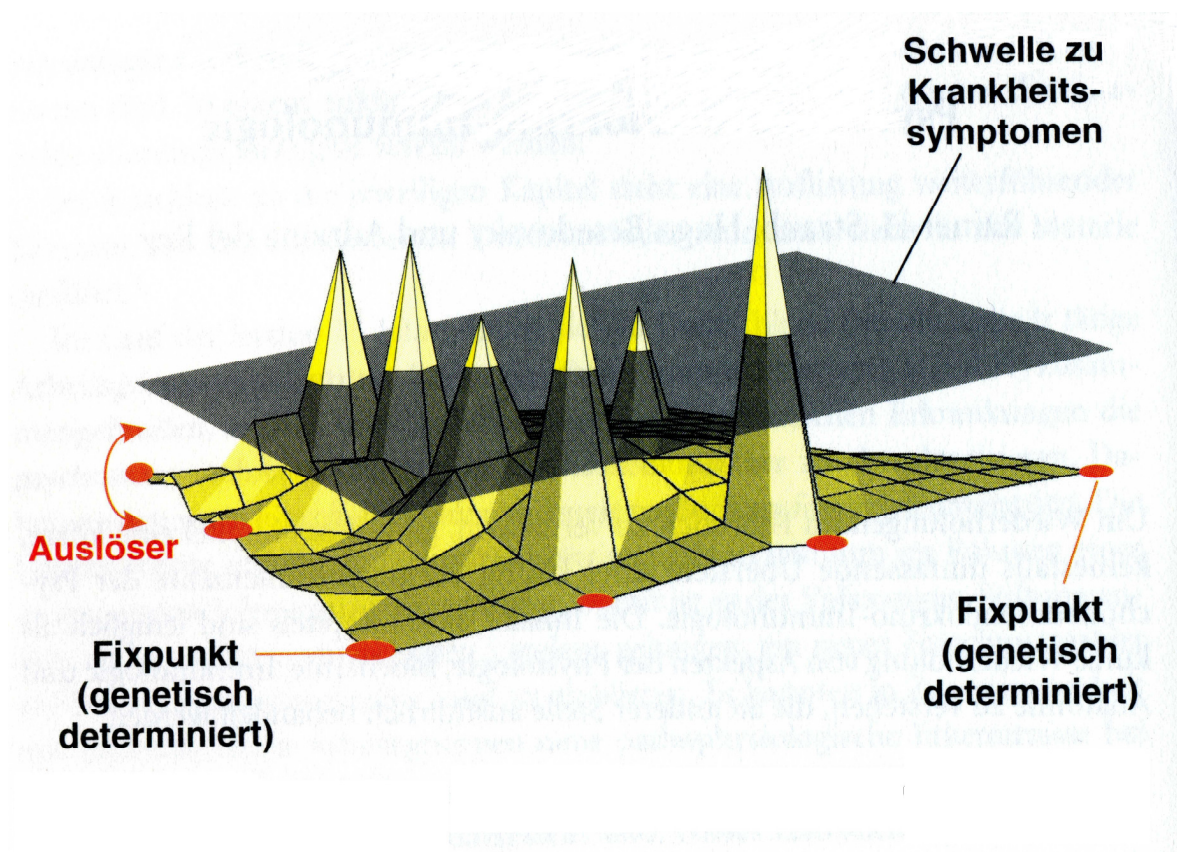
Tetrahydrocannabinol (THC) zu einer signifikanten Abnahme von motorischen und vokalen Tics (Müller-Vahl 2003; Müller-Vahl et al. 2003). Basierend auf der Vermutung, Infektionen und postinflammatorische Reaktionen könnten in die Entstehung und Unterhaltung des Tourette-Syndroms involviert sein, gibt es erfolgreiche Therapieversuche mit Antibiotika (Snider et al. 2005), Immunglobulinen (Müller et al. 1997), Plasmapherese (Perlmutter et al. 1999) sowie mit Cyclooxygenase-2-Hemmern (Müller 2004). Bei Therapieresistenz existieren Fallberichte mit positiven Behandlungserfolgen durch Elektrokrampftherapie (Strassnig et al. 2004) oder repetitive niederfrequente transkranielle Magnetstimulation über dem supplementär-motorischen Kortex (Mantovani et al. 2006) bei Tourette-Syndrom. Es liegen Einzelberichte von neurochirurgischen Eingriffen bei Tourette-Patienten vor. Dabei wurden eng umschriebene Läsionen in Frontallappen, limbischem System, Thalamus, Cingulum und Kleinhirn gesetzt. Teilweise wurden deutliche Symptomverbesserungen beschrieben, allerdings auch schwere, zum Teil bleibende unerwünschte Effekte (Temel und Visser-Vandewalle 2004). 1999 wurde erstmals von Erfolgen in der Behandlung des Tourette-Syndroms durch tiefe Hirnstimulation berichtet, die unerwünschten Effekte sind allerdings auch hier nicht zu unterschätzen (Visser-Vandewalle et al. 2004). In letzter Zeit wurden weitere durchaus positive Erfahrungen an verschiedenen Stimulationsorten gesammelt. Interessante Stimulationsorte sind der Thalamus (Servello et al. 2007), der Globus pallidus internus sowie der Nucleus accumbens (Visser-Vandewalle 2007). Weitere nichtmedikamentöse Behandlungsverfahren, wie z.B. autogenes Training, progressive Muskelrelaxation, Verhaltenstherapie oder begleitende Psychotherapie können zusätzlich hilfreich sein, es gibt hierzu allerdings wenig evaluierte Daten (Singer 2005). Um eine ursächliche Behandlung durchführen zu können, ist die weitere Ursachenforschung unerlässlich.

1.3.8 Ätiologie

Die Ätiologie des Tourette-Syndroms ist noch nicht geklärt. Studien mit bildgebenden Verfahren und die erfolgreiche Behandlung mit Antipsychotika weisen auf eine Störung des dopaminergen Systems in den Basalganglien hin. Die eigentliche Ursache ist jedoch noch nicht erforscht. Eine multifaktorielle Genese erscheint wahrscheinlich, wobei eine genetische Prädisposition und Umweltfaktoren, wie z.B. Infektionen oder postinflammatorische Reaktionen eine Rolle spielen könnten (Abbildung 2).

Abbildung 2

Bildliche Darstellung des Zusammenspiels von genetischer Prädisposition und auslösenden Faktoren, die in Kombination zu Krankheitssymptomen führen (Straub 2006)



Genetik

Der genetische Ansatz, der schon von Gilles de la Tourette selbst postuliert wurde, bezieht sich zunächst darauf, dass in Familien gehäuft das Auftreten des Tourette-Syndroms beobachtet wurde. In Zwillingsstudien beschrieben Hyde et al. Konkordanzraten von 89 – 94 % (Hyde et al. 1992), Price et al. Konkordanzraten von 53 % bei monozygoten und 8 % bei dizygoten Zwillingen. Bei 77 % der monozygoten und 23 % der dizygoten Zwillinge traten Ticstörungen auf (Price et al. 1985). Weiterhin wird beschrieben, dass bei Kindern, deren Eltern beide an Tourette-Syndrom erkrankt sind, in 25 – 41 % eine Tourette-Erkrankung besteht (Hanna et al. 1999; Lichter et al. 1999). Es gelang bisher jedoch nicht, einen Hauptgenlocus zu ermitteln. Allerdings gibt es zahlreiche Studien, die unterschiedliche auffällige Genloci beschreiben (Pauls 2003). In Koppelungsanalysen erwiesen sich Kandidatengene wie z.B. das 5-HT_{1A}-Rezeptor-Gen (Brett et al. 1995a), das Dopamintransportergen (Gelernter et al. 1995) sowie sämtliche Dopamin-Rezeptoren-Gene (Brett et al. 1995b; Gelernter et al. 1993) als nicht auffällig. Ein multifaktorieller polygenetischer Vererbungsmodus muss in Betracht gezogen und weiter untersucht werden. Die Schwierigkeit der Identifikation eines Genlocus legt nahe, dass neben der genetischen Komponente Umweltfaktoren eine Rolle bei der Pathogenese spielen.

Gehirnstrukturen

Basalganglien und kortiko-striato-thalamo-kortikale Regulationssysteme scheinen wie bei anderen Erkrankungen mit Beteiligung des Bewegungsapparates (z.B. bei Chorea Huntington, Chorea Sydenham und Parkinson) auch in der Pathophysiologie des Tourette-Syndroms eine wichtige Rolle einzunehmen. Die Basalganglien setzen sich zusammen aus Striatum (Nucleus caudatus und Putamen), Globus pallidus und funktionell dem Nucleus subthalamicus und der Substantia nigra. Das Striatum gilt als zentrale Schaltstelle motorischer Impulse und seine Hauptaufgabe besteht in der inhibitorischen Beeinflussung dieser Impulse. Afferenzen erhält das Striatum vor allem aus dem Kortex (besonders intensiv aus dem motorischen, sensorischen und präfrontalen Assoziationskortex) über den Transmitter Glutamat, aus der Substantia nigra über den Transmitter Dopamin und aus dem Thalamus. Seine Efferenzen sendet das Striatum vor allem zu Pallidum und Substantia nigra und wirkt über den Transmitter GABA

hemmend. Bewegungsimpulse können so normalerweise ganz oder partiell unterdrückt werden (Singer und Minzer 2003; Trepel 1999). In mehreren groß angelegten Studien wurden mit Magnetresonanztomografie (MRT) - Messungen Volumenunterschiede zwischen Tourette-Patienten und Gesunden in den Basalganglien und in anderen kortikalen Regionen festgestellt. In einer Studie konnte ein reduziertes Nucleus caudatus-Volumen sowohl bei Erwachsenen als auch bei Kindern mit Tourette-Syndrom gezeigt werden (Peterson et al. 2001; Peterson et al. 2003). Bei einer Studie mit monozygoten Zwillingen wurden kleinere Nucleus caudatus-Volumina bei den schwerer betroffenen Zwillingsgeschwistern gefunden (Hyde et al. 1995), was auf eine zusätzliche nicht-genetische Entstehung der Strukturveränderungen hinweisen könnte (Hoekstra et al. 2004). Auch Untersuchungen mit funktionellen bildgebenden Verfahren wie Positronenemissionstomografie (PET) und Singlephotonenemissionstomographie (SPECT) wiesen auf eine Beteiligung der Basalganglien hin. In mehreren Studien wurde von einem reduzierten Glucosstoffwechsel im Striatum und von vermindertem Blutfluss in Globus pallidus und Putamen oder den gesamten Basalganglien berichtet. Eine vermehrte Stoffwechselaktivität zeigte sich in einer Untersuchung mit funktioneller MRT in sensomotorischen Gebieten und dem supplementärmotorischen Areal (Bohlhalter et al. 2006). Es ergaben sich auch Hinweise auf eine mögliche Beteiligung des Gyrus cinguli bei der Entstehung von Tics (Peterson et al. 1996; Weeks et al. 1996). Schwer zu beurteilen ist, ob Struktur- oder Aktivitätsveränderungen Ursache oder Folge der Erkrankung sind. Longitudinal angelegte Studien sollten hier angestrebt werden (Gerard und Peterson 2003; Hoekstra et al. 2004; Riederer et al. 2002). Interessanterweise zeigten sich in MRT-Untersuchungen bei 100 Kindern mit Tourette-Syndrom, ADHS und Zwangssymptomen häufiger subkortikale Hyperintensitäten als in der Kontrollgruppe. Insbesondere Thalamus und Basalganglien waren betroffen (Amat et al. 2006). Auf diesen Befund wird später im Kontext der Überlegungen zur immunologischen bzw. infektiologischen Pathogenese eingegangen.

Neurotransmittersysteme

Aufgrund der Wirksamkeit bestimmter Medikamentenwirkstoffe, der Ergebnisse von Post mortem-Studien sowie PET- und SPECT-Untersuchungen bei Tourette-Patienten, wird die Beteiligung verschiedener Neurotransmitter-Systeme bei Tourette-Syndrom postuliert. Der Schwerpunkt liegt hierbei auf Neurotransmitter-Systemen, die am kortiko-striato-thalamo-kortikalen System beteiligt sind, wie das dopaminerge, serotonerge, glutamerge, GABAerge, cholinerge, noradrenerge und opioide System. Aufgrund der häufig beschriebenen Wirksamkeit von Dopaminrezeptorantagonisten in der Behandlung des Tourette-Syndroms spielt die Hypothese einer Beteiligung des dopaminergen Systems eine große Rolle in der Tourette-Forschung. Auch die in bildgebenden Verfahren gefundenen Hinweise auf eine Beteiligung der Basalganglien würden diese Hypothese stützen, da im Striatum und in der Substantia nigra Dopamin als wichtiger Botenstoff fungiert. In einer Vielzahl von Studien wurden in PET- und SPECT-Untersuchungen die striatale Dopaminrezeptordichte und die Dichte der präsynaptischen Dopaminrezeptoren untersucht. In manchen Studien wurde über eine erhöhte präsynaptische Dopaminrezeptordichte berichtet, in vielen Studien konnten aber auch keine Auffälligkeiten im Vergleich zu gesunden Kontrollen gefunden werden. Die anderen Neurotransmittersysteme betreffend existieren weniger Studien mit teilweise inhomogenen Ergebnissen. Es gibt allerdings Hinweise auf eine Beteiligung des serotonergen, noradrenergen, glutaminergen, GABAergen und cholinergen Systems (Jankovic 2001; Riederer et al. 2002; Singer und Minzer 2003). Möglich ist, dass mehrere Transmittersysteme durch komplexe Interaktionen an der Pathogenese des Tourette-Syndroms beteiligt sind. Es gibt auch Hinweise auf eine Involvierung des Second Messenger Systems cAMP (Singer et al. 1995; Singer und Minzer 2003).

Neurophysiologie

In elektrophysiologischen Studien wurden elektroencephalographische (EEG), elektromyographische (EMG) und somnographische Untersuchungen sowie evozierte Potentiale (ERP = event related potentials) bei Tourette-Patienten durchgeführt. In den EEG-Untersuchungen ergaben sich keine deutlichen Auffälligkeiten. Untersuchungen des Schlafs bei Tourette-Patienten zeigten eine

veränderte Schlafqualität und Schlafstörungen vermehrt bei Tourette-Patienten. In einer ERP-Studie postuliertem O'Connor et al. eine veränderte Modulation von motorischen Aktivierungs- und Inhibitions-Systemen (Segawa 2003; Singer und Minzer 2003).

Immunologische Faktoren

Es scheint aufgrund der Ergebnisse von Zwillingsstudien nahe liegend, dass die Ätiologie des Tourette-Syndroms nicht ausschließlich genetisch bedingt ist. Als auslösende Umwelteinflüsse scheinen zumindest bei einer Untergruppe von Tourette-Patienten Infektionen und immunologische Mechanismen beteiligt zu sein. Es zeigten sich Zusammenhänge zwischen Tourette-Syndrom und Mykoplasmeninfektionen (Müller et al. 2000a; Müller et al. 2004), Lyme-Borreliose (Riedel et al. 1998), Streptokokkeninfektionen (siehe unten) und viralen Infektionen (Budman et al. 1997). Der Erkrankungsbeginn scheint häufig assoziiert mit Infektionen (Singer et al. 2000), bei Reinfektionen wurde eine Exazerbation der Symptome beschrieben (Greenberg et al. 1998). Neben der Bedeutung von akuten oder chronischen Infektionen steht der Mechanismus postinfektiöser Immunreaktionen und Autoimmunprozessen zur Diskussion. Auch bei anderen neuropsychiatrischen Erkrankungen mit Beteiligung des Bewegungsapparates spielen vorangegangene Infektionen eine Rolle. Das bekannteste Beispiel ist die Chorea Sydenham, bei der nach einer Infektion mit β -hämolisierenden Streptokokken der Gruppe A durch Autoantikörperbildung gegen Gehirnstrukturen Bewegungsstörungen entstehen können (Dale 2005). Bei Tourette-Patienten wurden ebenso erhöhte Antikörpertiter gegen Streptokokken-Antigene nachgewiesen. Müller et al. beschrieben erhöhte Antistreptolysin-O- und Anti-DNase-Titer bei Tourette-Patienten im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe (Müller et al. 2000b). In einer weiteren Untersuchung wurden im Vergleich zu Gesunden bei Tourette-Patienten erhöhte Antikörper gegen die mit dem zentralen Nervensystem kreuzreagierenden Streptokokkenproteine M12 und M19 (Müller et al. 2001) festgestellt. Seit einigen Jahren wird postuliert, dass das Tourette-Syndrom und Zwangserkrankungen im Kindesalter einem Syndrom namens PANDAS (Pediatric Autoimmune Neuropsychiatric Disorders Associated with Streptococcal Infection) zugehören (Church et al. 2003; Walker et al. 2005). Folgende Kriterien werden hierfür verlangt: Tics oder Zwangssymptome, Manifestationsalter in der Kindheit, phasenhafter Verlauf, Assoziation mit β -

hämolisierenden Streptokokken der Gruppe A, Assoziation mit neurologischen Symptomen, wie z.B. choreiformen Bewegungen oder motorischer Überaktivität (Swedo et al. 1998). Dieses Konzept wird kritisch diskutiert, da die Diagnose keinen Nachweis der Anti-Streptokokken-Titer fordert und der Zusammenhang mit anderen Erregern wie z.B. Mykoplasmen oder Borrelien außen vor gelassen wird (Müller 2007). Daneben gibt es Hinweise, dass im Sinne einer manifesten Autoimmunerkrankung bei Tourette-Patienten unspezifische Autoantikörper wie antinukleäre Antikörper und antineuronale Antikörper vermehrt nachweisbar sind (Martino und Giovannoni 2005; Singer et al. 1998; Wendlandt et al. 2001). Die Datenlage hierzu ist allerdings nicht einheitlich (Dale et al. 2006; Loisel et al. 2003; Singer et al. 2005).

In letzter Zeit wurde auch von Zytokinuntersuchungen bei Tourette- und Zwangspatienten berichtet. So zeigten Leckman et al. erhöhte Interleukin-12 (IL-12) und Tumor-Nekrose-Faktor-alpha (TNF- α) Konzentrationen bei jungen Tourette-Patienten (Leckman et al. 2005). Im Gegensatz dazu gibt es mehrere Berichte von erniedrigten TNF- α und Interleukin-1 (IL-1) Konzentrationen bei Zwangspatienten (Brambilla et al. 1997; Denys et al. 2004; Monteleone et al. 1998). Als weiterer Hinweis auf die Involvierung immunologischer Mechanismen gilt die Beobachtung der Wirksamkeit antiinflammatorischer und immunmodulatorischer Therapien, z.B. mit Cyclooxygenase-2-Hemmern (Müller 2004), Antibiotika (Snider et al. 2005), Plasmapherese und Immunglobulintherapie (Perlmutter et al. 1999), zumindest bei einer Untergruppe von Tourette-Patienten.

Tiermodelle

Zusammengefasst gibt es zwei verschiedene Tiermodell-Konstrukte. Das eine basiert auf einer immunologisch getriggerten Basalgangliendysfunktion, meist durch Verwendung eines oder mehrerer Pathogene. Das andere basiert auf einer kortiko-striatalen Dysfunktion, verursacht durch genetische oder epigenetische Ereignisse in der frühen Gehirnentwicklung (Swerdlow und Sutherland 2005). Hallett et al. und Taylor et al. berichteten, dass nach Infusion von Serum von Tourette-Patienten in striatale Regionen von Ratten bei den Tieren stereotype Bewegungen wie z.B. Zunge lecken oder Kopfschütteln (Taylor et al. 2002) und auch Vokalisationen ausgelöst werden konnten (Hallett et al. 2000). Loisel et al. konnten diese Ergebnisse nicht replizieren (Loisel et al. 2004). In einer Arbeit

von Hoffmann et al. wurde ein anderer Zugangsweg gewählt. Mäuse wurden mit β -hämolyzierenden Streptokokken der Gruppe A immunisiert. Die β -hämolyzierenden Streptokokken der Gruppe A schienen mit Gehirnstrukturen wie dem Cerebellum, Globus pallidus und Thalamus kreuz zu reagieren. Die immunisierten Mäuse zeigten eine Hyperaktivität, die mit IgG- Ablagerungen im Gehirn und IgG im Serum korreliert war. Daraus wurde geschlossen, dass Antikörper gegen β -hämolyzierende Streptokokken der Gruppe A mit Gehirnstrukturen kreuzreagieren (Hoffman et al. 2004).

1.4 Immunologie

Im Folgenden soll zunächst ein kurzer Überblick über das Immunsystem und immunologische Interaktionen gegeben werden. Insbesondere wird dabei auf das monozytäre System sowie assoziierte Zytokine, Rezeptoren, Rezeptor-Antagonisten und Aktivierungsmarker eingegangen.

1.4.1 Angeborenes und erworbenes Immunsystem

Der Mensch benötigt das Immunsystem zur Abwehr von Infektionen. Man unterscheidet eine angeborene und eine erworbene Immunität, die auf Zellebene von Leukozyten gewährleistet wird. Dabei beruht die angeborene Immunität vor allem auf Monozyten bzw. Makrophagen und Granulozyten (neutrophile, eosinophile, basophile), die erworbene (adaptive) Immunität vor allem auf Lymphozyten. Zellen der angeborenen Immunität sind in der Lage, durch Phagozytose Mikroorganismen aufzunehmen und zu vernichten, auch wenn diese dem Körper noch unbekannt sind. Über Rezeptoren können körperfremde von körpereigenen Bestandteilen unterschieden werden. Der Mensch ist ständig pathogenen Mikroorganismen ausgesetzt, die häufig über die Schleimhäute des Atmungs- und Verdauungstraktes oder Hautwunden in den Körper eindringen. Aufgrund der schnellen Beseitigung der Erreger durch das angeborene Immunsystem kommt es verhältnismäßig selten zum Ausbruch von Infektionen. Eine Infektionskrankheit entsteht dann, wenn diese erste Barriere von den Erregern umgangen werden kann und es zu einer Erregervermehrung im menschlichen Organismus kommt. Infektionen können lokal begrenzt verlaufen, es kann aber auch zu einer Ausbreitung im gesamten Organismus kommen. Bei einer zustande gekommenen Infektion werden durch Chemokine und Zytokine zum einen weitere Effektoren der angeborenen Immunität aktiviert, zum anderen wird die adaptive Immunantwort in Gang gesetzt. Sie richtet sich durch die lymphozytäre Produktion spezifischer Antikörper (IgG, IgM) gegen die Pathogene. Außerdem kommt es durch die Bildung von Gedächtniszellen zu einem Schutz gegen eine erneute Infektion mit demselben Erreger. Alle Zellen des Immunsystems haben ihren Ursprung im Knochenmark. Sie werden in einem gewissen Reifestadium ausgeschüttet und zirkulieren sowohl im Blut als auch im lymphatischen System. Zellen vor allem der angeborenen Immunität können in

infiziertes Gewebe eindringen um vor Ort Infektionen zu bekämpfen. Die verschiedenen Zellen des Immunsystems sind durch charakteristische Oberflächenmoleküle gekennzeichnet. CD bedeutet Differenzierungscluster (Cluster of Differentiation) und bezeichnet Zelloberflächenmoleküle. Die Oberflächenrezeptoren sind ebenso an der Immunregulation beteiligt. Wichtig ist der Major Histocompatibility Complex (MHC) auf antigenpräsentierenden Zellen. MHC I interagiert vor allem mit CD8 T-Zellen, MHC II mit CD4 T-Helferzellen. Auf T-Lymphozyten wird der T-Zellrezeptor exprimiert. Alle Oberflächenrezeptoren außerhalb des MHC-T-Zellrezeptor-Komplexes werden als costimulatorische Moleküle bezeichnet.

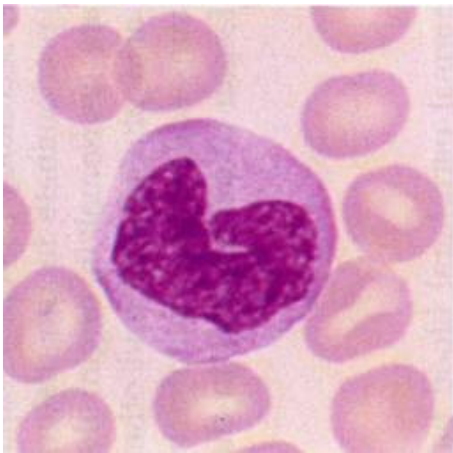
Neben dem zellulären Teil des Immunsystems existieren humorale Faktoren, die ebenso in der Erregerabwehr mitwirken. Das Komplementsystem zählt zur angeborenen Immunität und besteht aus verschiedenen Plasmaproteinen. Diese können nach lokaler Aktivierung verschiedene Entzündungsreaktionen auslösen. Sie erzeugen große Mengen von Komplementproteinen, erleichtern durch Bindung an Pathogene deren Aufnahme durch Phagozyten (Opsonierung), wirken als Chemoattraktoren für weitere Phagozyten und zerstören teilweise direkt bestimmte Bakterien. Von phagozytierenden Zellen (v. a. Makrophagen, neutrophile Granulozyten) ausgeschüttete entzündungsfördernde Chemokine locken weitere Zellen der Immunabwehr zum Infektionsort. Ausgeschüttete Zytokine bewirken z. B. die Produktion von Akute-Phase-Proteinen wie CRP und die Entstehung von Fieber. Außerdem aktivieren Zytokine antigenpräsentierende Zellen (T-Helfer-Zellen 1 und 2), welche wiederum die adaptive Immunantwort auslösen. T_H1-Zellen sezernieren Effektormoleküle (z.B. INF- γ , TNF- α , Lymphotoxin- α , GM-CSF, IL-12), die vor allem Monozyten und Makrophagen aktivieren, T_H2-Zellen produzieren Effektormoleküle (z.B. IL-4, IL-5, IL-10, IL13), die vor allem B-Lymphozyten aktivieren. Diese produzieren Immunglobuline, die eine sehr wichtige Rolle in der humoralen Abwehr einnehmen. IL-10 hemmt die Monozyten-Aktivierung (Janeway et al. 2001).

Das Immunsystem ist gekennzeichnet durch komplexe Interaktionen zwischen angeborenem und erworbenem Immunsystem. Außerdem spielen zelluläre und humorale Komponenten der beiden Systeme ineinander. Die immunologische Forschung hat in den letzten Jahren viele neue Erkenntnisse gewinnen können, die Komplexität vieler Mechanismen ist allerdings noch nicht offen gelegt.

1.4.2 Monozyten

Monozyten (Abbildung 3) sind Zellen der angeborenen Immunität. Sie stammen von der myeloiden Zellreihe ab und zirkulieren im Blut. Bei Einwanderung in Gewebe differenzieren sie zu Makrophagen. Makrophagen sind wichtige phagozytierende Zellen und tragen dazu bei, dass Erreger vor Beginn einer Infektion abgetötet werden.

Abbildung 3
Monozyt im Blutausstrich



Zellen des Immunsystems besitzen Rezeptoren und Oberflächenmoleküle, die es ihnen ermöglichen, auf fremdes Zellmaterial oder Signale von anderen Zellen zu reagieren. Klassische Monozyten sind gekennzeichnet durch CD45 (Panleukozytenmarker), CD14 und HLA-DR (HLA = Human Leucocyte Antigen). Der wichtigste Aktivator von Monozyten und Makrophagen ist Interferon- γ (INF- γ), das vor allem von T_H1-Zellen produziert wird. Durch INF- γ werden MHC I - und vor allem MHC II - Moleküle vermehrt exprimiert. Die TNF- α Sekretion wird angeregt und die Expression von CD40 und TNF-Rezeptoren wird hochreguliert. Außerdem wird die Produktion von Stickstoffmonoxid (NO) und Sauerstoffradikalen angeregt. Proinflammatorische Monozyten exprimieren zusätzlich CD16 und auch den FcGamma-Rezeptor 1 (CD64), der bei bakteriellen und viralen Infektionen auf Neutrophilen und Monozyten exprimiert zu scheinen scheint (Nuutila et al. 2007) (Tabelle 3).

Tabelle 3
In dieser Arbeit untersuchte Oberflächenmoleküle auf Monozyten

	Expression	Isotyp	Familie	Funktion
CD45	alle hämatopoetischen Zellen	LCA	Fibronectin Typ III	u.a. Tyrosinphosphatase, Signalverstärkung bei B- und T-Zellen
CD14	Myelomonozytäre Zellen	---	---	Rezeptor für LPS und LPB
CD16	Monozyten, Makrophagen, neutrophile Granulozyten, NK-Zellen	Fcy Rezeptor III	Immunglobulin	Komponente des Fc-Rezeptors, Vermittlung von Phagozytose und Zytotoxizität
CD64	Monozyten, Makrophagen	Fcy Rezeptor I	Immunglobulin	Hohe Affinität zu IgG, Vermittlung von Phagozytose, Antigen-Bindung

LCA = Leucocyte common antigen, LPS = Lipopolysaccharid, LPB = Lipopolysaccharid Binding Protein, IgG = Immunglobulin G

In aktivierter Form können Monozyten über komplizierte Mechanismen in infizierte Bereiche über Rezeptoren an Kapillarendothelien in das Gewebe einwandern, wo sie dann zu Makrophagen ausdifferenzieren und Phagozytose betreiben. Makrophagen erkennen über spezielle Rezeptoren bestimmte mikrobielle Oberflächenmuster bestehend aus Kohlenhydrat- und Lipidgruppen. Neben Mannoserezeptoren exprimieren sie auch Toll-Like-Rezeptoren (TLR). Diese spielen eine wichtige Rolle bei der Signalübertragung zur Abwehr von Entzündungen. Der TLR-4 erkennt vor allem gramnegative Bakterien über das periphere Membranprotein CD14, das einen Rezeptor für bakterielle Lipopolysaccharide darstellt. Der TLR-2 erkennt vor allem mikrobielle Proteoglykane. Über den aktivierten Signalweg kommt es zur Bildung von Chemokinen, costimulierenden Molekülen und Zytokinen, die autokrine, parakrine oder endokrine Wirkung haben können. Aktivierte Monozyten und Makrophagen sezernieren vermehrt TNF- α ; die CD14+CD16+ Monozyten scheinen die Hauptproduzenten von TNF- α zu sein (Belge et al. 2002; Dayyani et al. 2004). Das HLA-DR Antigen zählt zur Klasse der MHC II-Moleküle und wird von antigenpräsentierenden Zellen membranständig exprimiert. Letztlich schlägt sich die Wirkung der pro- und antiinflammatorischen Effektoren des Immunsystems

summativ in der HLA-DR Expression auf den Monozyten nieder. 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- α -Produktion bestimmt worden. Beim Erwachsenen im septischen Schock ist die HLA-DR-Rezeptordichte auf Monozyten ein Maß der Immunkompetenz. Ihre (fehlende) Expression ist ein Prädiktor der sepsisbedingten Mortalität (Sato et al. 2002).

1.4.3 Tumor-Nekrose-Faktor-alpha (TNF- α)

Die Hauptquelle für den Tumor-Nekrose-Faktor- α (TNF- α) sind Monozyten, Makrophagen und T_H1-Zellen. TNF- α wird als Trimer sezerniert. Es ist wichtig zur Eindämmung lokaler Entzündungsreaktionen. Bei systemischer Wirkung kann es allerdings im Rahmen einer Sepsis zu einer Schockreaktion mit disseminierter intravasaler Gerinnung führen. Neben Interleukin-1 und Interleukin-6 spielt es eine wichtige Rolle bei der Auslösung der Akute-Phase-Reaktion in der Leber. In Monozyten und Makrophagen induziert es die Bildung von NO. Es aktiviert außerdem mikrovaskuläre Endothelzellen (Janeway et al. 2001).

1.4.4 Interleukin-6 (IL-6)

Interleukin-6 (IL-6) ist ein Zytokin, das vor allem von Monozyten und Makrophagen aber auch von T-Zellen, Endothel und Epithel freigesetzt wird. Gewebehypoxie und Trauma verursachen eine massive Freisetzung von IL-6. Weniger gesichert ist die Indikation bei der Aktivitätsdiagnostik chronischer Entzündungsprozesse. Autoimmunerkrankungen, Lymphome, AIDS, alkoholbedingte Leberschäden und Organabstoßungen können auch zu erhöhten IL-6 Werten führen. Seine Hauptfunktion findet es in der Stimulation der Akute-Phase-Reaktion, die wiederum das angeborene Immunsystem aktiviert und gegen Gewebeschäden schützt (Heinrich et al. 1990). IL-6 ist außerdem wichtig für die frühe Phase der T-Zell-Differenzierung und für die Proliferation von B-Zellen zu Plasmazellen (Janeway et al. 2001). Dabei stimuliert es vor allem die Freisetzung von IgG und IgA. Es kann direkte Effekte auf Zellen ausüben, kann Effekte von anderen Zytokinen weitergeben, kann mit anderen Zytokinen zusammen wirken, insbesondere mit IL-1, und mit Glukokortikoiden reagieren (Tamm 1989). Das Ausschalten von IL-6 im Tierexperiment führt zu schweren Auswirkungen auf das

Immunsystem, insbesondere zu einer Abnahme der Akute-Phase-Reaktion und einer geringeren Produktion von IgA (Janeway et al. 2001).

1.4.5 Interleukin-1-Rezeptor-Antagonist (IL1-ra)

Der IL-1 Rezeptor-Antagonist (IL1-ra) ist ein im Körper vorkommender Antagonist von Interleukin-1 (IL-1). Er hemmt die Wirkung von IL-1 alpha und IL-1 beta kompetitiv, indem er an den IL-1-Rezeptor bindet und diesen blockiert. IL-1 alpha und IL-1 beta können somit nicht mehr andocken, eine Signalübertragung ins Zellinnere kann nicht mehr stattfinden. Der Rezeptor-Antagonist verhindert dadurch die proinflammatorische Wirkung von IL-1. IL-1 alpha, IL-1 beta und der IL1-ra bilden ein System. Eine Dysbalance scheint zur Entstehung von Erkrankungen, wie z.B. Arthritiden zu führen (Arend und Gabay 2000). IL-1 ist im nicht aktivierten Zustand im Serum häufig nicht nachweisbar. Die Menge von IL-1-ra ist höher und somit besser detektierbar. Zur Blockade von IL-1 ist eine zehnfach bis hundertfach höhere Konzentration von IL-1-ra notwendig (Dinarello 1991). IL-1-ra wird vor allem von Monozyten und Makrophagen aber auch von Neutrophilen, Keratinozyten und anderen Epithelzellen gebildet. Auch die Bildung in Hepatozyten konnte nachgewiesen werden (Gabay et al. 1997).

1.4.6 Löslicher TNF-Rezeptor 1 (sTNF-R1)

Der TNF-Rezeptor 1 (TNF-R1) ist auf allen Zellen des Körpers exprimiert. Er kann durch Aktivierung von Kaspasen Apoptose auslösen. Über einen anderen Signalweg kann er zur Aktivierung von Transkriptionsfaktoren wie NFkappaB führen. Durch Bindung von TNF- α und TNF- β an den TNF-R1 kann ein programmierter Zelltod eingeleitet werden (Janeway et al. 2001). Der lösliche TNF-R1 (sTNF-R1) hat eine antagonistische Wirkung zu TNF- α und kann proinflammatorische Effekte von TNF- α hemmen (Spoettl et al. 2007). Es gibt auch medikamentöse Behandlungsversuche mit löslichen TNF-Rezeptoren (z.B. Etanercept) um TNF- α zu inhibieren (Bozkurt et al. 2001).

1.4.7 Lösliches CD14 (sCD14)

Für lösliches CD14 (sCD14) existieren ein 53 kDa- und ein 48 kDa-sCD14-Molekül (Durieux et al. 1994; Labeta et al. 1993). Teilweise scheint es aus membranständigem CD14 (mCD14) zu entstehen, teilweise scheint es direkt sezerniert zu werden. sCD14 wird in Monozyten und in der Leber synthetisiert und über verschiedene Regionen des CD14-Gens geregelt (Pan et al. 2000). sCD14 in

höherer Konzentration neutralisiert Lipopolysaccharid (LPS) und wirkt antagonistisch zu LPS auf CD14 positiven Zellen. sCD14 scheint als Agonist eine wichtige Rolle bei der LPS-induzierten Aktivierung mCD14 negativer Zellen zu spielen. Bei Sepsis scheint sich sCD14 günstig auszuwirken, es kann eine Heilungstendenz anzeigen (Gluck et al. 2001).

1.4.8 Neopterin

Neopterin ist ein Signal-Botenstoff, der von Monozyten und Makrophagen gebildet wird und gilt als Indikator der Aktivierung der zellulären Abwehr. Erhöhte Neopterin Spiegel stehen im Zusammenhang mit Erkrankungen, bei denen die zelluläre Immunantwort beteiligt ist (Fuchs et al. 1988). Dazu gehören beispielsweise Infektionen (virale Infektionen, Infektionen mit intrazellulär lebenden Bakterien und Parasiten), Autoimmunerkrankungen, andere entzündliche Erkrankungen sowie Abstoßungsreaktionen nach Organtransplantationen und maligne Tumorerkrankungen (Fuchs et al. 1992). Wenn fremde oder veränderte eigene Zellstrukturen von T-Lymphozyten erkannt werden, so produzieren sie unter anderem $\text{INF-}\gamma$. Dieses stimuliert in Makrophagen die Produktion und Freisetzung von Neopterin (Huber et al. 1984). Die Neopterinbestimmung kann die Differentialdiagnose zwischen viralen und bakteriellen Infekten unterstützen. Im Gegensatz zu den stark erhöhten Neopterin-Spiegeln bei Patienten mit Virusinfektionen, werden bei akuten bakteriellen Infektionen üblicherweise normale oder nur leicht erhöhte Neopterinwerte gefunden. Protrahierte bakterielle Infektionen hingegen führen häufig zu erhöhten Neopterinwerten (Denz et al. 1990).

1.4.9 C-reaktives Protein (CRP)

CRP ist ein wichtiges Akute-Phase-Protein, dessen Bildung in den Leberzellen vor allem über IL-6 ausgelöst wird. Durch die Wirkung proinflammatorischer Substanzen (IL-1, IL-6 und $\text{TNF-}\alpha$) kommt es zu einer vermehrten Anheftung von Entzündungszellen an die Gefäßwandzellen, die über eine Aufnahme von cholesterinhaltigen Substanzen eine Plaque-Bildung initiieren. Das CRP komplexiert dabei an Zellmembranen und induziert die Expression von Adhäsionsmolekülen. Es ermöglicht die Rekrutierung von Monozyten und ist an der Cholesterinaufnahme durch Makrophagen beteiligt. CRP ist ein früher Marker, der schon in sehr geringen Konzentrationen gefunden werden kann. Es ist in der Lage, diskrete und lokale Entzündungen anzuzeigen (Janeway et al. 2001).

1.5 Zielsetzung

Zielsetzung dieser prospektiven Studie war es, in einem explorativen Ansatz Ursachen und Hinweise für eine entzündliche Entstehung oder Unterhaltung des Tourette-Syndroms auf der Ebene der angeborenen Immunität zu finden. Deshalb sollte an einem Untersuchungskollektiv von 46 Tourette-Patienten und 43 gesunden Kontrollen das monozytäre System durch Bestimmung verschiedener Parameter und Verwendung unterschiedlicher Messmethoden untersucht werden. Mit Hilfe von Antikörpern gegen die Oberflächenmoleküle CD14, CD16, CD64, HLA-DR und CD45 wurden durchflusszytometrisch Monozytensubpopulationen bestimmt. Ein besonderer Schwerpunkt sollte hierbei auf die aktivierten CD14+CD16+ und CD14+CD64+ Monozyten gelegt werden, sowie die mittlere HLA-DR-Expression auf Monozyten. Um das monozytäre System umfassender beurteilen zu können, wurden mittels LUMINEX bzw. ELISA die monozytären Zytokine TNF- α , IL-6 und der Rezeptor-Antagonist IL1-ra gemessen, sowie ergänzend der lösliche TNF-Rezeptor 1. Außerdem erfolgte die Messung von löslichem CD14. Als Entzündungsparameter dienten CRP und Neopterin. Epidemiologische Daten, der Schweregrad der Erkrankung und assoziierte Erkrankungen wurden durch Anamnese und klinische Ratingskalen wie TSGS, CGI und MOCI erfasst. Der Vergleich von Tourette-Patienten mit einer Kontrollgruppe mit ähnlicher Alters- und Geschlechterverteilung sollte eine möglichst realistische Einschätzung der immunologischen Parameter ermöglichen. Durch die Bestimmung von verschiedenen Bestandteilen des monozytären Systems sollten ein zusammenhängender Überblick und Hinweise auf mögliche Entzündungsvorgänge bei Tourette-Syndrom gegeben werden.

2 Material und Methoden

2.1 Untersuchungskollektiv

In die Untersuchung wurden von Mai 2003 bis Juli 2004 46 Tourette-Patienten und 43 gesunde Probanden eingeschlossen. Über den gesamten Zeitraum hinweg wurden abwechselnd sowohl Patienten als auch gesunde Kontrollen untersucht. Die Patienten waren entweder ambulant oder stationär in der Psychiatrischen Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität in Behandlung oder nahmen von extern an der Untersuchung teil. Die gesunden Probanden wurden unter Berücksichtigung der Geschlechts- und Altersverteilung durch Aushänge an der Ludwig-Maximilians-Universität und aus dem Familien- und Bekanntenkreis rekrutiert. Die Untersuchung wurde von der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät genehmigt. Patienten und gesunde Probanden wurden aufgeklärt und gaben ihr freiwilliges Einverständnis zur Teilnahme. Im Falle von Minderjährigen lag die Einwilligung mindestens eines Elternteils vor.

Einschlusskriterien waren für die Patienten das Vorliegen eines Tourette-Syndroms nach den Diagnosekriterien des DSM-IV oder des ICD-10 und die Einwilligungsfähigkeit. Ausschlusskriterien waren in der Tourette- und in der Kontroll-Gruppe das Vorliegen akuter Infektionen, schwerer körperlicher und neurologischer Erkrankungen, sowie die Einnahme von Antibiotika, Immunglobulinen oder sonstigen direkt auf das Immunsystem wirkenden Medikamenten. In der Tourette-Gruppe durften neben dem Tourette-Syndrom keine zusätzlichen psychischen Erkrankungen aufgetreten sein, die nicht mit dem Tourette-Syndrom in Zusammenhang standen. In der Kontrollgruppe durften keine Ticstörungen oder sonstige psychische Erkrankungen vorliegen.

Bei Tourette-Patienten und Gesunden erfolgte eine genaue Anamnese, insbesondere zur Abklärung von Vorerkrankungen wie z.B. Autoimmunerkrankungen, Infektionskrankheiten, Allergien und sonstigen organischen, neurologischen oder psychischen Erkrankungen. Aus der Vorgeschichte bekannte Erkrankungen sowohl der Patienten als auch der gesunden Kontrollen wurden dokumentiert, ebenso zusätzlich eingenommene Medikamente (siehe Anhang I).

Eine Sucht- und Familienanamnese wurde erhoben. Bei Tourette-Patienten wurde der Schweregrad der Erkrankung mittels der Tourette`s Syndrome Global Scale (siehe 3.2.1.) und mittels der Clinical Global Impression-Skala (siehe 3.2.2) erfasst. Das zusätzliche Vorliegen von Zwangssymptomen wurde mittels des Maudsley Obsessive Compulsive Inventory (siehe 3.2.3) erhoben. Akute Entzündungen wurden durch Anamnese und Laboruntersuchungen (Differentialblutbild, CRP) ausgeschlossen. Außerdem erfolgte die Bestimmung von Elektrolyten, Leber-, Nieren- und Schilddrüsenwerten zum Ausschluss organischer Erkrankungen.

2.2 Beurteilungsmethoden der Psychopathologie

2.2.1 Tourette`s Syndrome Global Scale

Die Tourette`s Syndrome Global Scale (TSGS) ist ein Test zur Beurteilung des Schweregrades des Tourette-Syndroms (Leckman et al. 1989). Es handelt sich um ein subjektives Testverfahren, bei dem der Untersucher im Interview den Patienten nach den Kategorien einfach motorische Tics (EM), komplex motorische Tics (KM), einfach phonetische Tics (EP), komplex phonetische Tics (KP), Verhalten (V), motorische Unruhe (MU), Schul- und Lernprobleme (S) bzw. berufliche Probleme (B) beurteilt. Für die Kategorien zur Beurteilung der Tics werden Punkte von 0 bis 5 verteilt, sowohl für die Frequenz der Tics, als auch für den Grad der Beeinträchtigung. Die beiden Einzelpunkte werden multipliziert und ergeben dann die Punktezahl für die jeweilige Tic - Kategorie. Für Verhalten, motorische Unruhe, Schul- und Lernprobleme bzw. berufliche Probleme werden jeweils 0 bis 25 Punkte vergeben. Nach der Formel $((EM + KM)/2) + ((EP + KP)/2) + ((V + MU + S \text{ oder } B) \times 2/3)$ wird der Gesamtwert berechnet. Der Maximalwert beträgt 100 Punkte. Der TSGS-Wert wurde bei allen Patienten standardisiert vom gleichen Untersucher erfasst. Ein Exemplar eines TSGS befindet sich im Anhang II.

2.2.2 Clinical Global Impression

CGI bedeutet Clinical Global Impression und ist eine Beurteilungsskala zur Erfassung des Schweregrads der Krankheit. Der Untersucher schätzt anhand einer Skala von 0 bis 7 vor dem Hintergrund seiner gesamten Erfahrung mit dem

betreffenden Krankheitsbild den jetzigen Grad der Erkrankung des Patienten. Folgende Gradeinteilungen sind im CGI enthalten:

0 = nicht beurteilbar

1 = Patient ist überhaupt nicht krank

2 = Patient ist ein Grenzfall psychiatrischer Erkrankung

3 = Patient ist nur leicht krank

4 = Patient ist mäßig krank

5 = Patient ist deutlich krank

6 = Patient ist schwer krank

7 = Patient gehört zu den extrem schwer Kranken

2.2.3 Maudsley Obsessive Compulsive Inventory

Das Maudsley Obsessive Compulsive Inventory (MOCI) ist ein Instrument, das zur Erfassung von Zwangssymptomen entwickelt wurde (Hodgson und Rachman 1977). Der Fragebogen beinhaltet 30 Fragen, die mit „richtig“ oder „falsch“ beantwortet werden müssen (siehe Anhang II).

2.3 Blutproben

Bei Patienten und gesunden Probanden erfolgte die Abnahme von 2,7 ml EDTA-Blut und von 7,5 ml Vollblut (Serum-Röhrchen). Das EDTA-Blut diente den durchflusszytometrischen Untersuchungen und wurde jeweils innerhalb von 24 Stunden nach der Blutentnahme verarbeitet. Bis zur Verarbeitung erfolgte eine Lagerung bei Raumtemperatur. Das Vollblut wurde nach zehnteilminütigem Stehenlassen innerhalb von 30 Minuten bei 3500 Umdrehungen und 4°C zehn Minuten lang zentrifugiert. Das überstehende Serum wurde abpipettiert und à 250µl pro Eppendorf-Cup bei -80°C für die zum späteren Zeitpunkt durchgeführten Zytokinbestimmungen und ELISAs eingefroren.

Außerdem wurden 2,7 ml EDTA-Blut und 7,5 ml Heparin-Blut zur Bestimmung des Differentialblutbildes und der klinischen Chemie (CRP, Leber- und Nierenwerte, Elektrolyte, TSH) abgenommen. Die Werte wurden in der Abteilung für klinische Chemie der Psychiatrischen Klinik München bestimmt. Die Blutentnahmezeiten waren in beiden Gruppen gleich über den Tag verteilt, wenn möglich wurde das

Blut am Vormittag abgenommen. Es konnten nicht für alle Studienteilnehmer alle Parameter bestimmt werden, da von manchen Probanden nicht ausreichend viel Serum zur Verfügung stand. Die jeweilige Gruppenstärke ist bei der Darstellung der Ergebnisse vermerkt.

2.4 Differentialblutbild und klinische Chemie

Das Differentialblutbild wurde in der Abteilung für klinische Chemie der Psychiatrischen Klinik der LMU bestimmt. Als Gerät wurde hierfür ein Coulter STKS verwendet, das eine automatische Bestimmung des Differentialblutbildes ermöglicht. Die Messung der klinischen Chemie inklusive CRP erfolgte ebenso in der Abteilung für klinische Chemie der Psychiatrischen Klinik der LMU mit dem Gerät Roche Hitachi 912. Die zugrunde gelegten Referenzwerte sind in der folgenden Tabelle (Tabelle 4) dargestellt.

Tabelle 4
Referenzwerte für Parameter der klinischen Chemie

	Referenzbereich	Einheit
GOT	10-35	U/l
GPT	10-35	U/l
γGT	< 39	U/l
Kreatinin	0,51-0,95	mg/dl
Harnstoff	10-50	mg/dl
TSH basal	0,230-3,800	μU/ml
CRP	< 0,5	mg/dl
Leukozyten absolut (abs.)	4,30-10,00	/nl
Lymphozyten abs.	1,20-3,40	/nl
Monozyten abs.	0,20-1,40	/nl
Neutrophile abs.	1,40-6,50	/nl
Eosinophile abs.	< 0,700	/nl
Basophile abs.	< 0,400	/nl

2.5 Bestimmung von Monozytensubpopulationen

2.5.1 Prinzip der Durchflusszytometrie

Bei der Durchflusszytometrie handelt es sich um ein Verfahren, welches das Zählen und die Analyse von physikalischen und molekularen Eigenschaften von Zellen in einem Flüssigkeitsstrom ermöglicht. Eines der gebräuchlichsten Anwendungsgebiete der Durchflusszytometrie ist die quantitative Bestimmung von zellulären Oberflächenmolekülen oder intrazellulären Molekülen auf der Ebene der einzelnen Zellen. Grundlage dafür ist die Verbindung der Zellen mit fluoreszenzmarkierten Antikörpern, die sich durch die Antigen-Antikörper-Reaktion an die Zellen mit der entsprechenden Oberflächenstruktur binden. Zur Analyse erfolgt im Durchflusszytometer eine Anregung der Fluoreszenzfarbstoffe mit einem monochromatischen Laserstrahl. Bei der Rückkehr auf das Ursprungsenergieniveau kann die freiwerdende Energie mit einem Photodetektor registriert werden. Da sich die freiwerdende Energie proportional zur Menge der an die Zellen gebundenen Antikörper verhält, ist eine Aussage über die Expression von Oberflächenmolekülen auf den einzelnen Zellen möglich.

In unseren Untersuchungen erfolgte die Verwendung von speziell gegen Oberflächenantigene auf Monozyten gerichteten Antikörpern, mit dem Ziel, eine Differenzierung von Monozytensubpopulationen zu erreichen. Das in unseren Untersuchungen verwendete Durchflusszytometer verfügt über zwei Laser und ermöglicht die gleichzeitige Messung von vier verschiedenen Fluoreszenzen.

Fluoreszenz und Fluorochrome

Unter Fluoreszenz versteht man die Eigenschaft bestimmter Stoffe, nach Bestrahlung mit Licht, UV-, Röntgen- oder Elektronenstrahlung Energie zu absorbieren und als elektromagnetische Strahlung mit größerer Wellenlänge wieder abzugeben. Die Lichtabsorption führt zur Anhebung der Elektronen auf ein höheres Energieniveau, die Rückkehr auf das Ausgangsniveau zur Photonenemission. Definitionsgemäß klingt die Lichtemission innerhalb von 10^{-18} s wieder ab.

Fluorochrome sind Stoffe, die sich bei einer bestimmten Wellenlänge anregen lassen. Der Frequenzbereich, durch den eine fluoreszierende Verbindung angeregt werden kann, ist das für den Farbstoff charakteristische Anregungs- bzw. Exzitationsspektrum. Da bei der Rückkehr auf das Grundniveau ein Teil der

Energie in Form von Wärme verloren geht, ist das gebildete Licht, das Emissionsspektrum, energieärmer und damit langwelliger als das Anregungslicht. In dieser Arbeit wurden vier verschiedene Fluorochrome verwendet: Fluorescein (FITC), R-Phycoerythrin (PE), Peridin-Chlorophyll-a-Protein (PerCP) und Allophycocyanin (APC) (Tabelle 5).

Tabelle 5
Überblick über verwendete Fluorochrome, deren Exzitations- und Emissionsbereich und die Wellenlängen, bei denen sie angeregt werden.

Fluorochrom	Exzitationsbereich, Wellenlänge in nm	Emissionsbereich, Wellenlänge in nm	Lichtquelle
Fluorescein (FITC)	495	525	Argonlaser (488 nm)
R-Phycoerythrin (PE)	488, 565	578	Argonlaser (488 nm)
Peridin-Chlorophyll-a-Protein (PerCP)	470	680	Argonlaser (488 nm)
Allophycocyanin (APC)	650	660	HeNe-Laser (635 nm)

Durch die Mehrfarbenfluoreszenzanalyse eröffnen sich wichtige Anwendungsmöglichkeiten. Wählt man Fluoreszenzfarbstoffe, die sich in der Fluoreszenzfarbe unterscheiden, deren Fluoreszenz aber mit derselben Wellenlänge anregbar ist, wird nur eine Lichtquelle für diese benötigt. Diese Farbstoffe weisen einen unterschiedlichen Abstand zwischen Anregungs- und Emissionswellenlänge auf (Stokes'sches Shift). In dieser Arbeit erfolgte eine Vierfarben-Fluoreszenzanalyse mit zwei Lasern als Lichtquellen. Die Fluorochrome FITC, R-PE und PerCP wurden durch einen Argonlaser mit 488 nm angeregt, das Fluorochrom APC durch einen HeNe-Laser mit 635 nm.

2.5.2 Antikörper, Labormaterialien und Geräte

Antikörper

Zur Ermittlung von Monozytensubpopulationen wurden insgesamt fünf verschiedene fluoreszenzmarkierte Antikörper verwendet (Tabelle 6). Ihre Lagerung erfolgte lichtgeschützt im Kühlschrank bei 4 °C. In zwei Probenansätzen wurden jeweils vier Antikörper kombiniert. Antikörper gegen CD45 als Panleukozytenmarker, gegen CD14 als Monozytenmarker und gegen HLA-DR als Aktivierungsmarker wurden in beiden Ansätzen verwendet, in Kombination mit den Antikörpern gegen CD16 im Ansatz 1 und gegen CD64 im Ansatz 2 als zusätzliche Aktivierungsmarker. Die Konzentrationen für die verwendeten Antikörper wurden durch Titration ermittelt.

Tabelle 6
Übersicht über die in der Arbeit verwendeten Antikörper mit den jeweiligen Fluoreszenzfarbstoffen und Endkonzentrationen

Antikörper gegen	Fluoreszenzfarbstoff	Firma	Endkonzentration
CD14	FITC	BD Biosciences	1/50
CD16	PE	BD Biosciences	1/10
CD64	PE	Immunotech	1/100
HLA-DR	PerCP	BD Biosciences	1/20
CD45	APC	BD Biosciences	1/50

Sonstige Chemikalien, Verbrauchsmaterialien und Geräte

Einen Überblick über sonstige Chemikalien und Materialien gibt die folgende Tabelle 7:

Tabelle 7
Sonstige verwendete Chemikalien und Verbrauchsmaterialien

Material	Firma	Lagerung
FACS Lysing Solution (100ml 10-fach gepufferte Lyselösung, < 50% Diethylenglycol, < 15% Formaldehyd, vor Gebrauch Verdünnung von 1:10 mit destilliertem Wasser)	BD Biosciences	Raumtemperatur (2-25 °C)
PBS 500ml	Invitrogen	Kühlschrank (4 °C)
Pipetten 0,5-10µl, 10 µl, 50-200µl, 200-1000 µl	Eppendorf	Raumtemperatur
Pipetten-Spitzen	SARSTEDT	Raumtemperatur
Pasteur Pipetten		Raumtemperatur

Geräte

Zentrifuge Rotina 46 R, Ident.Nr.: T-1025456 (Hettich)

Vortex-Genie, Ident.Nr.: T105005 (Scientific Industries, INC, for Bender and
HOBEIN AG)

Durchflussszytometer (FACS Calibur, Becton&Dickinson)

2.5.3 Probenverarbeitung

Grundvoraussetzung für die durchflusszytometrische Differenzierung von Monozytensubpopulationen war die Anfärbung der Monozyten mit den oben beschriebenen fluoreszenzmarkierten Antikörpern.

Dafür wurden in zwei Falcon-Röhrchen jeweils 90 µl EDTA-Blut und 10 µl bzw. 19 µl der jeweiligen Antikörperkombination pipettiert. Die Antikörperkombinationen enthielten jeweils vier verschiedene monoklonale fluoreszenzmarkierte Antikörper. Einen Überblick über die beiden Probenansätze geben Tabelle 8 und Tabelle 9.

Nach gutem Mischen wurden die Ansätze 10 Minuten im Dunkeln bei Raumtemperatur inkubiert. Nach der Inkubation erfolgte die Lyse der Erythrozyten durch Zugabe von 2 ml Lyselösung (aus 5 ml konzentrierter Lyselösung + 45 ml destilliertem Wasser). Nach erneut gutem Mischen wurden die Proben wieder 10 Minuten im Dunkeln bei Raumtemperatur inkubiert. Nach 10-minütigem Zentrifugieren bei 1500 Umdrehungen wurde der Überstand abpipettiert, die sich am Boden der Falcon-Röhrchen befindlichen Zellen aufgeschüttelt und zur Fixierung mit PBS aufgefüllt. Es erfolgte eine erneute 10-minütige Zentrifugation bei 1500 Umdrehungen. Der Überstand wurde bis 2 cm über dem Boden abpipettiert. Der Zellrest wurde aufgeschüttelt und bis zur Messung am Durchflusszytometer im Kühlschrank bei 4 °C mit Alufolie abgedeckt gelagert. Vor der Messung wurde erneut gut gemischt.

Tabelle 8
Probenansatz 1 zur Monozytendifferenzierung

Antikörper	Fluoreszenz (FL)	Menge in μl	Konzentration bei 109μl gesamt
CD14	FITC (FL 1)	2 μ l	1/55
CD16	PE (FL 2)	10 μ l	1/11
HLA-DR	PerCP (FL 3)	5 μ l	1/22
CD45	APC (FL 4)	2 μ l	1/55
		19 μ l + 90 μ l Blut	

Tabelle 9
Probenansatz 2 zur Monozytendifferenzierung

Antikörper	Fluoreszenz (FL)	Menge in μl	Konzentration bei 100μl gesamt
CD14	FITC (FL 1)	2 μ l	1/50
CD64	PE (FL 2)	1 μ l	1/100
HLA-DR	PerCP (FL3)	5 μ l	1/20
CD45	APC (FL 4)	2 μ l	1/50
		10 μ l+ 90 μ l Blut	

2.5.4 Messung der Proben, Darstellung und Auswertung der Messwerte

Ein Durchflusszytometer gliedert sich in die Bauteile Flüssigkeitssystem, optisches System und Signalverarbeitungssystem. Durch hydrodynamische Fokussierung werden die Zellen im Flüssigkeitsstrom einzeln nacheinander aufgereiht an einem Argonlaserstrahl von 488 nm und einem Diodenlaser von 635 nm vorbeigeleitet. Die Fluoreszenzfarbstoffe werden angeregt und ihr Energieniveau wird angehoben. Unter Abgabe von Energie in Form von Photonen fallen sie auf ihr Ausgangsniveau zurück. Die emittierte Photonenkonzentration wird von einem Photodetektor registriert und verhält sich proportional zur Menge der pro Zelle gebundenen Antikörper. Somit ist eine Aussage über die quantitative Expression von zellulären Oberflächenmolekülen möglich. Da das verwendete Durchflusszytometer (FACS Calibur™) zwei Laser (siehe oben) verwendet, konnten vier Fluoreszenzen gleichzeitig gemessen werden.

Neben Fluoreszenzen können mit dem Durchflusszytometer durch die Messung von Streulicht Informationen über Zellgröße und Zellgranularität gewonnen werden. Das auf die Zellen treffende Licht wird je nach physikalischen Zelleigenschaften in einem bestimmten Winkel gestreut. Der Streuwinkel von 0-10° wird als Vorwärtsstreulicht bzw. Forward Angle Light Scatter (FSC) bezeichnet und korreliert mit dem Zellquerschnitt. Es ergeben sich somit Informationen über die Zellgröße. Ein geringerer Teil des Lichts streut seitwärts (90°) und wird als Seitwärtsstreulicht bzw. Side Angle Light Scatter (SSC) bezeichnet. Es gibt Auskunft über den Refraktionsindex der Zellen und damit über die Zellgranularität. Vorwärts- und Seitwärtsstreulicht ermöglichen in einem Koordinatensystem gegeneinander aufgetragen eine Abgrenzung der einzelnen Leukozytengruppen (Abbildung 4). Das Detektionsteil des Durchflusszytometers besteht aus zwei Teilen, ein Bereich dient der Messung des Vorwärtsstreulichts, der zweite der Messung von Seitwärtsstreulicht und Fluoreszenz. Photodetektoren konvertieren die optischen Signale in elektrische Impulse, deren Höhe mit der Intensität des Lichtsignals korreliert. Ein Analog-/Digitalwandler konvertiert die in Volt registrierte Signalintensität für jede gemessene Eigenschaft in eine Klassenzahl. Diese wird vom angeschlossenen Computer für eine quantitative Auswertung gespeichert und steht dann zur weiteren Analyse zur Verfügung.

Geräteeinstellung und Qualitätskontrollen

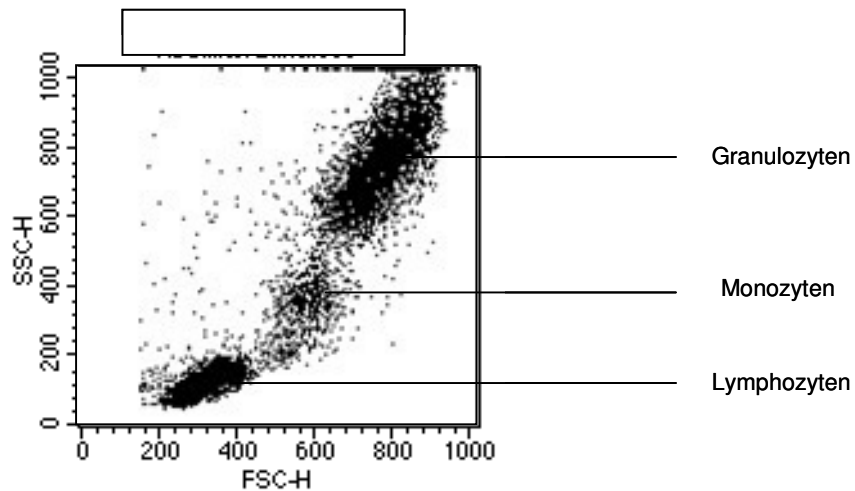
Interne und externe Qualitätskontrollen wurden regelmäßig durchgeführt. Vor Beginn der Messungen wurde zur Korrektur der spektralen Überlappung die Kompensation eingestellt. Regelmäßig erfolgte eine Kalibrierung mit CaliBRITE (BD Biosciences).

Darstellung der Messergebnisse

Als graphische Messdarstellungen wurden die einparametrische Histogrammanalyse und die korrelierte Zweiparameter-Punkthistogramm-Darstellung (Dot Plot) gewählt. Die digitalisierten Werte einer Messung wurden bestimmten Klassen zugeordnet, in unserem Fall 1024 verschiedenen Klassen. In der Zweiparameterdarstellung steht jeder dargestellte Punkt für den Messwert von mindestens einer Zelle mit ihren beiden Eigenschaften. Trägt man FSC (Größe) und SSC (Granularität) in einer Zweiparameter-Punktehistogramm-Darstellung gegeneinander auf, lassen sich bei Verwendung einer Leukozytenprobe aus lysiertem Vollblut die Leukozytensubpopulationen Lymphozyten, Monozyten und Granulozyten identifizieren. Jede Gruppe weist dabei ihr charakteristisches Muster auf. Abbildung 4 zeigt eine korrelierte Zweiparameterdarstellung einer in der Arbeit verwendeten Leukozytenprobe aus lysiertem Vollblut.

Abbildung 4

Leukozytensubpopulationen in der Zweiparameterdarstellung. Die x-Achse liefert mittels FSC (= Vorwärtsstreulicht) Informationen über die Zellgröße, die y-Achse ermöglicht mittels SSC (= Seitwärtsstreulicht) Informationen über die Zellgranularität. So lassen sich die Leukozyten wie dargestellt in Zellwolken auftrennen.



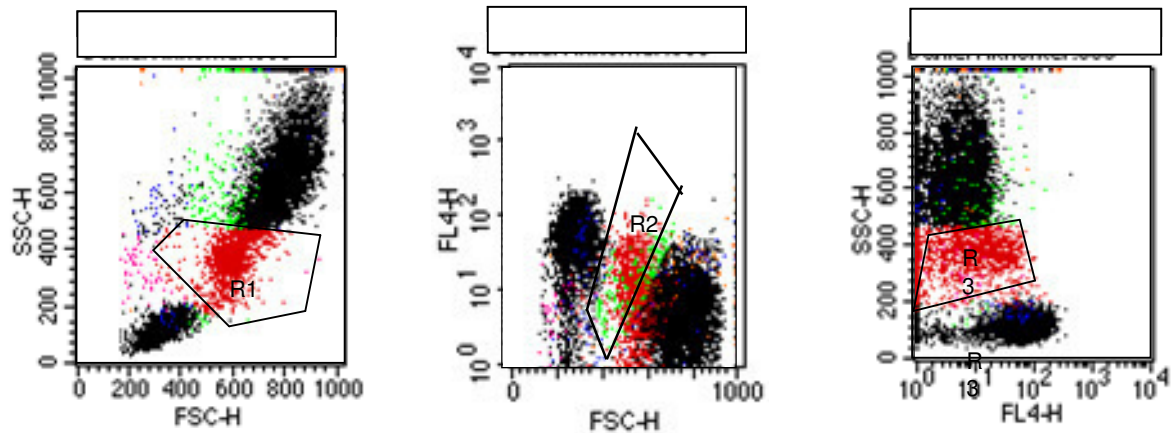
Definieren von Auswertefenstern (Gating)

Zunächst müssen die Zellen, die für die Auswertung interessant sind, in dieser Arbeit die Monozyten, von Aggregaten, Zelltrümmern und anderen Zellarten abgegrenzt werden. Dazu wurden in der oben dargestellten Parameterkombination SSC gegen FSC die Monozytenwolken mit sogenannten Regionen eingegrenzt. In der weiteren Analyse fanden dann nur die Ergebnisse Berücksichtigung, die in den eingegrenzten Regionen lagen. Der englischsprachige Begriff für das Eingrenzen heißt „Gating“. Um die Monozyten möglichst genau abzugrenzen, wurde neben der Parameterkombination SSC gegen FSC noch in zwei weiteren Kombinationen gated. Hierzu wurden die Kombinationen FSC gegen Fluoreszenz 4 (CD45) und Fluoreszenz 4 (CD45) gegen SSC verwendet (Abbildung 5). Die Zellen in den eingegrenzten Regionen R1, R2 und R3 wurden für die weitere Auswertung verwendet.

Abbildung 5

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, FL4 = Fluoreszenz 4 = CD45

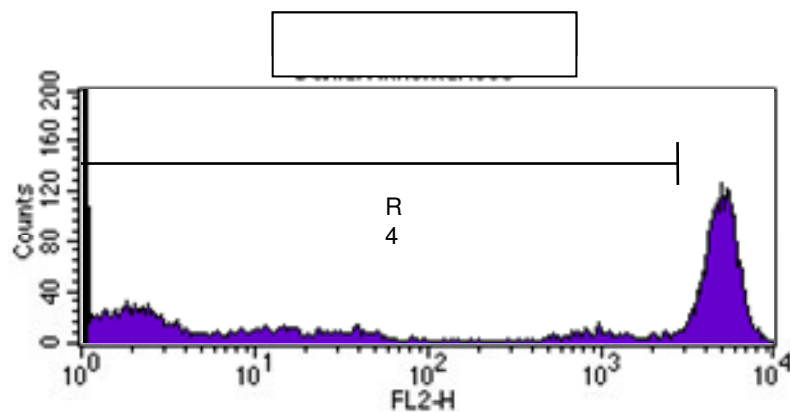


Zusätzlich wurden aus den Zellen in den Regionen R1, R2 und R3 die stark CD16 positiven Zellen in einem Einparameter-Histogramm ausgegrenzt (Abbildung 6). Hierbei handelt es sich um Granulozyten, welche durch eine starke CD16-Expression gekennzeichnet sind und nicht in die Auswertung eingehen sollten.

Abbildung 6

Einparameter-Histogramm zur Ausgrenzung der stark CD16 positiven Zellen (Granulozyten).

FL2 = Fluoreszenz 2 = CD16, R4 = Region 4



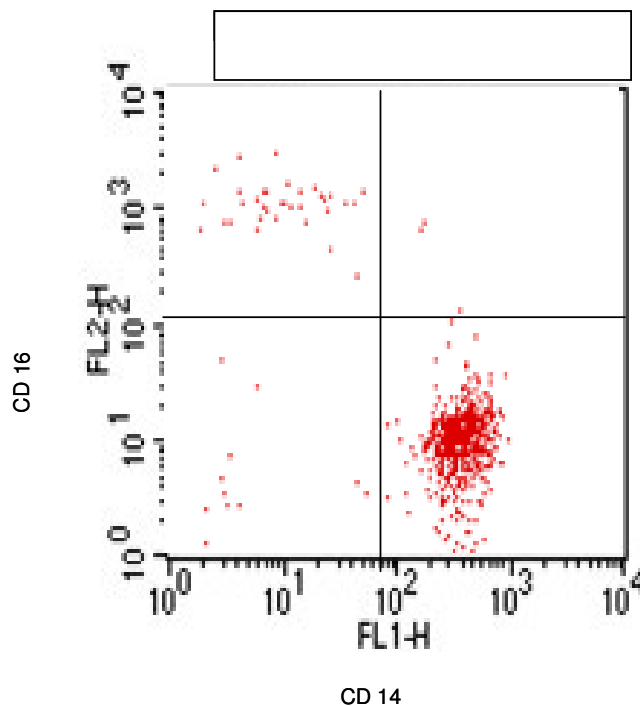
Auswertung der Monozytensubpopulationen

Als Ausgangszellen dienten die in den beschriebenen Regionen befindlichen Zellen, bei denen es sich nach vierfachem Gating um > 95 % Monozyten handelt. Im Probenansatz 1 mit der Vierfach-Antikörperkombination CD14, CD16, HLA-DR und CD45 interessierten vor allem die CD14 und CD16 positiven aktivierten Monozyten (CD14+CD16+ Monozyten) und die CD14 und CD16 negativen klassischen Monozyten (CD14+CD16- Monozyten). Die Auswertung erfolgte im Rahmen einer Quadrantenanalyse (Abbildung 7). Nach gleichem Prinzip wurden die Werte für die CD14 und CD64 positiven Monozyten ermittelt.

Abbildung 7

Beispiel für die Auswertung der CD14+CD16+ und CD14+CD16- Monozyten in einer Quadrantenanalyse. Unten rechts befinden sich die CD14 positiven und CD16 negativen Monozyten, im rechten oberen Quadranten die CD14 und CD16 positiven Monozyten.

FL1 = Fluoreszenz 1 = CD14, FL2 = Fluoreszenz 2 = CD16, Qua = Quadrant, UL = Upper Left, UR = Upper Right, LL = Lower Left, LR = Lower Right



File:

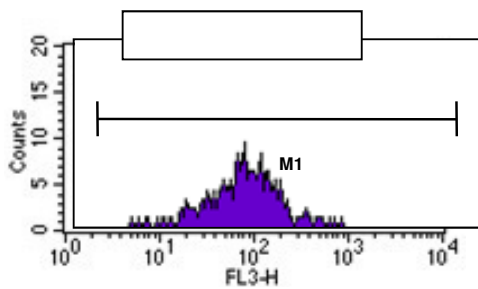
Quad	Events	% Gated	% Total
UL	27	3.86	0.23
UR	31	4.43	0.26
LL	7	1.00	0.06
LR	635	90.71	5.38

Die mittlere HLA-DR-Expression wurde mittels Einparameterdarstellung ausgewertet (Abbildung 8).

Abbildung 8

Auswertung der mittleren HLA-DR Expression in einer Einparameterdarstellung mittels Darstellung der mittleren Fluoreszenzintensität (mean).

FL3 = Fluoreszenz 3 = HLA-DR



Marker	Events	% Total	Mean	SD	Median
All	659	5.58	51.49	38.95	42.94
M1	659	5.58	51.49	38.95	42.94

2.6 Bestimmung von TNF-alpha und IL-6

2.6.1 Prinzip

Die Bestimmung der Zytokine TNF- α und IL-6 erfolgte mit dem System Bio-Plex der Firma Bio-Rad, womit in einem Ansatz simultan mehrere Proteine analysiert werden können. Dabei wird das Prinzip eines Sandwich-ELISAs mit einer durchflusszytometrischen Messung kombiniert. Das Prinzip beruht auf der Verwendung unterschiedlicher fluoreszenzmarkierter Polystyrenkügelchen (Beads), an die jeweils spezifische Antikörper kovalent gebunden sind. Zunächst werden die im Serum vorhandenen Zytokine an die an der Oberfläche der Polystyrenkügelchen haftenden Antikörper gebunden. Danach erfolgt die Zugabe eines zweiten biotinylierten Detektionsantikörpers, der spezifisch an ein anderes Epitop der gesuchten Zytokine bindet. Nach der Zugabe von Streptavidin können die Zytokine im Array Reader quantifiziert werden. Dort wird jeweils ein kleines Volumen aus der Probe aufgenommen und die Beads werden einzeln an zwei Lasern vorbeigeleitet. Der erste Laser dient der Klassifikation der einzelnen Kügelchen, der zweite Laser regt die auf der Kügelchenoberfläche gebundenen Fluorochrome an, wodurch eine Quantifizierung der Zytokine aufgrund ihrer Emission bei einer Wellenlänge von 575 nm erfolgt.

2.6.2 Labormaterialien und Geräte

1. Bio-Plex Cytokine Assay:

Anti-Zytokin konjugierte Beads ($2,5 \times 10^6$ Bead/ml), Detektionsantikörper und „lyophilized standards“ für 96 Proben ($25 \mu\text{g}$ pro Zytokin) (Firma Bio-Rad, München).

2. Cytokine Reagent Kit:

Bio-Plex Assay Buffer, Wasch-Buffer, Detection Antibody Diluent, Streptavidin-PE (100 x), sterile 96-well Mikrotiterfilterplatte, Abklebefolie (Firma Bio-Rad, München).

3. Diluent Kit:

Bio-Plex Sample Diluent A, Bio-Plex Standard Diluent A (Firma Bio-Rad, München).

Array Reader (Firma Bio-Rad, München)

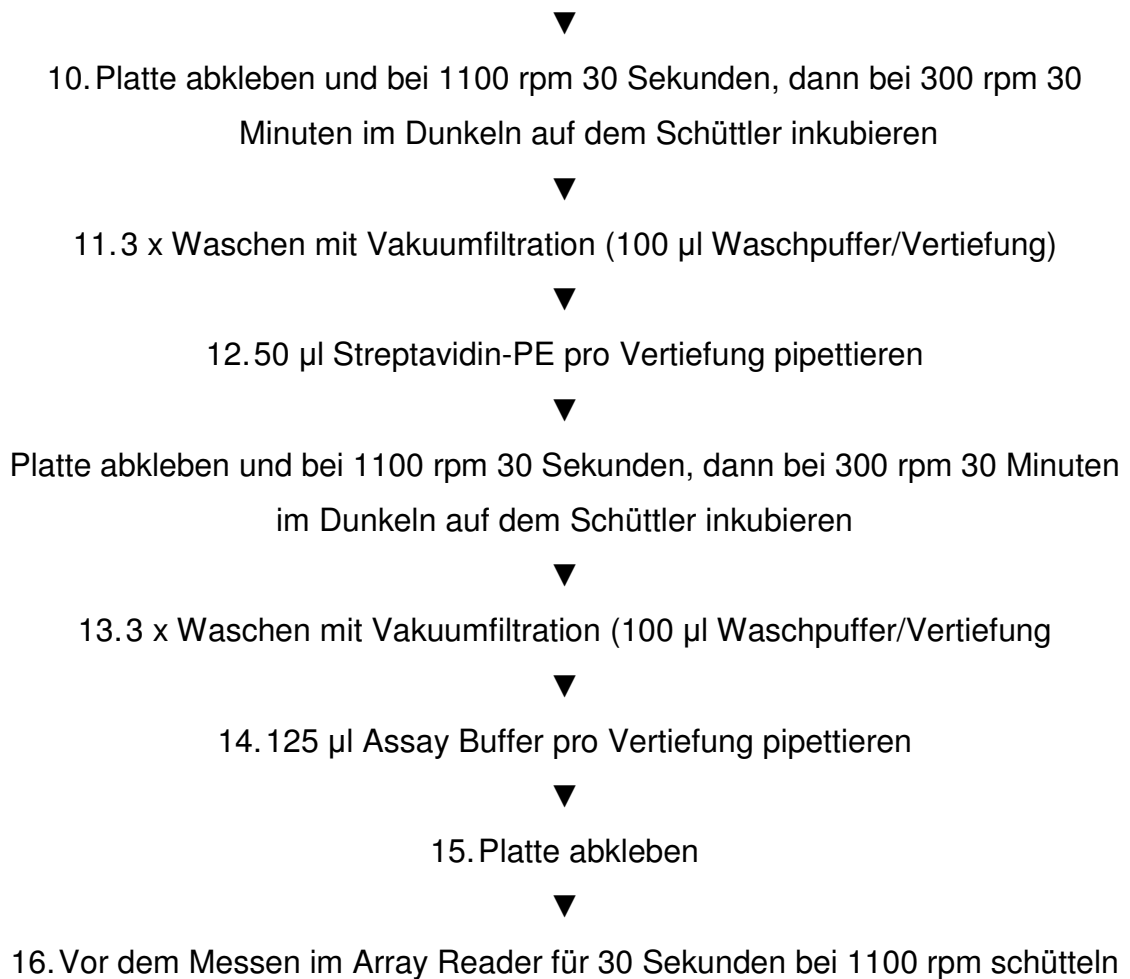
Eppendorf Cups, Eppendorf-Pipetten, Falcon-Röhrchen

2.6.3 Probenverarbeitung

Zunächst erfolgte die Vorbereitung der Standardverdünnungsreihe. Weiterhin erfolgte eine Verdünnung der Beads und des Streptavidin-PE mit Assay Buffer sowie eine Verdünnung der Antikörper mit Detection Antibody Diluent. Die zuvor bei -80°C eingefrorenen Serumproben und die verwendeten Materialien wurden vor der Verarbeitung auf Raumtemperatur gebracht.

Durchführungsprotokoll

1. Vorbereitung von Serum, Lösungen und Standards wie oben beschrieben
▼
2. 150 μl Assay Buffer in jede Vertiefung der Mikrotiterplatte pipettieren
▼
3. Vakuumfiltration
▼
4. 50 μl verdünnte Beads in jede Vertiefung pipettieren
▼
5. 2 x Waschen mit Vakuumfiltration (100 μl Waschpuffer/Vertiefung)
▼
6. 50 μl Standard oder Serumprobe pro Vertiefung pipettieren
▼
7. Platte abkleben und bei 1100 rpm 30 Sekunden, dann bei 300 rpm 30 Minuten im Dunkeln auf dem Schüttler inkubieren
▼
8. 3 x Waschen mit Vakuumfiltration (100 μl Waschpuffer/Vertiefung)
▼
9. 25 μl Detektionsantikörper pro Vertiefung pipettieren



2.6.4 Messung und Auswertung der Proben

Die Messung der Proben erfolgte mit dem Array Reader der Firma Biorad, die Ergebnisse wurden über die Standardkurve mit der zugehörigen Software ermittelt. Die Messwerte sind in pg/ml angegeben.

2.7 Bestimmung von sCD14, Neopterin, IL1-ra, sTNF-R1

2.7.1 Prinzip des Sandwich ELISA`s

Die Konzentrationen von sCD14, Neopterin, IL1-ra und sTNF-R1 wurden mit der Technik eines Sandwich ELISA`s bestimmt.

Die jeweils im Kit enthaltene Mikrotiterplatte ist mit einem monoklonalen Antikörper gegen die zu untersuchende Substanz beschichtet (erster Antikörper). Zuerst werden die Standards oder Proben in die entsprechenden Vertiefungen pipettiert und reagieren mit dem ersten Antikörper. Nach Abschluss der Reaktion werden überschüssige Bestandteile der Proben durch Waschen entfernt. Nach Zugabe von Meerrettich-Peroxydase (HRP) markierten polyklonalen Antikörpern (zweiter

Antikörper) kann sich in einer anschließenden Inkubation ein Sandwich-Komplex aus dem ersten Antikörper, der zu untersuchenden Substanz in der Probe und dem enzymmarkierten zweiten Antikörper bilden. Überschüssige enzymmarkierte Antikörper werden durch Waschen entfernt. Mit Zugabe der chromogenen Lösung (Tetramethylbenzidin = TMB) beginnt die Bildung eines farbigen Endproduktes, wobei die Farbintensität zu der Menge der zu untersuchenden Substanz in der Probe oder im Standard proportional ist. Diese Reaktion wird durch Zugabe einer Säurelösung beendet. Anschließend wird die Absorption des farbigen Endproduktes bei 450 nm gemessen und ausgewertet.

2.7.2 Labormaterialien und Geräte

Zur Bestimmung der Konzentrationen von sCD14, IL1-ra, Neopterin und sTNF-R1 im Serum wurden die in Tabelle 10 aufgeführten ELISA-Kits verwendet. Die Lagerung bis zur Verwendung erfolgte bei 5 °C.

Tabelle 10
Übersicht über die in der Arbeit verwendeten ELISA-Kits

	ELISA-Kit	Inhalt	Firma
sCD14	Quantikine human sCD14 Immunoassay (Kat.Nr.: DC140)	Diluted wash buffer Stop Solution Assay Diluent RD1W Calibrator Diluent RD5P Conjugate Unmixed Color Reagent A Unmixed Color Reagent B Standard Microplate Wells	R&D Systems, Inc., Minneapolis
IL1-ra	Quantikine IL1-ra Immunoassay (Kat.Nr: DRA00)	Diluted wash buffer Stop Solution Calibrator Diluent RD5 Calibrator Diluent RD6G Assay Diluent RD1E Conjugate Unmixed Color Reagent A Unmixed Color Reagent B Standard Microplate Wells	R&D Systems, Inc., Minneapolis
Neopterin	Neopterin ELISA (Kat.Nr.: RE 59321)	Waschpuffer TMB-Stopplösung Assay Puffer TMB-Substratlösung Enzymkonjugat Neopterin Antiserum	IBL Hamburg
sTNF-R1	Quantikine human sTNF-R1 (Kat.Nr.: DRT100)	Diluted wash buffer Stop Solution Calibrator Diluent RD5-5 Calibrator Diluent RD60 Conjugate Unmixed Color Reagent A Unmixed Color Reagent B Standard Microplate Wells	R&D Systems, Inc., Minneapolis

Zusätzlich benötigte Verbrauchsmaterialien und Geräte waren:
Pipetten (Eppendorf)
Falcon-Röhrchen
Schüttler
Photometer (450 nm)

2.7.3 Probenverarbeitung

Die bei -80°C gelagerten Serumproben wurden aufgetaut und auf Raumtemperatur gebracht. Ebenso die im jeweiligen ELISA-Kit enthaltenen Substanzen. Der Ansatz erfolgte jeweils nach Protokoll des Herstellers.

Durchführungsprotokoll sCD14

Die Serum-Proben wurden zunächst mit Calibrator Diluent 200-fach verdünnt. 20 ml des Waschpufferkonzentrates wurden mit 480 ml destilliertem Wasser verdünnt. Die Substratlösung wurde durch Mischen der Color-Reagents A und B hergestellt. Sie wurde lichtgeschützt gelagert und innerhalb von 15 Minuten verwendet. Die Standardverdünnung wurde mit 5 ml Calibrator-Diluent RD5P (500 μl pro Falcon-Röhrchen) und der Standardlösung hergestellt. 16000 pg/ml war der höchste Standardwert, 250 pg/ml der kleinste.

1. Vorbereitung von Serum, Lösungen und Standards wie oben beschrieben
▼
2. 100 μl Assay Diluent RD1W in jede Vertiefung der Mikrotiterplatte pipettieren
▼
3. 100 μl Standard oder Probe in jede Vertiefung pipettieren
▼
4. Für 3 Stunden bei Raumtemperatur inkubieren
▼
5. 4 x Aspiration und Waschen
▼
6. 200 μl Konjugat in jede Vertiefung pipettieren
▼
7. Für 1 Stunde bei Raumtemperatur inkubieren
▼
8. 4 x Aspiration und Waschen

- ▼
9. 200 µl Substratlösung in jede Vertiefung pipettieren
 - ▼
 10. 15 Minuten lichtgeschützt inkubieren
 - ▼
 11. 50 µl Stopplösung in jede Vertiefung pipettieren
 - ▼
 12. Innerhalb von 30 Minuten Messung bei 450 nm

Durchführungsprotokoll Neopterin

Das Waschpuffer-Konzentrat wurde zunächst 1:20 mit bidestilliertem Wasser verdünnt. Das Enzymkonjugat-Konzentrat wurde 1:201 mit Assaypuffer verdünnt und lichtgeschützt aufbewahrt. Die TMB-Substratlösung wurde aus Konzentrat und TMB-Substratpuffer in einer Verdünnung von 1:31 hergestellt.

1. Vorbereitung von Serum, Lösungen und Standards wie oben beschrieben
- ▼
2. 10 µl Serumprobe in jede Vertiefung der Mikrotiterplatte pipettieren
- ▼
3. 100 µl Enzymkonjugat (1 : 201) in jede Vertiefung pipettieren
- ▼
4. 50 µl Neopterin Antiserum in jede Vertiefung pipettieren
- ▼
5. Mit schwarzer Haftklebefolie versiegeln und 90 Minuten bei Raumtemperatur auf einem Schüttler (500 1/min) inkubieren
- ▼
6. Überstand dekantieren, 3 x mit Waschpuffer waschen, auf saugfähigem Papier kurz abklopfen
- ▼
7. 200 µl TMB-Substratlösung in jede Vertiefung pipettieren
- ▼
8. 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren
- ▼

9. 100 µl TMB-Stopplösung im gleichen Zeittakt wie TMB-Substratlösung pipettieren



10. Kurz schütteln und Extinktion bei 450 nm innerhalb von 15 Minuten messen

Durchführungsprotokoll IL1-ra

Die Verdünnung des Waschpuffers und der Substratlösung erfolgte wie im sCD14-ELISA. Die IL1-ra Standardverdünnung wurde mit 2 ml Calibrator Diluent RD6G (500 µl pro Falcon-Röhrchen) und dem Standard angefertigt. Als höchster Standardwert diente die unverdünnte Standardlösung mit 3000 pg/ml. Der niedrigste Standardwert lag bei 46,9 pg/ml.

1. Vorbereitung von Serum, Lösungen und Standards wie oben beschrieben



2. 50 µl Assay Diluent RD1E in jede Vertiefung der Mikrotiterplatte pipettieren



3. 200µl Standard oder Probe in jede Vertiefung pipettieren



4. Für 2 Stunden bei Raumtemperatur inkubieren



5. 4 x Aspiration und Waschen



6. 200 µl Konjugat in jede Vertiefung pipettieren



7. Für 2 Stunden bei Raumtemperatur inkubieren



8. 4 x Aspiration und Waschen



9. 200 µl Substratlösung in jede Vertiefung pipettieren



10. 20 Minuten lichtgeschützt inkubieren



11. 50 µl Stopplösung in jede Vertiefung pipettieren



Innerhalb von 30 Minuten Messung bei 450 nm

Durchführungsprotokoll sTNF-R1

Die Verdünnung des Waschpuffers und der Substratlösung erfolgte wie im sCD14-ELISA. Die sTNF-R1 Standardverdünnung wurde mit 2 ml Calibrator Diluent RD60 (500 µl pro Falcon-Röhrchen) und dem Standard angefertigt. Als höchster Standardwert diente die unverdünnte Standardlösung mit 500 pg/ml. Der niedrigste Standardwert lag bei 7,8 pg/ml.

1. Vorbereitung von Serum, Lösungen und Standards wie oben beschrieben
▼
 2. 50µl Assay Diluent HD1-7 in jede Vertiefung der Mikrotiterplatte pipettieren
▼
 3. 200µl Standard oder Serumprobe in jede Vertiefung pipettieren
▼
 4. Für 2 Stunden bei Raumtemperatur inkubieren
▼
 5. 3 x Aspiration und Waschen
▼
 6. 200 µl Konjugat in jede Vertiefung pipettieren
▼
 7. Für 2 Stunden bei Raumtemperatur inkubieren
▼
 8. 3 x Aspiration und Waschen
▼
 9. 200 µl Substratlösung in jede Vertiefung pipettieren
▼
 10. 20 Minuten lichtgeschützt inkubieren
▼
 11. 50 µl Stopplösung in jede Vertiefung pipettieren
▼
- Innerhalb von 30 Minuten Messung bei 450 nm

2.7.4 Messung und Auswertung der Proben

Die Messung der Proben erfolgte jeweils innerhalb von 15 - 30 Minuten bei einer Wellenlänge von 450 nm mit dem Photometer des Rheumalabors der Poliklinik der LMU in München. Anhand der jeweiligen Standardkurven wurden die Messwerte in der Einheit pg/ml ermittelt.

2.8 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Statistikprogramm SPSS 13.0.1. Aufgrund der Beurteilung der graphischen Darstellung der Messwerte in Form von Diagrammen war von der Annahme auszugehen, dass die Daten nicht normalverteilt sind. Es wurde deshalb als Testverfahren der Mann-Whitney-U-Test als nicht parametrisches Verfahren verwendet. Der Mann-Whitney-U-Test ist ein Verfahren zum Vergleich zweier unabhängiger Gruppen. Er überprüft die Nullhypothese, dass die beiden untersuchten Gruppen aus der gleichen Verteilung stammen. Übersetzt bedeutet die Nullhypothese in unserem Fall: „Es bestehen keine Unterschiede zwischen Tourette-Patienten und gesunden Kontrollen“. Im Unterschied zum t-Test analysiert der Mann-Whitney-U-Test die Messwerte nicht direkt, sondern die ihnen zugeordneten Rangplätze. Der Vorteil ist, dass die Signifikanzprüfung unabhängig von der Form der Verteilung der Messwerte in der Population erfolgt, d.h. auch für nicht normalverteilte Daten liefert der Test zuverlässige Ergebnisse. Zur Analyse von Untergruppen dienten Kruskal-Wallis-Tests und anschließende Post hoc Mann-Whitney-U-Tests. Zusätzlich wurden Korrelationen zwischen verschiedenen Parametern untersucht. Hierfür wurde der Korrelationskoeffizient nach Pearson verwendet. Zur Auswertung der Anamnesedaten wurde der Chi-Quadrat-Test nach Pearson herangezogen. Da es sich in dieser Arbeit zum einen um eine explorativ angelegte Studie handelte und zum anderen zwischen den Leukozyten- und Monozytensubpopulationen selbst und auch zu den Zytokinen eine Abhängigkeit besteht, wurde auf eine Korrektur für multiple Tests verzichtet, wohl wissend, dass die Signifikanzen dabei nur als richtungsweisend anzusehen sind. In der Ergebnisdarstellung wird ein Konfidenzintervall von 95% zugrunde gelegt.

3 Ergebnisse

Bei der Auswertung erfolgte zunächst eine deskriptive Betrachtung der Daten. Auffällige deskriptive Ergebnisse wurden mit dem Mann-Whitney U-Test statistisch getestet. Bei den Parametern erfolgte jeweils ein Vergleich zwischen der Gruppe der Tourette-Patienten und der gesunden Kontrollgruppe. Im Rahmen der Untergruppenanalyse wurde eine Gruppenbildung nach Alter, Medikation und zusätzlich bestehenden Zwangssymptomen vorgenommen. Außerdem wurden Korrelationen berechnet, um Zusammenhänge zwischen Leukozyten-subpopulationen, Monozytensubpopulationen, den gemessenen Zytokinen, Rezeptoren und Rezeptor-Antagonisten zu beurteilen.

Die Monozytensubpopulationen sind als prozentualer Anteil an gateden Monozyten dargestellt. Die Messwerte der klinischen Chemie, der Leukozytensubpopulationen, von TNF- α , IL-6, IL1-ra, sTNF-R1, sCD14 und Neopterin sind in den jeweiligen Konzentrationen mit Einheit angegeben.

3.1 Anamnesedaten

Die in die Studie eingeschlossenen 46 Patienten (36 männlich, 10 weiblich) erfüllten alle die Kriterien der ICD 10 bzw. der DSM-IV Klassifikation des Gilles de la Tourette Syndroms (siehe 1.1.2). Das Durchschnittsalter der Patienten lag bei 29,3 Jahren \pm 14,1 (Schwankungsbreite 8 - 62 Jahre). 15 Patienten waren jünger als 18 Jahre. Das Durchschnittsalter bei Erkrankungsbeginn lag bei 8,2 \pm 3,7 Jahren (Schwankungsbreite 2 - 17 Jahre). Während der Untersuchung waren 27 Patienten auf Antipsychotika oder Tiaprid eingestellt, 7 erhielten zusätzlich Antidepressiva. 30 Patienten gaben an, an Zwängen zu leiden, 18 Patienten berichteten, häufiger an depressiven Verstimmungen zu leiden. In 17 Fällen traten anamnestisch Tic-Störungen oder das Tourette-Syndrom in der Familie auf.

Die 43 gesunden Kontrollen (30 männlich, 13 weiblich) hatten keine psychiatrischen Erkrankungen und keine Bewegungs- oder Ticstörungen. Ihr Durchschnittsalter lag bei 30,6 Jahren \pm 13,8 (Schwankungsbreite 8 - 62 Jahre). Die Kontrollen nahmen keine Antipsychotika oder Antidepressiva.

Zum Zeitpunkt der Untersuchung lagen weder in der Kontroll- noch in der Patientengruppe Infektionen, schwerwiegende organische, neurologische oder

psychische Erkrankungen vor. Die aus der Vorgeschichte bekannten Erkrankungen sowohl der Patienten, als auch der gesunden Kontrollen wurden im Anhang dokumentiert, ebenso zusätzlich eingenommene Medikamente (siehe Anhang I). In der Patientengruppe befanden sich 14 Raucher, in der Kontrollgruppe sieben Raucher. Allergien waren bei 17 Tourette-Patienten und bei 16 gesunden Probanden bekannt. Regelmäßiger Alkoholkonsum lag bei 19 Tourette-Patienten vor, wovon sechs Patienten viel Alkohol konsumierten, und bei 24 gesunden Probanden. Einen Überblick über die Anamnesedaten gibt Tabelle 11.

Tabelle 11
Überblick über die Anamnesedaten

	n	Tourette	n	Gesunde
Alter, MW±SD	46	29,3 ± 14,1 (8 - 62)	43	30,6 ± 13,8 (8 - 62)
(Schwankungsbreite)				
< 18 Jahre, n (%)	15	33%	10	23%
Erkrankungsbeginn, MW±SD	46	8,2 ± 3,7 (2 - 17)	43	
(Schwankungsbreite)				
Geschlechterverhältnis m:w	46	3,6 : 1 (36 m, 10 w)	43	2,3 : 1 (30 m, 13 w)
(n)				
TSGS, MW±SD	46	40,2 ± 13,0 (16,8 - 64,3)	43	
(Schwankungsbreite)				
MOCI, MW±SD	46	9,76 ± 8,14 (0 - 26)	43	1,42 ± 0,96 (0 - 4)
(Schwankungsbreite)				
TS und Zwangssymptome n (%)	34	74%	0	0%
TS und Depression n (%)	18	39%	0	0%
Medikation* mit psychotropen Substanzen, n (%)	30	65%	0	0%
Keine Medikamente	16	35%	43	100%
Nikotinabusus, n (%)	14	30%	7	16%
Alkoholkonsum, n (%)	19	41%	24	56%
Allergien, n (%)	17	40%	16	37%

TS = Tourette-Syndrom, TSGS = Tourette`s Syndrome Global Scale, MOCI = Maudsley obsessive compulsive inventory, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, n = Anzahl, m = männlich, w = weiblich, *einschließlich Antipsychotika (n = 18), Tiaprid (n = 11) und Antidepressiva (n = 7)

Im Vergleich von Alter, Geschlechterverteilung, Nikotin- und Alkoholkonsum und dem Bestehen von Allergien in beiden Gruppen ergaben sich im Chi-Quadrat-Test keine signifikanten Unterschiede (Tabelle 12).

Tabelle 12
Auswertung der Anamnesedaten

		Tourette- Patienten	Gesunde Kontrollen	Chi-Quadrat nach Pearson (asymptotische Signifikanz, 2-seitig)
Alter	Erwachsene	31	33	0,33
	Kinder/Jugendliche	15	10	
Geschlecht	männlich	36	30	0,36
	weiblich	10	13	
Nikotin	ja	14	7	0,115
	nein	29	33	
Alkohol	ja	19	24	0,375
	nein	19	16	
Allergien	ja	17	16	0,607
	nein	21	25	

3.2 TSGS, CGI und MOCI

TSGS

Bei den Tourette-Patienten wurden TSGS-Werte zwischen 16,8 und 64,3 Punkten erreicht (Mittelwert und Standardabweichung $40,2 \pm 13,0$). Dabei ergab sich folgende Verteilung:

16,8 bis 19,9 Punkte: 3 Patienten

20 bis 29,9 Punkte: 8 Patienten

30 bis 39,9 Punkte: 13 Patienten

40 bis 49,9 Punkte: 7 Patienten

50 bis 59,9 Punkte: 13 Patienten

60 bis 64,3 Punkte: 2 Patienten

CGI

Die CGI-Werte lagen zwischen 3 und 6 Punkten (Mittelwert $4,59 \pm 0,98$). Folgende Verteilung war festzustellen:

CGI 3: 5 Patienten

CGI 4: 20 Patienten

CGI 5: 10 Patienten

CGI 6: 11 Patienten

Zwischen CGI und TSGS ergab sich eine hochsignifikante positive Korrelation nach Pearson mit einem Korrelationskoeffizienten von 0,884 und einer zweiseitigen Signifikanz von $< 0,001$.

MOCI

Im MOCI lagen die Werte bei den Tourette-Patienten zwischen 0 und 26 Punkten (Mittelwert mit Standardabweichung $9,76 \pm 8,14$). Bei den Gesunden ergaben sich Werte zwischen 0 und 4 Punkten (Mittelwert mit Standardabweichung $1,42 \pm 0,96$). Es zeigte sich keine Korrelation zum Schweregrad des Tourette-Syndroms.

3.3 Klinische Chemie mit CRP

In der klinischen Chemie ergaben sich bezüglich der Leberwerte (GOT, GPT, γ GT), Nierenwerte (Creatinin, Harnstoff) und des TSH basal bei Tourette-Patienten und Gesunden keine Unterschiede. In der Gruppe der Tourette-Patienten zeigten sich signifikant höhere CRP-Werte ($p = 0,044$) (Tabelle 13).

Tabelle 13
Auswertung der Parameter der klinischen Chemie inklusive CRP

	Gruppe	n	MW	SD	Min./Max.	Mittlerer Rang	Z	U-Test p-Werte
GOT U/l	Gesund	42	25,29	7,93	14/59	37,87	-1,898	n.s.
	Tourette	43	30,65	12,17	15/75	48,01		
GPT U/l	Gesund	42	23,37	14,36	6/76	39,07	-1,471	n.s.
	Tourette	43	33,23	30,16	6/129	46,84		
γGT U/l	Gesund	42	28,76	21,70	6/92	43,13	-0,048	n.s.
	Tourette	43	31,06	36,88	11/215	42,87		
Creatinin	Gesund	43	0,89	0,19	0,49/1,28	46,87	-1,683	n.s.
	Tourette	41	0,82	0,15	0,54/1,10	37,91		
Harnstoff	Gesund	43	31,63	7,24	19/56	46,02	-1,145	n.s.
	Tourette	42	30,68	7,19	15/51	39,90		
TSH basal	Gesund	42	1,73	0,945	0,30/5,15	40,31	-0,341	n.s.
	Tourette	36	1,59	0,70	0,41/3,60	38,56		
CRP mg/dl	Gesund	43	0,37	0,37	0,3/2,6	37,85	-2,013	0,044
	Tourette	39	0,43	0,27	0,3/1,5	45,53		

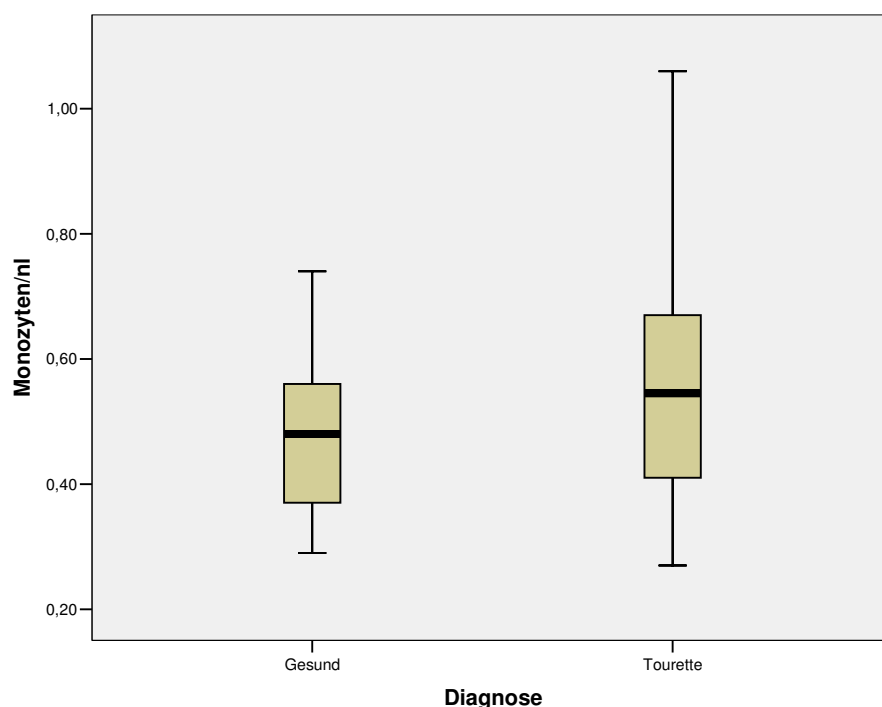
n = Anzahl, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, Min. = Minimum, Max. = Maximum, Z = Prüfgröße, U-Test = Mann-Whitney-U-Test

In der Untergruppenanalyse zeigten sich bezüglich der Parameter der klinischen Chemie im Kruskal-Wallis-Test keine Unterschiede bezüglich der Altersgruppen, der Medikation und dem Vorliegen von Zwangssymptomen.

3.4 Leukozytensubpopulationen im Differentialblutbild

Im deskriptiven Vergleich der Leukozytensubpopulationen der Tourette-Patienten und der gesunden Kontrollgruppe ergaben sich in der graphischen Darstellung (Abbildung 9) am deutlichsten Hinweise auf Unterschiede im Hinblick auf die Monozytenzahl/nl. Diese war bei den Tourette-Patienten höher. Leukozyten/nl und Neutrophile/nl waren tendenziell ebenso in der Patientengruppe höher. Die Mittelwerte für Lymphozyten/nl, Eosinophile/nl und Basophile/nl verhielten sich in beiden Gruppen annähernd gleich.

Abbildung 9
Boxplot-Darstellung der Monozytenzahl/nl



Im Test auf signifikante Unterschiede zwischen Tourette-Patienten und Gesunden ergab sich eine signifikant höhere Monozytenzahl/nl bei Tourette-Patienten ($p = 0,031$). Für die Leukozytengesamtzahl und die anderen Leukozyten-subpopulationen ergaben sich keine Signifikanzen (Tabelle 14).

Tabelle 14
Auswertung der Leukozyten-Subpopulationen im Differentialblutbild

	Gruppe	n	MW	SD	Min./Max.	Mittlerer Rang	Z	U-Test p-Werte
Leukozyten/nl	Gesund	42	6,62	1,52	3,94-9,90	41,80	-0,948	n.s.
	Tourette	46	7,00	1,73	3,93-10,56	46,97		
Lymphozyten/nl	Gesund	42	2,23	0,66	1,11-4,05	46,45	-0,685	n.s.
	Tourette	46	2,11	0,65	0,77-3,27	42,72		
Monozyten/nl	Gesund	42	0,47	0,11	0,29-0,74	38,37	-2,152	0,031
	Tourette	46	0,57	0,22	0,27-1,06	50,10		
Neutrophile/nl	Gesund	42	3,67	1,19	1,57-6,80	40,50	-0,160	n.s.
	Tourette	46	4,06	1,33	1,69-7,71	48,15		
Eosinophile/nl	Gesund	42	0,23	0,21	0,03-1,13	44,50	0,000	n.s.
	Tourette	46	0,21	0,14	0,04-0,70	44,50		
Basophile/nl	Gesund	42	0,04	0,03	0,001-0,170	42,44	-0,731	n.s.
	Tourette	46	0,05	0,02	0,02-0,12	46,38		

n = Anzahl, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, Min. = Minimum, Max. = Maximum, Z = Prüfgröße, U-Test = Mann-Whitney-U-Test

In den Untergruppenanalysen für die Monozytenzahl/nl zeigten sich bezüglich der Altersgruppen, dem Vorhandensein von Zwängen und der Einnahme von Medikamenten keine signifikanten Unterschiede im Kruskal-Wallis-Test.

3.5 Monozytensubpopulationen

Bei der Betrachtung der durchflusszytometrisch bestimmten Monozytensubpopulationen ergaben sich keine Unterschiede zwischen Tourette-Patienten und gesunden Kontrollen. Auch die mittlere HLA-DR-Expression war in beiden Gruppen annähernd gleich (Tabelle 15).

Tabelle 15
Auswertung der durchflusszytometrisch bestimmten Monozytensubpopulationen

	Gruppe	n	MW	SD	Min./Max.	Mittlerer Rang	Z	U-Test p-Wert
CD14+ %	Gesund	43	88,86	7,07	74,18/99,26	45,51	-0,181	n.s.
	Tourette	46	88,35	4,29	62,80/98,14	44,52		
CD14+ CD16+ %	Gesund	43	7,12	4,29	0,31/19,83	46,35	-0,476	n.s.
	Tourette	46	8,09	10,00	0,11/67,29	43,74		
CD14+ CD16- %	Gesund	43	86,98	6,99	72,27/97,18	43,92	-0,382	n.s.
	Tourette	46	85,60	14,22	5,36/95,68	46,01		
CD14+ CD64+ %	Gesund	43	81,40	9,21	56,16/94,89	49,21	-1,486	n.s.
	Tourette	46	76,67	12,98	39,43/92,98	41,07		
HLA-DR Expression mean	Gesund	43	93,15	52,44	11,73/243,06	43,21	-0,632	n.s.
	Tourette	46	103,08	59,56	26,23/248,26	46,67		

n = Anzahl, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, Min. = Minimum, Max. = Maximum, Z = Prüfgröße, U-Test = Mann-Whitney-U-Test, mean = mittlere Fluoreszenzintensität

In den Untergruppenanalysen ergaben sich für die Altersgruppen und das zusätzliche Vorliegen von Zwängen keine Unterschiede. Für den Vergleich zwischen medizierten Tourette-Patienten, nicht medizierten Tourette-Patienten und Gesunden zeigten sich im Kruskal-Wallis-Test Signifikanzen bei der mittleren HLA-DR-Expression (Tabelle 16).

Tabelle 16
Vergleich zwischen Gesunden, medizierten und nicht medizierten Tourette-Patienten mittels Kruskal-Wallis-Test

Mittlere HLA-DR Expression	Gruppe	n	Mittlerer Rang	Statistik mit Kruskal-Wallis-Test		
				Chi-Quadrat	df	Asymptotische Signifikanz
	Gesunde	43	43,21	6,387	2	0,041
	Tourette Medikamente	30	39,87			
	Tourette ohne Medikamente	16	59,44			

n = Anzahl, df = Freiheitsgrade

In den Post Hoc-Tests zeigten sich keine Unterschiede zwischen Gesunden und medizierten Tourette-Patienten. Auffälligkeiten ergaben sich im Vergleich der Gesunden mit nicht medizierten Tourette-Patienten sowie der medizierten mit nicht medizierten Tourette-Patienten. Einen Überblick gibt Tabelle 17:

Tabelle 17
Post Hoc Analyse bezüglich der mittleren HLA-DR Expression. Verglichen werden die gesunde Kontrollgruppe, medizierte und nicht medizierte Tourette-Patienten

Gruppen	n		Mittlere HLA-DR Expression
Ges. vs.	43	Mittlerer Rang	38,19
		Rangsumme	1642
TS med.	30	Mittlerer Rang	35,30
		Rangsumme	1059
		Z	-0,572
		p-Wert*	0,567
Ges. vs.	43	Mittlerer Rang	27,02
		Rangsumme	1162
TS nicht med.	16	Mittlerer Rang	38,00
		Rangsumme	608
		Z	-2,182
		p-Wert*	0,029
TS med. vs.	30	Mittlerer Rang	20,07
		Rangsumme	602
TS nicht med.	16	Mittlerer Rang	29,94
		Rangsumme	479
		Z	-2,353
		p-Wert*	0,018

TS= Tourette Syndrom, Ges. = Gesunde, med. = mediziert, MW = Mittelwert,

Mittl. Rang = Mittlerer Rang, SD = Standardabweichung, Z = Prüfgröße,

* statistischer Test: Mann-Whitney-U-Test, asymptotische Signifikanz (2-seitig)

Bei der Bildung von Korrelationen ergaben sich innerhalb der Tourette-Gruppe zwischen Leukozyten- und Monozytensubpopulationen Auffälligkeiten. Zwischen der CD14⁺CD64⁺ Monozytensubpopulation und den im Differentialblutbild bestimmten Leukozyten/nl ($p = 0,04$), Lymphozyten ($p = 0,037$) und Monozyten ($p < 0,001$) bestanden jeweils signifikant positive Korrelationen. Zwischen CD14⁺ Monozyten und Leukozyten/nl ($p = 0,03$) und Monozyten/nl ($p = 0,008$) bestanden ebenso positive Korrelationen. Einen Überblick gibt Tabelle 18.

Tabelle 18
Korrelationen zwischen Leukozyten- und Monozytensubpopulationen innerhalb der Tourette-Gruppe

	CD14 ⁺ CD64 ⁺	CD14 ⁺	CD14 ⁺ CD16 ⁺	CD14 ⁺ CD16 ⁻	Mittlere HLA-DR-Expression
Leukozyten/nl	$r = 0,305$ $p = 0,040$	$r = 0,321$ $p = 0,030$	n.s.	n.s.	$r = -0,313$ $p = 0,034$
Lymphozyten/nl	$r = 0,309$ $p = 0,037$	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Monozyten/nl	$r = 0,520$ $p = 0,000$	$r = 0,389$ $p = 0,008$	n.s.	n.s.	n.s.
Neutrophile/nl	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	$r = -0,309$ $p = 0,037$
Basophile/nl	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Eosinophile/nl	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

r = Korrelationskoeffizient nach Pearson, p = 2-seitige Signifikanz, n.s. = nicht signifikant

grau = positive Korrelation, schwarz = negative Korrelation

Innerhalb der gesunden Kontrollgruppe zeigten sich negative Korrelationen zwischen Leukozyten/nl und den CD14⁺CD16⁺ Monozyten ($r = -0,319$, $p = 0,039$) sowie zwischen Neutrophilen/nl und den CD14⁺CD16⁺ Monozyten ($r = -0,319$, $p = 0,040$).

Die Monozytensubpopulationen korrelierten wie zu erwarten untereinander. Einen Überblick geben Tabelle 19 und Tabelle 20. Innerhalb der Tourette-Gruppe und der gesunden Kontrollgruppe zeigte sich eine ähnliche Ausprägung der Korrelationen zwischen den Monozytensubpopulationen.

Tabelle 19

Korrelationen zwischen den Monozytensubpopulationen innerhalb der Tourette-Gruppe

	CD14 ⁺ CD64 ⁺	CD14 ⁺	CD14 ⁺ CD16 ⁺	CD14 ⁺ CD16 ⁻	Mittlere HLA-DR Expression
CD14 ⁺ CD64 ⁺		r = 0,486 p = 0,001	n.s.	r = 0,320 p = 0,030	r = - 0,466 p = 0,001
CD14 ⁺	r = 0,486 p = 0,001		r = - 0,653 p = 0,000	r = 0,782 p = 0,000	r = - 0,355 p = 0,015
CD14 ⁺ CD16 ⁺	n.s.	r = - 0,653 p = 0,000		r = - 0,961 p = 0,000	n.s.
CD14 ⁺ CD16 ⁻	r = 0,320 p = 0,303	r = 0,782 p = 0,000	r = - 0,961 p = 0,000		n.s.

r = Korrelationskoeffizient nach Pearson, p = 2-seitige Signifikanz, n.s. = nicht signifikant

grau = positive Korrelation, schwarz = negative Korrelation

Tabelle 20

Korrelationen zwischen den Monozytensubpopulationen innerhalb der gesunden Kontrollgruppe

	CD14 ⁺ CD64 ⁺	CD14 ⁺	CD14 ⁺ CD16 ⁺	CD14 ⁺ CD16 ⁻	Mittlere HLA-DR Expression
CD14 ⁺ CD64 ⁺		r = 0,516 p = 0,000	r = - 0,349 p = 0,022	r = 0,466 p = 0,002	n.s.
CD14 ⁺	r = 0,516 p = 0,000		r = - 0,762 p = 0,000	r = 0,964 p = 0,000	n.s.
CD14 ⁺ CD16 ⁺	r = - 0,349 p = 0,022	r = - 0,762 p = 0,000		r = - 0,827 p = 0,000	n.s.
CD14 ⁺ CD16 ⁻	r = 0,466 p = 0,002	r = 0,964 p = 0,000	r = - 0,827 p = 0,000		n.s.

r = Korrelationskoeffizient nach Pearson, p = 2-seitige Signifikanz, n.s. = nicht signifikant

grau = positive Korrelation, schwarz = negative Korrelation

3.6 TNF-alpha und IL-6

Bei den Tourette-Patienten zeigten sich im Vergleich zu den gesunden Kontrollen signifikant niedrigere TNF- α Konzentrationen im Serum ($p=0,015$), wie in Abbildung 10 graphisch dargestellt. Bezüglich der IL-6 Konzentration im Serum ergab sich kein Unterschied. Einen Überblick über die Mittelwerte und die statistische Auswertung gibt Tabelle 21.

Abbildung 10
Boxplot-Darstellung der TNF- α Konzentrationen im Serum

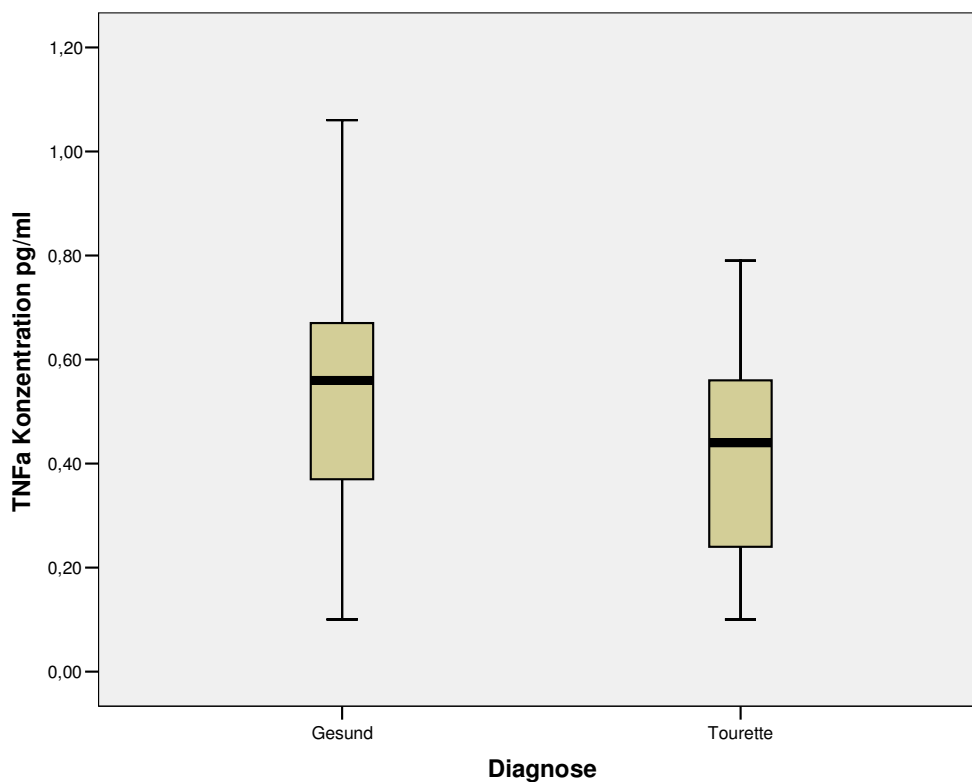


Tabelle 21
Auswertung von TNF- α und IL-6 im Gruppenvergleich

	Gruppe	n	Mittelwerte	SD	Min./Max.	Mittlerer Rang	Z	U-Test p-Wert
IL-6	Gesund	35	1,74	1,64	0,11/6,07	33,43	-1,215	n.s.
	Tourette	37	1,89	1,71	0,11/8,30	39,41		
TNF- α	Gesund	37	0,56	0,25	0,10/1,06	45,39	-2,421	0,015
	Tourette	40	0,43	0,18	0,10/0,79	33,09		

n = Anzahl, SD = Standardabweichung, Min. = Minimum, Max. = Maximum, Z = Prüfgröße, U-Test = Mann Whitney-U-Test

In den Untergruppenanalysen zeigten sich für TNF- α im Kruskal-Wallis-Test für die Gruppenunterteilung nach Medikation, Alter und Zwängen jeweils Signifikanzen (Tabelle 22).

Tabelle 22
Darstellung der Ergebnisse der Untergruppenanalyse bezüglich Medikation, Alter und Zwangssymptomen für TNF- α .

TNF- α Konzentration	Gruppe	n	Mittlerer Rang	Statistik mit Kruskal-Wallis-Test		
				Chi- Quadrat	df	Asymptotische Signifikanz
	Gesunde	37	45,29	6,318	2	0,042
	Tourette Medikamente	25	31,24			
	Tourette ohne Medikamente	15	36,17			
	Gesunde Erwachsene	27	41,70	9,112	3	0,028
	Gesunde Kinder	10	55,35			
	Tourette Kinder	14	36,54			
	Tourette Erwachsene	26	31,23			
	Gesunde	37	45,39	6,318	2	0,042
	Tourette mit Zwang	31	30,18			
	Tourette ohne Zwang	9	43,11			

n = Anzahl, df = Freiheitsgrad

In den Post-Hoc Mann-Whitney-U-Tests ergaben sich für TNF- α Signifikanzen im Vergleich zwischen Tourette-Kindern und gesunden Kindern, im Vergleich zwischen Gesunden und medizierten Tourette-Patienten und im Vergleich zwischen Gesunden und Tourette-Patienten mit Zwangssymptomen (Tabelle 23).

Tabelle 23
Darstellung der signifikanten Ergebnisse der Post Hoc-Analysen für TNF- α

Gruppen	n		TNF- α Konzentration
Ges. Kinder vs.	10	Mittlerer Rang	16,00
		Rangsumme	160
TS Kinder	14	Mittlerer Rang	10,00
		Rangsumme	140
		Z	-2,062
		p-Wert*	0,042
Ges. vs.	37	Mittlerer Rang	36,03
		Rangsumme	1333
TS med.	25	Mittlerer Rang	24,80
		Rangsumme	620
		Z	-2,414
		p-Wert*	0,016
Ges. vs.	37	Mittlerer Rang	40,49
		Rangsumme	1498
TS mit Zwang	31	Mittlerer Rang	27,35
		Rangsumme	848
		Z	-2,738
		p-Wert*	0,006

TS= Tourette Syndrom, Ges. = Gesunde, med. = mediziert, MW = Mittelwert,

Mittl. Rang = Mittlerer Rang, SD = Standardabweichung, Z = Prüfgröße,

* statistischer Test: Mann-Whitney-U-Test, asymptotische Signifikanz (2-seitig)

Für IL-6 ergaben sich im Kruskal-Wallis-Test keine Unterschiede bezüglich der Untergruppenanalyse.

3.7 sTNF-R1

Die sTNF-R1 Konzentration im Serum lag bei Tourette-Patienten im Vergleich zu den Gesunden tendenziell höher. Eine Signifikanz wurde aber verfehlt (Tabelle 24). Auch in den Untergruppenanalysen ergaben sich keine Unterschiede.

Tabelle 24
Auswertung der sTNF-R1-Konzentration im Gruppenvergleich

	Gruppe	n	Mittel- werte	SD	Min./Max.	Mittlerer Rang	Z	U-Test p-Wert
sTNF- R1	Gesund	41	232,50	43,59	172,16/390,39	38,22	-1,724	0,085
	Tourette	44	257,66	57,26	169,07/410,39	47,45		

n = Anzahl, SD = Standardabweichung, Min. = Minimum, Max. = Maximum, Z= Prüfgröße,
U-Test = Mann- Whitney-U-Test

Bei der Korrelation mit dem Schweregrad der Erkrankung zeigten sich positive signifikante Korrelationen zwischen der sTNF-R1-Konzentration im Serum und der Höhe der TSGS ($r = 0,359$, $p = 0,017$) und des CGI ($r = 0,365$, $p = 0,015$). Es ergab sich außerdem eine positive Korrelation zu den CD14+CD64+ Monozyten ($r = 0,386$, $p = 0,01$).

3.8 Neopterin

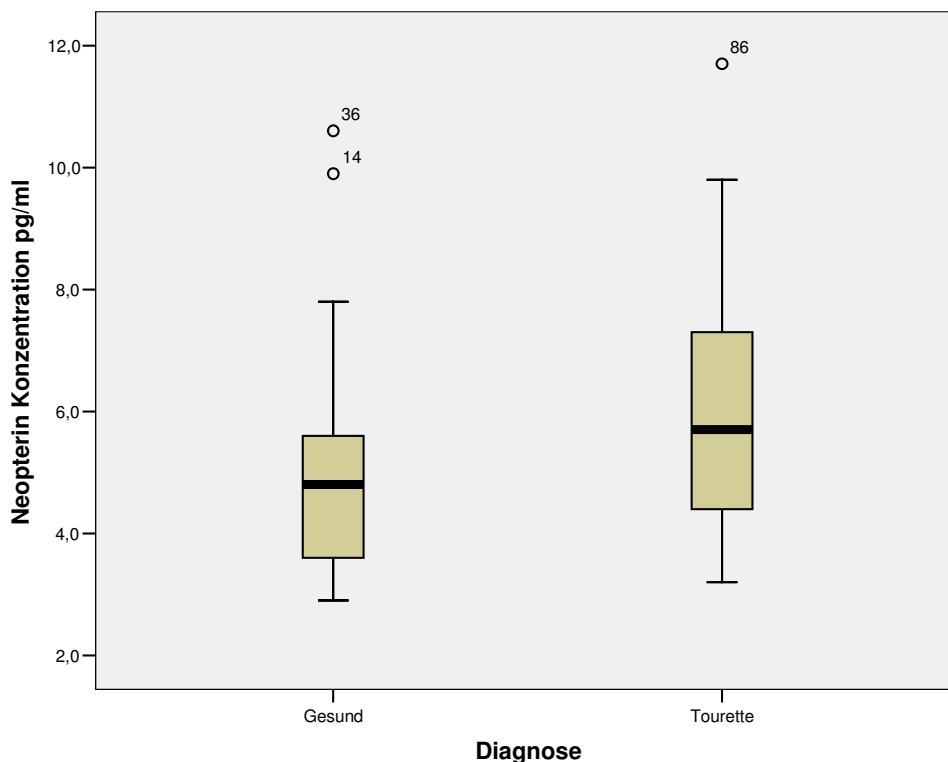
Im Vergleich zwischen der Tourette-Gruppe und den gesunden Kontrollen zeigte sich bei den Tourette-Patienten eine signifikant höhere Neopterin-Konzentration im Serum ($p = 0,037$) (Tabelle 25, Abbildung 11).

Tabelle 25
Auswertung der Neopterin-Konzentration im Gruppenvergleich

	Gruppe	n	Mittelwerte	SD	Min./Max.	Mittlerer Rang	Z	U-Test p-Wert
Neopterin	Gesund	42	5,19	1,84	2,90/10,60	37,36	-2,084	0,037
	Tourette	43	6,03	2,19	3,20/11,70	48,51		

n = Anzahl, SD = Standardabweichung, Min. = Minimum, Max. = Maximum, Z = Prüfgröße, U-Test = Mann-Whitney-U-Test

Abbildung 11
Boxplot-Darstellung der Neopterin Konzentrationen (14,36,86 = Ausreißer)



Die Untergruppenanalyse ergab im Kruskal-Wallis-Test bezüglich Medikation, Alter und Zwangssymptomen Auffälligkeiten (Tabelle 26).

Tabelle 26
Darstellung der Untergruppenanalysen für die Neopterin-Konzentration im Serum bezüglich Medikation, Alter und Zwangssymptomen.

Neopterin Konzentration	Gruppe	n	Mittlerer Rang	Statistik mit Kruskal-Wallis-Test		
				Chi- Quadrat	df	Asymptotische Signifikanz
	Gesunde	42	37,36	6,061	2	0,049
	Tourette Medikamente	28	52,07			
	Tourette ohne Medikamente	15	41,87			
	Gesunde Erwachsene	32	39,25	8,245	3	0,041
	Gesunde Kinder	10	31,30			
	Tourette Kinder	14	38,96			
	Tourette Erwachsene	29	53,12			
	Gesunde	42	37,36	6,996	2	0,030
	Tourette mit Zwang	31	52,32			
	Tourette ohne Zwang	12	38,67			

n = Anzahl, df = Freiheitsgrad

In den Post Hoc-Tests ergaben sich signifikante Unterschiede zwischen gesunden Erwachsenen und erwachsenen Tourette-Patienten, zwischen Gesunden und medizierten Tourette-Patienten sowie zwischen Gesunden und Tourette-Patienten mit Zwangssymptomen (Tabelle 27).

Tabelle 27
Darstellung der signifikanten Ergebnisse der Post Hoc-Tests für Neopterin

Gruppen	n		Auswertung Neopterin Konzentration
Ges. Erwachsene vs. TS Erwachsene	32	Mittlerer Rang	26,20
		Rangsumme	838,50
	29	Mittlerer Rang	36,29
		Rangsumme	1052,50
		Z	-2,218
		p-Wert*	0,027
Ges. vs. TS med.	42	Mittlerer Rang	30,61
		Rangsumme	1285,50
	28	Mittlerer Rang	42,84
		Rangsumme	1199,50
		Z	-2,465
		p-Wert*	0,014
Ges. vs. TS mit Zwang	42	Mittlerer Rang	31,69
		Rangsumme	1331,00
	31	Mittlerer Rang	44,19
		Rangsumme	1370,00
		Z	-2,490
		p-Wert*	0,013

TS= Tourette Syndrom, Ges. = Gesunde, med. = mediziert, MW = Mittelwert,

Mittl. Rang = Mittlerer Rang, SD = Standardabweichung, Z = Prüfgröße,

* statistischer Test: Mann-Whitney-U-Test, asymptotische Signifikanz (2-seitig)

Bei der Korrelation von Alter und Neopterin-Konzentration im Serum ergaben sich eine signifikante positive Korrelationen sowohl in der Tourette-Gruppe ($r = 0,355$, $p = 0,020$) als auch in der gesunden Kontrollgruppe ($r = 0,345$, $p = 0,025$).

3.9 IL1-ra

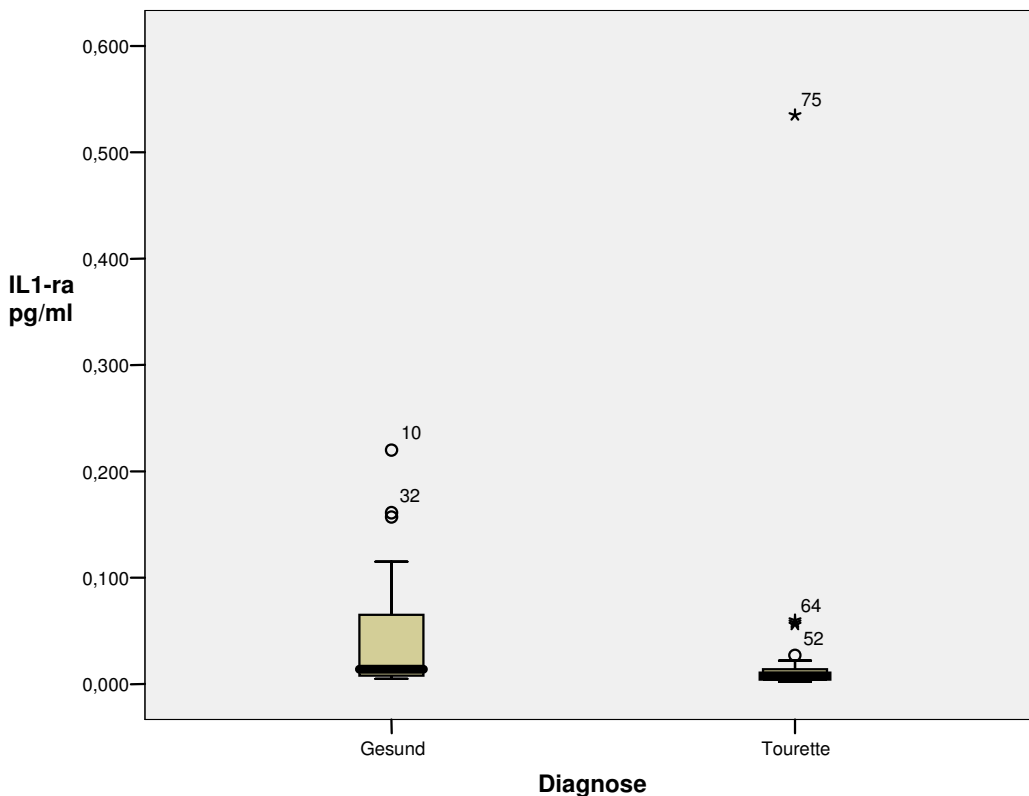
Die IL1-ra Konzentration im Serum war bei den Tourette-Patienten signifikant niedriger als bei den Gesunden ($p = 0,005$) (Tabelle 28, Abbildung 12).

Tabelle 28
Auswertung der IL1-ra Konzentration im Gruppenvergleich

	Gruppe	n	Mittelwerte	SD	Min./Max.	Mittlerer Rang	Z	U-Test p-Wert
IL-1-ra	Gesund	42	0,041	0,055	0,005/0,220	51,24	-2,813	0,005
	Tourette	44	0,028	0,091	0,002/0,535	36,11		

n = Anzahl, SD = Standardabweichung, Min. = Minimum, Max. = Maximum, Z = Prüfgröße, U-Test = Mann-Whitney-U-Test

Abbildung 12
Boxplot-Darstellung der IL1-ra Konzentrationen (10, 32, 75, 64, 52 = Ausreißer)



In den Untergruppenanalysen zeigten sich sowohl für die Altersgruppen als auch für Medikation und Zwänge im Kruskal-Wallis-Test Unterschiede (Tabelle 29).

Tabelle 29
Darstellung der Untergruppenanalysen für die IL1-ra-Konzentration im Serum bezüglich Medikation, Alter und Zwangssymptomen.

IL1-ra Konzentration	Gruppe	n	Mittlerer Rang	Statistik mit Kruskal-Wallis-Test		
				Chi- Quadrat	df	Asymptotische Signifikanz
	Gesunde	42	51,24	8,974	2	0,011
	Tourette Medikamente	28	39,04			
	Tourette ohne Medikamente	16	31,00			
	Gesunde Erwachsene	32	46,36	14,142	3	0,003
	Gesunde Kinder	10	66,85			
	Tourette Kinder	15	41,53			
	Tourette Erwachsene	29	33,31			
	Gesunde	42	51,24	7,988	2	0,018
	Tourette mit Zwang	32	36,73			
	Tourette ohne Zwang	12	34,46			

n = Anzahl, df = Freiheitsgrad

In den Post Hoc Mann-Whitney-U-Tests zeigten sich bei der Aufteilung nach Altersgruppen signifikante Unterschiede zwischen gesunden Kindern und Erwachsenen, gesunden Kindern und Tourette-Kindern und gesunden Erwachsenen und erwachsenen Tourette-Patienten (Tabelle 30).

Tabelle 30
Darstellung der signifikanten Ergebnisse der Post Hoc-Tests für IL1-ra für die Altersgruppen

Gruppen	n		Auswertung IL1-ra Konzentration
Ges. Erwachsene vs. TS Erwachsene	32	Mittlerer Rang	35,48
		Rangsumme	1135,50
	29	Mittlerer Rang	26,05
		Rangsumme	755,50
		Z	-2,080
p-Wert*	0,038		
Ges. Erwachsene vs. Ges. Kind	32	Mittlerer Rang	19,02
		Rangsumme	608,50
	10	Mittlerer Rang	29,45
		Rangsumme	294,50
		Z	-2,352
p-Wert*	0,017		
Ges. Kind vs. TS Kind	10	Mittlerer Rang	17,05
		Rangsumme	170,50
	15	Mittlerer Rang	10,30
		Rangsumme	154,50
		Z	-2,248
p-Wert*	0,025		

TS= Tourette Syndrom, Ges. = Gesunde, MW = Mittelwert,

Mittl. Rang = Mittlerer Rang, SD = Standardabweichung, Z = Prüfgröße,

* statistischer Test: Mann-Whitney-U-Test, asymptotische Signifikanz (2-seitig)

Für den Parameter Medikation zeigten sich signifikante Unterschiede im Vergleich zwischen Gesunden und medizierten Tourette-Patienten und zwischen Gesunden und nicht medizierten Tourette-Patienten. Keine Unterschiede ergaben sich innerhalb der Tourette-Gruppe. Bezüglich des Parameters zusätzliche Zwangssymptome zeigten sich im Vergleich zwischen Gesunden und Tourette-Patienten mit Zwängen sowie Gesunden und Tourette-Patienten ohne Zwänge signifikante Unterschiede. Innerhalb der Tourette-Gruppe ergaben sich keine Unterschiede (Tabelle 31).

Tabelle 31
Darstellung der signifikanten Ergebnisse der Post Hoc-Tests für IL1-ra für die
Parameter Medikamente und Zwangssymptome

Gruppen	n		Auswertung IL1-ra Konzentration
Ges. vs. TS med.	42	Mittlerer Rang	39,70
		Rangsumme	1667,50
	28	Mittlerer Rang	29,20
		Rangsumme	817,50
		Z	-2,120
p-Wert*	0,034		
Ges. vs. TS nicht med.	42	Mittlerer Rang	33,04
		Rangsumme	1387,50
	16	Mittlerer Rang	20,22
		Rangsumme	323,50
		Z	-2,588
p-Wert*	0,010		
Ges. vs. TS mit Zwang	42	Mittlerer Rang	42,73
		Rangsumme	1794,50
	32	Mittlerer Rang	30,64
		Rangsumme	980,50
		Z	-2,399
p-Wert*	0,016		
Ges. vs. TS ohne Zwang	42	Mittlerer Rang	30,01
		Rangsumme	1260,50
	12	Mittlerer Rang	18,71
		Rangsumme	224,50
		Z	-2,200
p-Wert*	0,028		

TS= Tourette Syndrom, Ges. = Gesunde, med. = mediziert, MW = Mittelwert,

Mittl. Rang = Mittlerer Rang, SD = Standardabweichung, Z = Prüfgröße,

* statistischer Test: Mann-Whitney-U-Test, asymptotische Signifikanz (2-seitig)

3.10 sCD14

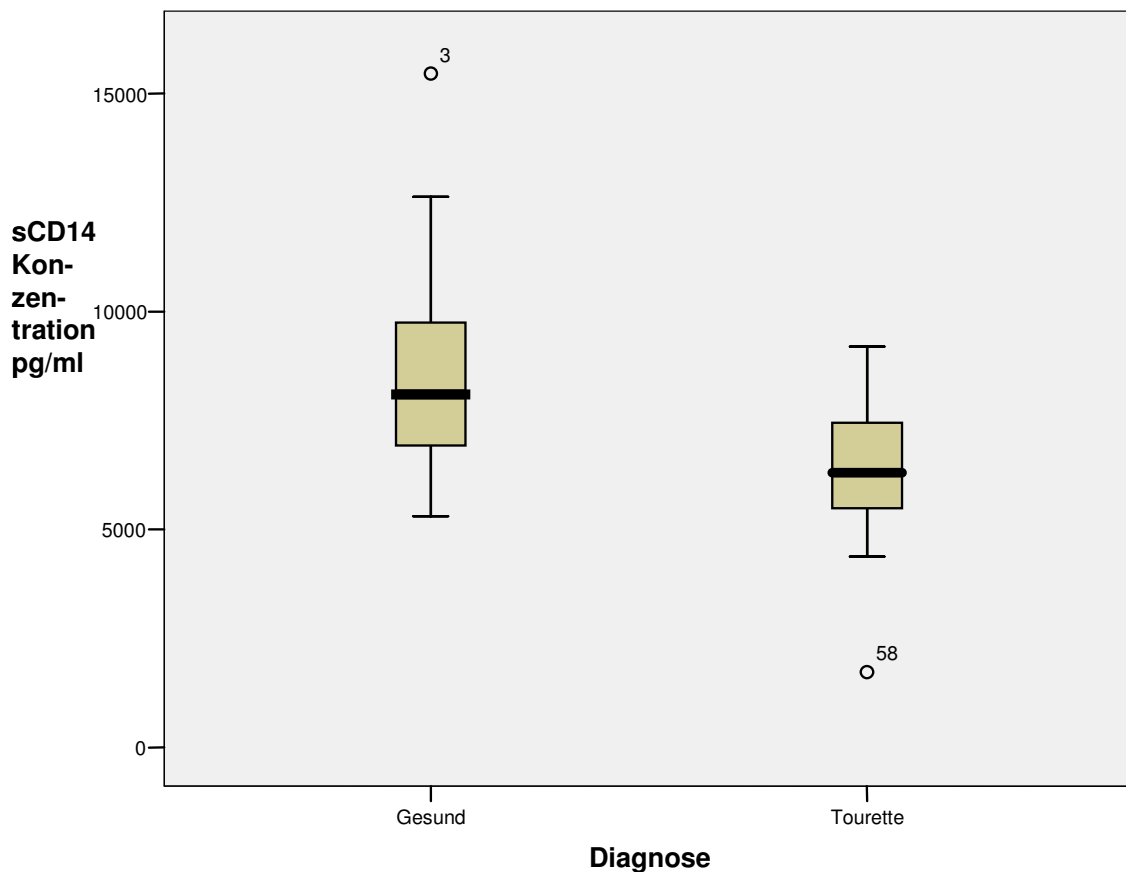
Bezüglich der sCD14-Konzentration im Serum ergab sich ein deutlich signifikanter Unterschied zwischen Tourette-Patienten und Gesunden. Bei den Gesunden zeigten sich signifikant höhere Werte als bei den Tourette-Patienten ($p < 0,001$) (Tabelle 32, Abbildung 13).

Tabelle 32
Auswertung von sCD14 im Gruppenvergleich

	Gruppe	n	Mittelwerte	SD	Min./Max.	Mittlerer Rang	Z	U-Test p-Wert
sCD14 in pg/ml	Gesund	41	8404,45	2007,96	5302/15459	56,68	-4,934	<0,001
	Tourette	44	6366,24	1431,73	1726/9199	30,25		

n = Anzahl, SD = Standardabweichung, Min. = Minimum, Max. = Maximum, Z = Prüfgröße, U-Test = Mann-Whitney-U-Test

Abbildung 13
Boxplot-Darstellung der sCD14-Konzentrationen (3, 58 = Ausreißer)



In der Untergruppenanalyse zeigten sich bezüglich Alter, Medikation und Zwangssymptomen deutliche Signifikanzen (Tabelle 33).

Tabelle 33
Darstellung der Untergruppenanalysen für die sCD14-Konzentration im Serum bezüglich Medikation, Alter und Zwangssymptomen

IL1-ra Konzentration	Gruppe	n	Mittlerer Rang	Statistik mit Kruskal-Wallis-Test		
				Chi- Quadrat	df	Asymptotische Signifikanz
	Gesunde	42	56,68	24,344	2	0,000
	Tourette Medikamente	28	30,27			
	Tourette ohne Medikamente	16	30,22			
	Gesunde Erwachsene	32	57,55	25,177	3	0,000
	Gesunde Kinder	9	53,61			
	Tourette Kinder	15	26,07			
	Tourette Erwachsene	29	32,41			
	Gesunde	41	56,68	25,431	2	0,000
	Tourette mit Zwang	32	27,88			
	Tourette ohne Zwang	12	36,58			

n = Anzahl, df = Freiheitsgrade

In den Post Hoc Mann-Whitney-U-Tests ergaben sich signifikante Unterschiede zwischen gesunden Erwachsenen und erwachsenen Tourette-Patienten sowie zwischen gesunden Kindern und Tourette-Kindern. Bezüglich der Medikation ergaben sich Signifikanzen im Vergleich zwischen Gesunden und Tourette-Patienten mit und ohne Medikation. Bezüglich des Parameters Zwänge zeigten sich in den Post Hoc-Tests signifikante Werte im Vergleich zwischen Gesunden und Tourette-Patienten mit und ohne Zwangssymptome (Tabelle 34).

Legende zu Tabelle 34: TS= Tourette Syndrom, Ges. = Gesunde, med. = mediziert,
 MW = Mittelwert, Mittl. Rang = Mittlerer Rang, SD = Standardabweichung, Z = Prüfgröße,
 * statistischer Test: Mann-Whitney-U-Test, asymptotische Signifikanz (2-seitig)

Tabelle 34

Darstellung der signifikanten Ergebnisse der Post Hoc-Tests für sCD14 für Altersgruppen, Medikation und Zwangssymptome

Gruppen	n		Auswertung IL1-ra Konzentration
Ges. Erwachsene vs. TS Erwachsene	32	Mittlerer Rang	39,48
		Rangsumme	1263,50
	29	Mittlerer Rang	21,64
		Rangsumme	627,50
		Z	-3,921
p-Wert*	0,000		
Ges. Kind vs. TS Kind	9	Mittlerer Rang	17,72
		Rangsumme	159,50
	15	Mittlerer Rang	9,37
		Rangsumme	140,50
		Z	-2,803
p-Wert*	0,005		
Ges. vs. TS med.	41	Mittlerer Rang	44,04
		Rangsumme	1805,50
	28	Mittlerer Rang	21,77
		Rangsumme	609,50
		Z	-4,528
p-Wert*	0,000		
Ges. vs. TS nicht med.	41	Mittlerer Rang	33,65
		Rangsumme	1379,50
	16	Mittlerer Rang	17,09
		Rangsumme	273,50
		Z	-3,383
p-Wert*	0,001		
Ges. vs. TS mit Zwang	41	Mittlerer Rang	47,67
		Rangsumme	1954,50
	32	Mittlerer Rang	223,33
		Rangsumme	746,50
		Z	-4,864
p-Wert*	0,000		
Ges. vs. TS ohne Zwang	41	Mittlerer Rang	30,01
		Rangsumme	1230,50
	12	Mittlerer Rang	16,71
		Rangsumme	200,50
		Z	-2,625
p-Wert*	0,009		

3.11 Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse

In den folgenden Tabellen soll eine Übersicht über die wichtigsten Ergebnisse gegeben werden.

Tabelle 35 zeigt die Ergebnisse der wichtigsten Parameter im Gruppenvergleich zwischen Tourette-Patienten und Gesunden.

Tabelle 35
Mann-Whitney-U-Test zum Vergleich der Tourette-Patienten und der gesunden Kontrollgruppe

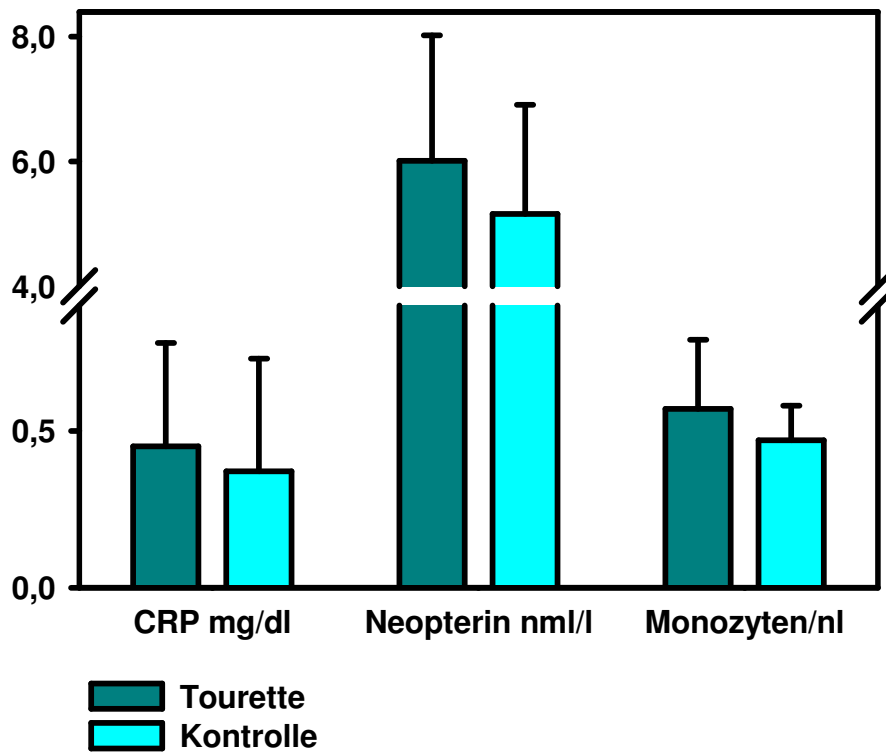
	Gruppe	n	Mittel- werte	SD	Min./Max.	Mittlerer Rang	Z	U-Test p-Wert
Monozyten (/nl)	Ges.	42	0,47	0,11	0,29/0,47	38,37	-2,152	0,031
	TS	46	0,57	0,22	0,27/1,06	50,10		
CRP (mg/dl)	Ges.	43	0,37	0,36	0,3/2,6	37,85	-2,013	0,044
	TS	39	0,45	0,33	0,3/1,8	45,53		
IL-6 (pg/ml)	Ges.	35	1,74	1,64	0,11/6,07	33,43	-1,215	n.s.
	TS	37	1,89	1,71	0,11/8,30	39,41		(0,224)
TNF-α (pg/ml)	Ges.	37	0,56	0,25	0,10/1,06	45,39	-2,421	0,015
	TS	40	0,43	0,18	0,10/0,79	33,09		
sTNF-R1 (pg/ml)	Ges.	41	232,50	43,59	172,16/390,39	38,22	-1,724	n.s.
	TS	44	257,66	57,26	169,07/410,39	47,45		(0,085)
Neopterin (nmol/l)	Ges.	42	5,19	1,84	2,90/10,60	37,36	-2,084	0,037
	TS	43	6,03	2,19	3,20/11,70	48,51		
IL-1-ra (pg/ml)	Ges.	42	0,041	0,055	0,005/0,220	51,24	-2,813	0,005
	TS	44	0,028	0,091	0,002/0,535	36,11		
sCD14 (ng/ml)	Ges.	41	8404,45	2007,96	5302/15459	56,68	-4,934	<0,001
	TS	44	6366,24	1431,73	1726/9199	30,25		

Ges. = Gesunde, TS = Tourette-Patienten, n = Anzahl, SD = Standardabweichung, Min. =

Minimum, Max. = Maximum, Z = Prüfgröße, U-Test = Mann-Whitney-U-Test, n.s. = nicht signifikant

Für CRP, Neopterin und die Gesamtzahl der Monozyten im Blut zeigten sich bei den Tourette-Patienten jeweils höhere Werte als bei den Gesunden (Abbildung 14).

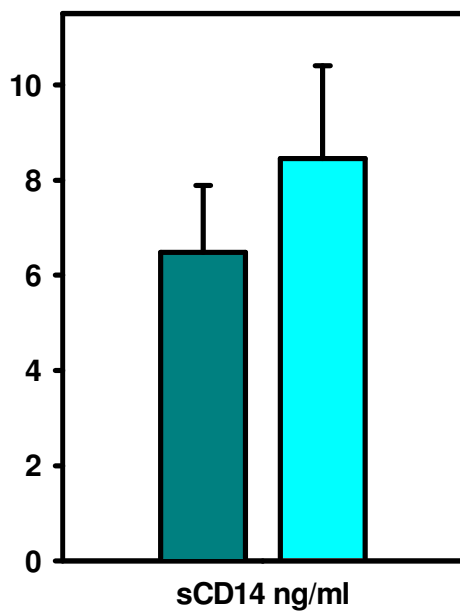
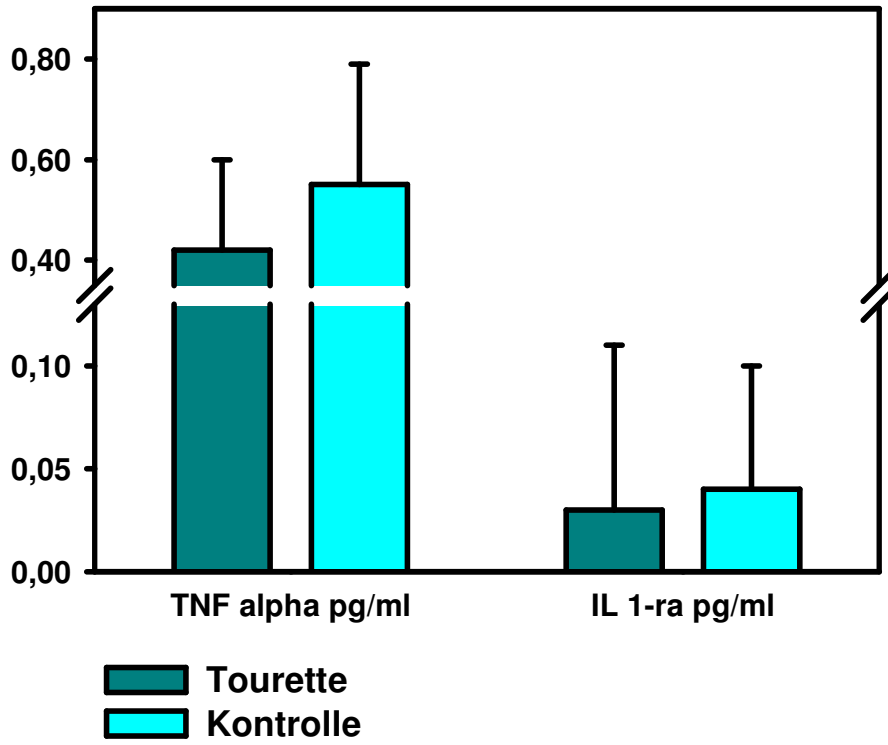
Abbildung 14
Graphische Darstellung der CRP, Neopterin und Monozyten-Werte im Vergleich zwischen Tourette-Patienten und Gesunden (Signifikanzen siehe Tabelle 35)



Für $\text{TNF-}\alpha$, IL1-ra und sCD14 waren die Werte bei den Tourette-Patienten niedriger als bei den Gesunden (Abbildung 15).

Abbildung 15

Graphische Darstellung von TNF- α , IL1-ra und sCD14 im Vergleich zwischen Tourette-Patienten und Gesunden (Signifikanzen siehe Tabelle 35)



Einen Überblick über die wichtigsten Ergebnisse der Untergruppenanalysen mit Post Hoc-Analysen zeigen die folgenden Tabellen (Tabelle 36, Tabelle 37, Tabelle 38, Tabelle 39)

Tabelle 36

Ergebnisse der Untergruppenanalysen bezüglich des Parameters Altersgruppe für TNF- α , sCD14, IL1-ra und Neopterin

		TNF-α (pg/ml)	sCD14 (ng/ml)	IL1-ra (pg/ml)	Neopterin (nmol/l)
Ges. Kinder vs.	MW \pm SD	0.67 \pm 0.24	8.0 \pm 1.4	0.056 \pm 0.051	4.70 \pm 1.09
	Mittl. Rang	24.00	18.89	29.45	18.80
Ges. Erwachsene	MW \pm SD	0.51 \pm 0.23	8.6 \pm 2.1	0.035 \pm 0.058	5.31 \pm 1.90
	Mittl. Rang	17.15	21.59	19.02	22.34
	p-Wert* (n)	n.s. (10/27)	n.s. (9/32)	0.017 (10/32)	n.s. (10/32)
TS Kinder vs.	MW \pm SD	0.46 \pm 0.20	6.3 \pm 1.0	0.056 \pm 0.136	5.35 \pm 1.79
	Mittl. Rang	22.50	20.37	25.07	17.54
TS Erwachsene	MW \pm SD	0.41 \pm 0.18	6.6 \pm 1.6	0.014 \pm 0.096	6.32 \pm 2.07
	Mittl. Rang	19.42	23.60	21.17	24.16
	p-Wert* (n)	n.s. (14/26)	n.s. (15/29)	n.s. (15/29)	n.s. (14/29)
Ges. Kinder vs.	MW \pm SD	0.67 \pm 0.24	8.0 \pm 1.4	0.056 \pm 0.051	4.70 \pm 1.09
	Mittl. Rang	16.00	17.72	17.05	11.25
TS Kinder	MW \pm SD	0.46 \pm 0.20	6.3 \pm 1.0	0.056 \pm 0.136	5.35 \pm 1.79
	Mittl. Rang	10.00	9.37	10.30	13.39
	p-Wert* (n)	0.042 (10/14)	0.003 (9/15)	0.023 (10/15)	n.s. (10/14)
Ges. Erwachsene vs.	MW \pm SD	0.51 \pm 0.23	8.6 \pm 2.1	0.035 \pm 0.058	5.31 \pm 1.90
	Mittl. Rang	30.54	39.48	35.48	26.20
TS Erwachsene	MW \pm SD	0.41 \pm 0.18	6.6 \pm 1.6	0.014 \pm 0.096	6.32 \pm 2.07
	Mittl. Rang	23.33	21.64	26.05	36.29
	p-Wert* (n)	n.s. (27/26)	0.000 (32/29)	0.038 (32/29)	0.027 (32/29)

TS= Tourette Syndrom, Ges. = Gesunde, med. = mediziert, MW = Mittelwert, Mittl. Rang = Mittlerer Rang, SD = Standardabweichung, n.s. = nicht signifikant, *statistischer Test: Mann-Whitney-U-Test

Tabelle 37

Ergebnisse der Untergruppenanalysen bezüglich des Parameters Medikation für TNF- α , sCD14, IL1-ra und Neopterin

		TNF-α (pg/ml)	sCD14 (ng/ml)	IL1-ra (pg/ml)	Neopterin (nmol/l)
TS med. vs.	MW \pm SD	0.41 \pm 0.18	6.4 \pm 1,4	0.018 \pm 0.025	6.17 \pm 1.78
	Mittl. Rang	19.44	23.00	24.34	23.73
TS nicht med.	MW \pm SD	0.44 \pm 0.18	6,5 \pm 1.5	0.045 \pm 0.131	5.71 \pm 2.43
	Mittl. Rang	22.27	21.63	19.28	18.77
	p-Wert* (n)	n.s. (25/15)	n.s. (28/16)	n.s. (28/16)	n.s. (28/15)
Ges. vs.	MW \pm SD	0.55 \pm 0.24	8.4 \pm 2.0	0.041 \pm 0.057	5.16 \pm 1.75
	Mittl. Rang	36.03	44.04	39.70	30.61
TS med.	MW \pm SD	0.41 \pm 0.18	6.4 \pm 1.4	0.018 \pm 0.025	6.17 \pm 1.78
	Mittl. Rang	24.80	21.77	29.20	42.84
	p-Wert* (n)	0.016 (37/25)	0.000 (41/28)	0.034 (42/28)	0.014 (42/28)
Ges. vs.	MW \pm SD	0.55 \pm 0.24	8.4 \pm 2.0	0.041 \pm 0.057	5,16 \pm 1.75
	Mittl. Rang	28.36	33.65	33.04	28.25
TS nicht med.	MW \pm SD	0.44 \pm 0.18	6,5 \pm 1.5	0.045 \pm 0.131	5,71 \pm 2.43
	Mittl. Rang	21.90	17.09	20.22	31.10
	p-Wert* (n)	n.s. (37/15)	0.001 (41/16)	0.010 (42/16)	n.s. (42/15)

TS= Tourette Syndrom, Ges. = Gesunde, med. = mediziert, MW = Mittelwert, Mittl. Rang = Mittlerer Rang, SD = Standardabweichung, n.s. = nicht signifikant, *statistischer Test: Mann-Whitney-U-Test

Tabelle 38

Ergebnisse der Untergruppenanalysen bezüglich des Parameters Zwangssymptome für TNF- α , sCD14, IL1-ra und Neopterin

		TNF-α (pg/ml)	sCD14 (ng/ml)	IL1-ra (pg/ml)	Neopterin (nmol/l)
TS ohne Zwang vs.	MW \pm SD	0.52 \pm 0.17	6.9 \pm 1.3	0.013 \pm 0.014	5.10 \pm 1.28
	Mittl. Rang	18.82	21.05	22.25	16.50
TS mit Zwang	MW \pm SD	0.40 \pm 0.18	6.3 \pm 1.4	0.034 \pm 0.095	6.36 \pm 2.15
	Mittl. Rang	26.28	26.38	22.59	24.13
	p-Wert* (n)	n.s. (9/31)	n.s. (12/32)	n.s. (12/32)	n.s. (12/31)
Ges. vs.	MW \pm SD	0.55 \pm 0.24	8.4 \pm 2,0	0.041 \pm 0.057	5.16 \pm 1.75
	Mittl. Rang	40.49	47.67	42.73	31.69
TS mit Zwang	MW \pm SD	0.40 \pm 0.18	6.3 \pm 1.4	0.034 \pm 0.095	6.36 \pm 2.15
	Mittl. Rang	27.35	23.33	30.64	44.19
	p-Wert* (n)	0.006 (37/31)	0.000 (41/32)	0.016 (42/32)	0.013 (42/31)
Ges. vs.	MW \pm SD	0.55 \pm 0.24	8.4 \pm 2.0	0.041 \pm 0.057	5.16 \pm 1.75
	Mittl. Rang	23.91	30.01	30.01	27.17
TS ohne Zwang	MW \pm SD	0.52 \pm 0.17	6.9 \pm 1.3	0.013 \pm 0.014	5.10 \pm 1.28
	Mittl. Rang	21.83	16.71	18.71	28.67
	p-Wert* (n)	n.s. (37/9)	0.009 (41/12)	0.028 (42/12)	n.s. (42/12)

TS= Tourette Syndrom, Ges. = Gesunde, med. = mediziert, MW = Mittelwert, Mittl. Rang = Mittlerer Rang, SD = Standardabweichung, n.s. = nicht signifikant, *statistischer Test: Mann-Whitney-U-Test

Tabelle 39
Ergebnisse der Untergruppenanalyse bezüglich des Parameters Medikation für die mittlere HLA-DR-Expression

		Mittlere HLA-DR-Expression
Ges. vs.	MW±SD	0.55±0.24
	Mittl. Rang	38.19
TS med.	MW±SD	0.41±0.18
	Mittl. Rang	35.30
	p-Wert* (n)	n.s. (43/30)
Ges. vs.	MW±SD	0.55±0.24
	Mittl. Rang	27.02
TS nicht med.	MW±SD	0.44±0.18
	Mittl. Rang	38.00
	p-Wert* (n)	0.029 (43/16)
TS med. vs.	MW±SD	0.41±0.18
	Mittl. Rang	20.07
TS nicht med.	MW±SD	0.44±0.18
	Mittl. Rang	29.94
	p-Wert* (n)	0.018 (30/16)

TS= Tourette Syndrom, Ges. = Gesunde, med. = mediziert, MW = Mittelwert,
Mittl. Rang = Mittlerer Rang, SD = Standardabweichung, n.s. = nicht signifikant,
*statistischer Test: Mann-Whitney-U-Test

Die wichtigsten Ergebnisse der Korrelationen in der Gruppe der Tourette-Patienten zeigt folgende Übersicht (Tabelle 40).

Tabelle 40
Korrelationen für Neopterin und den sTNF-R1

		Alter	TSGS	CGI
Neopterin	Korrelation nach Pearson	0.355*		
	Signifikanz (2-seitig)	0.020	n.s.	n.s.
	n	43		
sTNF -R1	Korrelation nach Pearson		0.359*	0.365*
	Signifikanz (2-seitig)	n.s.	0.017	0.015
	n		44	44

*Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0.01 (2-seitig) signifikant

		CD14+ CD64+
sTNF-R1	Korrelation nach Pearson	0.386*
	Signifikanz (2-seitig)	0.010
	n	44

* Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05 (2-seitig) signifikant.

4 Diskussion

Es gibt zahlreiche Hinweise, dass Infektionen und postinflammatorische Mechanismen bei einem Teil der Tourette-Patienten an der Pathogenese der Erkrankung beteiligt sind. Da das angeborene Immunsystem mit Monozyten, Makrophagen und Granulozyten als Haupteffektoren als erste Barriere zur Erregerabwehr dient, standen in dieser Arbeit Monozyten, monozytäre Zytokine, Rezeptoren, Rezeptorantagonisten und monozytenassoziierte Aktivierungsmarker wie sCD14 und Neopterin im Mittelpunkt der Untersuchungen. Nach unseren Erkenntnissen ist dies die erste Arbeit, die sich mit dem Thema Monozytenaktivierung bei Tourette-Syndrom beschäftigt.

4.1 Diskussion der Methodik

Untersuchungskollektiv

Es handelte sich um eine explorative Querschnittsuntersuchung bei 46 Tourette-Patienten und 43 gesunden Kontrollen. Vor dem Hintergrund der Inhomogenität der Tourette-Patienten vor allem bezüglich der Medikamenteneinnahme ist die Fallzahl als limitierend anzusehen. Da das Tourette-Syndrom eine seltene Erkrankung ist und viele der Patienten zum Zeitpunkt der Untersuchung Medikamente einnahmen, mussten zum Erreichen der angestrebten Anzahl auch medizierte Patienten untersucht werden. Die Medikamente wurden in beiden Gruppen genau dokumentiert (siehe Anhang I), der Einfluss der Medikation wurde für alle Parameter getestet. Mögliche Einflussfaktoren, die auf das Immunsystem einwirken wie die Geschlechterverteilung, das Alter und Nikotin- und Alkoholkonsum waren in der Tourette-Gruppe und in der gesunden Kontrollgruppe ausgeglichen.

Verarbeitung der Blutproben und Messmethoden

Die Analyse der Monozytensubpopulationen wurde mittels Durchflusszytometrie durchgeführt. 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. In unserer Untersuchung wurde für die durchflusszytometrischen Untersuchungen Frischblut verwendet,

das noch am gleichen Tag verarbeitet und gemessen wurde. So kann am ehesten der in-vivo-Zustand erfasst werden. Für die Zytokinmessungen und die Messungen von sTNF-R1, IL1-ra, sCD14 und Neopterin wurde Serum konsequent innerhalb von 30 Minuten abzentrifugiert, bei -80°C eingefroren und bis zur Verarbeitung gelagert. TNF- α und IL-6 wurden mittels LUMINEX, einer Kombination aus ELISA und Durchflusszytometrie gemessen. Der Vorteil des LUMINEX-Verfahrens ist, dass mehrere Zytokine gleichzeitig gemessen werden können. IL-1, IL10 und INF- γ , die auch bestimmt wurden, konnten aufgrund ihrer geringen Konzentration im Serum von Kontrollen und Tourette-Patienten aber nicht erfasst und ausgewertet werden. sTNF-R1, IL1-ra, sCD14 und Neopterin wurden mittels herkömmlicher ELISA-Kits nach den jeweiligen Anleitungen der Hersteller durchgeführt. Positiv zu bewerten ist, dass bei Anwendung der verschiedenen Messmethoden (Durchflusszytometrie, LUMINEX, ELISA) bei den verschiedenen Parametern gleiche Tendenzen festzustellen waren. Es wurde außerdem darauf geachtet, dass über den gesamten Studienzeitraum hinweg immer abwechselnd Tourette-Patienten und gesunde Kontrollen untersucht wurden, um zum einen den Einfluss jahreszeitlicher Schwankungen und zum anderen messtechnisch bedingte Varianzen des Testsystems zu minimieren. Negativ ist anzumerken, dass es sich um Einmal-Messungen und somit um Momentanaufnahmen handelt. Eine Serie von Messungen ist für Nachfolgeprojekte vorgesehen.

Statistik

Wie bereits in Kapitel 2.8 erwähnt, wurde bei der Darstellung der Ergebnisse auf eine Korrektur für multiple Tests verzichtet, da es sich um eine explorative Arbeit handelt. Vor diesem Hintergrund sind die Ergebnisse als Tendenzen aufzufassen. Lediglich für sCD14 zeigten sich hochsignifikante Ergebnisse, die auch nach der Korrektur für multiples Testen erhalten bleiben.

4.2 Diskussion der Ergebnisse

CRP

CRP dient als verbreiteter und sensitiver Marker für Infektionen und wird zur Einschätzung des Schweregrads entzündlicher Erkrankungen verwendet. Es wird in der Leber als Akute-Phase-Protein produziert und wird am stärksten durch IL-6 angeregt (Roberts et al. 2000). In der Atheroskleroseforschung (Ridker 1999) spielt das hochsensitive CRP - das heißt CRP-Werte unter 0,5 mg/dl - eine große Rolle (Mangge et al. 2004). Man geht davon aus, dass CRP-Werte $> 0,3$ mg/dl das Atheroskleroserisiko stark erhöhen und somit durchaus eine Bedeutung haben. CRP-Konzentrationen scheinen mit Markern, die eine Endotheldysfunktion anzeigen, zu korrelieren (Schalkwijk et al. 1999). In unserer Untersuchung zeigten sich bei Tourette-Patienten im Vergleich zu Gesunden signifikant höhere CRP-Werte, wobei die CRP-Werte meist im Normbereich von $< 0,5$ mg/dl lagen. Nachdem bei allen Studienteilnehmern durch Anamnese, körperliche Untersuchung und Laborbestimmungen akute Infektionen ausgeschlossen wurden, könnten die im Gesamten betrachtet im Normbereich liegenden, allerdings trotzdem im Vergleich zu Gesunden erhöhten CRP-Werte, auf einen latenten chronischen Entzündungsprozess bei Tourette-Patienten hinweisen. Auch bei anderen psychiatrischen Erkrankungen, wie z.B. bei bipolaren Störungen (Dickerson et al. 2007b) und Depressionen (Kling et al. 2007; Lesperance et al. 2004) wurden erhöhte CRP-Werte beschrieben. Es gibt Hinweise, dass bei schizophrenen Patienten höhere CRP-Werte zu einer schwerwiegenderen Psychopathologie führen könnten (Fan et al. 2007). Andere Studien kamen zu dem Ergebnis, dass erhöhtes CRP vor allem zu Einschränkungen im kognitiven Bereich führt, sowohl bei schizophrenen Patienten (Dickerson et al. 2007a), als auch bei Gesunden (Yaffe et al. 2003). Es wäre möglich, dass eine chronische Entzündung in bestimmten Gehirnregionen mikrovaskuläre Veränderungen hervorrufen könnte, die zu den jeweiligen Symptomen führen.

Neopterin

Neopterin wird vor allem von Monozyten und Makrophagen gebildet und gilt als Aktivierungsmarker der zellulären Abwehr (Fuchs et al. 1988). Bei akuten

bakteriellen Infektionen sind normale oder nur leicht erhöhte Neopterin-Konzentrationen beschrieben, bei viralen Infektionen stärker erhöhte Neopterin-Werte (Denz et al. 1990; Murr et al. 2002). Da die Neopterin-Produktion durch INF- γ aktiviert wird, repräsentiert Neopterin die Aktivierung der T_H-1 Immunantwort (Huber et al. 1984). Die bei den Tourette-Patienten im Vergleich zu Gesunden signifikant höheren Neopterin-Werte in dieser Arbeit, die aber insgesamt im Normbereich lagen, stützen die These einer chronischen bakteriellen Infektion.

Monozyten und Monozyten-Subpopulationen

Im Vergleich der Leukozytensubpopulationen von Tourette-Patienten und Gesunden ergaben sich im Differentialblutbild nur für die Monozytenzahlen/nl signifikante Auffälligkeiten. Bei den Tourette-Patienten war die Monozytenzahl signifikant höher. Bei der Analyse der prozentualen Verteilung der Monozyten-Subpopulationen mittels Durchflusszytometrie zeigten sich zwischen Tourette-Patienten und Gesunden keine Unterschiede, d.h. die Verteilung der klassischen CD14⁺CD16⁻ Monozyten und der als aktiviert geltenden CD14⁺CD16⁺ und CD14⁺CD64⁺ Monozyten war in beiden Gruppen annähernd gleich. Die CD14⁺CD16⁺ Monozyten gelten als Hauptquelle für TNF- α (Belge et al. 2002). Die Unterschiede in der TNF- α Konzentration scheinen nicht in einer Verschiebung der Relation der Monozytensubpopulationen begründet zu sein. Mögliche Erklärungen für die in dieser Arbeit gemessenen niedrigeren TNF- α Werte bei Tourette-Patienten sind also in der Monozyten-Funktion selbst oder der verminderten Stimulation durch andere Zytokine zu suchen.

Ebenso ergaben sich keine Unterschiede bezüglich der HLA-DR-Expression auf Monozyten. Es wird beschrieben, dass Monozyten bei Sepsis weniger HLA-DR exprimieren (Satoh et al. 2002) und es zu einem Zustand der „Immunparalyse“ kommen kann. Bei den weitestgehend im Normbereich liegenden Entzündungsmarkern in dieser Arbeit, die allenfalls für eine latente chronische Entzündung sprechen, wäre auch kein HLA-DR-Verlust zu erwarten.

IL-6 und TNF- α

IL-6 ist ein Zytokin, das von verschiedenen Zellen, vor allem aber auch von Monozyten und Makrophagen insbesondere bei akuten Entzündungen freigesetzt wird. Gewebhypoxie und Trauma verursachen eine massive Freisetzung von IL-6. Weniger gesichert ist die Rolle von IL-6 bei chronischen

Entzündungsprozessen. Da bei den untersuchten Patienten und gesunden Kontrollen keine akuten Entzündungen oder Verletzungen vorlagen, waren normale IL-6-Werte zu erwarten. Die IL-6 Werte lagen bei den Tourette-Patienten tendenziell - aber nicht signifikant - höher, was zu dem Befund des höheren CRP Wertes bei Tourette-Patienten passt. Für TNF- α ergaben sich bei Tourette-Patienten signifikant niedrigere Konzentrationen im Serum. In einer Arbeit von Leckman et al. wurden bei 46 Patienten mit Tourette-Syndrom und/oder Zwangsstörung bei Kindern und Jugendlichen bis 17 Jahren unter Baseline-Bedingungen und bei Symptomexacerbation zehn verschiedene Zytokine, die die angeborene Immunantwort und die T-Zell-Aktivierung repräsentierten, gemessen. Für TNF- α und IL-12 ergaben sich in dieser Arbeit bei den Patienten höhere Werte als bei den Kontrollen. Während den Phasen der Symptomexacerbation wurde eine zusätzliche Erhöhung dieser Zytokine beschrieben. Der Befund für TNF- α steht im Gegensatz zu dem Ergebnis für TNF- α in dieser Arbeit. Sowohl im Gesamtvergleich der Gruppen als auch in den Untergruppenanalysen zeigten sich für die Gesamtgruppe der Tourette-Patienten sowie für die Tourette-Kinder niedrigere TNF- α -Werte als bei den gesunden Kontrollen. Interessanterweise wurde in der Arbeit von Leckman beschrieben, dass Kinder, bei denen PANDAS diagnostiziert wurde, niedrigere TNF- α und IL-12 Konzentrationen hatten und weniger Zunahme der Ausschüttung bei einer Exacerbation (Leckman et al. 2005). Insgesamt ist der Vergleich der Untersuchungen schwierig, da zum einen das Patientenalter unterschiedlich war, viele Patienten in der Leckman-Arbeit α -Agonisten erhielten und in dieser Arbeit Dopaminantagonisten, und die Messmethoden unterschiedlich waren. In unstimuliertem Zustand sind die Zytokin-Konzentrationen normalerweise sehr niedrig. In der Untersuchung von Leckman wurden ohne LPS-Stimulation mit der „SearchLight technology“ in multiplen ELISAs die Zytokinkonzentrationen gemessen und es ergaben sich ca. 200fach höhere Werte als in dieser Arbeit. Bei Zwangspatienten wurden in mehreren Studien bei Zytokinmessungen mit ELISAs insgesamt auch deutlich niedrigere Plasma-Konzentrationen erreicht (Brambilla et al. 1997; Monteleone et al. 1998), nur nach LPS Stimulation wurden für TNF- α Konzentrationen im Bereich der Leckman-Arbeit gemessen (Denys et al. 2004). Dies verdeutlicht, dass methodisch bedingt die direkte Vergleichbarkeit schwierig ist. Wie bereits angesprochen gab es mehrere Studien, die das Immunsystem bei Zwangspatienten untersuchten. In drei Untersuchungen wurden bei

Zwangspatienten im Vergleich zu Gesunden niedrigere TNF- α Konzentrationen gemessen. Brambilla et al. berichteten über erniedrigte IL-1 β und TNF- α Messwerte (Brambilla et al. 1997), Monteleone et al. nur über erniedrigte TNF- α Konzentrationen bei nicht unterschiedlichen IL-1 β und IL-6-Werten (Monteleone et al. 1998) und Denys et al. über erniedrigte TNF- α und NK-Zellaktivität nach LPS-Stimulation bei Zwangspatienten (Denys et al. 2004). Die in der vorliegenden Arbeit erhaltenen Ergebnisse für TNF- α weisen in die gleiche Richtung der Ergebnisse der immunologischen Studien über Patienten mit Zwangsstörung. Zwischen Tourette-Syndrom und Zwangsstörung herrscht eine hohe Komorbidität (Robertson 2000). Es gab Diskussionen, Zwangssymptome bei Tourette-Patienten nicht als Komorbidität sondern im Rahmen der Grunderkrankung zu sehen (Müller et al. 1995; Robertson 1989). Bei den in dieser Arbeit untersuchten Tourette-Patienten standen die Zwangssymptome nicht im Vordergrund und reichten meist nicht zur Diagnose einer Zwangsstörung. Interessanterweise ergaben sich in den Untergruppenanalysen keine Unterschiede zwischen Tourette-Patienten mit und ohne Zwangssymptomen. Es zeigte sich aber ein deutlicherer Unterschied zwischen Gesunden und Tourette-Patienten mit Zwangssymptomen als zwischen Gesunden und Tourette-Patienten ohne Zwangssymptome. Diese Ergebnisse werfen die Frage auf, ob das Tourette-Syndrom und Zwangserkrankungen womöglich doch im Sinne eines Symptomkomplexes mit ähnlicher Ätiologie zu sehen sind.

sTNF-R1 und IL1-ra

Der sTNF-R1 wirkt antagonistisch auf TNF- α , der IL-1-ra wirkt antagonistisch auf IL-1. Beiden Parametern wird somit ein antiinflammatorischer Effekt zugeschrieben (Gabay et al. 1997; Spoettl et al. 2007). Eine Balance zwischen pro- und antiinflammatorischen Prozessen ist für die Funktion des Immunsystems wichtig. Für den sTNF-R1 ergaben sich keine deutlichen Unterschiede zwischen Tourette-Patienten und Gesunden. Die sTNF-R1-Konzentration bei Tourette-Patienten war im Vergleich zu Gesunden aber tendenziell höher. Bei niedrigeren TNF- α Konzentrationen bei Tourette-Patienten wären physiologischerweise auch niedrigere sTNF-R1 Werte zu erwarten. Ein Überschuss der sTNF-R1-Expression könnte die verminderte TNF- α Konzentration mit erklären.

IL-1 war im Serum aufgrund der zu geringen Konzentration mittels LUMINEX nicht detektierbar, da es vor allem bei akuten Infektionen vermehrt ausgeschüttet wird

(Dinarello 1991). Für den monozyten-assoziierten IL1-ra ergaben sich bei Tourette-Patienten niedrigere Werte als bei den Gesunden. Dies weist darauf hin, dass wahrscheinlich auch die IL-1 Konzentration niedriger war. Somit zeigte sich auch bei den proinflammatorischen Zytokinen IL-1 und TNF- α eine ähnliche Tendenz wie bei den Zwangspatienten (Brambilla et al. 1997).

sCD14

Bei den in dieser Arbeit untersuchten Tourette-Patienten zeigten sich im Vergleich zu Gesunden hochsignifikant erniedrigte sCD14 Konzentrationen im Serum. Auch in den Untergruppenanalysen zeigten sich durchgehend hochsignifikante Unterschiede zwischen Tourette-Patienten und Gesunden, weder Medikamente, das Alter noch das Vorliegen von Zwängen scheinen Einflüsse zu haben. sCD14 bindet LPS und andere Bestandteile der bakteriellen Zellwand (Cleveland et al. 1996). Über die Vermittlung des TLR4 wird ein Signal übertragen, das die Sekretion von IL-12 und TNF- α stimuliert. Die T_H1-Antwort wird somit angeregt. Der Befund einer niedrigeren sCD14 Expression bei Tourette-Patienten lässt sich gut mit den niedrigeren TNF- α und IL1-ra Messwerten vereinen. IL-4, ein Zytokin der T_H2 Achse wird durch sCD14 gehemmt (Rey Nores et al. 1999).

Das lösliche CD14 ist ein wichtiger Bestandteil der angeborenen Immunität, genetische Variationen im CD14-Gen scheinen eine Schlüsselrolle im angeborenen Immunsystem einzunehmen (Vercelli et al. 2001a; Vercelli et al. 2001b). In Studien zu CD14-Genpolymorphismen konnte gezeigt werden, dass TT-Homozygote eine höhere sCD14 Expression hatten als CC und CT Genotypen (Baldini et al. 1999; Keskin et al. 2006). Bisher gibt es Untersuchungen in diesem Bereich vor allem in der Allergie- und Asthmaforschung. Bei atopischen Kindern wurden niedrigere sCD14 Konzentrationen festgestellt als bei gesunden Kindern. Es gibt außerdem Berichte, dass niedrige sCD14 Konzentrationen in der Muttermilch bei Kindern zu vermehrter Anfälligkeit für Ekzeme führten (Jones et al. 2002). Es wird postuliert, dass sCD14 wichtig ist, um während der Entwicklung das Immunsystem zu stimulieren und eine Balance zwischen dem T_H1 und dem T_H2 System zu schaffen (Zdolsek und Jenmalm 2004). Zwischen sCD14 und IgE wurde eine inverse Korrelation festgestellt, d.h. niedrige sCD14 Konzentrationen führen zu höheren IgE Konzentrationen (Vercelli et al. 2001a). Es gibt Berichte, dass bei Tourette-Patienten die Prävalenz für Allergien erhöht ist (Ho et al. 1999) und es wurden erhöhte IgE Werte bei Tourette-Patienten beschrieben (Finegold

1985). In dieser Arbeit war das Vorliegen von Allergien in beiden Gruppen gleich. IgE wurde nicht gemessen. Zu diskutieren bleibt, ob nicht eine gemeinsame Ursache von Allergien und Tourette-Syndrom in einer erniedrigten sCD14 Konzentration zu sehen ist.

Korrelationen

Zwischen Neopterin und dem Alter ergaben sich sowohl in der Tourette- als auch in der gesunden Kontrollgruppe positive Korrelationen. Da dieser Befund in beiden Gruppen vorliegt, scheint eine physiologische Zunahme von Neopterin mit dem Alter nahe zu liegen.

Wie zu erwarten korrelierten die Monozytensubpopulationen untereinander. Interessanterweise korrelierten nur die CD14⁺CD64⁺ Monozyten und die klassischen CD14⁺ Monozyten positiv mit der erhöhten Monozytengesamtzahl. CD64 wird als FcGamma-Rezeptor 1 bei bakteriellen und viralen Infektionen auf Monozyten exprimiert (Nuutila et al. 2007). Es zeigte sich eine negative Korrelation der CD14⁺CD64⁺ Monozyten zu der HLA-DR-Expression, was dem Mechanismus des HLA-DR-Verlustes von Monozyten bei Entzündungsprozessen entsprechen würde. Da sich aber die CD14⁺CD64⁺ Monozyten und die HLA-DR-Konzentrationen im Gruppenvergleich nicht unterschieden und die Korrelation in der gesunden Kontrollgruppe nicht zu sehen war, bleibt die weiterführende Interpretation schwierig.

Zwischen dem sTNF-R1 und den CD14⁺CD64⁺ Monozyten zeigte sich in der Tourette-Gruppe eine positive Korrelation. Es ergab sich außerdem eine positive Korrelation zwischen dem sTNF-R1 und dem Schweregrad der Tourette-Erkrankung. Bei schwerer betroffenen Patienten ist also die sTNF-R1 Konzentration höher. Zwischen dem sTNF-R1 und TNF- α oder sCD14 ergaben sich allerdings keine Korrelationen. Diese Ergebnisse sind vor dem Hintergrund einer Einmal-Messung und als Einzelbefunde ebenso nur schwer zu interpretieren.

Einfluss von Psychopharmaka, Nikotin, Stress

Die Interpretation der Ergebnisse wird durch verschiedene Einflussfaktoren erschwert. Es war nicht möglich, nur nicht medizierte Tourette-Patienten in die Studie einzuschließen um eine annähernd ausreichende Fallzahl zu erreichen. Um den Einfluss der Medikamente abzuschätzen, wurden Untergruppenanalysen durchgeführt. Es ist bekannt, dass Medikamente eine Wirkung auf das

Immunsystem ausüben. Die meisten der medizierten Tourette-Patienten waren auf atypische Antipsychotika oder Tiaprid eingestellt. Im Vergleich der Tourette-Patienten mit und ohne Medikamente zeigten sich für alle gemessenen Parameter keine Unterschiede. Der Einfluss der Medikation scheint vernachlässigbar zu sein. Für TNF- α und Neopterin ergaben sich aber im Vergleich zwischen Gesunden und medizierten Tourette-Patienten deutlichere Unterschiede als zwischen Gesunden und nicht medizierten. Für sCD14 und IL1-ra waren die Unterschiede jeweils konstant. Ein stärkerer Einfluss der Medikation auf TNF- α und Neopterin muss somit diskutiert werden. Durch Dryzyga et al. wird in einer Übersichtsarbeit beschrieben, dass atypische Neuroleptika wie z.B. Clozapin zu Beginn TNF- α erhöhen, nach ca. zehn Wochen erniedrigen können. Für Olanzapin wird eine Erhöhung von sTNF-R1 vermutet und keine Effekte auf TNF- α und IL-6. Für Risperidon wurden verminderte Konzentrationen für IL-6 und INF- γ gemessen aber in einigen Studien wurde auch kein Einfluss festgestellt (Dryzyga et al. 2006). Da die Patienten verschiedene Atypika einnahmen (siehe Anhang I), ist es schwierig, den Einfluss der Medikation klar herauszuarbeiten.

Es ist bekannt, dass Nikotin die Leukozyten erhöht. Der Nikotinkonsum war in beiden Gruppen gleich, dennoch ist ein Einfluss nicht gänzlich auszuschließen. Bei der Analyse der Leukozytensubpopulationen ergaben sich nur Unterschiede bezüglich der Monozyten. Würde der Einflussfaktor Nikotin eine größere Rolle spielen, wären auch Lymphozyten und Granulozyten betroffen.

Natürlich stellt sich auch die Frage, inwieweit der Faktor Stress über die Aktivierung der Hypophysen-Hypothalamus-Nebennieren-Achse Einfluss auf die Parameter im Sinne einer immunsuppressiven Wirkung nimmt. Die Tourette-Patienten sind durch die Erkrankung wahrscheinlich höherem Stress ausgesetzt, der aber nicht akut, sondern chronisch ist. Die klassischen Stresshormone sind Katecholamine. Die Zellen des Immunsystems und die Zytokinproduktion stehen unter der Einwirkung von peripheren Katecholaminen. Dabei wird die Sekretion proinflammatorischer Zytokine eher gehemmt, die Sekretion antiinflammatorischer eher gesteigert. Das T_H1-System wird supprimiert, es erfolgt eine Verschiebung in Richtung T_H2-System (Elenkov et al. 2000). Es gibt Hinweise, dass die Produktion von Monozyten/Makrophagen und Granulozyten durch Katecholamine gehemmt wird (Mignini et al. 2003). Die erniedrigten TNF- α -Konzentrationen bei Tourette-Patienten in dieser Arbeit wären durch eine Stressreaktion erklärbar. Bezüglich der Monozytenzahl würde man eher

erniedrigte Werte erwarten. Die Monozytenzahlen sind bei den Tourette-Patienten aber höher. Aufgrund der Komplexität der Immunfunktionen und der Schwierigkeit, die Dauer und die Intensität der Katecholamineinwirkungen einzuschätzen, bleibt offen, inwieweit der Stress bei den Patienten und den gesunden Kontrollen Einfluss genommen hat.

Zusammenfassende Interpretation und Ausblick

Ingesamt scheinen die proinflammatorischen monozytären Zytokine und Aktivierungsmarker bei Tourette-Patienten im Vergleich zu Gesunden im „Normalzustand“, d.h. ohne akute Infektion, weniger exprimiert zu werden. Insbesondere die verminderten Konzentrationen von TNF- α und sCD14 sind hier zu nennen, ebenso des IL1-ra. Dies ist der Fall, obwohl die Entzündungsmarker CRP und Neopterin bei den Tourette-Patienten im Vergleich höher sind als bei den Gesunden und auf eine chronische latente Entzündung hinweisen könnten. Die Gesamtzahl der Monozyten ist erhöht und könnte als Kompensationsmechanismus der verminderten Aktivierung gedeutet werden. Die Ergebnisse könnten ein Hinweis auf eine Schwäche in der Monozytenaktivierung bei Tourette-Patienten sein. Es wäre denkbar, dass durch eine latente Immunschwäche in der angeborenen Immunität, die evtl. in einer verminderten sCD14-Expression bereits während der Entwicklung begründet sein könnte, Erreger schlechter abgewehrt werden können und es vermehrt zu Infektionen bzw. unterschwelligen Infektionen kommt. Das Forschungsgebiet der Psychoneuroimmunologie beschäftigt sich mit Interaktionen zwischen Immunsystem und dem Nervensystem. Zytokine können teilweise die Blut-Hirn-Schranke überwinden oder nehmen Einfluss auf das Nervensystem (Besedovsky et al. 1985; Gaillard 1998). Mikrogliazellen entstammen der myeloiden Zellreihe und sind ein wichtiger Bestandteil des ZNS, so dass hier eine Brücke zum ZNS geschlagen werden kann (Sievers et al. 1994). An dieser Stelle ist das interessante Ergebnis der MRT-Studie von Amat et al. zu erwähnen, in der bei Kindern mit Tourette-Syndrom, Zwangssymptomen und ADHS im Vergleich zu Kontrollen vermehrt subkortikale Hyperintensitäten vor allem in Thalamus und Basalganglien festgestellt wurden (Amat et al. 2006). Eine entzündliche Genese als Beitrag zur Pathogenese des Tourette-Syndroms kann hier diskutiert werden. Natürlich sind noch ausführlichere Studien nötig, vor allem auch Untersuchungen

im Liquor Cerebrospinalis. Diese Arbeit spiegelt nur das periphere Immunsystem wieder.

Ein zugrunde liegender genetischer Defekt, zum Beispiel im CD14-Gen könnte eine gewisse Vulnerabilität in Gehirnregionen auslösen, in denen letztendlich durch Veränderungen infolge chronischer Infektionen die Symptomatik des Tourette-Syndroms ausgelöst wird, vergleichbar mit dem Konzept der genetisch bedingten Anfälligkeit für Infektionen (Blackwell 2001).

5 Zusammenfassung

Infektionen und postinflammatorische Prozesse scheinen bei einer Untergruppe von Tourette-Patienten ein wichtiger pathogenetischer Faktor zu sein. Einige Studien berichten von Streptokokken- und Mykoplasmeninfektionen im Zusammenhang mit dem Tourette-Syndrom. Auch zeigten sich Erfolge entzündungshemmender und antibiotischer Therapien. Monozyten, Makrophagen und deren proinflammatorische Zytokine spielen eine wichtige Rolle bei der angeborenen Immunität und der ersten Abwehr von Bakterien. Deshalb sollten in dieser Arbeit Monozyten und deren proinflammatorische Zytokine bei Tourette-Patienten im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe untersucht werden.

Bei 43 Tourette-Patienten und 46 gesunden Kontrollpersonen wurden in einer explorativen, prospektiven Studie Monozyten im Differentialblutbild und Monozytensubpopulationen durchflusszytometrisch bestimmt. Vor diesem Hintergrund erfolgte zusätzlich im Serum die Messung von CRP und Neopterin als Entzündungsparameter, sowie die Bestimmung von monozytären Zytokinen, Rezeptoren, Rezeptorantagonisten wie TNF- α , sTNF-R1 und IL-1-ra. Das lösliche CD14 wurde ebenso als monozytenassoziiertes Aktivierungsmarker gemessen.

Die Monozyten/nl waren bei Tourette-Patienten im Vergleich zu Gesunden signifikant höher, die Verteilung der Monozytensubpopulationen war in beiden Gruppen nicht unterschiedlich. CRP und Neopterin lagen bei Patienten und Gesunden im Normbereich, waren aber in der Tourette-Gruppe signifikant höher. TNF- α , sCD14 und IL-1-ra-Konzentrationen zeigten sich bei den Tourette-Patienten signifikant niedriger.

Trotz höherem CRP und Neopterin bei Tourette-Patienten, was auf eine latente subklinische Entzündungsreaktion hinweisen könnte und im Vergleich zu Gesunden erhöhten Monozytenzahlen, waren weitere primär von Monozyten sezernierte proinflammatorische Zytokine und Aktivierungsmarker wie TNF- α , sCD14 und IL1-ra bei Tourette-Patienten niedriger. Diese Ergebnisse deuten möglicherweise auf eine Störung der Monozytenfunktion bei Tourette-Patienten hin. Die höhere Konzentration der Monozyten/nl könnte als Kompensationsmechanismus gedeutet werden. Eine vermehrte Anfälligkeit für Infektionen wäre dadurch denkbar.

6 Literaturverzeichnis

Alsobrook JP, Pauls DL. A factor analysis of tic symptoms in Gilles de la Tourette's syndrome. *Am J Psychiatry* 2002;159:291-96.

Amat JA, Bronen RA, Saluja S et al. 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, Gabay C. Physiologic role of interleukin-1 receptor antagonist. *Arthritis Res* 2000;2:245-48.

Baldini M, Lohman IC, Halonen M, Erickson RP, Holt PG, Martinez FD. A Polymorphism* in the 5' flanking region of the CD14 gene is associated with circulating soluble CD14 levels and with total serum immunoglobulin E. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1999;20:976-83.

Belge KU, Dayyani F, Horelt A et al. The proinflammatory CD14+CD16+DR++ monocytes are a major source of TNF. *J Immunol* 2002;168:3536-42.

Besedovsky HO, del Rey AE, Sorkin E. Immune-neuroendocrine interactions. *J Immunol* 1985;135:750s-4s.

Blackwell JM. Genetics and genomics in infectious disease susceptibility. *Trends Mol Med* 2001;7:521-26.

Bohlhalter S, Goldfine A, Matteson S et al. Neural correlates of tic generation in Tourette syndrome: an event-related functional MRI study. *Brain* 2006;129:2029-37.

Bozkurt B, Torre-Amione G, Warren MS et al. Results of targeted anti-tumor necrosis factor therapy with etanercept (ENBREL) in patients with advanced heart failure. *Circulation* 2001;103:1044-47.

Brambilla F, Perna G, Bellodi L et al. Plasma interleukin-1 beta and tumor necrosis factor concentrations in obsessive-compulsive disorders. *Biol Psychiatry* 1997;42:976-81.

Brett PM, Curtis D, Robertson MM, Gurling HM. Exclusion of the 5-HT1A serotonin neuroreceptor and tryptophan oxygenase genes in a large British kindred multiply affected with Tourette's syndrome, chronic motor tics, and obsessive-compulsive behavior. *Am J Psychiatry* 1995a;152:437-40.

Brett PM, Curtis D, Robertson MM, Gurling HM. The genetic susceptibility to Gilles de la Tourette syndrome in a large multiple affected British kindred: linkage analysis excludes a role for the genes coding for dopamine D1, D2, D3, D4, D5 receptors, dopamine beta hydroxylase, tyrosinase, and tyrosine hydroxylase. *Biol Psychiatry* 1995b;37:533-40.

Bruun RD, Budman CL. The course and prognosis of Tourette syndrome. *Neurol Clin* 1997;15:291-98.

- Budman CL, Kerjakovic M, Bruun RD. Viral infection and tic exacerbation. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 1997;36:162.
- Church AJ, Dale RC, Lees AJ, Giovannoni G, Robertson MM. Tourette's syndrome: a cross sectional study to examine the PANDAS hypothesis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2003;74:602-7.
- Cleveland MG, Gorham JD, Murphy TL, Tuomanen E, Murphy KM. Lipoteichoic acid preparations of gram-positive bacteria induce interleukin-12 through a CD14-dependent pathway. *Infect Immun* 1996;64:1906-12.
- Dale RC. Post-streptococcal autoimmune disorders of the central nervous system. *Dev Med Child Neurol* 2005;47:785-91.
- Dale RC, Church AJ, Candler PM, Chapman M, Martino D, Giovannoni G. Serum autoantibodies do not differentiate PANDAS and Tourette syndrome from controls. *Neurology* 2006;66:1612.
- Dayyani F, Joening A, Ziegler-Heitbrock L et al. Autologous stem-cell transplantation restores the functional properties of CD14+CD16+ monocytes in patients with myeloma and lymphoma. *J Leukoc Biol* 2004;75:207-13.
- Dehning S, Riedel M, Muller N. Aripiprazole in a patient vulnerable to side effects. *Am J Psychiatry* 2005;162:625.
- 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.
- Denz H, Fuchs D, Hausen A et al. Value of urinary neopterin in the differential diagnosis of bacterial and viral infections. *Klin Wochenschr* 1990;68:218-22.
- Dickerson F, Stallings C, Origoni A, Boronow J, Yolken R. C-reactive protein is associated with the severity of cognitive impairment but not of psychiatric symptoms in individuals with schizophrenia. *Schizophr Res* 2007a;93:261-65.
- Dickerson F, Stallings C, Origoni A, Boronow J, Yolken R. Elevated serum levels of C-reactive protein are associated with mania symptoms in outpatients with bipolar disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2007b;31:952-55.
- Dilling H., Mombour, W., Schmidt von Huber, M. H. Internationale Klassifikation psychiatrischer Störungen. ICD-10 Kapitel V (F). Klinisch diagnostische Leitlinien. 2004.
- Dinarello CA. Interleukin-1 and interleukin-1 antagonism. *Blood* 1991;77:1627-52.
- Drzyzga L, Obuchowicz E, Marcinowska A, Herman ZS. Cytokines in schizophrenia and the effects of antipsychotic drugs. *Brain Behav Immun* 2006;20:532-45.
- Durieux JJ, Vita N, Popescu O et al. The two soluble forms of the lipopolysaccharide receptor, CD14: characterization and release by normal human monocytes. *Eur J Immunol* 1994;24:2006-12.
- Elenkov IJ, Wilder RL, Chrousos GP, Vizi ES. The sympathetic nerve--an integrative interface between two supersystems: the brain and the immune system. *Pharmacol Rev* 2000;52:595-638.

Fan X, Pristach C, Liu EY, Freudenreich O, Henderson DC, Goff DC. Elevated serum levels of C-reactive protein are associated with more severe psychopathology in a subgroup of patients with schizophrenia. *Psychiatry Res* 2007;149:267-71.

Finegold I. Allergy and Tourette's syndrome. *Ann Allergy* 1985;55:119-21.

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.

Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Werner ER, Dierich MP, Wachter H. Neopterin as a marker for activated cell-mediated immunity: application in HIV infection. *Immunol Today* 1988;9:150-155.

Fuchs D, Weiss G, Reibnegger G, Wachter H. The role of neopterin as a monitor of cellular immune activation in transplantation, inflammatory, infectious, and malignant diseases. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1992;29:307-41.

Gabay C, Smith MF, Eidlen D, Arend WP. Interleukin 1 receptor antagonist (IL-1Ra) is an acute-phase protein. *J Clin Invest* 1997;99:2930-2940.

Gaillard RC. Cytokines in the neuroendocrine system. *Int Rev Immunol* 1998;17:181-216.

Gelernter J, Kennedy JL, Grandy DK et al. Exclusion of close linkage of Tourette's syndrome to D1 dopamine receptor. *Am J Psychiatry* 1993;150:449-53.

Gelernter J, Vandenberg D, Kruger SD et al. The dopamine transporter protein gene (SLC6A3): primary linkage mapping and linkage studies in Tourette syndrome. *Genomics* 1995;30:459-63.

Gerard E, Peterson BS. Developmental processes and brain imaging studies in Tourette syndrome. *J Psychosom Res* 2003;55:13-22.

Gilles de la Tourette. Etude sur une affection nerveuse caractérisée par l'incoordination motrice accompagnée d'écholalie et de coprolalie. *Arch Neurol (Paris)* 1885;19-42.

Gluck T, Silver J, Epstein M, Cao P, Farber B, Goyert SM. Parameters influencing membrane CD14 expression and soluble CD14 levels in sepsis. *Eur J Med Res* 2001;6:351-58.

Greenberg BD, Murphy DL, Swedo SE. Symptom exacerbation of vocal tics and other symptoms associated with streptococcal pharyngitis in a patient with obsessive-compulsive disorder and tics. *Am J Psychiatry* 1998;155:1459-60.

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.

Hanna PA, Janjua FN, Contant CF, Jankovic J. Bilineal transmission in Tourette syndrome. *Neurology* 1999;53:813-18.

Hartung S. "...sonst bin ich ganz normal." *Ein Leben mit dem Tourette-Syndrom*, 1 ed. Hamburg: Rasch und Röhring.

Heinrich PC, Castell JV, Andus T. Interleukin-6 and the acute phase response. *Biochem J* 1990;265:621-36.

- Ho CS, Shen EY, Shyur SD, Chiu NC. Association of allergy with Tourette's syndrome. *J Formos Med Assoc* 1999;98:492-95.
- Hodgson RJ, Rachman S. Obsessional-compulsive complaints. *Behav Res Ther* 1977;15:389-95.
- Hoekstra PJ, Anderson GM, Limburg PC, Korf J, Kallenberg CG, Minderaa RB. Neurobiology and neuroimmunology of Tourette's syndrome: an update. *Cell Mol Life Sci* 2004;61:886-98.
- 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.
- Hornse H, Banerjee S, Zeitlin H, Robertson M. The prevalence of Tourette syndrome in 13-14-year-olds in mainstream schools. *J Child Psychol Psychiatry* 2001;42:1035-39.
- Huber C, Batchelor JR, Fuchs D et al. Immune response-associated production of neopterin. Release from macrophages primarily under control of interferon-gamma. *J Exp Med* 1984;160:310-316.
- 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.
- Hyde TM, Stacey ME, Coppola R, Handel SF, Rickler KC, Weinberger DR. Cerebral morphometric abnormalities in Tourette's syndrome: a quantitative MRI study of monozygotic twins. *Neurology* 1995;45:1176-82.
- Itard JE. Mémoire sur quelques fonctions involontaires des appareils de la locomotion, de la préhension et de la voix. *Arch Gén Med* 1825;385-407.
- Janeway C. A., Travers, P., Walport, M., Shlomchik, M. Immunobiology: the immune system in health and disease, 5th ed. 2001.
- Jankovic J. Tourette's syndrome. *N Engl J Med* 2001;345:1184-92.
- Jones CA, Holloway JA, Popplewell EJ et al. Reduced soluble CD14 levels in amniotic fluid and breast milk are associated with the subsequent development of atopy, eczema, or both. *J Allergy Clin Immunol* 2002;109:858-66.
- Keskin O, Birben E, Sackesen C et al. The effect of CD14-c159T genotypes on the cytokine response to endotoxin by peripheral blood mononuclear cells from asthmatic children. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2006;97:321-28.
- Kling MA, Alesci S, Csako G et al. Sustained low-grade pro-inflammatory state in unmedicated, remitted women with major depressive disorder as evidenced by elevated serum levels of the acute phase proteins C-reactive protein and serum amyloid A. *Biol Psychiatry* 2007;62:309-13.
- Labeta MO, Durieux JJ, Spagnoli G, Fernandez N, Wijdenes J, Herrmann R. CD14 and tolerance to lipopolysaccharide: biochemical and functional analysis. *Immunology* 1993;80:415-23.
- Lanzi G, Zambrino CA, Termine C et al. Prevalence of tic disorders among primary school students in the city of Pavia, Italy. *Arch Dis Child* 2004;89:45-47.

Leckman JF, Katsovich L, Kawikova I et al. Increased serum levels of interleukin-12 and tumor necrosis factor-alpha in Tourette's syndrome. *Biol Psychiatry* 2005;57:667-73.

Leckman JF, Riddle MA, Hardin MT et al. The Yale Global Tic Severity Scale: initial testing of a clinician-rated scale of tic severity. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 1989;28:566-73.

Lesperance F, Frasere-Smith N, Theroux P, Irwin M. The association between major depression and levels of soluble intercellular adhesion molecule 1, interleukin-6, and C-reactive protein in patients with recent acute coronary syndromes. *Am J Psychiatry* 2004;161:271-77.

Lichter DG, Dmochowski J, Jackson LA, Trinidad KS. Influence of family history on clinical expression of Tourette's syndrome. *Neurology* 1999;52:308-16.

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.

Loiselle CR, Wendlandt JT, Rohde CA, Singer HS. Antistreptococcal, neuronal, and nuclear antibodies in Tourette syndrome. *Pediatr Neurol* 2003;28:119-25.

Mangge H, Schauenstein K, Stroedter L, Griesl A, Maerz W, Borkenstein M. Low grade inflammation in juvenile obesity and type 1 diabetes associated with early signs of atherosclerosis. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2004;112:378-82.

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.

Martino D, Giovannoni G. Autoaggressive immune-mediated movement disorders. *Adv Neurol* 2005;96:320-335.

Mignini F, Streccioni V, Amenta F. Autonomic innervation of immune organs and neuroimmune modulation. *Auton Autacoid Pharmacol* 2003;23:1-25.

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.

Müller N. Anti-inflammatory therapy with a COX-2 inhibitor in Tourette's syndrome. *Inflammopharmacology* 2004;12:271-75.

Müller N. Tourette's syndrome: clinical features, pathophysiology, and therapeutic approaches. *Dialogues Clin Neurosci* 2007;9:161-71.

Müller N, Kroll B, Schwarz MJ et al. Increased titers of antibodies against streptococcal M12 and M19 proteins in patients with Tourette's syndrome. *Psychiatry Res* 2001;101:187-93.

Müller N, Putz A, Straube A, Kathmann N. Zwangsstörung und Gilles-de-la-Tourette-Syndrom. *Nervenarzt* 1995;372-78.

Müller N, Riedel M, Blendinger C, Oberle K, Jacobs E, Abele-Horn M. Mycoplasma pneumoniae infection and Tourette's syndrome. *Psychiatry Res* 2004;129:119-25.

Müller N, Riedel M, Erfurth A, Möller HJ. Immunoglobulintherapie bei Gilles-de-la-Tourette-Syndrom. *Nervenarzt* 1997;68:914-16.

- Müller N, Riedel M, Forderreuther S, Blendinger C, Abele-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-Vahl KR. Cannabinoids reduce symptoms of Tourette's syndrome. *Expert Opin Pharmacother* 2003;4:1717-25.
- Müller-Vahl KR, Schneider U, Prevedel H et al. 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.
- Murr C, Widner B, Wirleitner B, Fuchs D. Neopterin as a marker for immune system activation. *Curr Drug Metab* 2002;3:175-87.
- Nuutila J, Hohenthal U, Laitinen I et al. Simultaneous quantitative analysis of FcγRI (CD64) expression on neutrophils and monocytes: A new, improved way to detect infections. *J Immunol Methods* 2007.
- Pan Z, Zhou L, Hetherington CJ, Zhang DE. Hepatocytes contribute to soluble CD14 production, and CD14 expression is differentially regulated in hepatocytes and monocytes. *J Biol Chem* 2000;275:36430-36435.
- Pauls DL. An update on the genetics of Gilles de la Tourette syndrome. *J Psychosom Res* 2003;55:7-12.
- Perlmutter SJ, Leitman SF, Garvey MA et al. Therapeutic plasma exchange and intravenous immunoglobulin for obsessive-compulsive disorder and tic disorders in childhood. *Lancet* 1999;354:1153-58.
- Peterson BS, Bronen RA, Duncan CC. Three cases of symptom change in Tourette's syndrome and obsessive-compulsive disorder associated with paediatric cerebral malignancies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1996;61:497-505.
- Peterson BS, Staib L, Scahill L et al. Regional brain and ventricular volumes in Tourette syndrome. *Arch Gen Psychiatry* 2001;58:427-40.
- Peterson BS, Thomas P, Kane MJ et al. Basal Ganglia volumes in patients with Gilles de la Tourette syndrome. *Arch Gen Psychiatry* 2003;60:415-24.
- Price RA, Kidd KK, Cohen DJ, Pauls DL, Leckman JF. A twin study of Tourette syndrome. *Arch Gen Psychiatry* 1985;42:815-20.
- Rey Nores JE, Bensussan A, Vita N et al. Soluble CD14 acts as a negative regulator of human T cell activation and function. *Eur J Immunol* 1999;29:265-76.
- Ridker PM. Inflammation, atherosclerosis, and cardiovascular risk: an epidemiologic view. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1999;10 Suppl 1:S9-12.
- 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. Das Tourette Syndrom. *Nervenarzt* 2002;73:805-19.
- Roberts WL, Sedrick R, Moulton L, Spencer A, Rifai N. Evaluation of four automated high-sensitivity C-reactive protein methods: implications for clinical and epidemiological applications. *Clin Chem* 2000;46:461-68.
- Robertson MM. The Gilles de la Tourette syndrome: the current status. *Br J Psychiatry* 1989;154:147-69.
- Robertson MM. Tourette syndrome, associated conditions and the complexities of treatment. *Brain* 2000;123 Pt 3:425-62.
- Robertson MM, Stern JS. Gilles de la Tourette syndrome: symptomatic treatment based on evidence. *Eur Child Adolesc Psychiatry* 2000;9 Suppl 1:160-175.
- Rothenberger A. *Wenn Kinder Tics entwickeln. Beginn einer komplexen kinderpsychiatrischen Störung*, 1 ed. Stuttgart; New York: Gustav Fischer Verlag.
- Saiki S, Hirose G, Sakai K et al. Chorea-acanthocytosis associated with Tourettism. *Mov Disord* 2004;19:833-36.
- Sandor P. Pharmacological management of tics in patients with TS. *J Psychosom Res* 2003;55:41-48.
- Satoh A, Miura T, Satoh K et al. Human leukocyte antigen-DR expression on peripheral monocytes as a predictive marker of sepsis during acute pancreatitis. *Pancreas* 2002;25:245-50.
- Schalkwijk CG, Poland DC, van DW et al. Plasma concentration of C-reactive protein is increased in type I diabetic patients without clinical macroangiopathy and correlates with markers of endothelial dysfunction: evidence for chronic inflammation. *Diabetologia* 1999;42:351-57.
- Segawa M. Neurophysiology of Tourette's syndrome: pathophysiological considerations. *Brain Dev* 2003;25 Suppl 1:S62-S69.
- 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* 2007.
- Sievers J, Parwaresch R, Wottge HU. Blood monocytes and spleen macrophages differentiate into microglia-like cells on monolayers of astrocytes: morphology. *Glia* 1994;12:245-58.
- Singer HS. Tourette's syndrome: from behaviour to biology. *Lancet Neurol* 2005;4:149-59.
- Singer HS, Dickson J, Martinie D, Levine M. Second messenger systems in Tourette's syndrome. *J Neurol Sci* 1995;128:78-83.
- Singer HS, Giuliano JD, Hansen BH et al. Antibodies against human putamen in children with Tourette syndrome. *Neurology* 1998;50:1618-24.
- Singer HS, Giuliano JD, Zimmerman AM, Walkup JT. Infection: a stimulus for tic disorders. *Pediatr Neurol* 2000;22:380-383.

- Singer HS, Hong JJ, Yoon DY, Williams PN. Serum autoantibodies do not differentiate PANDAS and Tourette syndrome from controls. *Neurology* 2005;65:1701-7.
- Singer HS, Minzer K. Neurobiology of Tourette's syndrome: concepts of neuroanatomic localization and neurochemical abnormalities. *Brain Dev* 2003;25 Suppl 1:S70-S84.
- 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.
- Spoettl T, Hausmann M, Klebl F et al. Serum soluble TNF receptor I and II levels correlate with disease activity in IBD patients. *Inflamm Bowel Dis* 2007.
- 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.
- Straub RH. *Lehrbuch der klinischen Pathophysiologie komplexer chronischer Erkrankungen, Band 1: Physiologische Grundlagen*. Göttingen: Vandenhoeck & Ruprecht, 2006.
- Swedo SE, Leonard HL, Garvey M et al. 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.
- Tamm I. IL-6. Current research and new questions. *Ann N Y Acad Sci* 1989;557:478-89.
- Taylor JR, Morshed SA, Parveen S et al. 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 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.
- Vercelli D, Baldini M, Martinez F. The monocyte/IgE connection: may polymorphisms in the CD14 gene teach us about IgE regulation? *Int Arch Allergy Immunol* 2001a;124:20-24.
- Vercelli D, Baldini M, Stern D, Lohman IC, Halonen M, Martinez F. CD14: a bridge between innate immunity and adaptive IgE responses. *J Endotoxin Res* 2001b;7:45-48.
- Visser-Vandewalle V. DBS in tourette syndrome: rationale, current status and future prospects. *Acta Neurochir Suppl* 2007;97:215-22.
- Visser-Vandewalle V, Temel Y, van der LC, Ackermans L, Beuls E. Deep brain stimulation in movement disorders. The applications reconsidered. *Acta Neurol Belg* 2004;104:33-36.

Walker KG, Lawrenson J, Wilmshurst JM. Neuropsychiatric movement disorders following streptococcal infection. *Dev Med Child Neurol* 2005;47:771-75.

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

Wendlandt JT, Grus FH, Hansen BH, Singer HS. Striatal antibodies in children with Tourette's syndrome: multivariate discriminant analysis of IgG repertoires. *J Neuroimmunol* 2001;119:106-13.

Yaffe K, Lindquist K, Penninx BW et al. Inflammatory markers and cognition in well-functioning African-American and white elders. *Neurology* 2003;61:76-80.

Zdolsek HA, Jenmalm MC. Reduced levels of soluble CD14 in atopic children. *Clin Exp Allergy* 2004;34:532-39.

7 Abkürzungsverzeichnis

abs.	absolut
ADHS	Aufmerksamkeits-Defizit-Hyperaktivitäts-Syndrom
APA	American Psychiatric Association
APC	Allophycocyanin
CD	Cluster of Differentiation
CGI	Clinical Global Impression
CRP	C-reaktives Protein
COX 2	Cyclooxygenase 2
DSM	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EEG	Elektroencephalographie
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
EMG	Elektromyographie
ERP	Event Related Potentials
FACS	Fluorescence Activated Cell Sorting
FITC	Fluorescein
FL	Fluoreszenz
FSC	Forward Angle Light Scatter
GABA	Gamma-Aminobuttersäure
GM-CSF	Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor
GOT	Glutamat-Oxalacetat Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat Transaminase
μGT	Gamma-Glutamyltransferase
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
kDA	Kilo-Dalton
LPS	Lipopolysaccharid
Max.	Maximum
mCD14	Membranständiges CD14
Min.	Minimum
MOCI	Maudsley Obsessive Compulsive Inventory
MRT	Magnetresonanztomographie
MW	Mittelwert
N	Anzahl
NO	Stickstoff
P	Irrtumswahrscheinlichkeit
PANDAS	Pediatric Autoimmune Neuropsychiatric Disorders Associated with Streptococcal Infections
PBS	Phosphate-Buffered Saline Solution
PE	R-Phycoerythrin
PerCP	Peridin-Chlorophyll-a-Protein
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
R	Korrelationskoeffizient
sCD14	Soluble CD14
SD	Standardabweichung
SPECT	Single Photon Emission Computed

	Tomography
SPSS	Statistiksoftware
SSC	Side Angle Light Scatter
sTNF-R1	Soluble TNF-Rezeptor 1
TH	T-Helfer-Zellen
THC	Tetrahydrocannabinol
TLR	Toll-Like-Rezeptor
TNF	Tumor-Nekrose-Faktor
TS	Tourette-Syndrom
TSGS	Tourette`s Syndrome Global Scale
UV	Ultraviolett
Z	Prüfgröße
ZNS	Zentrales Nervensystem

8 Anhang

I. Medikamentendaten

Medikation der Tourette-Patienten

Antipsychotika und Tiaprid	Anzahl Tourette-Patienten
Amisulprid	2
Pimozid	3
Risperidon	5
Ziprasidon	1
Sulpirid	2
Clozapin	2
Olanzapin	1
Flupentixol	1
Nicht spezifiziert	1
Tiaprid (selektiver D2 – Antagonist)	11

In einem Fall war Tiaprid mit Pimozid kombiniert, in einem Fall mit Amisulprid.

Antidepressiva	Anzahl Tourette-Patienten
Sertralin	4
Mirtazapin	1
Citalopram	1
Nicht spezifiziert	2

In einem Fall war Sertralin mit Mirtazapin kombiniert.

Andere Medikamente	Anzahl Tourette-Patienten
Promethiazin	1
Lorazepam	2
Biperiden	1
Clonidin	1
Beta - Blocker + ACE - Hemmer	1
Erythromycin	1

Medikation der Gesunden

Medikamente	Anzahl Gesunde
Levothyroxin	1
Beta - Blocker	1
Kontrazeptiva	2
Salmeterole + Fluticasone	1
Budenosid	1

II. TSGS und MOCI

TOURETTE'S SYNDROME GLOBAL SCALE (TSGS)

Name: _____ Datum: _____

Untersucher: _____

Code für Frequenz	Frequenz (F)					Störung (S)						
1= 1 od. weniger in 5 min. 2= 1 in 2-4.9 min. 3= 1 in 1.9 min. bis 4 in 1 min. 4= 5 od. mehr in 1 min. 5= unzählbar	keine	selten	gelegentlich	häufig	fast immer	immer	maskiert	sicht/hörbar	gewisse Probleme	Beeinträchtigung	Funktionsverlust	
EINFACH MOTORISCH (EM): unwillkürlich, Tics, Zuckungen, Bewegungen	0	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	FxS= __
KOMPLEX MOTORISCH (KM): willkürlich, bedachte Handlungen (systemat.), Rituale, sich selbst, andere, Obj. berühren	0	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	FxS= __
EINFACH PHONETISCH (EP): unwillkürl. Geräusche, Räuspern, Husten	0	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	FxS= __
KOMPLEX PHONETISCH (KP): willkürlich, Beleidigg., Koprolalie, Wörter, Sprache	0	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	FxS= __

VERHALTEN (V)

- 0 keine Probleme
- 5 geringe Probleme, normale Beziehung zu Freunden, Familie, in der Schule
- 10 gewisse Probleme, zumindest ein Bezugssystem beeinträchtigt
- 15 deutliche Beeinträchtigung auf mehr als einem Gebiet
- 20 ernsthafte Beeinträchtigung, betrifft alle Gebiete
- 25 inakzeptables Sozialverhalten, beständige Überwachung nötig

MOTORISCHE UNRUHE (MU)

- 0 normale Bewegungsabläufe
- 5 gelegentl. Bewegungen, sichtbar, kein Problem
- 10 gesteigerte motorische Unruhe, deutlich sichtbar, gewisse Probleme
- 15 deutl. motorische Unruhe, mäßige Probleme
- 20 sehr unruhig, gelegentliche Pausen, beeinträchtigte Funktion
- 25 pausenlose Bewegung, Funktionsverlust

SCHUL- UND LERNPROBLEME (S)

- 0 keine Probleme
- 5 geringgradig
- 10 in einigen Fächern, wiederholt
- 15 in allen Fächern
- 20 Sonderschulbesuch
- 25 kein Schulbesuch möglich

BERUFLICHE PROBLEME (B)

- 0 keine Probleme
- 5 sicherer Arbeitsplatz, gewisse Schwierigkeiten
- 10 ernsthafte Probleme
- 15 wiederholter Arbeitsplatzverlust
- 20 meist arbeitslos
- 25 arbeitslos

GESAMTWERT: _____

$$((EM+KM)/2) + ((EP+KP)/2) + ((V+MU+S \text{ oder } B) \times 2/3) = \text{GESAMTWERT}$$

Übersetzt aus dem Amerikanischen nach: Leckman JF, Towbin KE, Ort SI, Cohen DJ. Clinical assessment of tic disorder severity. In: Cohen DJ, Bruun RD, Leckman JF, eds. Tourette's syndrome and tic disorders. New York: John Wiley, 1988:55-78.

Maudsley Obsessive Compulsive Inventory (MOCI)

Ray Hodgson und Stanley Rachman

Bitte beantworten Sie jede Frage, indem Sie hinter jeder Aussage um „Richtig“ oder „Falsch“ einen Kreis machen.

Es gibt keine richtigen oder falschen Antworten und keine Fangfragen. Arbeiten Sie zügig und denken Sie nicht zu lange über die genaue Bedeutung jeder Aussage nach.

- | | | |
|---|---|---|
| 1. Ich vermeide es, öffentliche Telefone wegen möglicher Beschmutzung zu benutzen | R | F |
| 2. Häufig kommen mir scheußliche Gedanken in den Kopf, und ich finde es schwierig, sie wieder loszuwerden | R | F |
| 3. Mir liegt mehr an Ehrlichkeit als den meisten Leuten | R | F |
| 4. Ich verspäte mich häufig, da ich anscheinend mit nichts rechtzeitig fertigwerden kann | R | F |
| 5. Ich mache mir nicht übermäßig Gedanken um Ansteckung, wenn ich ein Tier anfasse | R | F |
| 6. Häufig muß ich Dinge (z. B. Gas- oder Wasserhahn, Türen, usw.) mehrmals kontrollieren | R | F |
| 7. Ich habe ein sehr strenges Gewissen | R | F |
| 8. Ich stelle fest, daß ich fast jeden Tag durch unangenehme Gedanken, die mir gegen meinen Willen in den Sinn kommen, beunruhigt werde | R | F |
| 9. Es macht mir nicht übermäßig viel aus, wenn ich zufällig mit jemandem zusammenstoße | R | F |
| 10. Gewöhnlich habe ich ernstliche Zweifel wegen einfacher alltäglicher Dinge, die ich tue | R | F |
| 11. Keiner meiner beiden Eltern war während meiner Kindheit sehr streng mit mir | R | F |
| 12. Ich neige dazu, mit meiner Arbeit in Verzug zu geraten, da ich Dinge immer und immer wiederhole | R | F |
| 13. Ich verbrauche nur eine durchschnittliche Menge an Seife | R | F |
| 14. Es gibt einige Zahlen, die äußerst unglücksbringend sind | R | F |
| 15. Ich kontrolliere Briefe nicht mehrfach, bevor ich sie in den Briefkasten werfe | R | F |
| 16. Ich brauche nicht lange, um mich morgens anzukleiden | R | F |
| 17. Ich bin nicht übertrieben um Sauberkeit bemüht | R | F |
| 18. Eines meiner Hauptprobleme ist, daß ich zu sehr auf Einzelheiten achte | R | F |
| 19. Ich kann sauber gepflegte Toiletten ohne Zögern benutzen | R | F |
| 20. Mein Hauptproblem ist wiederholtes Kontrollieren | R | F |

21. Ich bin nicht übermäßig um Krankheitskeime und Krankheiten besorgt	R	F
22. Ich neige nicht dazu, Dinge mehr als einmal zu kontrollieren	R	F
23. Ich halte mich nicht an eine strikte Routine, wenn ich alltägliche Dinge erledige	R	F
24. Meine Hände fühlen sich nicht schmutzig an, nachdem ich Geld angefaßt habe	R	F
25. Gewöhnlich zähle ich nicht, während ich eine Routinetätigkeit verrichte	R	F
26. Ich brauche ziemlich lange, um morgens mit dem Waschen fertig zu werden	R	F
27. Ich verbrauche keine größeren Mengen an Desinfektionsmitteln	R	F
28. Ich verbringe täglich eine Menge Zeit damit, Dinge immer wieder zu kontrollieren	R	F
29. Das Aufhängen und Zusammenfalten meiner Kleidung am Abend nimmt nicht viel Zeit in Anspruch	R	F
30. Sogar wenn ich etwas sehr sorgfältig tue, habe ich oft das Gefühl, daß es nicht ganz in Ordnung ist	R	F

III. Danksagung

Ich bedanke mich sehr herzlich bei Herrn Prof. Dr. Norbert Müller, der zunächst durch seine Vorlesung das Interesse für die biologische Psychiatrie in mir geweckt hat und mir diese Doktorarbeit ermöglichte. Er nahm sich sehr viel Zeit und leistete große Unterstützung.

Weiterer Dank gilt Herrn PD Dr. Rudolf Gruber, der im Labor stets zur Seite stand und immer für Fragen und zur Lösung auftretender Probleme Zeit hatte.

Herzlichen Dank auch an PD Dr. Michael Riedel, der das Projekt sehr unterstützte und mich immer wieder motivierte.

Großer Dank auch an Sandra Dehning, die mich in den Klinikalltag einführte und mir stets mit Rat und Tat zur Seite stand. Danke auch an alle Kollegen, die zur Patientenrekrutierung einen großen Beitrag geleistet haben.

Besonderer Dank gilt allen Labormitarbeiterinnen, die große Unterstützung leisteten. Danke für die herzliche Aufnahme im Labor, das Einlernen, Aushelfen und die nette Atmosphäre.

Ganz herzlich möchte ich mich auch bei meiner Mit-Doktorandin Frau Dr. med. dent. Romana Resch für die immer nette und produktive Zusammenarbeit bedanken.

Zuletzt bedanke ich mich ganz herzlich bei meiner Mutter Waltraud Nürnberger und bei meinem Bruder Simon Nürnberger, die mich immer hartnäckig motivierten und mich während meines Studiums sehr unterstützten. Außerdem danke ich meinem Freund Michael Matz für seine Unterstützung und seine Gelassenheit. Auch meiner ganzen Familie und allen Freunden herzlichen Dank für die stetige Begleitung und Motivation.

IV. Lebenslauf

PERSÖNLICHE DATEN

Name: Nürnberg
Vorname: Judith
Geburtstag/-ort: 5. Juni 1979 in München
Familienstand: ledig
Staatsangehörigkeit: deutsch
e-mail: Judith.Nuernberger@med.uni-muenchen.de

SCHULISCHER WERDEGANG

1986 - 1990 Grundschule Erdweg
1990 - 1999 Deutschherren-Gymnasium Aichach
Abschluss: Abitur

STUDIUM

10/1999 - 03/2000 Studium der Sprach- und Literaturwissenschaften Deutsch, Französisch und Schulpsychologie, Ludwig-Maximilians-Universität München
Ab 03/2000 Studium der Humanmedizin, Ludwig-Maximilians-Universität München
03/2002 Physikum
03/2003 Erstes Staatsexamen
03/2005 Zweites Staatsexamen
05/2006 Drittes Staatsexamen
16.05.2006 Approbation als Ärztin

WISSENSCHAFTLICHE ARBEIT

- Seit 06/2003 Dissertation bei Prof. Dr. Müller, Klinik für
Psychiatrie der Ludwig-Maximilians-Universität
München
- Seit 07/2006 Mitarbeit in der Arbeitsgruppe
Psychoapharmakologie und der Arbeitsgruppe
Transkranielle Hirnstimulation
Mitbetreuung von immunologischen Projekten
zu Tourette-Syndrom und Schizophrenie

BERUFLICHE TÄTIGKEIT

- Seit 07/2006 Assistenzärztin in der Klinik für Psychiatrie und
Psychotherapie der Ludwig-Maximilians-
Universität München

München, Juni 2008