

TOURETTE-SYNDROM:

Immunerkrankung,

Entzündung oder

Neuroakanthozytose?

Romana Resch

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

Direktor: Prof. Dr. Hans-Jürgen Möller

TOURETTE-SYNDROM:

**Immunerkrankung,
Entzündung oder
Neuroakanthozytose?**

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

vorgelegt von

Romana Resch

aus Graz

2007

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

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

Mitberichterstatter: Priv. Doz. Dr. U. Koedel
Priv. Doz. Dr. C. Berking
Priv. Doz. Dr. E. M. Grasbon-Frodl

Promovierte Mitbetreuer: Priv. Doz. Dr. med. R. Gruber

Dekan: Prof. Dr. med. D. Reinhardt

Tag der mündlichen Prüfung: 26.04.2007

Inhaltsverzeichnis

1	<u>EINFÜHRUNG</u>	6
1.1	HISTORISCHER ÜBERBLICK	6
1.2	EPIDEMIOLOGIE	6
1.3	KLASSIFIKATION DER TICS	7
1.4	DIAGNOSTIK UND DIFFERENTIALDIAGNOSEN	9
1.5	TICS, OCD UND ADHD	10
1.6	THERAPIE DES TOURETTE-SYNDROMS	11
1.7	ÄTIOLOGIE DES TOURETTE-SYNDROMS	13
1.7.1	NEUROTRANSMITTERHYPOTHESE	13
1.7.2	GENETISCHE FAKTOREN	14
1.7.3	ENTZÜNDUNGEN UND ZELLULÄRES IMMUNSYSTEM	14
1.7.4	AUTOIMMUNITÄT UND AUTOTOLERANZ	17
1.7.5	IMMUNOLOGISCHE MECHANISMEN	17
1.8	PROBLEMSTELLUNG	19
2	<u>MATERIAL UND METHODEN</u>	20
2.1	MATERIAL	20
2.1.1	CHEMIKALIEN UND VERBRAUCHSMATERIALIEN	20
2.1.2	GERÄTE	21
2.1.3	ANTIKÖRPER	22
2.1.4	PATIENTEN UND PROBANDEN	23
2.2	METHODEN	24
2.2.1	BLUTPROBEN	24
2.2.2	EINFRIEREN VON SERUM FÜR WEITERE TESTS	25
2.2.3	ANTI-CARDIOLIPIN IGG/IGM/IGA ASSAY	25
2.2.4	ANTIKÖRPER GEGEN ZELLKERNE (ANA)	26
2.2.5	STREPTOKINASE	26
2.2.6	EPO-ELISA	27
2.2.7	HUMAN HAPTOGLOBIN ELISA	27
2.2.8	ANTI-STREPTOLYSIN UND ANTI-DORNASE	28
2.2.9	DURCHFLUßZYTOMETRIE	28
2.2.10	STATISTIK	35
3	<u>ERGEBNISSE</u>	36
3.1	LYMPHOZYTEN IM BLUT	36
3.2	B-LYMPHOZYTEN (CD19)	38
3.2.1	SUBPOPULATIONEN CD5 UND CD27	38
3.3	T-LYMPHOZYTEN (CD3)	40
3.3.1	AKTIVIERUNGSMARKER AUF DEN SUBPOPULATIONEN CD4 UND CD8	41
3.3.2	ADHÄSIONSMARKER AUF DEN SUBPOPULATIONEN CD4 UND CD8	44
3.4	ANTI-CARDIOLIPIN IGG/IGM/IGA ASSAY	45
3.5	ANTIKÖRPER GEGEN ZELLKERNE (ANA)	45
3.6	STREPTOKINASE	46

3.7	ANTI-STREPTOLYSIN UND ANTI-DORNASE	46
3.8	BLUTBILD UND KLINISCHE CHEMIE	47
3.9	EPO-ELISA	49
3.10	HUMAN HAPTOGLOBIN ELISA	50
4	<u>DISKUSSION</u>	<u>51</u>
5	<u>ZUSAMMENFASSUNG</u>	<u>58</u>
6	<u>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</u>	<u>59</u>
7	<u>LITERATURVERZEICHNIS</u>	<u>61</u>
8	<u>TOURETTE'S SYNDROME GLOBAL SCALE (TSGS) - BEWERTUNGSBOGEN</u>	<u>68</u>
9	<u>DANKSAGUNG</u>	<u>70</u>
10	<u>CURRICULUM</u>	<u>71</u>

1 Einführung

„Wenn einer aus der Reihe tanzt, ist die Reihe besser zu sehen. Das Außergewöhnliche, Andersartige und Besondere gehört zum Leben unabdingbar und macht es erst lebbar – erst lebendig!“ (C. Hempel)

1.1 Historischer Überblick

Die früheste Erwähnung des Tourette-Syndroms (TS) ist etwa 2000 Jahre alt und auf den griechischen Gelehrten, Arzt und Hippokrates-Schüler **Aretios von Kappadokien** zurückzuführen. Er beschrieb Fälle von „Zuckungen, Grimassenschneiden, plötzlichen Flüchen, Gebell...“, fand jedoch keine befriedigende wissenschaftliche Erklärung dafür, und machte deshalb den Einfluss der Götter für diese Verhaltensauffälligkeiten verantwortlich. Auch aus der Zeit des Mittelalters existieren Schriftstücke, die Symptome des TS belegen.

Aber die eigentliche Erstbeschreibung des Tourette-Syndroms entstand anhand eines Fallberichtes über die adelige Madame de Dampierre, welcher von **Jacques Itard** im Jahr 1825 verfasst wurde. Madame de Dampierre litt zunächst unter krampfhaften Kontraktionen der Hand- und Armmuskeln, im weiteren Verlauf stellten sich jedoch zusätzlich Körperverdrehungen, außerordentliche Grimassen, bizarre Schreie und ein sinnloses Aussprechen von Worten ein. Diese Symptome verschwanden aber weitgehend nach einer Milchkur, die sie auf Anraten ihres Arztes durchführte. Nach einigen Jahren traten die vokalen Symptome erneut auf und wurden durch eine zusätzliche Koprolalie schlimmer. Madame de Dampierre verstarb 1884 mit einem Alter von 81 Jahren, ohne ihre gesellschaftliche Stellung durch ihre Tics verloren zu haben.

Sigmund Freud betonte die organische Natur dieser Erkrankung.

(siehe auch: Riederer *et al.*, 2002)

1.2 Epidemiologie

Genauere epidemiologische Daten sind aufgrund unterschiedlicher definitorischer Festlegungen unsicher (Möller, 2001). Soweit bekannt manifestiert sich das Tourette-Syndrom zwischen dem 5. und 8., manchmal bis zum 20. Lebensjahr. Die Amerikanische Psychiatrische Gesellschaft (APA) schätzt die Prävalenz auf mindestens 4-5/10.000 Personen (France *et al.*, 1995). Es tritt mit einem Verhältnis von 4:1 bei Männern häufiger auf als bei Frauen. Das TS ist durch die Kombination von vokalen und multiplen motorischen Tics gekennzeichnet. Tics sind unwillkürliche, plötzliche, rasche, sich wiederholende und nichtrhythmische, stereotype Bewegungen oder Lautäußerungen. Dabei werden umschriebene Muskelgruppen unsinnig häufig bewegt. Beim TS treten oft zunächst motorische Tics auf, gefolgt von vokalen Tics, aber es ist auch ein Beginn mit Vokaltics möglich. Vokale Tics folgen den ersten motorischen Tics üblicherweise erst einige Jahre später. Motorische Tics beginnen oft im Gesichtsbereich und können sich nach kaudal bis zu den unteren Extremitäten ausweiten. Eine kraniokaudale Ausdehnung ist aber nicht immer zu beobachten. Die Ausprägung und Symptomatik nimmt bei jedem Betroffenen einen völlig anderen Verlauf. Meist startet die Erkrankung nicht abrupt, sondern beginnt mit Wochen milder Tics, die sich mit Tic-freien Perioden abwechseln. Von Zeit zu Zeit kommen neue Tics zu den eigenen hinzu, jedoch verschwinden auch einzelne Tics. Es

gibt keine Patienten mit den exakt selben Symptomen. Besonders während der Pubertät kann eine Verstärkung der Intensität der einzelnen Symptome eintreten. Zwischen dem 16. bis 26. Lebensjahr stellt sich bei ca. 70% eine starke Besserung ein, in Einzelfällen verschwinden sogar alle Tics vollständig. Andere wiederum müssen ein Leben lang mit ihren Tics zurechtkommen. Die Störung kann nur partiell und unter größten Anstrengungen unterdrückt werden und verschwindet während des Schlafs nicht. Unbehandelt kann sie sich bis zur groben Behinderung verstärken (Haring, 1995).

(siehe auch: Huber, 1999; Jankovic, 2001; Hoekstra *et al.*, 2004)

1.3 Klassifikation der Tics

Jeder Patient hat eine Vielzahl persönlich spezifischer Tics entwickelt (Tab. 1).

<u>Vokale Tics</u>		<u>Motorische Tics</u>	
Einfache:	Komplexe:	Gesichtstics:	Komplexe:
Einatmen	Wiederholen von Worten	Augenzwinkern	Kneifen
Ausatmen	Wiederholen von Phrasen	Zunge rausstrecken	Hoppen
Summen	Wiederholen von Wortfetzen	Grimassieren	Schlagen
Räuspern	Stottern	Augen nach oben drehen	Kleidung hochkrepeln
Grunzen	Sprechen in anderer Tonhöhe	Lippen lecken	Springen
Flöten	Leises Murmeln	Schielen	Vorstoßen der Arme
Keuchen	Stimmlautstärke ändern	Fingerlutschen	Stoßen
Schluckauf	Endungen verschlucken	Bruxismus	Sich selbst oder andere küssen
Quicken	Selbstgespräche in verschiedenen Stimmlagen (Charakteren)	Oberkörper:	Komplexe Berührungen/Bewegungen
Spucken	Echolalie	Haare zurückstreichen	Echopraxie
Schnüffeln	Palilalie	Kopf drehen	Kopropraxie
Aufstoßen	Koprolalie	Schulterzucken	Touching
Husten		Armbewegungen	
Schmatzen		Kinn auf die Brust/Schulter	
Schreien			
Schnauben			

Tabelle 1: Die Aufzählung beschränkt sich auf die häufigsten Tics, da es kaum möglich ist, alle existierenden Tics aufzuzählen.

Motorische Tics

Die motorischen Tics bilden die größte Gruppe der Tics. Einige laufen kurz und unauffällig ab, andere sind sehr eigenartig und auffallend. Deshalb teilt man diese nochmals in einfache und komplexe motorische Tics. Erstgenannte sind rasche, spontane und zweckfreie muskuläre Ereignisse, die am häufigsten im Gesicht und am Kopf auftreten und deshalb oft als Nervosität oder Eigenart fehlinterpretiert werden. Komplexe motorische Tics verlaufen hingegen langsamer und sind auf ein bestimmtes Ziel ausgerichtet. Dabei kann jede Bewegung des Körpers widerspiegelt werden. Einige motorische Tics werden aufgrund ihrer Besonderheiten nochmals separat hervorgehoben:

Echopraxie: „Nachahmen von Bewegungen anderer Personen“. Die Betroffenen besitzen die Fähigkeit, sich einzelne Bewegungen exakt einzuprägen. Auch wächst der Zwang, diesen Ablauf genau nachzuahmen, bis er nicht mehr unterdrückt werden kann. Der folgende Tic kann flüchtig sein und schnell wieder durch einen anderen ersetzt werden oder sich als neuer Tic manifestieren.

Kopropraxie: Kopropraxie beinhaltet das Zeigen unwillkürlicher, obszöner Gesten (Herausstrecken der Zunge, Masturbationsbewegungen, Zeigen des Mittelfingers).

Touching: Das Touching äußert sich in unwillkürlichen Berührungen von Gegenständen und Personen.

Vokale Tics

Die vokalen Tics treten in Sprechpausen auf oder interferieren in der flüssigen Sprechweise. Manche Tics äußern sich in einfachen und unauffälligen Lauten oder Tönen, andere wiederum können sehr laut und grell sein oder aus ganzen Wortkombinationen bestehen und somit die Kommunikation der Patienten mit ihrer Umwelt erheblich erschweren. Daher gliedert man auch die vokalen Tics in einfache und komplexe. Einfache vokale Tics äußern sich meist im Frühstadium des Tourette-Syndroms und treten nur in einem bestimmten Zeitraum auf. Nach dieser Zeit werden sie entweder durch einen anderen Tic ersetzt oder verschwinden gänzlich. Die Symptomatik der komplexen vokalen Tics kann zu schwerwiegenden Verständigungsproblemen führen. Einzelne Wörter können übermäßig betont werden und die Sprechlautstärke variiert von kaum hörbar bis unerträglich laut. Spezielle vokale Tics werden gesondert hervorgehoben:

Echolalie: „Wörtliche oder leicht abgewandelte Wiedergabe gesprochener oder gehörter Wörter und Sätze ohne Rücksicht auf Inhalt und Situation“.

Palilalie: „Mehrfache unwillkürliche Wiederholung von Silben, Wörtern oder Satzteilen“. Die Palilalie entspricht in ihrem Erscheinungsbild der Echolalie, allerdings wiederholen die Betroffenen keine fremden, sondern eigene Äußerungen und Worte.

Die Echolalie wird von Außenstehenden oftmals als Provokation angesehen, die Palilalie wirkt hingegen eher albern und führt oftmals zur Verspottung.

Koprolalie: „Bezeichnung für den zwanghaften Gebrauch vulgärer Ausdrücke“. Die Koprolalie steht in engem Zusammenhang mit der Kopropraxie. Die Konsequenz dieser Tics äußert sich in gesellschaftlicher Missachtung und Isolation.

(siehe auch: Mitscherlin, 1973; Gastpar, 1996; Klusmann, 1996; Uexküll, 1996; Pringsheim *et al.*, 2003)

„Sensorische“ Tics

Viele Patienten geben an, vor der tatsächlichen Ausführung von Tics ein „sensomotorisches“ Vorgefühl zu verspüren, welches als Drang, Spannungsgefühl oder Kribbeln beschrieben wird, dem Tic vorausgeht und durch die Ausführung der Tics gelöst würde (Riederer *et al.*, 2002).

1.4 Diagnostik und Differentialdiagnosen

Die Diagnose einer Tic-Erkrankung wird vorwiegend klinisch durch Anamnese und Beobachtung gestellt (Tab. 2). Der Schweregrad wird anhand von Skalen, z.B. des Tourette's syndrome global scale (TSGS/siehe Anhang) erfasst.

Zu Forschungszwecken stehen zahlreiche funktionelle bildgebende Verfahren wie die Positronenemissionstomographie (PET), die Singlephotonenemissionstomographie (SPECT) sowie die funktionelle Magnetresonanztomographie (fMRI) zur Verfügung. Durch eine ¹¹C-Diprenorphin-PET-Untersuchung wurde auf eine eventuelle Entstehungsursache im Gyrus cinguli hingedeutet (Riederer *et al.*, 2002).

(siehe auch: Moll *et al.*, 2001)

ICD-10	DSM-IV
<p>F95.2 Tourette-Syndrom</p> <p>Multiple motorische und ein oder mehrere vokale Tics haben eine Zeit lang bestanden, aber nicht notwendigerweise ununterbrochen</p> <p>Die Tics treten fast jeden Tag viele Male am Tag auf, länger als ein Jahr hindurch, ohne Remission, die länger als 2 Monate dauert</p> <p>Beginn vor dem 18. Lebensjahr</p>	<p>307.23 Tourette-Störung</p> <p>Multiple motorische sowie mindestens ein vokaler Tic treten im Verlauf der Krankheit auf, jedoch nicht unbedingt gleichzeitig</p> <p>Die Tics treten mehrmals täglich (gewöhnlich anfallsweise) entweder fast jeden Tag oder intermittierend im Zeitraum von über einem Jahr auf. In dieser Zeit keine Remission, die länger als 3 aufeinander folgende Monate andauerte</p> <p>Die Störung führt zu starker innerer Anspannung oder verursacht bedeutsame Beeinträchtigungen in sozialen, beruflichen oder anderen wichtigen Funktionsbereichen</p> <p>Beginn vor dem 18. Lebensjahr</p> <p>Die Störung ist nicht auf die direkte Wirkung einer Substanz (z.B. Stimulantien) oder einer anderen Erkrankung (Chorea Huntington oder postvirale Enzephalitis) zurückzuführen.</p>

Tabelle 2: Diagnose des Tourette-Syndroms nach ICD-10 und DSM-IV

Die Differentialdiagnose der Tic-Syndrome hat, neben den Zwangssyndromen und konversionsneurotischen Störungen, 5 Klassen motorischer Störungen organischen Ursprungs zu berücksichtigen: Kopf- oder Extremitätentremor, Chorea, myoklonische Störungen, Torsionsdystonie und Krampfanfälle (Hinterhuber, 1997; Jankovic, 2001).

Neben Differentialdiagnosen, die bei Bewegungsstörungen immer abgeklärt werden müssen, wie die Chorea Huntington, Spätdyskinesien, Morbus Wilson u.a., ist die Chorea minor (Sydenham) die wichtigste Differentialdiagnose. Kennzeichnend für die Chorea minor sind unfreiwillige Bewegungen (Zwangsbewegungen, Bewegungsunruhe, Tics), die auf das Gesicht sowie die oberen Extremitäten übergreifen.

Die Chorea minor kann bei Kindern als Komplikation nach Streptokokkeninfektionen auftreten. Sie tritt bei Mädchen häufiger als bei Jungen auf mit einem Häufigkeitsgipfel zwischen dem 5. und 15. Lebensjahr. Neben der Chorea minor als häufigstes Symptom des rheumatischen Fiebers werden Manifestationen am Bewegungsapparat, am Herzen und an der Haut beobachtet. Eine Pneumonitis, Enzephalitis und Glomerulonephritis sowie ein Erythema nodosum werden seltener berichtet (Peter *et al.*, 1996). Das rheumatische Fieber ist nicht direkt infektiös bedingt, sondern Folge einer infektinduzierten Autoimmunreaktion. Das typenspezifische M-Protein der β -hämolyisierenden A-Streptokokken zeigt eine Kreuzreaktion mit den sarkolemmalen Antigenen Tropomyosin und Myosin (molekulares Mimikry).

Erste Anzeichen einer Neuroakanthozytose können sich auch als Tourette-Syndrom darstellen. Meist handelt es sich hierbei um eine Chorea-Akanthozytose (ChAc) mit Hyperkinesie. Typisch für diese Erkrankung sind neben den neurologischen zusätzlich hämatologische Auffälligkeiten wie die Stechapfelform der Erythrozyten (Akanthozyten) und Hämolysezeichen wie die erhöhte Laktatdehydrogenase (LDH) im Blut. Genmutationen werden für diese Veränderungen verantwortlich gemacht (Bohlega *et al.*, 2003; Danek *et al.*, 2005a, b).

Es sei auch erwähnt, dass die Symptomatik des TS durch zerebrale Erkrankungen wie Insult, Enzephalitis, Schädel-Hirn-Trauma, CO-Vergiftung und die Lyme-Borreliose (*B. burgdorferi*) imitiert werden kann.

(siehe auch: Andreasen, 1993; Riedel *et al.*, 1998; First *et al.*, 2002; Riederer *et al.*, 2002)

1.5 Tics, OCD und ADHD

Zwischen 30% und 60% der Patienten mit TS leiden an Zwangsstörungen (obsessive-compulsive disorders). Tics, speziell komplex-motorische Tics, sind von diesen nicht immer eindeutig abgrenzbar (Müller *et al.*, 1997a; Freeman *et al.*, 2000; DeVeugh-Geiss, 2002; Riederer *et al.*, 2002). Komplexe Bewegungen könnten sowohl als komplexer motorischer Tic als auch als Zwangshandlung klassifiziert werden.

Jankovic (1997) nannte es „kompulsive“ Tics, Moll und Rothenberger (1999) beschrieben ein Symptomkontinuum zwischen Tics und Zwängen.

Vermutlich liegt manchen Formen der Zwangsstörungen und Tic-Störungen ein gemeinsamer genetischer Defekt zugrunde.

Etwa 50% bis 75% der Patienten, vor allem Kinder, erfüllen die Kriterien für das hyperkinetische Syndrom (ADHD). Die Manifestation dieses Syndroms liegt etwa 2 bis 3 Jahre vor dem Auftreten der Tics und kommt häufiger bei schweren Tic-Störungen vor. 50% der Kinder mit ADHD leiden unter Tics oder haben Tics in der Familienanamnese (Spencer *et al.*, 1995; Freeman *et al.*, 2000;).

1.6 Therapie des Tourette-Syndroms

Die Erkrankung ist nicht heilbar, aber symptomatisch zu behandeln (Berger, 1999).

Nach derzeitigem Stand der Forschung gibt es keine ausreichende Heilung des Tourette-Syndroms. Man versucht aber durch verschiedene Medikamente eine Linderung der Symptome zu erzielen. Die Medikamente erzielen bei jeder Person eine andere Wirkung. Als weitere Behandlungsmöglichkeiten gibt es Verhaltenstherapien und Entspannungsverfahren, mit deren Hilfe die Patienten lernen, ihre Tics selbst zu steuern.

Es sollten immer multidisziplinäre Therapiestrategien zur Anwendung kommen, um den jeweiligen Anforderungen des Krankheitsbildes gerecht zu werden.

Pharmakotherapie

Bei den länger dauernden Formen ist eine medikamentöse Behandlung angebracht (Tab. 3). Medikamente der ersten Wahl sind **Neuroleptika, die D₂-Rezeptoren blockieren** (vgl. Kap. 1.7.1). Diese sind aber unbefriedigend in Hinblick auf Nebenwirkungen wie Sedierung, kognitive Einschränkungen und extrapyramidalmotorische Symptome (EPS), zumal Tourette-Patienten für diese Nebenwirkungen relativ anfällig sind. Haloperidol (Butyrophenon) ist in 80% gut wirksam, wobei die Nebenwirkungen ein Problem darstellen. Pimozid (Butyrophenon) scheint weniger Nebenwirkungen zu verursachen (Sallee *et al.*, 1997). Einige Kliniker hingegen bevorzugen das atypische Neuroleptikum Risperidon (Bruun *et al.*, 1996), welches ebenfalls zu Tic-Reduktionen führen soll.

Auch Sulpirid wird empfohlen (Robertson *et al.*, 1990, 2000). Relativ häufige Nebenwirkungen sind hier besonders Schlafstörungen und Depressionen.

Studien belegen eine Reduktion der Schwere und Häufigkeit von Tics bei medikamentöser Behandlung mit Olanzapin bei gleichzeitiger Abnahme von Zwangssymptomen (van den Eynde *et al.*, 2005).

Daneben sind noch Ziprasidon als wirksame Neuroleptika beschrieben worden. Jankovic *et al.* (1984, 1988) berichtete von Tic-Reduktionen (Häufigkeit und Schwere) bei Anwendung von Tetrabenazinen.

Eine Clonidin-Therapie sollte dann versucht werden, wenn sich andere Pharmaka als unwirksam erwiesen haben. Clonidin als zentral wirksamer **α_2 -Agonist** (vgl. Kap. 1.7.1) verursacht im Gegensatz zu den Neuroleptika keine EPS, soll nach Absetzen aber eine Zunahme der Tics bewirken. Der Therapieerfolg mit Clonidin wird kontrovers diskutiert. Es wird sowohl von einer Reduzierung der Tics (Leckman *et al.*, 1985; Leckman *et al.*, 1991) als auch von keinen Unterschieden zwischen Clonidin und Placebos berichtet (Goetz *et al.*, 1987). Das Problem einer Clonidin-Therapie beinhaltet eine paradoxe Zunahme der Tics, vor allem nach einem plötzlichen Absetzen des Medikaments (Leckman *et al.*, 1986; Kessler *et al.*, 2001).

In einer 8-wöchigen Doppel-Blindstudie mit einer Placebo-Kontrollgruppe schlug man Guanfacin (**zentrales α -Sympathomimetikum**) als wirksame Alternative zu Clonidin vor (Scahill *et al.*, 2001).

Therapieerfolge wurden auch mit dem zentralen Muskelrelaxans Baclofen, einem selektiven **GABA_B-Agonisten** (vgl. Kap. 1.7.1), berichtet. Baclofen scheint sehr effektiv und zuverlässig in

der Behandlung von Tics bzw. TS zu sein und soll Nebenwirkungen anderer angewendeter Medikamente zur TS-Therapie reduzieren (Awaad, 1999). Weiters steht Pergolid, ein **Dopaminagonist** mit hoher Affinität zu D₂-Autorezeptoren, zur Verfügung. In einer Studie mit 24 Tourette-Patienten führte die Medikation mit Pergolid zu einer signifikanten Reduzierung der Tics im Vergleich zu einer Placebo-Kontrollgruppe (Gilbert *et al.*, 2000).

Ebenso erwies sich die intramuskuläre Injektion von **Botulinum-Toxin** als wirksam bezüglich einer Reduktion der motorischen Tics und der Koprolalie sowie des sensomotorischen Vorgefühls (Scott *et al.*, 1996; Kwak *et al.*, 2000; Marras *et al.*, 2001).

Als alternative Behandlungsverfahren stehen eine **transdermale Applikation von Nikotin** (vgl. Kap. 1.7.1) mittels Pflaster vor allem in Kombination mit einer neuroleptischen Therapie zur Verfügung, die eine Suppression der Tics zu bewirken scheint (Silver *et al.*, 1993, 1996, 2001; Dursun *et al.*, 1994).

Auch liegen Fallberichte über die erfolgreiche Behandlung mit **δ-9-Tetrahydrocannabinol (THC)**, der Hauptwirkkomponente von Cannabis, vor. Eine Einzeldosis bei 12 Patienten sowie eine 6wöchige Therapie bei 24 Patienten zeigten, dass THC Tics bei Tourette-Patienten reduzierte (Müller-Vahl, 2003a, b).

Weiters wurde über eine 5tägige Therapie eines 14jährigen Jungen, der an TS litt, mit **7S-Immunglobulinen** i.v. berichtet, die auch im Langzeitverlauf eine deutliche Besserung motorischer Tics und Vokaltics zeigte (Müller *et al.*, 1997b).

Chirurgische Therapiemaßnahmen beim Tourette-Patienten haben eher experimentellen Charakter.

Auch bei Naloxon, als Beispiel eines **Opiatrezeptor-Antagonisten**, ist eine strenge Indikation sowie eine niedrige Dosierung zu beachten, da es zu Interaktionen mit dem Opioid System kommen kann, die zu einer Verstärkung der Tics führen kann (Van Wattum *et al.*, 2000).

(siehe auch: Andreasen, 1993; Mutschler, 1996; Hinterhuber, 1997; Riederer *et al.*, 2002; Sandor, 2003)

Substanzgruppe	Substanz
Neuroleptika (Dopaminantagonisten)	Haloperidol Pimozid Risperidon Sulpirid Olanzapine Ziprasidone
α₂-Agonisten	Clonidin
Antihypertonika	Guanfacine (zentrales α-Sympathomimetikum)
GABA_B-Agonist	Baclofen
Dopamin-Agonisten	Pergolid
Sonstige	Botulinum-Toxin Nikotin Immunglobuline
Cannabinoide	δ-9-Tetrahydrocannabinol (THC)
Opiatrezeptor-Antagonisten	Naloxon

Tabelle 3: Pharmakologische Therapieansätze beim Tourette-Syndrom

Psychotherapie

Das Erlernen von Entspannungstechniken kann die motorischen Störungen lindern. Eine mentale oder physische Konzentration verringert die Häufigkeit und Stärke der Tics (Jankovic, 2001). Supportive Psychotherapie und Beratung bei den sekundären emotionalen Problemen der Patienten sind von großer Bedeutung (Berger, 1999).

1.7 Ätiologie des Tourette-Syndroms

1.7.1 Neurotransmitterhypothese

Leider ist es bis heute nicht gelungen, die genaue Ursache des Tourette-Syndroms herauszufinden. Aber man konnte feststellen, dass es sich um eine organische und nicht um eine psychische Störung handelt. Es erscheint plausibel, bei der Genese der Tic-Erkrankungen von einem Enthemmungs-Hemmungs-Modell auszugehen, als dessen Grundlage eine Neurotransmitter-Störung im Mittelhirn anzusehen ist. Möglicherweise spielt dabei der frontale Kortex eine wichtige modulierende Rolle (Möller, 1995).

Neueste Studien belegen Auffälligkeiten in einer speziellen Hirnregion, den Basalganglien (Müller *et al.*, 1997a; Müller *et al.*, 2000). Dysfunktionen der Basalganglien schlagen sich in extrapyramidalen Störungen nieder, wie z.B. die Tics (Dale, 2003). Es werden Störungen in den kortiko-striato-thalamo-kortikalen (CSTC) Regulationssystemen angenommen. Diese bestehen aus parallelen Schaltkreisen und können, je nach anatomischer Lage, Teil des motorischen oder limbischen Systems sein (Riederer *et al.*, 2002).

Dopaminerges System

Innerhalb der Neurotransmittersysteme wurde dem dopaminergen System eine wichtige Bedeutung zugeschrieben, da beobachtet wurde, dass **Neuroleptika**, die postsynaptische Dopaminrezeptoren blockieren, eine Reduktion der Tics bewirken können, während z.B. Stimulantien, die die dopaminerge Neurotransmission verstärken, eine Exazerbation der Tics herbeiführen können (Riederer *et al.*, 2002). Die striatalen D₂-Rezeptoren sowie die Dopaminsynthese dürften jedoch unverändert sein.

Noradrenerges System

Auch das noradrenerge System scheint beteiligt zu sein, da unter Behandlung mit dem **alpha₂-Agonisten** Clonidin auf eine Reduktion sowie nach Absetzen von diesem auf eine Exazerbation der Tics hingewiesen wird. Ein Versuchsaufbau mit Labormäusen bestätigt die Wirksamkeit von Clonidin (Nordstrom *et al.*, 2002). Neurone des noradrenergen Systems projizieren zu vielen kortikalen Arealen und könnten einen modulierenden Einfluss auf die frontalen subkortikalen Schaltkreise, die in Zusammenhang mit Tourette-Syndrom gebracht werden, ausüben. Möglicherweise werden dopaminerge Neurone auch *indirekt* durch dieses System moduliert (Riederer *et al.*, 2002).

Cholinerges System

Durch cholinerge Interneurone wird die Aktivität der striatalen GABA(γ -Aminobuttersäure)-ergen Interneurone moduliert. Für die Beteiligung des cholinergen Systems spricht die therapeutische Wirksamkeit transdermaler **Nikotinapplikation**, die eine Desensitivierung bewirkt, und in der Behandlung von Tic-Patienten verwendet wird (Riederer *et al.*, 2002). Mögliche Wirkmechanismen von Nikotin sind die Desensitivierung nikotinischer Acetylcholinrezeptoren, postsynaptischer Dopaminrezeptoren oder 5-HT-Rezeptoren.

Aminosäuretransmittersysteme

Die wichtigsten Aminosäuretransmitter im zentralen Nervensystem sind **GABA** (inhibitorisch) und **Glutamat** (exzitatorisch). GABA-erge Projektionen spielen innerhalb des kortiko-striato-pallido-thalamo-kortikalen Regulationssystems eine wichtige Rolle. Ein Verlust dieser Neurone wird mit der Pathophysiologie der Chorea Huntington in Zusammenhang gebracht. Glutamat kommt in den kortikostriatalen und subthalamopallidalen Projektionen vor. Post mortem Studien belegen signifikant erniedrigte Spiegel von Glutamat im medialen Globus pallidus, einem Projektionsareal des Nucleus subthalamicus (Riederer *et al.*, 2002).

1.7.2 Genetische Faktoren

Aus Familien- und Zwillingsstudien geht hervor, dass erbliche Faktoren beim TS eine große Rolle spielen, wobei die genetische Form der Vererbung noch unklar ist. Bei manchen Familien, doch nicht bei allen, scheint sie einem autosomal dominanten Muster mit inkompletter Penetranz zu folgen, wobei ein multifaktorieller polygenetischer Vererbungsmodus nicht ausgeschlossen werden kann. Konkordanzraten von 53% bei monozygoten Zwillingen und 8% bei dizygoten Zwillingen sind beschrieben worden. 77% der monozygoten und 23% der dizygoten Zwillinge von Tourette-Patienten hatten Tic-Störungen.

In einer Studie, die 16 monozygote Zwillingspaare erfasst, zeigte sich, dass die Tics bei niedrigem Geburtsgewicht heftiger in Erscheinung treten als bei normalgewichtigen Zwillingen (Hyde *et al.*, 1992). Mütterlicher Stress, Übelkeit und Erbrechen während des ersten Schwangerschaftsdrittels sind weitere Faktoren, die möglicherweise Einfluss auf die Expression des Tourette-Syndroms nehmen (Leckman *et al.*, 1990).

Weiterhin ist bekannt, dass die chronische Tic-Störung eine mildere Expressionsvariante des TS darstellt (Andreasen, 1993; Möller, 1995; Berger 1999; Riederer *et al.*, 2002).

1.7.3 Entzündungen und zelluläres Immunsystem

Hauptaufgabe des Immunsystems ist es, den Körper vor einer Vielzahl möglicher pathogener Keime zu schützen. Nachfolgend erwähnte Immunmechanismen dienen diesem Zweck. Ursachen einer so genannten „Entzündungsreaktion“ können mechanische Einflüsse, chemische Substanzen, physikalische Faktoren, Mikroorganismen sowie autogene Reize sein.

Alle zellulären Bestandteile des Blutes entstehen aus pluripotenten hämatopoetischen Stammzellen im Knochenmark: Die lymphatische Stammzelle ist der Vorläufer der B- und T-Lymphozyten. Daneben bilden sich polymorphkernige Leukozyten, Erythrozyten und Megakaryozyten, die der myeloischen Reihe entstammen. Im Zusammenspiel mit dem Komplementsystem und den Zytokinen erfüllen sie die Aufgabe der Abwehr von Krankheitserregern und potentiell schädlichen Stoffen.

Sowohl die **B-Lymphozyten**, die sich von *bone marrow* („Bursa Fabricii“ bei Vögeln) ableiten, als auch die **T-Lymphozyten** (*Thymus*) entstehen im Knochenmark, aber nur die T-Lymphozyten reifen im Thymus. Nach vollständiger Reifung gelangen beide ins Blut, von wo aus sie zu den peripheren lymphatischen Organen (Milz, Lymphknoten, darmassoziierte lymphatische Organe) wandern. Alle Lymphozyten besitzen spezifische Oberflächenrezeptoren, so dass eine große Vielfalt von Antigenen erkannt werden kann. Trifft der Rezeptor auf ein fremdes Antigen, wird er zur Proliferation angeregt, wobei die Nachkommen Effektorzellen differenzieren, die spezifische Erreger vernichten können. Ein Teil dieser proliferierenden Lymphozyten differenziert zu Gedächtniszellen (memory cells).

B-Zellen tragen an ihrer Oberfläche Immunglobuline (Ig) als Antigenrezeptoren und sezernieren nach einer Aktivierung die Immunglobuline als lösliche Antikörper, die eine Bekämpfung von Krankheitserregern in den extrazellulären Bereichen des Körpers ermöglichen. Dabei stellt ein B-Lymphozyt jeweils Antikörper einer der fünf möglichen Immunglobulin-Klassen (Isotypen) her. Primär sind dies IgM-Antikörper, die Antigen-Antikörper-Komplexe bilden und die Elimination des so gebundenen Antigens erleichtern. Später werden IgG-Antikörper hergestellt, welche über einen langen Zeitraum zur Abwehr des spezifischen Antigens dienen können. Für die Infektionsabwehr binden Antikörper an Antigene und es folgen die so genannte Neutralisation, Opsonierung mit anschließender Phagozytose und die Aktivierung des Komplementsystems mit Bakteriolyse.

Eine Subgruppe von B-Zellen (ca. 5%) sind die **CD5 positiven B-Zellen** (auch B1-Zellen genannt). Diese Zellen entstehen pränatal und sind zur Selbsterneuerung fähig. Meist liegen die B1-Zellen in der Pleura- und Peritonealhöhle und haben B-Zell Rezeptoren mit einer geringeren Antigen-Spezifisierung und sind somit kaum an der adaptiven Immunantwort beteiligt. B1-Zellen sind vom klinischen Interesse, da sie einen diagnostischen Hinweis einer chronisch-lymphatischen Leukämie (CLL) geben können. CLL zeigen häufig CD5 positive Zellen (Janeway *et al.*, 2001).

T-lymphozytäre Subpopulationen sind zum einen die T-Helfer-Zellen und zum anderen die zytotoxischen T-Zellen, die beide keine Antikörpermoleküle produzieren können. T-Helfer-Zellen sezernieren Zytokine (z.B. IL-2, Interferon γ), deren Funktion darin besteht, die Proliferation und die Differenzierung von T-Zellen, B-Zellen, Makrophagen und anderen Zellen anzuregen. Zytotoxische T-Lymphozyten lysieren Zellen, die fremde Antigene produzieren, wie etwa Zellen, die von Viren oder anderen intrazellulären Mikroorganismen befallen sind.

T-Zellen verfügen über Rezeptoren, die Peptidfragmente intrazellulärer Krankheitserreger erkennen. Solche Fragmente gelangen mit Hilfe von Glykoproteinen des **Major Histocompatibility Complex (MHC)** als Transport- oder Oberflächenproteine an die Zelloberfläche. MHC-Klasse-I-Moleküle nehmen Peptide von Proteinen auf, die im Zytosol

synthetisiert werden; sie können also Fragmente von viralen Proteinen an der Zelloberfläche präsentieren. MHC-Klasse-II-Proteine binden Peptide von Proteinen in membrangebundenen Vesikeln innerhalb der Zelle; sie präsentieren Peptide von Krankheitserregern, die in Vesikeln der Makrophagen leben oder die von Phagozyten beziehungsweise B-Zellen aufgenommen wurden.

Lymphozyten-Subpopulationen unterscheiden sich voneinander durch die Expression ihrer jeweiligen Zelloberflächenproteine, die durch spezifische Antikörper nachweisbar sind. Diese werden als Lymphozytenmarker bezeichnet und durch die **CD-Nomenklatur** („**Cluster of Differentiation**“) vereinheitlicht. Eine ganze Palette von verschiedenen monoklonalen Antikörpern können verwendet werden, um eine Zelllinie oder den Grad der Differenzierung von Lymphozyten festzustellen und damit eine Lymphozytenklasse von der anderen zu unterscheiden. Als Beispiel sei das rezeptorassoziierte CD3-Protein der T-Zellen zu erwähnen; die Corezeptoren sind CD4 und CD8.

Eine Übersicht über Oberflächenmoleküle, die in dieser Studie verwendet wurden, gibt Tabelle 4.

CD-Antigen	Expression auf
CD3	T-Zellen
CD4	Klasse II MHC-restringierte T-Zellen
CD5	T-Zellen; B-Zell-Subpopulationen
CD8	Klasse I MHC-restringierte T-Zellen
CD11a	Leukozyten
CD16	NK-Zellen, Granulozyten, Makrophagen
CD19	Fast alle B-Zellen
CD27	Mehrzahl der T-Zellen; einige Plasmazellen ?
CD45	Leukozyten
CD49d	T-Zellen, Monozyten, B-Zellen
CD54	Weitverbreitet; viele aktivierte Zellen (Zytokin-induzierbar)
CD56	NK-Zellen
CD71	Aktivierte T- und B-Zellen, Makrophagen, proliferierende Zellen

Tabelle 4: In dieser Studie verwendete CD-Moleküle.

Die CD4-positiven T-Zellen, von denen die meisten Zytokin-produzierende Helferzellen sind, sind spezifisch für Klasse II MHC-Moleküle, z.B. HLA-DR, -DQ und -DP beim Menschen. Die CD8-positiven T-Zellen, von denen die meisten zytotoxische T-Lymphozyten (CTL) sind, sind spezifisch für Klasse I Moleküle, nämlich HLA-A, -B und -C.

MHC-restringierte T-Zellen exprimieren heterodimere Rezeptoren (**$\alpha\beta$ -TCR**), die den Ig-Molekülen homolog sind. Diese Rezeptoren binden spezifisch prozessiertes Peptidantigen, das an MHC-Moleküle gebunden ist, sowie Determinanten von einigen MHC-Molekülen auf der Oberfläche von APZ (Antigen-präsentierende Zelle). Die Verbindung von TCR- $\alpha\beta$ und assoziierten Proteinen nennt man den TCR-Komplex. Der **$\gamma\delta$ -Rezeptor** kommt auf anderen Klonen vor und ist ebenfalls ein CD3-assoziiertes Heterodimer, das auf einer kleinen Subklasse von $\alpha\beta$ -negativen T-Zellen vorliegt.

Die **T-Zellantwort** erfolgt streng MHC-restringiert, wobei die CD4-positiven T-Zellen nur mit MHC-II und die CD8-positiven T-Zellen nur mit MHC-I interagieren.

Zellvermittelte Reaktionen basieren auf direkten Wechselwirkungen zwischen T-Lymphozyten und Zellen, die das Antigen tragen, das die T-Zellen erkennen. Zytotoxische T-Lymphozyten (CD8 positive T-Zellen) erkennen virusinfizierte Zellen und töten sie direkt ab. Dabei werden unter anderem Nukleasen in der infizierten Zelle aktiviert, die die DNA des Wirtes und des Virus zerstören. T-Lymphozyten sind aber auch für die Kontrolle von intrazellulären Infektionen durch Bakterien wichtig. Solche Infektionen können unter Kontrolle der CD4 positiven T-Helferzellen (Th) unter Kontrolle gebracht werden; hierbei werden Th1- von Th2-Zellen unterschieden, wobei erstere Makrophagen aktivieren, andere antibakterielle Mechanismen des Phagozyten aktivieren und Zytokine freisetzen. Th2-Zellen spielen eine wichtige Rolle bei der Vernichtung extrazellulärer Erreger, da sie B-Zellen aktivieren.

Eine weitere Zellart der lymphoiden Reihe sind die CD16 positiven Zellen, die sogenannten natürlichen Killer (NK)-Zellen. Sie machen ca. 12-15% der peripheren Lymphozyten aus und sind CD3 negativ.

(siehe Peter *et al.*, 1996; Janeway und Travers, 2001; Abbas *et al.*, 2003)

1.7.4 Autoimmunität und Autotoleranz

Autoimmunität entsteht als Folge verschiedener, einander beeinflussender Faktoren, die ein Versagen oder den Zusammenbruch der Autotoleranz, die durch Selektionsvorgänge aufrechterhalten wird, verursachen. Man nimmt an, dass an der Auslösung der Autoimmunität T-Zellen beteiligt sind. Eine besonders starke Assoziation der Autoimmunität besteht zu den Genen des MHC. Der MHC-Genotyp allein entscheidet jedoch nicht darüber, ob bei einer Person die Krankheit ausbricht. Eineiige Zwillinge, die alle Gene gemeinsam haben, entwickeln mit einer weit größeren Wahrscheinlichkeit dieselbe Autoimmunerkrankung als Geschwister mit identischen MHC-Haplotypen. Dies zeigt, dass auch andere genetische Faktoren einen Einfluss haben. Weiters tragen Infektionen, Gewebeschädigungen und hormonale Faktoren zum Entstehen von Autoimmunkrankheiten bei. Vorübergehende Autoimmunreaktionen kommen häufig vor, halten sie länger an und verursachen dauerhafte Gewebeschädigungen, wird man auf sie aufmerksam.

1.7.5 Immunologische Mechanismen

Eine Reihe von Hinweisen sprechen dafür, dass beim Tourette-Syndrom Autoimmunreaktionen eine Rolle spielen könnten. Zum einen werden Infektionen mit β -hämolyisierenden Streptokokken der Gruppe A diskutiert, wobei *diese* Tic- oder Zwangssymptome auslösen oder exazerbieren können. Pathogenetisch dürften Antikörper gegen bakterielle Antigene, die mit Antigenen im Gehirn im Sinne einer Autoimmunreaktion kreuzreagieren, dafür verantwortlich sein (molekulares Mimikry). So können einige Formen des Tourette-Syndroms und des OCD (obsessive-compulsive disorder) den **PANDAS (Pediatric Autoimmune Neuropsychiatric**

Disorders Associated with Streptococcal Infection) zugeordnet werden (Swedo *et al.*, 1997; Riederer *et al.*, 2002;).

Es wurden zunehmende Antistreptokokken-Antikörper bei Patienten mit Tourette-Syndrom gefunden. Im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe war der **Antistreptolysin O** Titer (>400 IU/ml) sowie der **anti-DNAse** Titer (>250 U/ml) bei den Patienten (Kinder/Erwachsene) signifikant erhöht (Müller *et al.*, 2000). In einer weiteren Studie fand man mittels ELISA signifikant erhöhte Antikörper gegen die mit dem zentralen Nervensystem (ZNS) kreuzreagierenden Streptokokkenproteine **M12** und **M19** bei erwachsenen Tourette-Patienten, während Antikörper gegen M1, M4 und M6, die nicht mit ZNS-Gewebe reagieren, keine Signifikanzen gegenüber gesunden Probanden aufwiesen (Müller *et al.*, 2001).

Des weitern wurden beim TS vermehrt Autoantikörper gefunden. Anti-Cardiolipin-Antikörper (ACA) gehören zur Gruppe der Anti-Phospholipid-Antikörper (aPL). Erstmals wurden sie in Seren von Syphilis-Patienten nachgewiesen, später aber auch häufiger bei Patienten mit systemischem Lupus erythematodes (SLE) und anderen rheumatischen Erkrankungen. Für dieses Antiphospholipidsyndrom (APS), welches auch als „Hughes-Syndrom“ bezeichnet wird, sind klinische Symptome, wie arterielle/venöse Thrombosen oder habituelle Aborte zusammen mit wiederholt positiven Tests für aPL charakteristisch. Die ACAs von Patienten mit Infektionserkrankungen erkennen das reine Phospholipid als Antikörper, während die ACAs von Patienten mit APS β 2-Glykoprotein I als Bestandteil benötigen.

(siehe auch: Sherer *et al.*, 2004)

Antinukleäre Antikörper (ANA) sind gegen verschiedene Bestandteile des Zellkerns gerichtet. Diese Autoantikörper können zu Störungen von Kern- und Zellfunktionen führen.

Die Literatur zeigt erhöhte Spiegel von antineuronalen Antikörpern gegen das Putamen (Singer *et al.*, 1998), nicht aber erhöhte Spiegel von Antikörpern gegen die Neuron-like HTB-10-Neuroblastomzelle (Singer *et al.*, 1999; Riederer *et al.*, 2002). Diese Ergebnisse schlagen das Putamen als „Bauzentrum“ antineuronaler Antikörper vor (Hoekstra *et al.*, 2002). Das Putamen ist ein Teil der Basalganglien (Dale, 2003).

Jedoch besteht kein Zusammenhang zwischen dem Auftreten von antineuronalen Antikörpern einerseits und dem Alter des Auftretens, der Schwere oder anderen koexistierenden psychiatrischen Störungen andererseits (Singer *et al.*, 1998).

Bei den Patienten zeigten sich im Mittel signifikant höhere Titer von antineuronalen Antikörpern im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe. Das Untersuchungskollektiv lag bei 221 Patienten, allerdings wich die Signifikanz, als man jedem Patienten einen Probanden gleichen Alters zuteilte, so dass ein reiner Alterseffekt nicht auszuschließen ist. Man erhielt die Ergebnisse mittels indirekter Immunfluoreszenz (Morshed *et al.*, 2001).

Ratten, denen Serum von Patienten mit Tourette-Syndrom und erhöhten Autoantikörpern infundiert wurde, zeigten eine Induktion von stereotypen Bewegungen, einem Tiermodell für Ticserkrankung. Signifikante Effekte erreichte man durch Infusion in die striatale Subregion (Taylor *et al.*, 2002).

1.8 Problemstellung

Da in der Literatur verschiedene Ansätze von immunologischen Veränderungen beim TS beschrieben sind, wurden in dieser Arbeit im Rahmen einer größeren Untersuchung mittels der Vierfarben-Durchflußzytometrie ausgewählte Lymphozytensubpopulationen dargestellt und ausgewertet. Daneben konnte von allen Getesteten das große Blutbild und die klinische Chemie erfasst werden. Auch die Medikation mit Neuroleptika ist ein wichtiger Faktor, der in der Untersuchung berücksichtigt werden muss, da diese mit dem Neurotransmitter- und Immunsystem interagieren können.

Auch der Nachweis antinukleärer Antikörper und Anti-Cardiolipin Antikörper bei Patienten mit Tourette-Syndrom ist aus der Literatur belegt. Vor diesem Hintergrund wurde ein Anti-Cardiolipin IgG, IgM und IgA Assay und ein indirekter Immunfluoreszenztest (ANA) durchgeführt.

Zahlreiche Studien haben auch eine Infektion mit β -hämolyzierenden Streptokokken der Gruppe A mit Antikörperbildung im Sinne einer Autoimmunreaktion für die Entstehung des Tourette-Syndroms verantwortlich gemacht. Ausgehend von diesen Studien wurden die Einzelkonzentration der Streptokinase mittels ELISA und der Anti-Streptolysin- sowie Anti-Dornase-Titer nephelometrisch bestimmt.

2 Material und Methoden

2.1 Material

2.1.1 Chemikalien und Verbrauchsmaterialien

Durchflußzytometrie:

PBS-Dulbecco		GIBCO
Rundbodenröhrchen mit Deckel	5 ml	BD Bioscience
PP-Test Tubes	50 ml	Greiner bio one
Lysing Solution		BD Bioscience
TruCOUNT Tubes	5 ml	BD Bioscience
Pipettenspitzen	blau, gelb weiß	Eppendorf Sarstedt
Latexhandschuhe SAFE-SKIN		Kimberly-Clark
Destilliertes Wasser		

Anti-Cardiolipin IgG/IgM/IgA Assay:

ORGENTEC

Mikrotiterplatte beschichtet mit Cardiolipin und humanem β 2-Glykoprotein I		
Anti-Cardiolipin Antikörper (IgG und IgM) in Serum/Puffer Matrix; gebrauchsfertig		
Anti-Cardiolipin Positivkontrolle und Negativkontrolle in Serum/Puffer Matrix; gebrauchsfertig		
Probenpuffer		
Konjugat; anti-human IgG; gebrauchsfertig		
Konjugat; anti-human IgM; gebrauchsfertig		
Konjugat; anti-human IgA; gebrauchsfertig		
TMB Substratlösung; gebrauchsfertig		
Stopplösung (1 M Salzsäure); gebrauchsfertig		
Waschpuffer (PBS)		
Einmalspitzen	10-1000 μ l	
Destilliertes Wasser		
Messzylinder	100, 1000 ml	

Antikörper gegen Zellkerne (ANA):

EUROIMMUN

Objektträger beschichtet mit HEp-2-Zellen und Primatenleber		
Fluorescein-markiertes Anti-Human-IgG (Ziege), 5fach konzentriert		
Positive Kontrolle: Autoantikörper gegen Zellkerne, human, gebrauchsfertig		
Negative Kontrolle: Autoantikörper-negativ, human, gebrauchsfertig		
Salz für Phosphatpuffer ph 7,2		
Tween 20		
Eindeckmedium		
Deckgläser		

Streptokinase ELISA:

Maxi Sorp Platte		
Bidestilliertes Wasser	2,5 ml	
Euroimmunpuffer		
PBS/Milchpulver 1%		
Antihuman IgG; Peroxidase Rabbit		DAKO
TMB (Farbstoff)		
Chromogen-/Substratlösung		BIOSENS
Streptokinase	10 µg/ml	SIGMA

Erythropoietin (EPO) ELISA:

MEDAC

Mikrotiterplatte beschichtet mit Anti-EPO-Antikörper, monoklonal (Maus) und BSA, gebrauchsfertig

Standards: rekombinantes EPO, gebrauchsfertig

Kontrolle: humanes Serum, lyophilisiert

Konjugat: Anti-EPO-Antikörper, monoklonal (Maus), AP-konjugiert

Waschpuffer

Probenverdünnungspuffer: gebrauchsfertig

Konjugatverdünnungspuffer: gebrauchsfertig

Substrat: gebrauchsfertig

NaOH-Lösung

NaCl-Lösung

Bidestilliertes Wasser

Haptoglobin ELISA:

ASSAYPRO

Human Haptoglobin Mikroplatte (96 wells) mit polyklonalen AK gegen menschliches Haptoglobin

Human Haptoglobin Standard 100 µl

Biotinylated Haptoglobin 1 Fläschchen

Streptavidin-Peroxidase Konjugat 120 µl

EIA Diluent Konzentrat 30 ml

Chromogen Substrat 8 ml

Stopplösung 12 ml

Waschlösung

Bidestilliertes Wasser

2.1.2 Geräte

Durchflußzytometrie:

Zentrifuge		Hettich
Eppendorf Pipetten	10-1000 µl	Eppendorf
Durchflußzytometer (FACScalibur)		BD Bioscience
Vortex-Genie		Scientific Industries
Software		CellQuest, MultiTEST

Anti-Cardiolipin IgG/IgM/IgA-Assay; Streptokinase-, Haptoglobin- und EPO-ELISA:

Plattenphotometer (450 nm optischer Filter)		Tecan
Multipipette	100 µl	Eppendorf
Vortex Mixer		Scientific Industries
Pipetten	50-200 µl	Eppendorf
ELISA-Waschgerät		Tecan
Glas- und Kunststoffgefäße		Schott

Antikörper gegen Zellkerne (ANA):

Fluoreszenz Mikroskop		Leitz
Zentrifuge		Hettich
Vortex-Genie		Scientific Industries

2.1.3 Antikörper

Verwendet wurden monoklonale Antikörper vom Typ IgG1, IgG2a und IgG2b, die mit vier verschiedenen Fluoreszenzen markiert waren:

CD4	PerCP	2 ml	Fa. BD Bioscience
CD5	PE	2 ml	Fa. BD Bioscience
CD8	APC	2 ml	Fa. BD Bioscience
CD11a	FITC	2 ml	Fa. BD Bioscience
CD19	PerCP	2 ml	Fa. BD Bioscience
CD27	FITC	2 ml	Fa. BD Bioscience
CD45	APC	2 ml	Fa. BD Bioscience
CD49d	PE	2 ml	Fa. BD Bioscience
CD54	FITC	2 ml	Fa. Immunotech
CD71	FITC	2 ml	Fa. BD Bioscience
Anti-HLA-DR	PE	2 ml	Fa. BD Bioscience
TCR γ/δ	PE	2 ml	Fa. BD Bioscience

MultiTEST basic 1:

CD3	FITC		
CD8	PE		
CD45	PerCP		
CD4	APC	2 ml	Fa. BD Bioscience

MultiTEST basic 2:

CD3	FITC		
CD16 + CD56	PE		
CD45	PerCP		
CD19	APC	2 ml	Fa. BD Bioscience

2.1.4 Patienten und Probanden

Die Untersuchung wurde von der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Ludwig Maximilians Universität München (Vorsitzender: Prof. Dr. Gustav Paumgartner) genehmigt. Die Probanden wurden umfassend über Inhalte und Ziele der Untersuchung aufgeklärt und gaben zur Teilnahme ihr freiwilliges Einverständnis.

Der Schweregrad des Tourette-Syndroms wurde anhand des Tourette Syndrome Global Scale (TSGS) beurteilt (Siehe Anhang):

11-20 Punkte	5 Patienten
21-30 Punkte	7 Patienten
31-40 Punkte	12 Patienten
41-50 Punkte	7 Patienten
51-60 Punkte	13 Patienten
> 60 Punkte	2 Patienten

Bei 2 Patienten liegen keine Angaben vor.

Mittels Eigenanamnese der Patienten wurden Gedanken- und Handlungszwänge, Angststörungen und depressive Störungen erfasst. Auch wurde eine ausführliche Anamnese durchgeführt, insbesondere zur Abklärung von Autoimmunerkrankungen, Allergien, anderen psychiatrischen Erkrankungen, Nikotin-, Alkohol- und Drogenkonsum, Medikation und Familienanamnese. Gleichzeitig wurde ein großes Blutbild angefertigt und weitere klinische Laborparameter erhoben, um vor allem akute Entzündungen auszuschließen. Hierbei ergab sich folgende Anamnese:

In der Familienanamnese gaben 12 (25%) von 48 Patienten TS in der Familie an. Das Erstauftreten von Tics lag bei den untersuchten Patienten zwischen 2-18 Jahren.

19 Patienten, die an dieser Studie teilnahmen, gaben an, neben dem TS gleichzeitig an Depressionen zu leiden. Desweiteren lagen folgende koexistierende Störungen bei den Patienten vor, die aber als rein subjektive Angaben der Patienten zu deuten sind:

TS + OCD	31 Patienten
TS + Angststörungen	19 Patienten
TS + OCD + Angststörungen	18 Patienten

27 Patienten unterlagen während der Studie einer Neuroleptikatherapie, einer nahm Antibiotika und 2 Patienten wurden einer Immunglobulintherapie unterzogen. Die Antibiotika- bzw. Immunglobulintherapie erfolgte aufgrund der Diagnose des TS. In der Auswertung fanden die Neuroleptika Beachtung, während aufgrund der geringen Fallzahl der Patienten mit einer Antibiotika- oder Immunglobulintherapie diese Einflussfaktoren vernachlässigt wurden. Eine Übersicht der verschiedenen Neuroleptika bietet Tabelle 5. Akute Entzündungen konnten bei allen getesteten Personen ausgeschlossen werden (CRP im Normbereich). 14 (29%) von insgesamt 48 Patienten und 7 (16%) von 43 Probanden waren Raucher.

Art des Neuroleptikums	Anzahl der Patienten
Amisulprid	1
Tiaprid	9
Pimozid	2
Risperidon	5
nicht spezifisch	1
Ziprasidon	1
Sulpirid	2
Clozapin	2
Flupentixol	1
Olanzapin	1
Tiaprid + Pimozid	1
Amisulprid + Tiaprid	1
Keine Neuroleptika	17

Tabelle 5: 27 von 45 Patienten unterlagen einer Neuroleptikatherapie.
Die Angaben von 4 Patienten fehlen.

Insgesamt wurden 48 Patienten erfasst. Als Kontrollen fanden sich 43 gesunde Probanden.

Das Durchschnittsalter der Patienten lag bei 29,9 Jahren (Range: 8-62 Jahre), der Probanden bei 30,6 (Range: 8-62 Jahre) Jahren, wobei 40 Patienten jeweils ein Proband gleichen Geschlechts und Alters (± 12 Monate) zugeordnet wurde, sodass man insgesamt von einer nahezu 80%igen Übereinstimmung dieser Parameter (Alter und Geschlecht) innerhalb der beiden Gruppen ausgehen kann. 13 (27%) von insgesamt 48 Patienten und 9 (21%) von 43 Probanden waren während der Untersuchung Kinder (unter 18 Jahren).

Das Verhältnis männlich:weiblich betrug in der Gruppe der Patienten ca. 3,4:1 und bei den Probanden 2,3:1. Bei den Probanden gab es anamnestisch keinerlei Hinweise auf das Vorliegen von akuten Erkrankungen bzw. Entzündungen oder psychiatrischen Störungen.

2.2 Methoden

2.2.1 Blutproben

Nach Aufklärung und einer schriftlichen Einverständniserklärung der **Probanden** wurden jeweils ca. 20,4 ml Blut entnommen:

1 x 7,5 ml	Heparin	für die Klinische Chemie
2 x 2,7 ml	EDTA	für das große Blutbild/Durchflußzytometrie
1 x 7,5 ml	Serum	für weitere Tests (wurde eingefroren)

Die Auswertung der klinischen Chemie bzw. des großen Blutbildes erfolgte im Labor der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie in München.

Ein kleines EDTA-Röhrchen bzw. ein Serum-Röhrchen von den **Patienten** wurde uns freundlicherweise aus der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie überlassen. Die Auswertung der Klinischen Chemie sowie des großen Blutbildes der Tourette-Patienten lag uns ebenfalls vor.

Der Laboransatz für die Durchflußzytometrie erfolgte in der Regel binnen weniger Stunden; immer innerhalb von 24 Stunden.

2.2.2 Einfrieren von Serum für weitere Tests

Das Serum-Röhrchen wurde innerhalb von 30 Minuten bei 3.500 U/ 10 min./ 4 Grad Celsius zentrifugiert; das Serum abpipettiert und in 10 bis 14 Eppendorf Cups à 250 µl proportioniert. Danach wurden die Cups in der Psychiatrischen Klinik bei -80° Celsius eingefroren bis es zur Weiterverarbeitung Verwendung fand. Patienten- und Probandenseren wurden getrennt abgelegt.

2.2.3 Anti-Cardiolipin IgG/IgM/IgA Assay

Der Anti-Cardiolipin IgG/IgM/IgA Assay (enzyme-linked immunosorbent assay) ist ein indirekter Enzymimmunoassay zum quantitativen Nachweis von Autoantikörpern gegen Cardiolipin. Die Mikrotiterplatte ist mit Cardiolipin höchster Reinheit und humanem β2-Glykoprotein I beschichtet. Antikörper, die im Serum vorhanden sind, können an die immobilisierten Antigene binden, nicht gebundene Serum-Antikörper werden beim Waschen entfernt. Enzym-markierte Detektions-Antikörper (HRP-konjugierte Anti-human IgG-, IgA- oder IgM-Antikörper) heften sich anschließend an die Oberflächen-gebundenen Autoantikörper. Es entsteht ein blaues Reaktionsprodukt durch das Enzymsubstrat. Durch Säurezugabe wird die Reaktion gestoppt und das Reaktionsprodukt gelb verfärbt. Die Intensität der Gelbfärbung kann photometrisch bei 450 nm bestimmt werden, wobei die Farbentwicklung direkt proportional zur gesuchten Autoantikörper-Konzentration ist.

Der Ansatz ist nach Anleitung der Firma Orgentec erfolgt.

Versuchsaufbau:

- 100 µl Standards, Kontrollen und verdünnte Patientenproben pipettieren
- 30 min. bei Raumtemperatur inkubieren
- Inhalt der Platte verwerfen und 3 mal mit 300 µl Waschpuffer waschen
- 100 µl Enzymkonjugatlösung pipettieren
- 15 min. bei Raumtemperatur inkubieren
- Inhalt der Platte verwerfen und 3 mal mit 300 µl Waschpuffer waschen
- 100 µl Subratlösung pipettieren
- 15 min. bei Raumtemperatur inkubieren
- 100 µl Stopplösung zugeben
- Platte 5 min. stehen lassen
- Bei 450 nm messen

2.2.4 Antikörper gegen Zellkerne (ANA)

Substrat-Kombinationen aus HEp-2-Zellen und Primatenleber werden mit verdünnten Patientenproben inkubiert. Bei positiven Proben binden sich spezifische Antikörper der Klassen IgA, IgG und IgM an die Zellkern-Antigene. Sie werden in einem zweiten Inkubationsschritt mit Fluorescein-markierten Anti-Human-Antikörpern angefärbt und im Fluoreszenzmikroskop sichtbar gemacht.

Nach den Vorgaben der Firma Euroimmun erfolgte dieser Ansatz.

Protokoll für den Indirekten Immunfluoreszenztest:

- 10 µl Serum in 1000 µl Verdünnungspuffer geben
- Gut mischen
- 25 µl verdünnte Probe auf Reagenzträger pipettieren
- 30 min. bei 25°C inkubieren
- Waschen mit PBS-Tween: 5 min. in eine Küvette stellen
- Je Feld 20 µl Konjugat pipettieren
- Reagenzträger gut abwischen
- 30 min. bei 25°C inkubieren
- Waschen mit PBS-Tween: 5 min. in eine Küvette stellen
- Reagenzträger gut abwischen
- 1 Tropfen Eindeckmedium auf Deckglas geben
- Auswerten mit Fluoreszenzmikroskop

2.2.5 Streptokinase

Die Streptokinase ist ein Protein aus β -hämolyisierenden Streptokokken.

Dieser ELISA wurde selbst aufgebaut mit Anlehnung an Ojalvo *et al.* (1999) und soll den Anti-Streptokinase-Titer im Serum bestimmen.

- Maxi Sorp Platte: 10 µg/ml Streptokinase 50000 units, 50 µl pro Well
- Verdünnung mit 2,5 ml dest. Wasser und 2,5 ml PBS
- Über Nacht bei 4°C im Kühlschrank lagern und mit Klebefolie abdecken
- 3 mal Waschen mit 300 µl Euroimmunpuffer
- Blockieren mit 1% Milchpulver/PBS, 100 µl pro Well, 30 min. inkubieren
- 3 mal Waschen mit 300 µl Euroimmunpuffer
- Seren 1:50 verdünnt mit PBS/Milchpulver (50 µl pro Well), 2 Stunden inkubieren
245 µl PBS/Milchpulver + 5 µl Serum
- 3 mal Waschen mit 300 µl Euroimmunpuffer
- Antihuman IgG (50 µl pro Well); Peroxidase Rabbit (Nr. 83) Fa. Dako; 1 Stunde inkubieren
- 3 mal Waschen mit 300 µl Euroimmunpuffer
- 50 µl TMB (Farbstoff) 30 min. inkubieren; nicht waschen; ELISA Chromogen-/Substratlösung Fa. Biosens
- 50 µl 2NH₂SO₄ messen
- (1% Milchpulver PBS: 1 g Milchpulver auf 100 PBS)
- (IgG: 1:4000 mit Milchpulver/PBS; 3 µl AK + 12 ml Milchpulver/PBS)

2.2.6 EPO-ELISA

Der EPO-ELISA ist ein Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung von Erythropoetin im Serum. Dieses pH-unempfindliche Glykoprotein wird überwiegend in den Nieren und in der Leber gebildet. Die Synthese von EPO wird durch Sauerstoffsensoren gesteuert, die unter anderem in der Niere lokalisiert sind. Eine Gewebshypoxie ist der wichtigste Reiz für eine vermehrte Synthese.

Die Firma Medac lieferte folgendes Protokoll als Vorlage:

- Jeweils 50 µl Probenverdünnungspuffer in die Mikrotitervertiefungen pipettieren
- Jeweils 50 µl Standards pro Vertiefung pipettieren
- Jeweils 25 µl Probenverdünnungspuffer pro Vertiefung für Serumbestimmungen und Kontrollen pipettieren. Anschließend jeweils 25 µl Probe pro Vertiefung pipettieren
- Mikrotitervertiefungen 60 min. bei 37°C inkubieren
- 3 mal mit jeweils 300 µl Waschpuffer waschen
- 50 µl Konjugat in alle Vertiefungen pipettieren
- Mikrotitervertiefungen 60 min. bei 37°C inkubieren
- 4 mal mit jeweils 300 µl Waschpuffer waschen
- 50 µl Substrat in jede Vertiefung pipettieren und 30 min. bei 37° C im Dunkeln inkubieren
- Durch Zugabe von 50 µl Stopplösung in jede Vertiefung wird die Reaktion gestoppt
- Messen mit dem Photometer

2.2.7 Human Haptoglobin ELISA

Der Human Haptoglobin ELISA ist ein quantitativer Test, welcher menschliches Haptoglobin misst. Haptoglobin ist ein Plasmaprotein mit Hb-Bindungskapazität und ein Plasmaglykoprotein, welches einen stabilen Komplex mit Hb bildet um die Verwertung von Häm.Eisen zu fördern. Haptoglobin ist ein Hämolysemarker. Ein hoher Level von Haptoglobin im Plasma wird assoziiert mit einem erhöhten kardiovaskulären Risiko bei Fettleibigkeit, Entzündungen, Atherosklerose und systemischer Sklerose.

Es wurde nach folgendem Protokoll nach der Firma AssayPro vorgegangen:

- 25 µl Standard oder Proben pro Well pipettieren und gleich danach 25 µl vom Biotinylated Haptoglobin hinzufügen
- 1 Stunde inkubieren
- 5 mal waschen mit 200 µl Waschpuffer
- 50 µl Streptavidin-Peroxidase Konjugat hinzupipettieren
- 30 min. inkubieren
- 5 mal waschen mit 200 µl Waschlösung
- 50 µl Chromogen Substrat hinzufügen
- 8 min. inkubieren
- 50 µl Stopplösung hinzupipettieren
- Mit Photometer messen

2.2.8 Anti-Streptolysin und Anti-Dornase

Diese Daten wurden nephelometrisch im Max von Pettenkoferinstitut in München erfasst.

Die Nephelometrie wird zur quantitativen Bestimmung von Einzelproteinen herangezogen.

2.2.9 Durchflußzytometrie

2.2.9.1 Grundlagen der Durchflußzytometrie

Ein Durchflußzytometer ist ein optisches Meßsystem, das Streulicht- und Fluoreszenzsignale einzelner in einem Flüssigkeitsstrom fokussierter Partikel analysiert. Die Durchflußzytometrie ist eine relativ junge Technologie, die zur Messung von Tumorzellen, Lymphozyten und Bakterien mit Hilfe von Protein-, Nukleinsäurefarbstoffen und fluoreszenzmarkierten Antikörpern, entwickelt wurde.

Vorraussetzung sind spezifische Fluoreszenzfarbstoffe, deren Fluoreszenz mit einer Lichtquelle angeregt und deren Emission mit dem Gerät gemessen werden kann. Für Routineanwendungen hat sich ein Argonlaser mit 488 nm Wellenlänge bewährt.

Unter **Fluoreszenz** versteht man die rasch abklingende Lichtemission von Molekülen nach Absorption energiereicher Strahlung. Fluoreszierende Verbindungen absorbieren Lichtenergie in einem jeweils für sie charakteristischen Wellenlängenbereich. Diese Energie hebt die Elektronen auf ein höheres Energieniveau. Beim Rücksprung kommt es zur Emission eines Photons, der Fluoreszenz. Ein Teil der Energie geht in Form von Wärme verloren. Aus diesem Grunde ist das gebildete Licht energieärmer und damit langwelliger als das Anregungslicht (Abb. 1).

Hier wurden vier Fluorochrome mit einem Exzitationsbereich um 488 nm gewählt. Die benutzten Antikörper sind mit je einem dieser Fluorochrome markiert. Aufgrund unterschiedlicher Emissionswellenlängen können die vier Farben gleichzeitig gemessen werden (Tabelle 6). Wird eine fluoreszierende Verbindung außerhalb seines Absorptionsmaximums angeregt, äußert sich das in einer Intensitätsverminderung nicht aber in der Farbänderung der Fluoreszenz.

Fluorochrom	Exzitation (nm)	Fluoreszenz (nm)
Fluorescein (FITC)	495	525
Phycoerythrin (PE)	488	578
Peridin-Chlorophyll-a-Protein (PerCP)	470	680
Allophycocyanin (APC)	650	660

Tabelle 6: Angabe der Wellenlängen der Fluorochrome FITC, PE, PerCP und APC.

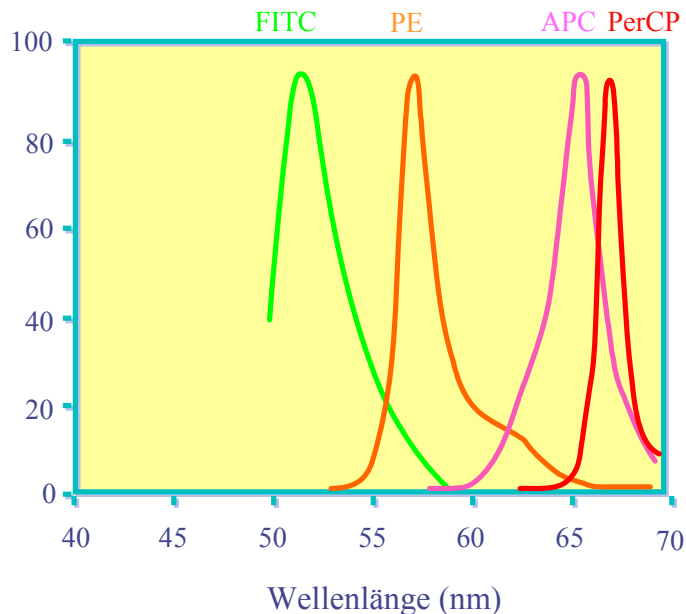


Abb. 1: Emissionsspektrum der Fluoreszenzfarbstoffe FITC, PE, APC und PerCP.

Neben der Fluoreszenz wird als weiterer Parameter das **Streulicht** gemessen. Die Lichtstreuung wird durch Zelleigenschaften, wie Querschnittsfläche, Refraktionsindex, Struktur der Membran und intrazelluläre Bestandteile beeinflusst, und daher nicht gleichmäßig gestreut. Am größten ist die Lichtstreuung im Kleinwinkelbereich ($0-10^\circ$) des einfallenden Lichtstrahls. Dieses Vorwärtstreulicht, *Forward Angle Light Scatter* (FSC), ist sensitiv für die Querschnittsfläche der Zelle und lässt Rückschlüsse auf deren Größe zu. Ein geringerer Teil des Lichts streut seitwärts (90°) und wird als Seitwärtstreulicht, *Side Scatter* (SSC), bezeichnet. Es entspricht dem Refraktionsindex und gibt Zellinformationen über Granularität, Membranfaltung und äußerer Form. Somit lassen sich die wichtigsten Leukozytengruppen voneinander unterscheiden (Abb. 2).

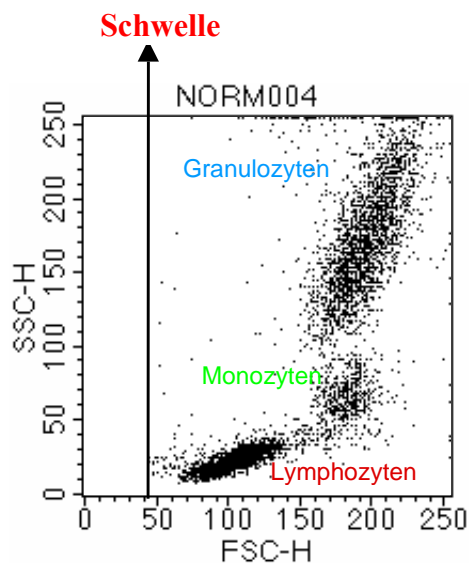
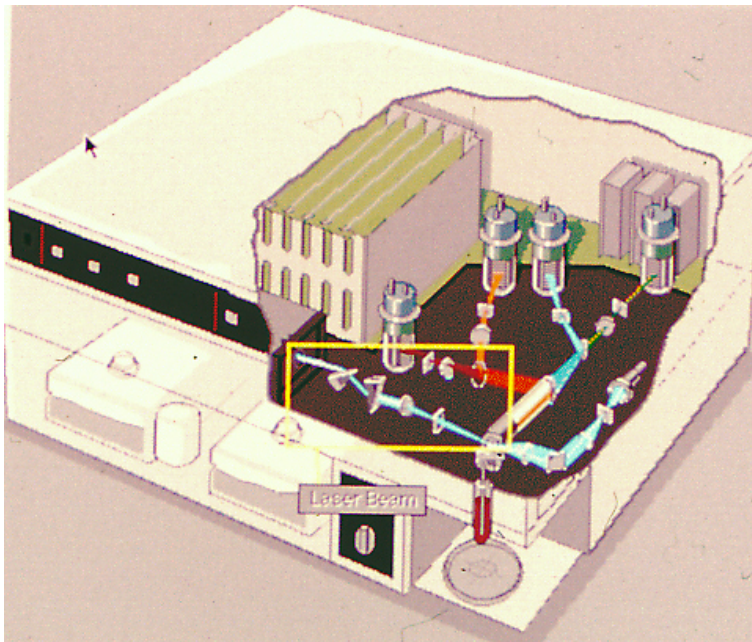


Abb. 2: Anhand der Größe (x-Achse) und der Granularität (y-Achse) lassen sich die einzelnen Zellpopulationen voneinander abgrenzen. Hier erfolgt die Darstellung der Lymphozyten, Monozyten und Granulozyten.

2.2.9.2 Aufbau eines Durchflußzytometers



Das Gerät besteht aus folgenden Bauteilen:

- 1 Flüssigkeitssystem
- 2 Optisches System
- 3 Signalverarbeitung

Das aus zwei Leitungen bestehende **Flüssigkeitssystem** pumpt über eine Zuleitung kontinuierlich Trägerflüssigkeit durch eine Messkammer und weiter in den Abfallbehälter, während die zweite Leitung dem Transport der Zellen vom Probenröhrchen zur Messkammer dient, wo sich beide Leitungen vereinen.

Das **optische System** gliedert sich in einen Anregungs- und einen Detektionsteil, wobei ersteres der Strahlformung dient. Zwei Baugruppen enthält der Detektionsteil, der axial zum anregenden Laserstrahl das FSC, bzw. orthogonal dazu das SSC und die Fluoreszenz misst. Die Fluoreszenz wird durch Blenden, Filter und Optiken in verschiedene Farbbereiche zerlegt und somit vom SSC abgegrenzt.

In die **Signalverarbeitung** zählt man die Signalumwandlung, die Signalverstärkung, den Schwellenwert, die Digitalisierung sowie die Datenaufnahme im Listendateiformat. Für ersteres werden Photodioden und Photoröhren eingesetzt. Signale sind linear bzw. logarithmisch verstärkbar. Um in einem Verstärker echte Signale festzustellen, behilft man sich einer elektronischen Schwelle (Treshold), die sich auf einen bestimmten Auslöseparameter (Trigger) bezieht. Ein Analog-/Digitalwandler (APC) gliedert die Intensität der gemessenen Eigenschaft in eine von 256 bzw. 1024 Klassen ein und speichert die Daten in einer Listendatei (List-Mode). Die Messwerte der Zellen werden in der gleichen Reihenfolge, in der sie den Analysepunkt passieren, gespeichert. So ist eine wiederholte Auswertung auch noch nach Jahren möglich.

(siehe auch: Schmitz und Rothe, 1994; Sack *et al.*, 2000; Janeway und Travers, 2001; Abbas *et al.*, 2003)

2.2.9.3 Immunfluoreszenzfärbung

Die Messung erfolgte aus dem Vollblut (EDTA).

Für reproduzierbare Ergebnisse sollten die Zell- bzw. die Antikörperkonzentration standardisiert sein. Um die Gefahr des Zellverlustes durch Wasch- und Färbevorgänge zu verringern, wurde ein Färbevolumen von 100 µl gewählt.

Um Reagenzien einzusparen und gleichzeitig die Färbung zu optimieren, wurden die Färbeantikörper unter standardisierten Bedingungen mit unterschiedlichen Konzentrationen titriert. Die Konzentration sollte man so wählen, dass nur hochaffine Antigen-Antikörper-Reaktionen und nicht niedrigaffine Kreuzreaktionen möglich sind. Hierbei fanden jeweils 90 µl Blut + 10 µl AK-Verdünnung Anwendung.

Die Färbung erfolgte direkt mit fluoreszenzmarkierten Antikörpern in einem Schritt. Hierbei ist es möglich, verschiedene Antikörper gleichzeitig den Zellen zuzusetzen.

Jede der Proben wurde mit einer Kombination aus vier verschiedenen Antikörpern gefärbt und analysiert (Tab.7).

Probennummer	Bezeichnung	AK-Kombination	Fluoreszenz	Isotyp	Endverdünnung
1	MultiTEST 1	CD3 CD8 CD45 CD4	FITC PE PerCP APC		
2	MultiTEST 2	CD3 CD16 + CD56 CD45 CD19	FITC PE PerCP APC		
3	B-Zellen	CD27 CD5 CD19 CD45	FITC PE PerCP APC	Ms-IgG2a Ms-IgG1 Ms-IgG1 Ms-IgG1	1:80 1:40 1:20 1:50
4	Aktivierung	CD71 TCR γ/δ CD4 CD8	FITC PE PerCP APC	Ms-IgG2a Ms-IgG1 Ms-IgG1 Ms-IgG1	1:20 1:20 1:100 1:50
5	Adhäsion 1	CD11a CD49d CD4 CD8	FITC PE PerCP APC	Ms-IgG1 Ms-IgG1 Ms-IgG1 Ms-IgG1	1:10 1:10 1:100 1:50
6	Adhäsion 2	CD54 Anti-HLA-DR CD4 CD8	FITC PE PerCP APC	Ms-IgG1 Ms-IgG2a Ms-IgG1 Ms-IgG1	1:20 1:20 1:100 1:50

Tab. 7: Antikörperpanel

Folgende Protokolle dienen als Vorlage:

Probennummern 3-6:

- Je 90 µl EDTA Blut + 10µl AK – Mischung
- Gut mischen (Vortex-Genie)
- 10 min. im Dunkeln stehen lassen
- + 2 ml Lyse-Lösung (Erythrozyten platzen); Lösung ist 1:10 mit dest. Wasser verdünnt (50ml Röhren: 5 ml Lyse-Lösung + 45 ml dest. Wasser)
- Deckel auf die Röhren und gut mischen (Vortex-Genie)
- 10 min. im Dunkeln stehen lassen (Lösung wird klar)
- Zentrifugieren: 10 min / 1500 U / 20°C
- Überstand abpipettieren
- Aufschütteln (weißes Gitter)
- Mit PBS auffüllen
- Zentrifugieren: 10 min / 1500 U / 20°C
- Überstand abpipettieren bis ca. 2 cm über dem Boden
- Aufschütteln (weißes Gitter) – Mischen – Messen

Bis zur Messung am Durchflußzytometer wurde der Ansatz *im Dunkeln* im Kühlschrank bei 4° C gelagert. Die Messung erfolgte innerhalb weniger Stunden.

(Paraformaldehyd: Fixierlösung; ca. 24 Std. lagerbar).

Grundprotokoll 4 Color MultiTEST (Probennummern 1 und 2):

Probenvorbereitung:

- 20 µl AK-Mischung in ein Trucount-Röhrchen geben
- 50 µl EDTA-Blut dazu geben
- gut mischen (Vortex-Genie)
- 15 min. lang im Dunkeln stehen lassen
- 450 µl Lyse-Lösung dazugeben (1:10 verdünnt)
- gut mischen (Vortex-Genie)
- 10 min. stehen lassen, bis es klar wird
- MESSEN

2.2.9.4 Messung mit dem Durchflußzytometer

Um beim Setzen der Auswertefenster mit möglichst geringen Überschneidungen zu rechnen, sollten die Zellgruppen möglichst deutlich voneinander abgegrenzt werden.

Für die Geräteeinstellung wurden verwendet:

- 1 CD4 APC
- 2 CD3 FITC + CD64 PE
- 3 CD64 PE + CD4 PerCP
- 4 CD4 PE + CD8 APC

Diese vier Farbstoffe APC, FITC, PE und PerCP wurden in der Einstellung kompensiert, um die spektrale Überlagerung der Fluoreszenzfarbstoffe zu korrigieren.

Auf eine Interassay-Kontrolle konnte verzichtet werden, da die Patienten gematcht wurden. Für 40 von 48 Patienten wurde ein gesunder Proband gleichen Alters und Geschlechts gefunden, die alle unabhängig voneinander ausgewertet wurden und jeweils zueinander eine Kontrolle darstellten.

Wöchentlich wurde der Durchflußzytometer (FACScalibur) neu kalibriert. Hierbei fand jeweils ein 4-Color Lyse/Wash und eine 4-Color Lyse/No-Wash Vorgang statt. Somit wurden mithilfe der Calibration Beads der FSC, SSC und alle vier Fluoreszenzen neu kalibriert, um gerätebedingte Fehler zu minimieren. Der Treshold (Schwelle) blieb immer konstant. So wurden alle Fluoreszenzen zueinander kompensiert.

2.2.9.5 Darstellung der Messergebnisse

2.2.9.5.1 Einparameterdarstellung

In der **Histogramm-** oder **Häufigkeitsverteilung** können die digitalisierten Werte in Klassenwerte von 0 bis 256 oder 0 bis 1024 eingetragen werden. Hierbei ist es möglich, das Signal linear oder logarithmisch zu verstärken (Abb. 3a und 3b). Die Einparameterdarstellung eignet sich besonders für die DNA-Analyse sowie die Einfarbenimmunfluoreszenzmessung.

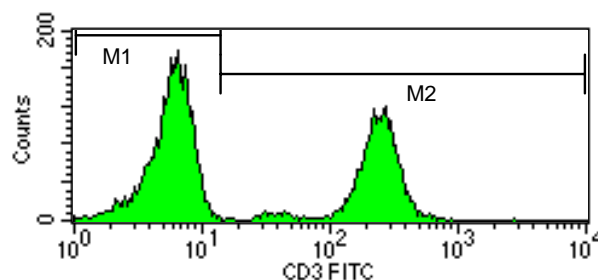
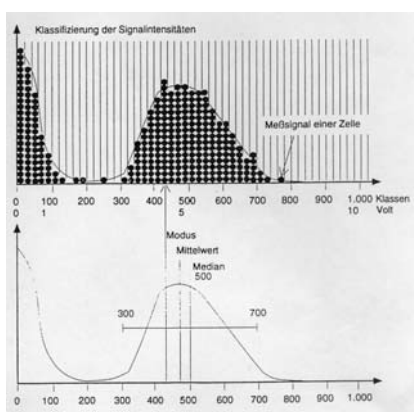


Abb. 3a und 3b: Histogrammdarstellungen

2.2.9.5.2 Zweiparameterdarstellung

Beim so genannten **Punktehistogramm (dot plot)** stehen zwei Zelleigenschaften in Korrelation zueinander, z.B. FSC (Größe) gegen SSC (Granularität). Jeder Punkt steht für eine bestimmte Zelle mit ihren beiden Eigenschaften. Auf diese Weise können die Leukozytensubpopulationen wie Lymphozyten, Monozyten und Granulozyten voneinander abgegrenzt werden (Abb. 4a und 4b).

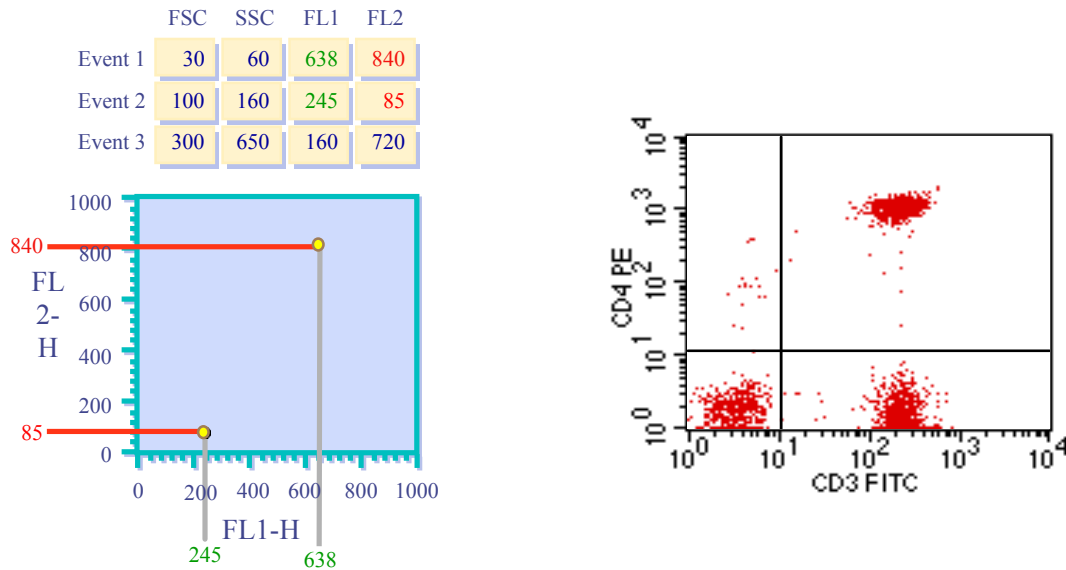


Abb. 4a und 4b: Punktehistogrammdarstellungen: Die Klassenwerte zweier Parameter werden gegeneinander aufgetragen.

Um die Quantität besser abschätzen zu können, können weitere Darstellungsformen herangezogen werden, um die räumliche Orientierung zu vereinfachen (Abb. 5).

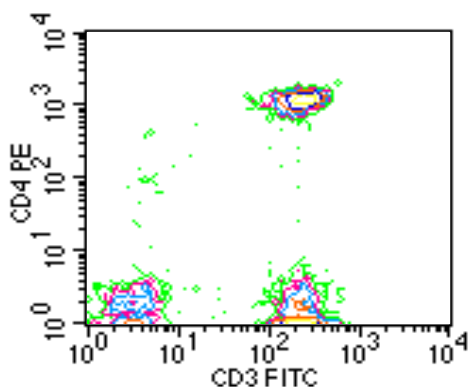


Abb. 5: Konturliniendarstellung.

2.2.9.6 Definition der Auswertefenster

Die Auswertung wurde nur für die Lymphozyten durchgeführt, das heißt, in die Berechnungen wurden nur die B- und T-Lymphozytenpopulationen einbezogen, die vorausgehend in **Gates** (Fenster) eingegrenzt wurden (erkennbar an bestimmter Größe und Granularität). Für weitere Bestimmungen wurden interessierende CD-Moleküle (z.B. Aktivierungs- und Adhäsionsmarker) gesondert auf diese Zellen betrachtet

Die Auswertung der Dot Plot Analyse erfolgte statistisch mittels einer Quadrantenanalyse. Ein eingefügtes Kreuz im Analysefenster trennte hierbei negative von positiven Zellpopulationen (siehe als Beispiel auch Abbildungen 6 bis 8).

2.2.10 Statistik

Die vorliegende Arbeit wurde als explorative Studie angelegt. Da keine Normalverteilung der Daten vorlag, fand ein nichtparametrischer Test in dieser Studie Anwendung. Hierbei wurde der Mann-Whitney U-Test für zwei unabhängige Stichproben ausgewählt. Der mittlere Rang beschreibt den Mittelwert der einzelnen Kategorien. Z ist die Prüfgröße des Tests der Nullhypothese über die Standardnormalverteilung. Die asymptotische Signifikanz entspricht dem zweiseitigen p -Wert für Z , während die exakte Signifikanz den exakten zweiseitigen p -Wert für den Mann-Whitney U-Test enthält.

Die statistische Datenanalyse erfolgte mithilfe von SPSS 13.0 für Windows.

Boxplots dienen der graphischen Darstellung. Die Prozentile wurden bei 25% und 75% gewählt. Der mittlere Querstrich kennzeichnet den Medianwert. Die farblich dargestellten Balken zeigen die mittleren 50% der Werte. Die Breite der Balken gibt einen Hinweis auf die Streuung der Werte in dieser Gruppe bzw. die Lage des Medianwertes enthält Informationen zur Symmetrie.

Auf den Vergleich multipler Tests wurde verzichtet, wohl wissend, dass die Ergebnisse hierbei nur als beschreibende Größen angesehen werden können.

40 Patienten stimmten mit den jeweiligen 40 Probanden in Geschlecht und Alter überein. Von den insgesamt 48 Patienten und 43 Probanden lag bei einzelnen Tests nicht immer von allen genügend Untersuchungsmaterial vor. Die Zahl der Getesteten wird bei jeder Statistik dargestellt. Auch der Einfluss einer Neuroleptikatherapie (NL) auf die gemessenen Parameter wurde betrachtet.

3 Ergebnisse

3.1 Lymphozyten im Blut

Die Daten zur Prozentzahl sowie der Anzahl der Lymphozyten und Leukozyten/nl Blut wurden freundlicherweise vom Routinelabor der Psychiatrischen Klinik erhoben.

Tabelle 8a zeigt die Mittelwerte dieser Zellpopulationen jeweils für die Patienten und Probanden, in Graphik 1 ist die graphische Darstellung anhand von Boxplots ersichtlich. Der Mann-Whitney U-Test diente zur Bestimmung signifikanter Unterschiede in den beiden Gruppen (Patienten/Probanden).

Geht man von einem Signifikanzniveau von 5% ($\alpha=0,05$) aus, findet man im Blut der Tourette-Patienten eine signifikant erniedrigte Prozentanzahl der Lymphozyten ($p=0,044$). Im Gegensatz dazu zeigen die Anzahl der Lymphozyten/nl Blut und Leukozyten/nl Blut aber keine Unterschiede zwischen den Patienten und den jeweiligen Kontrollen.

	Lymphozyten% (MW±SD)	Lymphozyten/nl (MW±SD)	Leukozyten/nl (MW±SD)
Probanden (N=42)	33,15±8,6	2,23±0,7	6,62±1,5
Patienten (N=47)	30,52±7,6	2,11±0,7	6,94±1,8
	Lymphozyten%	Lymphozyten/nl	Leukozyten/nl
Mann-Whitney-U	742,500	884,000	893,500
Z	-2,010	-0,685	-0,768
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	0,044	0,493	0,442

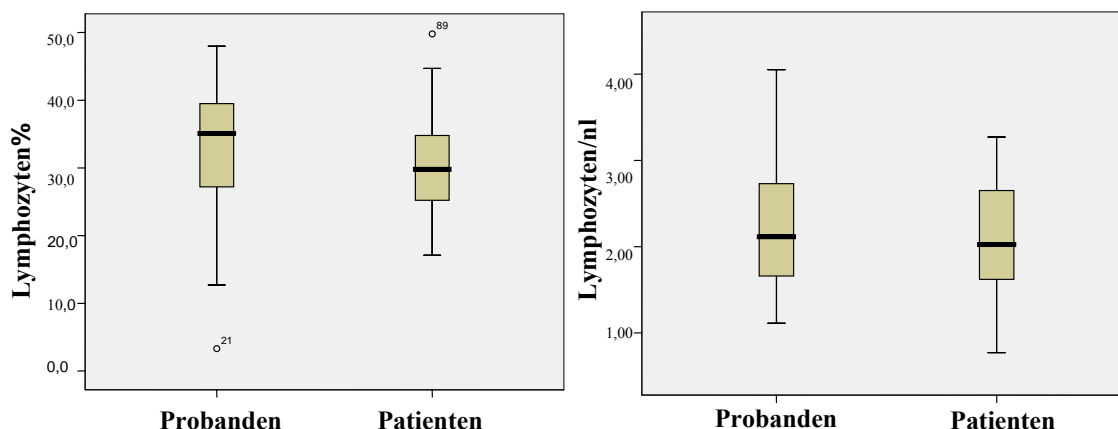
Tabelle 8a: MW = Mittelwert

SD = Standardabweichung

Vergleich der Mittelwerte von Lymphozyten und Leukozyten im Blut bei Patienten und Probanden. Bei den Tourette-Patienten liegt eine signifikant erniedrigte Prozentzahl der Lymphozyten im Blut vor. Die Gesamtzahl der Lymphozyten und Leukozyten im Blut zeigt keine Unterschiede in den beiden Gruppen.

Anhand des Mann-Whitney U-Tests ergibt sich für die Prozentzahl der Lymphozyten eine Signifikanz von $p=0,044$.

Ausreichend Material war von 47 Patienten und 42 Probanden vorhanden.



Graphik 1: Graphische Darstellung der Prozentzahl der Lymphozyten sowie der Gesamtzahl der Lymphozyten/ml Blut jeweils für Probanden und Patienten. Ein signifikanter Unterschied lässt sich anhand des Mann-Whitney U-Tests nur bei der Prozentzahl der Lymphozyten im Blut verzeichnen. Im Balken sind jeweils die mittleren 50% der Werte dargestellt. Die Lage des Medianwertes wird durch den mittleren Querstrich gekennzeichnet.

Um den Einfluss einer Neuroleptikatherapie auf die Prozentzahl der Lymphozyten zu beurteilen, wurden die Patienten mit und ohne NL-Therapie miteinander verglichen. Da der verwendete Mann-Whitney U-Test keine signifikanten Ergebnisse zeigt, können Neuroleptika als Einflussgröße für die veränderten Werte ausgeschlossen werden (siehe Tabellen 8b und 8c).

	NLakt	N	Mittlerer Rang	Rangsumme
Lymphozyten%	Keine NL	13	16,77	218,00
	NL-Therapie	22	18,73	412,00
	Gesamt	35		

Tabelle 8b: N = Anzahl der Getesteten
Patienten mit und ohne Neuroleptikatherapie.
Von 35 Patienten lagen Informationen über eine NL-Therapie vor.

	Lymphozyten%
Mann-Whitney-U	127,000
Z	-0,546
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	0,585
Exakte Signifikanz [2*(1-seitig Sig.)]	0,601(a)

a Nicht für Bindungen korrigiert.

Gruppenvariable: NLakt

Tabelle 8c: Die Neuroleptikatherapie nimmt keinen Einfluss auf die Veränderungen der Prozentzahl der Lymphozyten im Blutbild.

3.2 B-Lymphozyten (CD19)

Mittels MultiTEST konnten die Absolutzahl sowie die Prozentzahl der B-Lymphozyten (CD 19) erfasst werden. Sowohl die Mittelwerte der Absolut- sowie auch der Prozentzahl der B-Lymphozyten liegen bei den Patienten und Probanden in ähnlichen Bereichen. Signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen liegen nicht vor; getestet mit dem Mann-Whitney U-Test. Insgesamt wurden Daten von 45 Tourette-Patienten und 42 Probanden erhoben. Die Tabelle 9a veranschaulicht die Ergebnisse.

	CD19% (MW±SD)	CD19/nl (MW±SD)
Probanden (N=42)	15,45±5,7	361,21±204,5
Patienten (N=45)	14,84±5,2	324,13±166,9
	CD19%	CD19/nl
Mann-Whitney-U	906,000	905,500
Z	-0,332	-0,336
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	0,740	0,737

Tabelle 9a: Vergleich der Mittelwerte der Prozent- bzw. Absolutzahl der B-Lymphozyten (CD19) im Blut bei Patienten und Probanden. Es wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen Tourette-Patienten und Probanden gefunden.

3.2.1 Subpopulationen CD5 und CD27

Die Auswertung der Messung von CD19 positiven Lymphozyten (B-Lymphozyten) und der Subpopulationen CD5 und CD27 erfolgte mittels Quadrantenanalyse.

Zunächst wurden die Lymphozyten eingegrenzt (R1+R2; siehe Abb. 6 und 7), dann die B-Zellen erfasst (R3; Abb. 8). Es wurden jeweils die Subpopulationen CD5 und CD27 auf die eingegrenzten B-Zellen betrachtet.

Mittels Quadrantenanalyse konnten positive von negativen Zellwolken abgegrenzt werden. Es ergeben sich anhand des Mann-Whitney U-Tests keine signifikanten Unterschiede in den Subpopulationen der Patienten im Vergleich zur Kontrollgruppe. Die Verteilung der Subpopulationen CD5 und CD27 sind in beiden Gruppen ähnlich.

Die Ergebnisse sind aus Tabelle 10a ersichtlich.

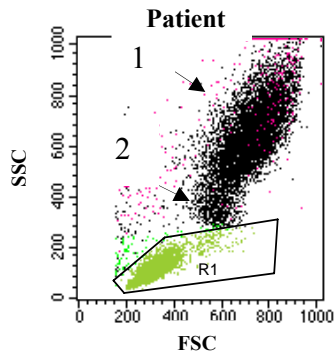


Abb. 6: R1=Lymphozytenpopulation
1=Granulozyten
2=Monozyten
FSC=Zellgröße
SSC=Zellgranularität

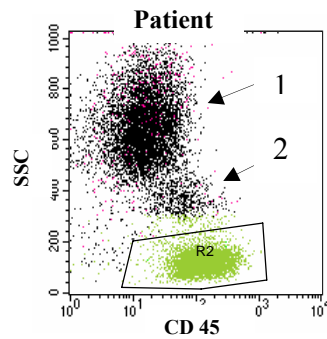


Abb. 7: R2=CD45positive Zellen,
Lymphozyten
1=Granulozyten
2=Monozyten

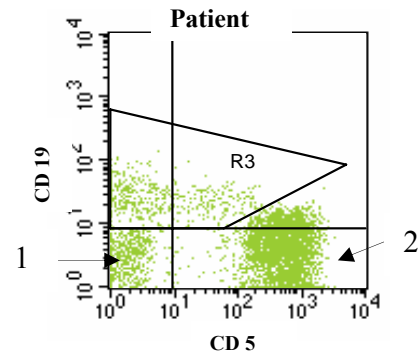


Abb. 8: R3=CD19 positive Zellen
(B-Zellen)
1=CD5-CD19-
2=CD5+CD19-

	CD5- CD19+ (MW±SD)	CD5+ CD19+ (MW±SD)	CD27- CD19+ (MW±SD)	CD27+ CD19+ (MW±SD)	CD27+ CD5- (MW±SD)	CD27+ CD5+ (MW±SD)	CD27- CD5- (MW±SD)	CD27- CD5+ (MW±SD)
Probanden (N=43)	66,65±14,7	33,07±14,4	64,74±15,4	35,23±15,4	28,75±14,5	5,17±3,2	39,47±11,6	26,53±14,9
Patienten (N=48)	66,69±13,5	33,22±13,5	69,52±13,4	30,46±13,4	25,53±12,4	4,25±2,3	44,13±11,1	26,06±13,2
	CD5- CD19+	CD5+ CD19+	CD27- CD19+	CD27+ CD19+	CD27+ CD5-	CD27+ CD5+	CD27- CD5-	CD27- CD5+
Mann-Whitney-U	1004,000	998,000	835,500	834,500	898,500	925,500	798,000	1019,00
Z	-0,223	-0,270	-1,562	-1,570	-1,061	-0,847	-1,860	-0,103
Asymptotische Signifikanz (2- seitig)	0,824	0,787	0,118	0,116	0,289	0,397	0,063	0,918

Tabelle 10a: - negative Zellpopulationen
+ positive Zellpopulationen

Ergebnis der Messung von CD19-positiven Lymphozyten (B-Lymphozyten) und der Subpopulationen CD5 und CD27. Die Patientendaten ergeben keine signifikanten Unterschiede im Vergleich zu den Probanden; getestet mit dem Mann-Whitney U-Test. 48 Patienten wurden 43 gesunden Kontrollen gegenübergestellt.

3.3 T-Lymphozyten (CD3)

Mittels MultiTEST (Abb. 9) wurden die Absolutzahl sowie die Prozentzahl der T-Lymphozyten (CD 3) erfasst. Auch wurden die Zahlen der CD4 und CD8 positiven T-Zellen auf den gesamten T-Lymphozyten dargestellt. Die jeweiligen Werte von den Patienten und Probanden wurden dann gegenübergestellt.

Die Prozentzahl- sowie Gesamtzahl der T-Lymphozyten/nl Blut zeigen keine signifikanten Unterschiede zwischen Patienten und Probanden. Auch die CD4 und CD8 positiven T-Zellen auf den T-Lymphozyten (CD3) liegen in beiden Gruppen in ähnlichen Bereichen. Lediglich eine marginale Erniedrigung der Prozentzahl der CD3CD4 positiven Zellen konnte verzeichnet werden ($p=0,062$).

Die Ergebnisse sind aus Tabelle 11a ersichtlich.

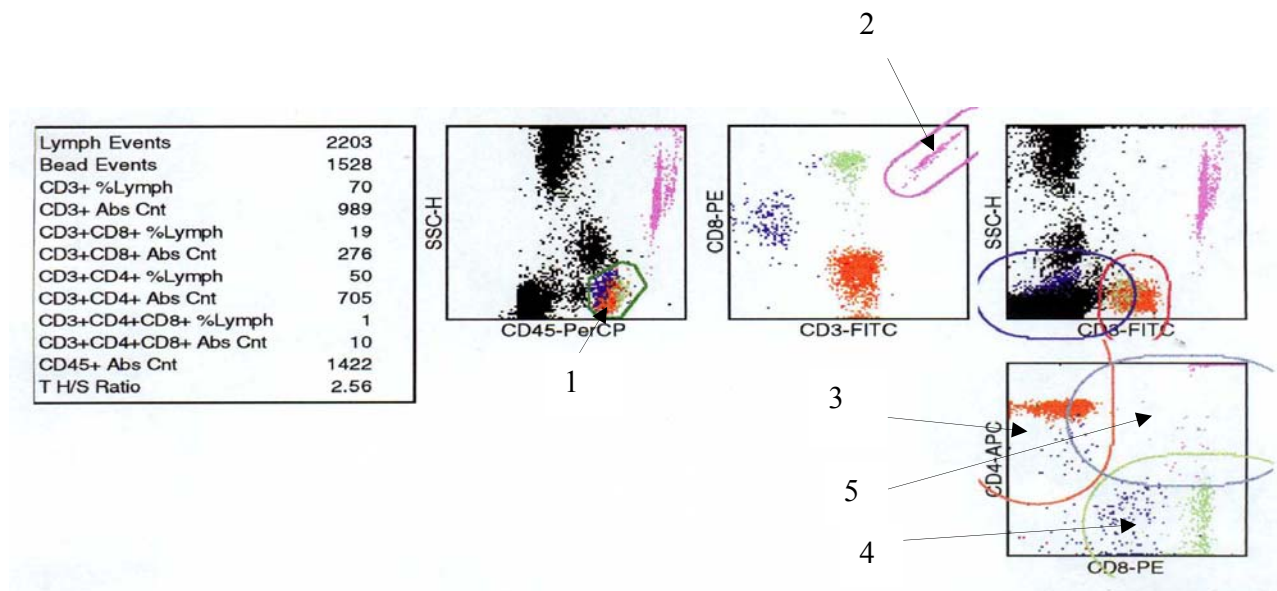


Abb. 9: Auswertebispiel von MultiTEST-Ergebnissen; mittels Vierfarbenfluoreszenzen werden die T-Lymphozyten und deren Subpopulationen graphisch dargestellt. In der linken Tabelle sind die jeweiligen Ergebnisse eingetragen (Absolut- bzw. Prozentzahlen). Rechts vier Punktwolkendiagramme mit Fluoreszenzdarstellungen. Die unterschiedlichen Farbdarstellungen dienen der besseren Übersicht.

- 1=CD45 positive Lymphozyten
- 2=Mikropartikel für die absolute Zellzahlbestimmung
- 3=CD3+CD4+
- 4=CD3+CD8+
- 5=CD3+CD4+CD8+

	CD3/nl (1) (MW±SD)	CD3% (1) (MW±SD)	CD3CD8% (MW±SD)	CD3CD8/nl (MW±SD)	CD3CD4% (MW±SD)	CD3CD4/nl (MW±SD)	CD3% (2) (MW±SD)	CD3/nl (2) (MW±SD)
Probanden (N=42)	1587,26±477,6	70,86±8,2	24,26±6,1	550,24±223,8	44,57±7,9	985,81±294,5	70,60±8,2	1590,8±511,4
Patienten (N=45)	1469,47±514,1	68,89±7,6	24,09±5,8	521,29±229,2	41,44±7,5	867,73±277,6	69,22±7,6	1470,8±485,2
	CD3/nl (1)	CD3% (1)	CD3CD8%	CD3CD8/nl	CD3CD4%	CD3CD4/nl	CD3% (2)	CD3/nl (2)
Mann-Whitney-U	804,00	801,00	935,000	865,000	725,500	733,500	823,00	830,500
Z	-1,198	-1,225	-0,085	-0,680	-1,867	-1,797	-1,037	-0,973
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	0,231	0,221	0,932	0,497	0,062	0,072	0,300	0,331

Tabelle 11a: Mittelwertvergleich der Ergebnisse vom MultiTEST, der die T-Lymphozyten (CD3) und deren Subpopulationen CD4 und CD8 von den Patienten und Probanden darstellt.

Die T-Lymphozyten zeigen nach Mann-Whitney U keine signifikanten Unterschiede in den beiden Gruppen. Lediglich eine tendenzielle Erniedrigung der Prozentzahl der CD3CD4 positiven Zellen kann verzeichnet werden.

Ausreichend Material war von 45 Patienten und 42 Probanden vorhanden. (1)=Tube 1; (2)=Tube 2.

Bei einem Signifikanzniveau von $\alpha=0,05$ errechnete der Mann-Whitney U-Test keine signifikanten Unterschiede der T-Lymphozyten und den darauf positiven Subpopulationen CD4 und CD8 zwischen Patienten und Probanden.

3.3.1 Aktivierungsmarker auf den Subpopulationen CD4 und CD8

Mittels Quadrantenanalyse wurden die CD4 und die CD8 Zellen getrennt voneinander betrachtet (Abb. 10 und 11), sowie die Aktivierungsmarker CD71 (Transferrinrezeptor) und TCR γ/δ jeweils auf diese bezogen. Hierbei ergab sich eine signifikant erhöhte Anzahl an CD71 positiven T-Helferzellen (CD4) bzw. signifikant erniedrigte Anzahl an CD71 negativen T-Helferzellen bei den TS-Patienten im Vergleich zu gesunden Probanden; $p=0,033$ bei einem Signifikanzniveau von $\alpha=0,05$. Siehe hierzu die Tabelle 12a und die Graphik 2. Der Aktivierungsmarker TCR γ/δ auf CD4 und CD8 zeigte keine Unterschiede in den beiden Gruppen.

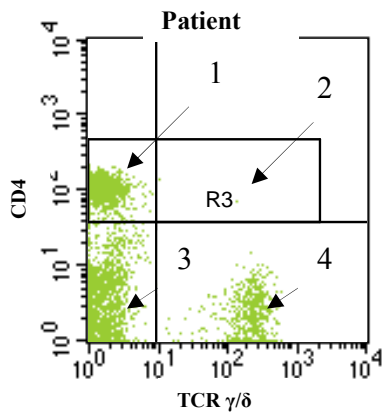


Abb. 10: R3=CD4 positive T-Zellen, T-Helferzellen.
 1=TCR γ/δ -CD4+
 2=TCR γ/δ +CD4+
 3=TCR γ/δ -CD4-
 4=TCR γ/δ +CD4-

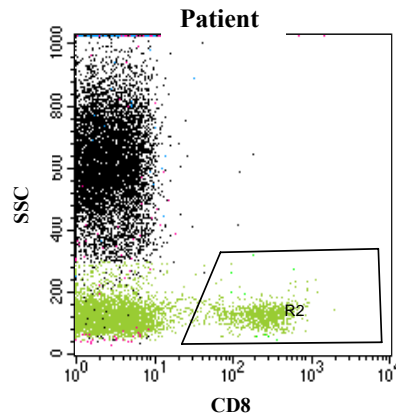


Abb. 11: R2=CD8 positive T-Zellen, zytotoxische T-Zellen.
 Die beiden Zellwolken links oben (hohe Granularität) und links unten (niedrige Granularität) entsprechen CD8 negativer T-Zellen.

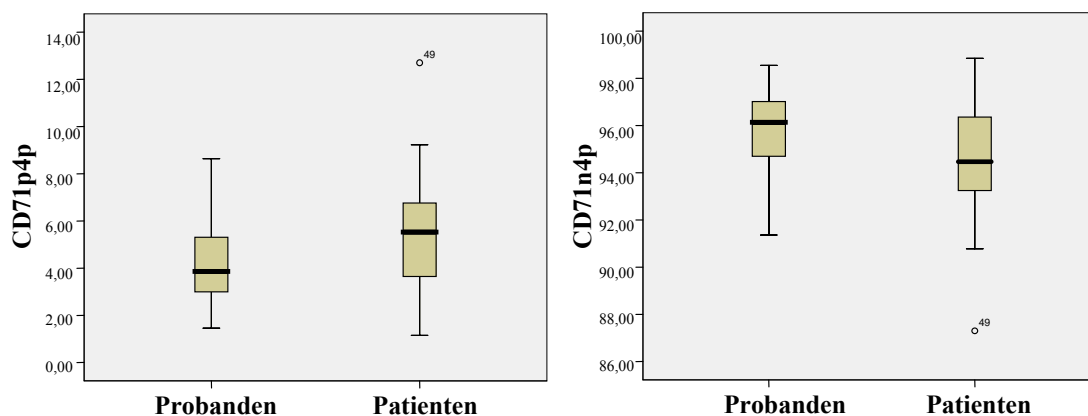
	TCR γ/δ + CD71- (MW \pm SD)	TCR γ/δ + CD71+ (MW \pm SD)	CD71- CD4+ (MW \pm SD)	CD71+ CD4+ (MW \pm SD)	CD71- CD8+ (MW \pm SD)	CD71+ CD8+ (MW \pm SD)
Probanden (N=43)	3,41 \pm 2,8	0,07 \pm 0,1	95,60 \pm 1,8	4,40 \pm 1,8	97,24 \pm 1,6	2,76 \pm 1,6
Patienten (N=48)	4,47 \pm 4,0	0,12 \pm 0,2	94,59 \pm 2,4	5,41 \pm 2,4	96,79 \pm 2,7	3,21 \pm 2,7
	TCR γ/δ + CD71- (MW \pm SD)	TCR γ/δ + CD71+ (MW \pm SD)	CD71- CD4+ (MW \pm SD)	CD71+ CD4+ (MW \pm SD)	CD71- CD8+ (MW \pm SD)	CD71+ CD8+ (MW \pm SD)
Mann-Whitney-U	863,500	925,500	764,000	764,000	1023,500	1023,50
Z	-1,340	-0,851	-2,131	-2,131	-0,068	-0,068
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	0,180	0,395	0,033	0,033	0,946	0,946

Tabelle 12a: - negative Zellpopulationen
 + positive Zellpopulationen

Ergebnis der Mittelwerte von den Subpopulationen der T-Lymphozyten und deren Aktivierungsmarker bei Patienten im Vergleich zu Probanden.

Sowohl die CD71 positiven als auch die CD71 negativen T-Helferzellen ergeben nach Mann-Whitney U eine Signifikanz von $p=0,033$ ausgehend von $\alpha=0,05$.

48 Patienten wurden 43 Probanden gegenübergestellt.



Graphik 2: Graphische Darstellung der Ergebnisse aus der Tabelle 12a.

Der Einfluss einer Neuroleptikatherapie wurde auf die signifikant erhöhte Expression von den CD71 positiven T-Helferzellen getestet. Auch hier scheint die Diagnose und nicht die Therapie Auswirkungen auf die Daten zu haben. Siehe hierzu die Tabellen 12b und 12c.

	NLakt	N	Mittlerer Rang	Rangsumme
CD71-CD4+	Keine NL	13	18,04	234,50
	NL-Therapie	22	17,98	395,50
	Gesamt	35		
CD71+CD4+	Keine NL	13	17,96	233,50
	NL-Therapie	22	18,02	396,50
	Gesamt	35		

Tabelle 12b: Der Transferrinrezeptor (CD71) und die Neuroleptikatherapie bei den Patienten

	CD71-CD4+	CD71+CD4+
Mann-Whitney-U	142,500	142,500
Z	-0,017	-0,017
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	0,986	0,986
Exakte Signifikanz [2*(1-seitig Sig.)]	0,987(a)	0,987(a)

a Nicht für Bindungen korrigiert.

Gruppenvariable: NLakt

Tabelle 12c: Die NL-Therapie nimmt auch hier keinen Einfluss auf die erhöhte Expression des Transferrinrezeptors auf den T-Helferzellen.

3.3.2 Adhäsionsmarker auf den Subpopulationen CD4 und CD8

Als Adhäsionsmarker fanden CD11a, CD49d, CD54 und Anti-HLA-DR Anwendung und wurden ebenfalls mittels Quadrantenanalyse auf den CD4 sowie den CD8-Zellen dargestellt und ausgewertet. Abb. 12 zeigt ein Beispiel. Die Mittelwerte der Adhäsionsmarker liegen in beiden Gruppen in ähnlichen Bereichen und mittels Mann-Whitney U-Test konnten keine signifikanten Unterschiede in den Ergebnissen zwischen Patienten und gesunden Individuen gefunden werden (siehe Tabellen 13a und 13b). Ausreichend Untersuchungsmaterial für diese Auswertungen war von 48 Patienten und 43 Probanden vorhanden.

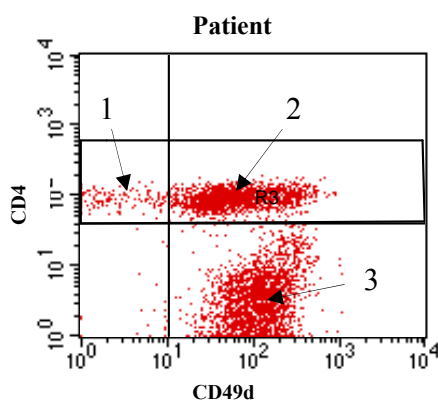


Abb. 12: R3=CD4 positive T-Zellen
1=CD49d-CD4+
2=CD49d+CD4+
3=CD49d+CD4-

	CD11a- CD4+ (MW±SD)	CD11a+ CD4+ (MW±SD)	CD11a- CD8+ (MW±SD)	CD11a+ CD8+ (MW±SD)	CD49d- CD4+ (MW±SD)	CD49d+ CD4+ (MW±SD)	CD49d- CD8+ (MW±SD)	CD49d+ Cd8+ (MW±SD)	CD49d aufCD4 (MW±SD)
Probanden (N=43)	73,30±9,8	26,69±9,8	49,25±14,9	50,75±14,9	72,81±7,5	27,15±7,5	5,76±4,5	94,13±4,2	15,34±5,4
Patienten (N=48)	73,20±12,1	26,78±12,1	46,67±13,3	53,33±13,3	71,63±8,9	28,37±8,9	4,70±4,4	95,15±4,4	16,70±6,9
	CD11a- CD4+	CD11a+ CD4+	CD11a- CD8+	CD11a+ CD8+	CD49d- CD4+	CD49d+ CD4+	CD49d- CD8+	CD49d+ CD8+	CD49d aufCD4
Mann-Whitney-U	1009,000	1008,000	907,000	907,000	974,500	970,500	842,500	839,500	919,500
Z	-0,183	-0,191	-0,994	-0,994	-0,457	-0,489	-1,506	-1,530	-0,894
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	0,855	0,849	0,320	0,320	0,648	0,625	0,132	0,126	0,371

Tabelle 13a: Die Expression der Adhäsionsmarker CD11a und CD49d auf den CD4 bzw. CD8 positiven T-Lymphozyten ist bei Patienten und Probanden ähnlich. Der Signifikanztest nach Mann-Whitney U ergab keine Unterschiede zwischen den beiden Populationen.

	CD54- CD4+ (MW±SD)	CD54+ CD4+ (MW±SD)	CD54- CD8+ (MW±SD)	CD54+ CD8+ (MW±SD)	HlaDr- CD4+ (MW±SD)	HlaDr+ CD4+ (MW±SD)	HlaDr- CD8+ (MW±SD)	HlaDr+ CD8+ (MW±SD)
Probanden (N=43)	97,39±1,6	2,42±1,8	99,64±0,4	0,36±0,4	88,07±4,0	11,93±4,0	79,39±10,3	20,61±10,3
Patienten (N=48)	97,16±1,5	2,26±1,2	99,75±0,5	0,25±0,5	88,38±3,7	11,62±3,7	77,90±11,0	22,10±11,0
	CD54- CD4+	CD54+ CD4+	CD54- CD8+	CD54+ CD8+	HlaDr- CD4+	HlaDr+ CD4+	HlaDr- CD8+	HlaDr+ CD8+
Mann-Whitney-U	897,500	995,500	904,500	904,500	984,000	984,000	947,000	947,000
Z	-1,069	-0,290	-1,025	-1,025	-0,382	-0,382	-0,676	-0,676
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	0,285	0,772	0,306	0,306	0,703	0,703	0,499	0,499

Tabelle 13b: Die Expression der Adhäsionsmarker CD54 und Anti-HLA-DR ist in beiden Gruppen (Patienten/Probanden) ähnlich. Nach Mann-Whitney U gibt es keine signifikanten Unterschiede.

3.4 Anti-Cardiolipin IgG/IgM/IgA Assay

Es lagen Seren von 45 Patienten und 41 Probanden vor, deren Analyse zum quantitativen Nachweis von Autoantikörpern gegen Cardiolipin durchgeführt und ausgewertet wurde. Ein Patient hatte ein positives Ergebnis hinsichtlich der ACA IgG und zwei Patienten waren positiv bei Testung der ACA IgM, die anderen Patienten und alle Probanden waren unter dem cut-off und somit negativ hinsichtlich Autoantikörpern gegen Cardiolipin.

3.5 Antikörper gegen Zellkerne (ANA)

Für die Auswertung der antinukleären Antikörper (ANA) wurden 45 Patienten und 39 Probanden herangezogen. Mittels eines indirekten Immunfluoreszenztests wurde das Serum verarbeitet. 5 der Tourette-Patienten und 1 Proband hatten positive Ergebnisse bezüglich Antikörper gegen ihre Zellkerne.

3.6 Streptokinase

Die Einzelkonzentration der Streptokinase wurde mittels eines ELISA erhoben. Wie in der Tabelle 16a dargestellt, zeigen die Mittelwerte eine ähnliche Verteilung in den beiden Gruppen. Auch der Signifikanztest nach Mann-Whitney U ergab keine Unterschiede in den Gruppen. Von 44 Patienten und 39 Probanden war genügend Material für diesen Test vorhanden.

	Streptokinase U/ml (MW±SD)
Probanden (N=39)	8,41±10,4
Patienten (N=44)	9,11±10,1
	Streptokinase Einzelkonz. U/ml
Mann-Whitney-U	778,500
Z	-0,725
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	0,468

Tabelle 16a: Darstellung der Mittelwerte der Einzelkonzentrationen der Streptokinase in den beiden Gruppen. Die Messergebnisse liegen unter dem Signifikanzniveau bei Testung mithilfe des Mann-Whitney U-Tests.

3.7 Anti-Streptolysin und Anti-Dornase

Die Anti-Streptolysin- sowie Anti-Dornase-Titer wurden nephelometrisch im Max von Pettenkoferinstitut bestimmt. Die Auswertungen der Ergebnisse zeigt Tabelle 17a. Beide Titer liegen bei Patienten und Probanden in ähnlichen Bereichen und zeigen keine signifikanten Unterschiede.

	ASL U/ml (MW±SD)	Dornase U/ml (MW±SD)
Probanden (N=41)	131,98±111,4	168,38±147,4
Patienten (N=45)	131,04±86,0	167,55±126,9
	ASL U/ml	Dornase U/ml
Mann-Whitney-U	879,000	852,000
Z	-0,385	-0,074
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	0,700	0,941

Tabelle 17a: Mittelwerte der Anti-Streptolysin- sowie Anti-Dornase-Titer. Die Gruppen haben im Vergleich keine signifikant unterschiedlichen Titer. 45 Patienten versus 41 Probanden.

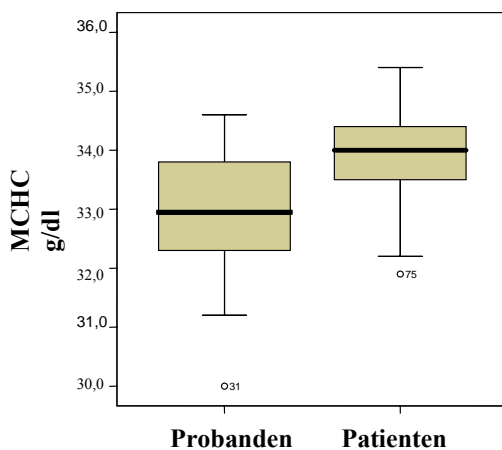
3.8 Blutbild und Klinische Chemie

Die Auswertung der klinischen Chemie bzw. des großen Blutbildes erfolgte im Labor der Psychiatrischen Klinik. Als hochsignifikanter Marker erwies sich MCHC (mean corpuscular haemoglobin concentration). Dieser entsprach $p=0,000$ bei einem Signifikanzniveau von 5%. MCHC ist bei den Tourette-Patienten erhöht. Auch das CRP (C-reaktives Protein) als Entzündungsparameter zeigte bei den Patienten signifikant höhere Werte ($p=0,044$). Die Tabelle 18a sowie die Graphik 4 zeigen die berechneten Ergebnisse. 47 Patienten wurden 42 Probanden gegenübergestellt.

	MCH pg (MW±SD)	MCV fl (MW±SD)	MCHC g/dl (MW±SD)	GOT U/l (MW±SD)	GPT U/l (MW±SD)	GGT U/l (MW±SD)	CRP mg/dl (MW±SD)
Probanden (N=42)	29,40±1,9	89,08±5,2	32,97±1,0	25,33±7,8	23,69±14,3	29,62±22,2	0,37±0,4
Patienten (N=47)	30,00±1,7	88,58±4,4	33,84±0,8	30,26±12,2	33,42±28,4	29,26±31,9	0,45±0,3
	MCH pg	MCV fl	MCHC g/dl	GOT U/l	GPT U/l	GGT U/l	CRP mg/dl
Mann-Whitney-U	836,500	822,500	506,000	687,500	738,000	897,500	681,500
Z	-1,238	-1,352	-3,957	-1,898	-1,451	-0,048	-2,013
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	0,216	0,176	0,000	0,058	0,147	0,961	0,044

Tabel

le 18a: Sowohl MCHC als auch CRP zeigen bei den Tourette-Patienten signifikant erhöhte Werte im Blut. Nach dem Signifikanztest von Mann-Whitney U erwies sich MCHC mit $p=0,000$ als hochsignifikant neben dem CRP mit einer Signifikanz von $p=0,044$.

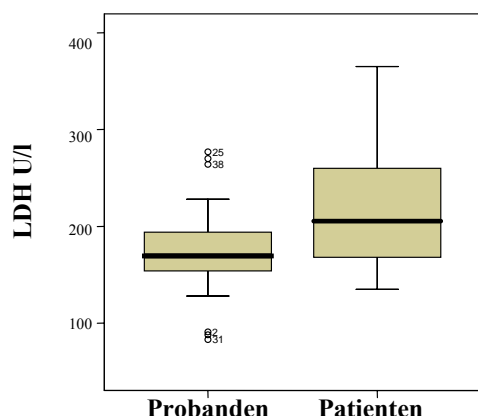


Graphik 4: Boxplotdarstellung des hochsignifikanten Markers MCHC. Vergleich zwischen Patienten und Probanden.
o = Ausreißer

LDH (Laktatdehydrogenase) stellte sich auch als signifikanter Blutmarker heraus, dessen Konzentration bei den Patienten durchwegs erhöht war (Tab. 18b und Graphik 5). Bei einem Signifikanzniveau von 5% ergibt sich $p=0,003$.

	AP U/l (MW±SD)	GLDH U/l (MW±SD)	CK U/l (MW±SD)	LDH U/l (MW±SD)	CHE U/l (MW±SD)	Bili ges. mg/dl (MW±SD)	Amylase U/l (MW±SD)	Lipase U/l (MW±SD)
Probanden (N=43)	83,12±51,0	2,48±2,0	115,02±51,7	172,90±42,4	8985,47±2162,3	0,48±0,3	61,62±18,9	37,62±12,5
Patienten (N=37)	102,62±71,4	5,02±10,6	129,38±93,0	217,88±62,7	9150,04±1614,5	0,58±0,4	62,52±21,7	34,94±15,9
	AP U/l	GLDH U/l	CK U/l	LDH U/l	CHE U/l	Bili ges. mg/dl	Amylase U/l	Lipase U/l
Mann-Whitney-U	657,500	447,500	787,500	425,000	511,000	84,000	593,000	537,500
Z	-1,332	-1,890	-0,077	-3,019	-0,594	-0,239	-0,187	-1,268
Asymptotische Signifikanz (2- seitig)	0,183	0,059	0,938	0,003	0,552	0,811	0,851	0,205

Tabelle 18b: Die LDH-Konzentration im Blut ist bei den Tourette-Patienten signifikant erhöht ($p=0,003$).



Graphik 5: Graphische Darstellung der LDH-Konzentration bei Patienten und Probanden. Die LDH-Konzentration ist bei den Tourette-Patienten signifikant erhöht.
o = Ausreißer

Bei den veränderten Blutparametern wurde der Einfluss einer Neuroleptikatherapie in die Ergebnisse miteinbezogen. NL-naive Patienten wurden mit Therapierten verglichen. Hierbei stellte sich heraus, dass mit höchster Wahrscheinlichkeit auch hier keine Interaktionen zwischen den veränderten Parametern und einer NL-Therapie stattfinden. NL nehmen keinen Einfluss auf die veränderten Blutwerte (siehe Tabellen 18c und 18d).

	NLakt	N	Mittlerer Rang	Rangsumme
MCHC g/dl	Keine NL	13	16,58	215,50
	NL-Therapie	22	18,84	414,50
	Gesamt	35		
LDH U/l	Keine NL	9	13,56	122,00
	NL-Therapie	15	11,87	178,00
	Gesamt	24		
CRP mg/dl	Keine NL	10	15,20	152,00
	NL-Therapie	19	14,89	283,00
	Gesamt	29		

Tabelle 18c: Vergleich der Patienten mit und ohne einer Neuroleptikatherapie.

	MCHC g/dl	LDH U/l	CRP mg/dl
Mann-Whitney-U	124,500	58,000	93,000
Z	-,633	-,567	-,112
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,527	,571	,911
Exakte Signifikanz [2*(1-seitig Sig.)]	,533(a)	,599(a)	,946(a)

a Nicht für Bindungen korrigiert.

Gruppenvariable: NLakt

Tabelle 18d: Neuroleptika nehmen keinen Einfluss auf die veränderten Blutparameter bei den Patienten.

3.9 EPO-ELISA

Die quantitative Bestimmung von Erythropoietin (EPO) im Serum konnte bei 43 Patienten und 37 Probanden durchgeführt werden.

Die EPO-Konzentration zeigt im Mittel einen signifikant höheren Wert bei den Tourette-Patienten (Tab. 19a). Die Signifikanz von $p=0,011$ wurde anhand des Mann-Whitney U-Tests ermittelt.

		EPO mIU/ml (MW%±SD)
Probanden (N=37)	Mittelwert	5,65±7,8
Patienten (N=43)	Mittelwert	7,28±7,5
		EPO mIU/ml
Mann-Whitney-U		532,000
Z		-2,550
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)		0,011

Tabelle 19a: Der Mittelwert von EPO ist bei den Patienten signifikant erhöht. Der Mann-Whitney U-Test ergibt eine Signifikanz von $p=0,011$.

3.10 Human Haptoglobin ELISA

Dieser quantitative Test zur Messung von menschlichem Haptoglobin im Serum wurde in beiden Gruppen angewandt.

Der Mittelwert zeigte bei den Tourette-Patienten im Vergleich zu den Probanden eine Erhöhung, der nach Mann-Whitney U aber nicht signifikant ist (Tab. 20a).

Ausreichend Material war von 43 Patienten und 37 Kontrollen für den Test vorhanden.

	Haptoglobin µg/ml (MW±SD)
Probanden (N=37)	7849,84±33187,5
Patienten (N=43)	12084,00±42925,1
	Haptoglobin µg/ml
Mann-Whitney-U	665,000
Z	-1,259
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	0,208

Tabelle 20a: Der Mittelwert des Haptoglobin ist bei den Tourette-Patienten numerisch höher, jedoch nicht signifikant erhöht.

Tabelle 21 zeigt die Korrelation der akute-Phase Proteine CRP und Haptoglobin. Diese Korrelation ist signifikant mit einem $p=0,0013$.

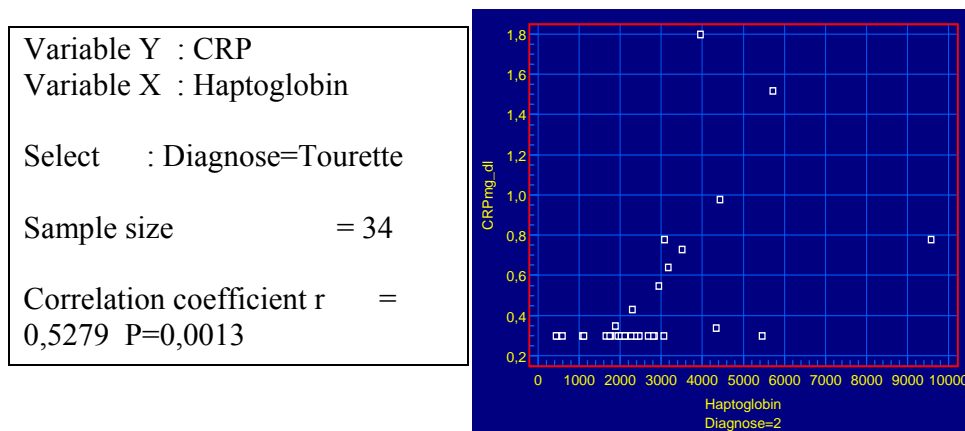


Tabelle 21: Die akute-Phase Proteine CRP und Haptoglobin korrelieren positiv miteinander mit einem $p=0,0013$.

4 Diskussion

Das klinische Bild des Tourette-Syndroms präsentiert sich komplex, wobei der Krankheitsbeginn meist im Kindesalter ist und eine Kombination von vokalen und motorischen Tics vorliegt. Dabei nimmt die Ausprägung und Symptomatik aber bei jedem Betroffenen einen anderen Verlauf. Besonderer Bedeutung soll die Abklärung der Differentialdiagnosen (vgl. Kapitel 1: 1.4) beigemessen werden.

Zur Ätiologie des TS liegen unterschiedliche Hypothesen vor. Einige Autoren ziehen Störungen in den Neurotransmittern als Ursache in Betracht (Möller, 1995; Müller *et al.*, 1997a; Müller *et al.*, 2000; Riederer *et al.*, 2002; Church *et al.*, 2003) und neben genetischen Faktoren (vgl. Kapitel 1: 1.7.2) sind zahlreiche immunologische Mechanismen in Diskussion (vgl. Kapitel 1: 1.7.5).

Durch ein vielfältiges Angebot an Medikamenten versucht man eine Linderung von Tics zu erzielen, wobei verschiedene Pharmaka unterschiedliche Wirkungen zeigen können (vgl. Kapitel 1: 1.6).

In vorliegender Arbeit konnten insgesamt 48 Tourette-Patienten und 43 Probanden erfasst werden. Dabei wurde 40 Patienten jeweils ein Proband gleichen Geschlechts und Alters (± 12 Monate) zugeordnet.

Es wurde eine ausführliche Anamnese durchgeführt, unter anderem zur Abklärung von einem Nikotinkonsum. Da eine ähnliche Verteilung an Rauchern in beiden Gruppen vorlag und die Fallzahl klein war, wurde dieser Einflussfaktor nicht getrennt ausgewertet. Andere Anamneseparameter, wie Autoimmunerkrankungen, andere psychiatrische Erkrankungen, Allergien, Alkohol- und Drogenkonsum sowie die Familienanamnese, wurden ebenfalls in der Auswertung nicht einzeln aufgeführt, da deren Fallzahlen sehr gering waren und außerdem vereinzelt in beiden Gruppen auftraten. Außerdem wurde in dieser Arbeit die statistische Auswertung auf zwei unabhängige Stichproben (Patienten/Probanden) angewandt. Will man alle Einflussfaktoren in die Auswertungen mit einbeziehen, müssten Regressionsgleichungen zur Anwendung kommen.

Mittels Eigenanamnese wurde von allen Erkrankten ein zusätzliches Vorliegen von Zwangssymptomen, Angststörungen und depressiven Störungen erfasst. Aufgrund der geringen Fallzahlen und der nicht immer eindeutig voneinander abgrenzbaren Krankheitsbilder, die häufig auch kombiniert auftreten können, wurden die angewendeten Tests nicht getrennt auf die jeweilig vorliegenden koexistierenden Erkrankungen betrachtet. Außerdem waren dies rein subjektive Angaben der Patienten.

27 Patienten unterlagen während der Studie einer Neuroleptikatherapie. Da die Medikation mit Neuroleptika mit dem Neurotransmitter- und Immunsystem interagieren kann, wurde diese in der Untersuchung berücksichtigt.

In keiner der beiden Gruppen lag ein akutes Entzündungsgeschehen vor (CRP lag bei allen Getesteten im Normbereich).

Entzündungen können Blutbildveränderungen hervorrufen. In vorliegender Arbeit wurde sowohl bei den Patienten als auch den Probanden eine Entzündungsanamnese erstellt. Weder die Patienten noch die Probanden gaben ein akutes oder chronisches Entzündungsgeschehen an. Interessanterweise zeigte aber bei Bestimmung des großen Blutbildes das **C-reaktive Protein**

(CRP) bei den Patienten einen signifikant höheren Wert als bei den Probanden. Es wurde nach Mann-Whitney U eine Signifikanz von $p=0,044$ erreicht. Obwohl die CRP-Werte der Patienten und gesunden Probanden im Referenzbereich lagen, kann man von einer unerschwelligen Entzündungsreaktion bei den Tourette-Patienten ausgehen. Die Neuroleptikatherapie der Patienten beeinflussten diese Ergebnisse nicht.

Die Zahl der Leukozyten/nl Blut hingegen lag in der Gruppe der Patienten sowie auch der Probanden in ähnlichen Bereichen.

Neben diesen unspezifischen Entzündungsmarkern ergab die Auswertung des **Aktivierungsmarkers CD71 (Transferrinrezeptor)** auf den T-Helferzellen der Patienten eine signifikant erhöhte Expression ($p=0,033$). Die NL-Therapie nahm keinen Einfluss auf dieses Ergebnis.

Der Transferrinrezeptor spielt eine wichtige Rolle beim Eisenmetabolismus (Hentze *et al.*, 2004; Thomas, 2005). Bei chronischen Erkrankungen kann dieser Rezeptor erhöht sein, was eine Entzündungshypothese bei Tourette-Patienten stützen würde. Das **Haptoglobin** als weiteres akute-Phase-Protein neben CRP, war bei den Tourette-Patienten aber nicht signifikant erhöht, aber sie korrelierten positiv miteinander. Das heißt, je höher die CRP-Konzentration, umso höher auch das Haptoglobin.

Chronische Entzündungen mit einer gleichzeitig vorhandenen chronischen Hämolyse können eine akute Phase klinisch unauffällig darstellen. Weiteres siehe hierzu bei der Diskussion zum Thema einer chronischen Hämolyse weiter unten.

In der Literatur wird eine Dysregulierung des Immunsystems oft in Zusammenhang mit TS gebracht.

Die Bestimmung der **Prozentzahl der Gesamtlymphozyten im Blut** zeigte in dieser Studie eine signifikante Erniedrigung bei den Tourette-Patienten ($p=0,044$) im Vergleich zu den Probanden. Auch hier zeigte die NL-Therapie keinen Einfluss auf die veränderten Werte. Im Gegensatz dazu konnten bei Bestimmung der Absolutzahlen der Lymphozyten/nl Blut und der Leukozyten/nl Blut keine Unterschiede zwischen den beiden Gruppen gefunden werden. Die niedrigere Prozentzahl der Lymphozyten aber unveränderte Absolutzahl der Lymphozyten sowie der Gesamtleukozyten bei den Tourette-Patienten lässt eine kompensatorische Erhöhung der Prozentzahlen entweder der Granulozyten oder der Monozyten vermuten. Die Auswertung der B- und der T-Lymphozyten erfolgte auch getrennt voneinander (siehe unten).

Die Auswertung der Monozyten erfolgte im Rahmen dieser größer angelegten Studie in einer anderen Doktorarbeit.

Um den Einfluss des Immunsystems bei der Pathogenese des TS differenzierter betrachten zu können wurde mittels MultiTEST in vorliegender Arbeit die Absolut- sowie die Prozentzahl der B-Lymphozyten (CD19) von insgesamt 45 Tourette-Patienten und 42 gesunden Probanden erfasst und mittels Mann-Whitney U-Test auf Signifikanz getestet (vgl. Kapitel 3: 3.2). Unterschiede zwischen den beiden Gruppen konnten keine ermittelt werden. Auch die Subpopulationen CD5 und CD27 konnten keine Unterschiede zwischen den Tourette-Patienten und gesunden Probanden zeigen.

Die CD5 positiven B-Zellen sind für die Immunglobulinproduktion im Normalserum verantwortlich, sind jedoch kaum an der Immunantwort beteiligt. Diese Zellen sind für ihre Polyspezifität bekannt, das heißt, sie können mehrere Liganden binden, bevorzugt die

bakteriellen Polysaccharide. Die CD27 positiven Zellen stimulieren die T-Zellproliferation (Janeway *et al.*, 2001).

Kontrovers werden die Ergebnisse des B-Lymphozyten-Antigens D8/17 diskutiert, welches als klinischer Marker für Chorea minor Sydenham und rheumatischem Fieber dient. Wie in Kapitel 1: 1.4 als Differentialdiagnose genannt, kann Chorea minor Sydenham einen Typ einer Tic-Erkrankung darstellen, der in der Kindheit auftreten kann (Hoekstra *et al.*, 2002).

In der Literatur wurde sowohl eine signifikante Erhöhung dieses Antigens bei Tourette-Patienten als auch keinerlei Assoziationen gefunden. 100% der Tourette-Patienten vs. 5% der Probanden (Murphy *et al.*, 1997) bzw. 85% der Tourette-Patienten vs. 17% der Probanden (Swedo *et al.*, 1997) hatten D8/17 positive B-Lymphozyten. Beide Studien zogen die Technik der indirekten Immunfluoreszenz heran. Auch die Durchflußzytometrie, die valider zu sein scheint, zeigt signifikant erhöhte D8/17 positive B-Lymphozyten (Chapman *et al.*, 1998). Neuere Studien konnten keinen Unterschied dieses Antigens zwischen Tourette-Patienten und Probanden finden (Eisen *et al.*, 2001; Inoff-Germain *et al.*, 2003). Lediglich eine erhöhte Anzahl **CD 19 positiver B-Lymphozyten** konnte nachgewiesen werden (Weisz *et al.*, 2003).

Der Grund dieser unterschiedlichen Ergebnisse mag an zu kleinen Patientengruppen (max. 37 Patienten) oder der Anwendung verschiedener Techniken liegen, außerdem ist in den Studien nicht ersichtlich, ob möglicherweise Einflüsse der Pharmakotherapie vorliegen.

Veränderungen der **T-Lymphozyten (CD3)** wurden in einer Studie mit Zwangspatienten in Verbindung gebracht. Marazziti *et al.* (1999) konnte mittels Zweifarben-Durchflußzytometrie eine erhöhte Anzahl CD8 positiver sowie eine Erniedrigung der CD4 positiven T-Lymphozyten bei 20 OCD-Patienten feststellen. Weiters fand er aber keine Veränderungen der CD3 positiven, CD19 positiven und CD56 positiven Lymphozytenpopulationen.

Um einen eventuellen Zusammenhang zwischen Zwangspatienten und Patienten mit Tourette-Syndrom herzustellen, wurden in vorliegender Arbeit die T-Zellen mittels der Vierfarben-Durchflußzytometrie genauer untersucht. Die Prozent- bzw. Absolutzahl der T-Zellen (CD3) sind in beiden Gruppen (Tourette-Patienten/Probanden) ähnlich, es liegen keine Unterschiede vor (vgl. Kapitel 3: 3.3). Somit scheint keine Evidenz ersichtlich, dass es einen möglichen Zusammenhang dieser Krankheitsbilder in Bezug auf CD3 positive Zellen gibt. Womöglich ist aber auch die Fallzahl von nur 20 OCD-Patienten zu gering, um eine eindeutige Aussage treffen zu können. Andererseits können auch angewendete Pharmaka zu jenen Veränderungen der Lymphozytenpopulationen bei den Zwangspatienten geführt haben.

Die marginale Erniedrigung der Prozentzahl der CD3CD4 positiven T-Zellen bei den untersuchten Tourette-Patienten kann dennoch Zeichen einer veränderten Immunreaktion sein.

Autoimmunerkrankungen aber lassen im Allgemeinen eher eine Vermehrung CD4 positiver T-Lymphozyten vermuten. Weiteres zu Autoimmunerkrankungen und TS siehe weiter unten.

T-Zellen scheinen allgemein eine zentrale Rolle in der Pathogenese von Autoimmunerkrankungen zu spielen. Patienten mit einem systemischen Lupus Erythematoses zeigen Veränderungen der TCR-Rezeptoren (Takeuchi *et al.*, 2005). Die Expression von HLA-DR auf T-Lymphozyten zeigt z.B. bei der Schizophrenie eine Aktivierung des Immunsystems (Ganguli *et al.*, 1987; Kokai *et al.*, 1998). Um einen möglichen Zusammenhang mit dem TS herzustellen, wurden diese und andere ausgewählte Aktivierungs- und Adhäsionsmarker (Massard *et al.*, 1996) wie CD11a, CD49d und CD54, die auch jeweils auf die CD4 positiven und

CD8 positiven T-Zellen exprimiert wurden, in vorliegender Arbeit dargestellt. Es konnten keine Unterschiede in der Expression der Aktivierungs- bzw. Adhäsionsmarker zwischen Patienten und Probanden gezeigt werden.

Viele Autoren bringen Autoimmunerkrankungen mit TS in Verbindung. Aber auch hier gibt es kontroverse Diskussionen. Toren *et al.* (1994) fanden in einer Antiphospholipidstudie, in der insgesamt neun Kinder mit TS erfasst wurden, bei vier Kindern positive **Lupus Antikoagulanzen Antikörper (LA)**, jedoch hatte nur ein Kind **Anti-cardiolipin Antikörper (ACA)**.

In einer späteren Studie, an der 21 Patienten (7-17 Jahre) teilnahmen, wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen Tourette-Patienten und Probanden gefunden (Singer *et al.*, 1997). 16 von 19 in der Studie erfasste Tourette-Patienten hatten normale ACA IgG-Levels (<10 IgG Phospholipide/ml) während bei 3 Kindern mit TS ein leicht erhöhter Titer (10-20 IgG Phospholipide/ml) festzustellen war. In der Gruppe der klinischen Kontrolle wurden 20 Personen erfasst, wobei 18 Probanden normale ACA IgG-Levels aufwiesen und 2 Kontrollen leicht positive Titer hatten. Die IgM und IgA ACA Antikörper-Levels waren bei allen Patienten mit TS normal (<10 IgM Phospholipide/ml und <10 IgA Phospholipide/ml). Es gab keine klinischen Unterschiede zwischen den Gruppen mit normalem und leicht erhöhtem IgG-Level.

Die Kriterien für die Einteilung der Erkrankten und das mittlere Alter des Erstauftretens der Tics unterschieden sich in beiden Studien nicht. Beide Autoren verwendeten die Methode des enzyme-linked immunosorbent assays, das Patientenkollektiv betrug 21 vs. 9 Patienten. Aufgrund des kleinen Kollektivs der Untersuchten sowie der bisherigen Ansicht, dass es relativ unwahrscheinlich ist, solche Antikörper bei Tourette-Patienten zu finden, kann noch keine hinreichende Aussage getroffen werden. Die Untersuchung der ACA führte in Tests von beiden Autoren zu keinem signifikanten Ergebnis. Es gestaltet sich schwierig, aussagekräftige Daten zu erheben, da eine geringe Erhöhung der IgG ACAs auch bei Gesunden als Zufallsbefund gefunden werden kann und keinem klinischen Bild angehört. Möglicherweise folgt das Vorhandensein dieser Antikörper einer akuten Infektion. Auch konnte bislang kein erhöhter Titer von IgM oder IgA ACAs entdeckt werden.

In Anlehnung an diese Studien fand auch in vorliegender Arbeit die Methode des enzyme-linked immunosorbent assays zum quantitativen Nachweis von Autoantikörpern gegen Cardiolipin Anwendung. Insgesamt nahmen 45 Tourette-Patienten und 41 Probanden teil.

Auch in vorliegender Arbeit blieben Unterschiede in den beiden Gruppen aus. Einer der 45 untersuchten Patienten hatte ein positives Ergebnis bezüglich des ACA IgG und zwei Patienten waren positiv bei Testung der ACA IgM, alle anderen Patienten und die Kontrollen lagen im Referenzbereich. Somit ist keine Evidenz ersichtlich, dass bei Tourette-Patienten vermehrt Anti-Cardiolipine (IgA, IgG, IgM) auftreten.

Ratten, denen Serum von Tourette-Patienten mit erhöhten antinukleären Antikörpern infundiert wurde, zeigten eine Induktion der Tics (Taylor *et al.*, 2002). Vor diesem Hintergrund fand ein indirekter Immunfluoreszenztest in dieser Studie Anwendung. Fünf von den 45 getesteten Patienten und einer von insgesamt 39 Probanden hatten ein positives Ergebnis hinsichtlich der **antinukleären Antikörper (ANAs)**. Aufgrund dieser Ergebnisse ergibt sich kein Hinweis eines Zusammenhangs zwischen TS und einem vermehrten Auftreten antinukleärer Antikörper. Es soll hinzugefügt werden, dass auch bei gesunden Probanden, die keine neurologischen Auffälligkeiten zeigen, antinukleäre Antikörper diagnostiziert werden können, die zu keinem klinischen Erscheinungsbild führen (siehe auch: Kurlan, 1998).

Einige Formen des Tourette-Syndroms sollen durch Autoantikörper verursacht werden, die als Antwort einer vorangegangenen β -hämolyisierenden Streptokokkeninfektion der Gruppe A auftreten (molekulares Mimikry).

Die bestuntersuchte Störung des Nervensystems nach einer Streptokokkeninfektion ist die Chorea minor Sydenham. Eine Epidemie einer Streptokokkentonsillitis der Gruppe A in Rhode Island in den 80er Jahren und die gleichzeitig 10fache Zunahme von motorischen Tics (ohne Chorea minor Sydenham) führte zum neuen Begriff der PANDAS (Pediatric Autoimmune Neuropsychiatric Disorders Associated with Streptococcal Infection), (Swedo *et al.*, 1998). Es wurde beobachtet, dass diese Infektionen Tic- oder Zwangssymptome auslösen oder exazerbieren lassen (Riederer *et al.*, 2002).

Es folgten mehrere Studien, die sich mit PANDAS und **Antistreptokokken-Antikörper** befassen. Man fand zunehmende Antistreptokokken-Antikörper bei den Tourette-Patienten. Im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe war der Antistreptolysin O Titer (>400 IU/ml) sowie der anti-DNAse Titer (>250 U/ml) bei den Patienten (Kinder und Erwachsene) signifikant erhöht (Müller *et al.*, 2000; Morshed *et al.*, 2001). Singer *et al.* (1998) stellte sogar die Hypothese auf, dass Kinder und Erwachsene mit erhöhten Antistreptolysin O- (Reitano *et al.*, 1986) sowie anti-DNAse Titern mit größerer Wahrscheinlichkeit auch positiv reagieren im Sinne antineuronaler Antikörper. Bei Taylor *et al.* (2002) traf keiner der Patienten mit hohen Autoantikörpern die diagnostischen Kriterien für PANDAS. Auch Murphy *et al.* (1997) fand keine Unterschiede der antineuronalen Antikörper und Antistreptokokkentiter zwischen Tourette-Patienten und gesunden Kontrollen. Auch Loiselle *et al.* (2003) war es nicht möglich mittels multipler Regressionsgleichungen antinukleäre oder antineuronale Antikörper bei den Patienten zu entdecken oder erhöhte Antistreptolysin O und anti-DNAse Titer zu finden.

Ausgehend von diesen Befunden wurden in vorliegender Studie die Einzelkonzentration der Streptokinase mittels ELISA und der Anti-Streptolysin- sowie Anti-Dornase-Titer nephelometrisch bestimmt. Die Ergebnisse konnten frühere Ergebnisse nicht bestätigen. Es konnte kein Unterschied der Titer zwischen den Patienten und Probanden gemessen werden.

Um klare Aussagen zu treffen, muss man bedenken, dass verschiedene Faktoren zu erhöhten Titern von Streptokokken-Antikörpern führen können. Es seien hier saisonale oder labortechnische Variabilitäten, sozialökologische Faktoren, das Alter sowie das erstmalige Auftreten der Infektion als nur einige Punkte genannt. Um die Tics mit den Labormarkern zu korrelieren, müssten Langzeitstudien Anwendung finden, in denen serologische Messungen während Perioden verstärkter oder verminderter Tics vorgenommen werden. Autoantikörper werden auch gegen Gewebe gefunden, dass durch ein Trauma oder eine Infektion geschädigt wurde (Hoekstra *et al.*, 2002).

Im Allgemeinen soll bei der Hypothese der Autoimmunität bei Tourette-Patienten an dynamische Prozesse gedacht werden, wo einfache „single-point“-Messungen nicht ausreichen.

In vorliegender Arbeit wurden sowohl bei den Tourette-Patienten als auch den Probanden das große Blutbild und die klinische Chemie erfasst.

MCHC ist ein Maß der Hämoglobinkonzentration der zirkulierenden Erythrozytenmasse. Aufgrund des gleichsinnigen Verhaltens von Erythrozytenvolumen und Hämoglobingehalt der Einzelerythrozyten bleibt MCHC bei vielen Veränderungen des roten Blutbildes konstant.

Interessanterweise waren bei den Tourette-Patienten die MCHC-Werte aber hochsignifikant erhöht ($p=0,000$). Erhöhte MCHC-Werte können vorkommen bei einer scheinbar hyperchromen Anämie durch präanalytische oder analytische Störungen wie z.B. einer in vitro-Hämolyse (z.B. durch Einwirkung obenflächenaktiver Stoffe oder bakterieller Hämolsine) oder Laborfehler (durch falsch-niedrigen Hämatokrit oder falsch-hohe Hämoglobinnmessung). Auch durch eine intravaskuläre Hämolyse (gealterte Erythrozyten werden durch eine mechanische Beanspruchung zerstört) können erhöhte MCHC-Werte imitiert werden.

Desweiteren werden erhöhte MCHC-Werte bei einer toxisch hämolytischen Anämie einer Hyperlipidämie (verursacht falsch-hohes Hämoglobin) oder einer hereditären Sphärozytose gefunden, die durch eine Anomalie der Zellen gekennzeichnet ist (sog. Kugelzellenanämie). Es handelt sich hierbei um eine hämolytische Erkrankung mit Erhöhung der Erythrozytenzahl, der Hämoglobinkonzentration und des Hämatokrits. Die Sphärozytose ist keine hyperchrome Anämie.

Hämatologische Auffälligkeiten können auch bei anderen Erkrankungen des zentralen Nervensystems vorkommen wie z.B. der Chorea-Akanthozytose (ChAc). Die ChAc zählt neben dem McLeod Syndrom (MLS), Huntington's disease-like 2 (HDL2) und Panthothenate kinase associated neurodegeneration (PKAN) zu den Neuroakanthozytose-Syndromen. Als neurologisches Zeichen tritt bei der ChAc primär meist eine Epilepsie auf, erste Anzeichen können sich aber auch als OCD, ADHD oder als Tourette-Syndrom darstellen (Bohlega *et al.*, 2003; Danek *et al.*, 2005a, b). Dyskinesien, Hyporeflexien und aberrantes Verhalten können sich zeigen.

Die auffälligsten hämatologischen Parameter bei ChAc-Patienten sind am ehesten als Hämolysezeichen zu deuten. Dazu zählen unter anderem erhöhte LDH-Werte. Weitere veränderte Laborparameter sind eine erhöhte Kreatinkinase (CK) und eine Stechapfelform der Erythrozyten (Akanthozyten).

In vorliegender Arbeit wurden auch bei den Tourette-Patienten signifikant erhöhte **LDH**-Konzentrationen ($p=0,003$) im Blut gemessen. Dieser Befund weist auf einen eventuellen Zusammenhang des TS mit einer ChAc hin. Die NL-Therapie nimmt in vorliegender Studie keinen Einfluss auf diesen Parameter. Die CK-Konzentrationen waren bei den TS-Patienten im Mittel höher, jedoch konnten mittels Mann-Whitney U-Test keine signifikanten Unterschiede zwischen den Patienten und Probanden gezeigt werden.

Eine Anämie wäre durch eine Erniedrigung des Hb-Wertes gekennzeichnet. Von dieser Überlegung ausgehend wurde mittels ELISA das Erythropoetin (**EPO**) bestimmt. Durch EPO wird die Bildung und Entwicklung der Erythrozyten stimuliert. Dieser Marker war bei den Tourette-Patienten ebenfalls signifikant erhöht ($p=0,011$). Eine durch eine Hämolyse bedingte Anämie kann durch eine kompensatorisch gesteigerte Erythropoese (erhöhtes EPO) gekennzeichnet sein.

Da das Hb in den beiden untersuchten Populationen nicht verändert war (im Auswerteteil nicht aufgeführt), haben die Patienten zwar keine Anämie, aber z.B. eine nicht Hb-wirksame chronische bzw. kompensierte Hämolyse, welche nicht immer zu einer klinischen Manifestation führen muss. Dies ist gut vereinbar mit der positiven Korrelation der beiden akute-Phase-Proteine CRP und Haptoglobin. Eine akute-Phase-Reaktion kann bei einer chronischen Entzündung bei einer gleichzeitig auftretenden chronischen Hämolyse klinisch unauffällig sein.

Zu betonen ist, dass das Kalium bei den Patienten nicht erhöht war, was gegen eine in-vitro-Hämolyse spricht. Weitere Studien zur Differenzierung chronischer Entzündungen und Hämolysen, insbesondere die Bestimmung der Retikulozyten, stehen noch aus.

Die postulierte chronische Hämolyse (erhöhtes MCHC, erhöhtes EPO) bei Tourette-Patienten und die erhöhte LDH-Konzentration bei den ChAc- und TS-Patienten stellen außerdem einen möglichen Zusammenhang dieser beiden Krankheitsbilder dar.

Magnetresonanztomogramme zeigen bei ChAc eine Atrophie im Nucleus caudatus und im Putamen der Basalganglien (Bohlega *et al.*, 2003). Veränderungen in den Basalganglien werden ätiologisch auch in Verbindung mit dem TS gebracht.

In der Literatur sind bereits schon früher Fälle von Tourette-Patienten beschrieben worden, die man in Verbindung mit einer ChAc brachte (Kito *et al.*, 1980; Spitz *et al.*, 1985). Allerdings wurden die jeweiligen Symptome in den Studien nicht detailliert beschrieben.

In einer aktuelleren Studie wurden zwei Tourette-Patienten beschrieben, die an einer ChAc und an Symptomen von TS (motorische und vokale Tics), ADHD und OCD litten (Saiki *et al.*, 2004). Hierbei handelte es sich um einen 34jährigen Patienten, männlich, und seiner älteren Schwester. Der Patient litt anfänglich nicht an Symptomen von TS, sondern fiel mit Spätmanifestationen von ChAc auf. Erst mit 25 Jahren hatte er seinen ersten plötzlichen epilepsieartigen Anfall, es folgten motorische Tics. Bis zu diesem Zeitpunkt wurden weder Tics noch eine Chorea diagnostiziert. Mittlerweile erkrankte der Patient an Symptomen von ADHD, OCD und einer Chorea und hatte Tics, desweiteren ließen sich 10-20% Akanthozyten im Blut feststellen. Die ältere Schwester fiel mit einer milderer Ausprägung der Symptome auf und litt weder an ADHD noch an OCD. Allerdings erkrankte sie an Symptomen von TS und auch bei ihr konnten 10-15% Akanthozyten im Blut festgestellt werden. Bei beiden Patienten wurde eine Atrophie des Nucleus caudatus und des Putamen diagnostiziert und beide hatten die gleichen Genmutationen. Auch die Familienanamnese der Geschwister war positiv. So litten der Vater an Symptomen einer Choreoathetose und einer ChAc, der Großvater an Symptomen einer Chorea und eines Ballismus, eine Tante an Chorea-Symptomen und Tics sowie ein Cousin an Symptomen einer Choreoathetose und eines Ballismus, dessen weitere Diagnostik zum Krankheitsbild einer ChAc führte.

Insgesamt lassen nicht nur isolierte Befunde, sondern auch klinische Parallelen und diverse Laborbefunde einen gemeinsamen pathogenetischen Mechanismus des Tourette-Syndroms und einer Chorea-Akanthozytose vermuten. Damit wird eine neue Sichtweise in die Tourette-Forschung eröffnet. Dies erfordert einen weiteren Forschungsbedarf, auch in der Genforschung.

5 Zusammenfassung

In dieser Studie nahmen insgesamt 48 Tourette-Patienten und 43 Probanden teil. Es zeigte sich kein signifikanter Einfluss der Therapie mit Neuroleptika auf die Befunde.

Zusammenfassend lassen sich in dieser Arbeit folgende Hypothesen beschreiben.

Die signifikante Erhöhung des C-reaktiven Proteins lässt eine unterschwellige **unspezifische Entzündungsreaktion** bei Tourette-Patienten vermuten. Wahrscheinlich handelt es sich hierbei um eine chronische Form, da akute Entzündungszeichen völlig fehlten und auch das CRP bei allen Patienten im Normbereich lag. Die signifikante Erhöhung des Transferrinrezeptors (CD71), welcher bei chronischen Entzündungsformen ebenfalls vorkommen kann, unterstützt diese Hypothese. Das zweite akute-Phase-Protein, das Haptoglobin, ist allerdings bei den Patienten nicht signifikant erhöht.

Eine akute-Phase-Reaktion kann aber bei einer chronischen Entzündung bei einer gleichzeitig auftretenden chronischen Hämolyse klinisch unauffällig sein. Erhöhte Werte von MCHC und EPO, die bei **chronischen Hämolysen** auftreten können, wurden auch in vorliegender Studie bei den Tourette-Patienten nachgewiesen.

Auch das **zelluläre Immunsystem** scheint Einfluss auf das TS zu nehmen. Ein signifikantes Ergebnis zeigt die Prozentzahl der Gesamtlymphozyten im Blut, die bei den Tourette-Patienten geringer ausfiel. Die marginale Erniedrigung der Prozent- und Absolutzahl der CD3CD4 positiven T-Zellen kann Zeichen einer veränderten Immunreaktion bei den Tourette-Patienten sein. Andere getestete Aktivierungs- und Adhäsionsmarker zeigten keine Unterschiede zwischen Patienten und Probanden.

Die vielmals in der Literatur beschriebene **Autoimmunhypothese** konnte nicht bestätigt werden. Es ist keine Evidenz ersichtlich, dass Anti-Cardiolipin Antikörper oder antinukleäre Antikörper bei den Tourette-Patienten vermehrt auftreten. Auch die Einzelkonzentrationen der Streptokinase und die nephelometrisch bestimmten Anti-Streptolysin- und Anti-Dornase-Titer waren in beiden Gruppen unauffällig. Es ist allerdings nicht ausgeschlossen, dass für eine Subgruppe von Tourette-Patienten dieses Autoimmunmodell gilt.

Das Krankheitsbild der **Chorea-Akanthozytose (ChAc)** vereint hämatologische und neurologische Auffälligkeiten. Die neurologischen Erscheinungen der ChAc ähneln denen bei Patienten mit TS und werden deshalb als Differentialdiagnose zum TS beschrieben. Aber auch die hämatologischen Parameter wie die Erhöhung der LDH-Konzentration sowie erhöhte MCHC- und EPO-Werte, die sowohl bei ChAc- als auch bei Tourette-Patienten vorkommen, geben einen Hinweis auf einen möglichen gemeinsamen pathogenetischen Mechanismus des TS und einer ChAc. Magnetresonanztomogramme lassen bei einer ChAc eine Atrophie im Nucleus caudatus sowie im Putamen der Basalganglien nachweisen. Veränderungen der Basalganglien werden ätiologisch auch in Verbindung mit dem TS gebracht.

Diese deutlichen Parallelen führen zu einer neuen Sichtweise in der Tourette-Forschung und erfordern weiteren Forschungsbedarf, auch in der Genforschung.

Syndromen, wie auch dem Tourette-Syndrom, können unterschiedliche Ursachen zugrunde liegen. Vielleicht existieren verschiedene Subgruppen von Patienten mit TS, deren Ursachen voneinander abgrenzbar sind und unterschiedlichen Krankheitsbildern zugrunde liegen.

6 Abkürzungsverzeichnis

ACA	Anti-Cardiolipin-Antikörper
ADHD	hyperkinetisches Syndrom
AK	Antikörper
ANA	antinukleäre Antikörper
AP	alkalische Phosphatase
APC	Fluorochrom Allophycocyanin
aPL	Anti-Phospholipid-Antikörper
APS	Antiphospholipidsyndrom
APZ	Antigen-präsentierende Zelle
ASL	Anti-Streptolysin
Bili	Bilirubin
CD	Cluster of Differentiation
ChAc	Chorea-Akanthozytose
CHE	Cholinesterase
CK	Kreatinkinase
CO	Kohlenmonoxid
CRP	C-reaktives Protein
CTL	zytotoxische T-Lymphozyten
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dot plot	Punktehistogramm
D-Rezeptoren	Dopamin-Rezeptoren
DSM	diagnostisches und statistisches Manual psychischer Störungen
EDTA	Äthylendiamintetraessigsäure
EIA	Enzym-Immunoassay
ELISA	enzyme-linked immuno sorbent assay
EPO	Erythropoietin
EPS	extrapyramidalmotorische Symptome
FITC	Fluorochrom Fluorescein
Fl	Fluoreszenz
FSC	Forward Angle Light Scatter (Größe)
GABA	γ -Aminobuttersäure
GGT	Gammaglutamyltranspeptidase
GLDH	Glutamatdehydrogenase
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
Hb	Hämoglobin
HEp-2-Zellen	humane Epithelzellen
HLA-System	human leucocyte antigen system
5-HT	5-Hydroxytryptamin
ICD	internationale Klassifikation der Krankheiten
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin

IU	internationale Einheit
LDH	Laktatdehydrogenase
MCH	mean corpuscular haemoglobin; Hämoglobingehalt des einzelnen Erythrozyten
MCHC	mean corpuscular haemoglobin concentration; mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration aller zellulären Bestandteile im Blut
MCV	mean corpuscular volume; mittleres Volumen des einzelnen Erythrozyten
MHC	Haupthistokompatibilitätskomplex
MW	Mittelwert
N	Anzahl
NaCl	Natriumchlorid
NaOH	Natriumhydrochlorid
NK-Zellen	Natürliche Killerzellen
NL	Neuroleptika
OCD	obsessive-compulsive disorder (Zwangssymptome)
PANDAS	Pediatric autoimmune neuropsychiatric disorders associated with streptococcal infection
PBS	Waschpuffer
PE	Fluorochrom Phycoerythrin
PerCP	Fluorochrom Peridin-Chlorophyll-a-Protein
SD	Standardabweichung
SLE	systemischer Lupus erythematoses
SSC	Side Scatter (Granularität)
TCR	CD3 assoziiertes Heterodimer
Th	T-Helferzellen
TMB	Farbstoff
TS	Tourette-Syndrom
TSGS	Tourette's syndrome global scale
U	Unit bzw. Umdrehungen
Z	Prüfgröße in Kombination mit dem Mann-Whitney U-Test

7 Literaturverzeichnis

- Abbas A K, Lichtman A H. Cellular and molecular immunology. – 5th ed. Saunders company, 2003.
- Andreasen N C, Black D W. Lehrbuch Psychiatrie. – Weinheim; Basel: Beltz; Weinheim: Psychologie – Verl. – Union, 1993.
- Awaad Y. Tics in Tourette syndrome: new treatment options. *J Child Neurol* 15: 631-634, 2000.
- Berger M, Stieglitz R-D, Augenendt J. Psychiatrie und Psychotherapie. – München; Wien; Baltimore: Urban und Schwarzenberg, 1999.
- Bohlega S, Al-Jishi A, Dobson-Stone C *et al.* Chorea-Acanthocytosis: clinical and genetic findings in three families from the Arabian Peninsula. *Movement Disorders* Vol 18 No 4, 403-407, 2003.
- Bruun R D, Budman C L. Risperidone as a treatment for Tourette's syndrome. *J Clin Psychiatry* 57: 29-31, 1996.
- Chapman F, Visvanathan K *et al.* A flow cytometric assay for D8/17 B cell marker in patients with Tourette's syndrome and obsessive compulsive disorder. *Journal of Immunological Methods* 219: 181-186, 1998.
- Church A J, Dale R C, Lees A J *et al.* Tourette's syndrome: a cross sectional study to examine the PANDAS hypothesis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 74: 602-607, 2003.
- Dale R C. Autoimmunity and the basal ganglia: new insights into old diseases. *Q J Med* 96: 183-191, 2003.
- Danek A, Jung H H *et al.* Neuroacanthocytosis: new developments in a neglected group of dementing disorders. *Journal of the Neurological Sciences* 171-186, 229-230, 2005.
- Danek A, Walker R H. Neuroacanthocytosis. *Curr Opin Neurol* 18: 386-392, 2005.
- DeVeough-Geiss J, Gewurz A, Jankovic J *et al.* Tourette's syndrome. *N Engl J Med* Vol 346 No 9, 2002.
- Dursun S M, Reveley M A, Bird R, Stirton F. Longlasting improvement of Tourette's syndrome with transdermal nicotine. *Lancet* 344: 1577, 1994.
- Eisen J L, Leonard H L, Swedo S E *et al.* The use of antibody D8/17 to identify B cells in adults with obsessive-compulsive disorder. *Psychiatry Res* 104: 221-225, 2001.
- First M B, Pincus H A. The DSM-IV text revision: rationale and potential impact on clinical practice. *Psychiatr Serv* 53: 288-292, 2002.

- Frances A, First M B, Pincus H A. Diagnostic and statistical manual of mental disorders. Washington, DC: American Psychiatric Association, DSM-IV; 1995.
- Freeman R D, Fast D K, Burd L. An international perspective on Tourette syndrome: selected findings from 3500 individuals in 22 countries. *Develop Med Child Neurol* 42: 436-448, 2000.
- Ganguli R, Rabin B S, Kelly R H *et al.* Clinical and laboratory evidence of autoimmunity in acute schizophrenia. Neuroimmune interactions. *Ann NY Acad Sci* 496: 676-685, 1987.
- Gastpar M T. Psychiatrie. Berlin; New York: de Gruyter, 1996.
- Gilbert D L, Sethuraman G, Sine L *et al.* Tourette's syndrome improvement with pergolide in a randomized, double-blind, crossover trial. *Neurology* 54: 1310-1315, 2000.
- Goetz C G, Tanner C M, Wilson R S, Carroll V S *et al.* Clonidine and Gilles de la Tourette's syndrome: double-blind study using objective rating methods. *Ann Neurol* 21: 307-310, 1987.
- Haring, C. Psychiatrie – 2., neu bearb. Aufl. Stuttgart: Enke, 1995.
- Hentze M W, Muckenthaler M U, Andrews N C. Balancing acts: molecular control of mammalian iron metabolism. *Cell* 117: 285-297, 2004.
- Hinterhuber. Lehrbuch der Psychiatrie. Stuttgart; New York: Thieme, 1997.
- Hoekstra P J, Kallenberg C G M, Korf J, Minderaa R B. Is Tourette's syndrome an autoimmune disease? *Molecular Psychiatry* 7: 437-445, 2002.
- Hoekstra P J, Anderson G M, Limburg P C, Korf J *et al.* Neurobiology and neuroimmunology of Tourette's syndrome: an update. *CMLS, Cell. Mol. Life Sci* 61: 886-898, 2004.
- Huber G. Psychiatrie: Lehrbuch für Studium und Weiterbildung. Stuttgart; New York: Schattauer, 1999.
- Hyde T M, Aaronson B A, Randolph C *et al.* Relationship of birth weight to the phenotypic expression of Gilles de la Tourette's syndrome in monozygotic twins. *Neurology* 42: 652-658, 1992.
- Inoff-Germain G, Rodriguez R S *et al.* An immunological marker (D8/17) associated with rheumatic fever as a predictor of childhood psychiatric disorders in a community sample. *J Child Psychol Psychiatry* 44: 782-790, 2003.
- Janeway C A, Travers P. Immunologie. 2. Aufl. - Heidelberg; Berlin; Oxford: Spektrum, Akad. Verl., 2001.

- Jankovic J. Tourette syndrome. Phenomenology and classification of tics. *Neurol Clin* 15: 267-275, 1997.
- Jankovic J. Tourette's syndrome. *N Engl J Med* Vol 345 No 16, 2001.
- Jankovic J, Glaze D G, Frost J D. Effect of tetrabenazine on tics and sleep of Gilles de la Tourette's syndrome. *Neurology* 34: 688-692, 1984.
- Jankovic J, Orman J. Tetrabenazine therapy of dystonia, chorea, tics and other dyskinesias. *Neurology* 38: 391-394, 1988.
- Kessler A R. Clonidine treatment increases tics in patients with Tourette syndrome: case report. *J Child Neurol* 16: 380-381, 2001.
- Kito S, Itoga E *et al.* A pedigree of amyotrophic chorea with acanthocytosis. *Arch Neurol* 37: 514-517, 1980.
- Klussmann R. Psychosomatische Medizin. – 3., neubearb. Aufl. – Berlin; Heidelberg; New York; Barcelona; Budapest; Hong Kong; London; Mailand; Paris; Santa Clara; Singapur; Tokio: Springer, 1996.
- Kokai M, Morita Y *et al.* Immunophenotypic studies on atypical lymphocytes in psychiatric patients. *Psychiatry Res* 77: 105-112, 1998.
- Kurlan R. Tourette's syndrome and 'PANDAS': Will the relation bear out? *Department of Neurology, University of Rochester Medical Center, Rochester, NY* 50: 1530-1534, 1998.
- Kwak C H, Hanna P A, Jankovic J. Botulinum toxin in the treatment of tics. *Arch Neurol* 57: 1190-1193, 2000.
- Leckman J F, Detlor J, Harcherik D F, Ort S *et al.* Short- and long-term treatment of Tourette's syndrome with clonidine: a clinical perspective. *Neurology* 35: 343-351, 1985.
- Leckman J F, Ort S, Caruso K A, Anderson G M *et al.* Rebound phenomena in Tourette's syndrome after abrupt withdrawal of clonidine. Behavioral, cardiovascular, and neurochemical effects. *Arch Gen Psychiatry* 43: 1168-1176, 1986.
- Leckman J F, Dolnansky E S, Hardin M T *et al.* Perinatal factors in the expression of Tourette's syndrome: an exploratory study. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 29: 220-226, 1990.
- Leckman J F, Hardin M T, Riddle M A, Stevenson J *et al.* Clonidine treatment of Gilles de la Tourette's syndrome. *Arch Gen Psychiatry* 48: 324-328, 1991.
- Loiselle C R, Wendlandt J T, Rohde C A, Singer H S. Antistreptococcal, neuronal, and nuclear antibodies in Tourette's syndrome. *Pediatric Neurology* 28: 119-125, 2003.
- Marazziti D, Presta S, Pfanner C, Gemignani *et al.* Immunological alterations in adult obsessive-compulsive disorder. *Biol Psychiatry* 46: 810-814, 1999.

- Marras C, Andrews D, Sime E A, Lang A E. Botulinum toxin for simple motor tics: a randomized, double-blind, controlled clinical trial. *Neurology* 56: 605-610, 2001.
- Massard G, Tongio M M, Wihlm J M, Morand G. The dendritic cell lineage: a ubiquitous antigen-presenting organization. *Ann Thorac Surg* 61: 252-258, 1996.
- Möller H J. Psychiatrie. – Stuttgart: Hippokrates-Verl., 1995.
- Möller H J. Psychiatrie und Psychotherapie. – 2. vollst. überarb. und erw. Aufl. – Stuttgart: Thieme, 2001.
- Moll G H, Rothenberger A. Nachbarschaft von Tic und Zwang. *Der Nervenarzt* 70: 1-10, 1999.
- Moll G H, Heinrich H, Rothenberger. Transcranial magnetic stimulation in child and adolescent psychiatry: excitability of the motor system in tic disorders and/or attention deficit hyperactivity disorders. *Z Kinder Jugendpsychiatr Psychother* 29: 312-323, 2001.
- Morshed S A, Parveen S, Leckman J F, Mercadante M T *et al.* Antibodies against neural, nuclear, cytoskeletal, and streptococcal epitopes in children and adults with Tourette's syndrome, Sydenham's chorea, and autoimmune disorders. *Biol Psychiatry* 50: 566-577, 2001.
- Müller N, Putz A, Kathmann N, Lehle R, Günther W, Straube A. Characteristics of obsessive-compulsive symptoms in Tourette's syndrome, obsessive-compulsive disorder, and Parkinson's disease. *Psychiatry Res* 70: 105-114, 1997.
- Müller N, Riedel M, Erfurth A, Moller H J. Immunglobulin therapy in Gilles de la Tourette syndrome. *Nervenarzt* 68: 914-916, 1997.
- Müller N, Riedel M, Straube A, Günther W, Wilske B. Increased anti-streptococcal antibodies in patients with Tourette's syndrome. *Psychiatry Res* 94: 43-49, 2000.
- Müller N, Kroll B, Schwarz M J, Riedel M, Straube A *et al.* Increased titers of antibodies against streptococcal M12 and M19 proteins in patients with Tourette's syndrome. *Psychiatry Res* 101: 187-193, 2001.
- Müller-Vahl K R, Schneider U, Prevedel H, Theloe K *et al.* Delta 9-tetrahydrocannabinol (THC) is effective in the treatment of tics in Tourette's syndrome: a 6-week randomized trial. *J Clin. Psychiatry* 64: 459-465, 2003.
- Müller-Vahl K R. Cannabinoids reduce symptoms of Tourette's syndrome. *Expert Opinion on Pharmacotherapy* 4: 1717-1725, 2003.
- Murphy T K, Goodman M W, Fudge M W *et al.* B lymphocyte antigen D8/17: a peripheral marker for childhood-onset obsessive-compulsive disorder and Tourette's syndrome?. *Am J Psychiatry* 154: 402-407, 1997.

- Mutschler E. Arzneimittelwirkungen: Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie. – 7., völlig neu bearb. und erw. Aufl. Stuttgart: Wiss. Verl. – Ges., 1996.
- Nordstrom E J, Burton F H. A transgenic model of comorbid Tourette's syndrome and obsessive-compulsive disorder circuitry. *Molecular Psychiatry* 7: 617-625, 2002.
- Ojalvo A G, Pozo L *et al.* Prevalence of circulating antibodies against a streptokinase c-terminal peptide in normal blood donors. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 263: 454-459, 1999.
- Peter H H, Pichler W J. Klinische Immunologie. – 2. Aufl.- München; Wien; Baltimore: Urban & Schwarzenberg, 1996.
- Pringsheim T, Davenport W J, Lang A. Tics. *Curr Opin Neurol* 16: 523-527, 2003.
- Reitano M, Pisano M A, Eriquez L A, D'Amatos R F. Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of streptolysin O antibodies. *Journal of Clinical Microbiology* Vol 23 No 1, 1986.
- Riedel M, Straube A, Schwarz M J, Wilske B, Müller N. Lyme disease presenting as Tourette's syndrome. *Lancet* 351: 418-419, 1998.
- Riederer F, Stamenkovic M, Schindler S D, Kasper S. Das Tourette-Syndrom. *Der Nervenarzt* 73: 805-819, 2002.
- Robertson M M, Schnieden V, Lees A J. Management of Gilles de la Tourette syndrome using sulphiride. *Clin Neuropharmacol* 13: 229-235, 1990.
- Robertson M M, Stern J S. Gilles de la Tourette syndrome: symptomatic treatment based on evidence. *Eur Child Adolesc Psychiatry* 9: 160-175, 2000.
- Sack U, Rothe G, Barlage S, Gruber R *et al.* Durchflußzytometrie in der klinischen Diagnostik. *J Lab Med* 24: 277-297, 2000.
- Saiki S, Hirose G, Sakai K *et al.* Chorea-Acanthocytosis associated with Tourettism. *Movement Disorders* Vol. 19, No. 7, 2004.
- Sallee F R, Nesbitt L, Jackson C *et al.* Relative efficacy of haloperidol and pimozide in children and adolescents with Tourette's disorder. *Am J Psychiatry* 154: 1057-1062, 1997.
- Sandor P. Pharmacological management of tics in patients with TS. *Journal of Psychosomatic Research* 55: 41-48, 2003.
- Scahill L, Chappell P B, Kim Y S, Schultz R T *et al.* A placebo-controlled study of guanfacine in the treatment of children with tic disorders and attention deficit hyperactivity disorder. *Am J Psychiatry* 158: 1067-1074, 2001.
- Schmitz G, Rothe G. Durchflußzytometrie in der klinischen Zelldiagnostik. Stuttgart; New York: Schattauer, 1994.

- Scott B L, Jankovic J, Donovan D T. Botulinum toxin injection into vocal cord in the treatment of malignant coprolalia associated with Tourette's syndrome. *Mov Disord* 11: 431-433, 1996.
- Sherer Y, Shoenfeld Y. The Antiphospholipid Syndrome. *Bio-Rad Laboratories* 2004.
- Silver A A, Sanberg P R. Transdermal nicotine patch and potentiation of haloperidol in Tourette's syndrome. *Lancet* 342: 182, 1993.
- Silver A A, Shytle R D, Philipp M K, Sanberg P R. Case study: long-term potentiation of neuroleptics with transdermal nicotine in Tourette's syndrome. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 35: 1631-1636, 1996.
- Silver A A, Shytle R D, Philipp M K, Wilkinson B J *et al.* Transdermal nicotine and haloperidol in Tourette's disorder: a double-blind placebo-controlled study. *J Clin Psychiatry* 62: 707-714, 2001.
- Singer H S, Krumholz A, Giuliano J, Kiessling L. Antiphospholipid antibodies: an epiphenomenon in Tourette's syndrome. *Movement Disorders* 12: 738-742, 1997.
- Singer H S, Giuliano J D, Hansen B H, Hallett J J *et al.* Antibodies against human putamen in children with Tourette's syndrome. *Neurology* 50: 1618-1624, 1998.
- Singer H S, Giuliano J D, Hansen B H, Hallett J J *et al.* Antibodies against a neuron-like (HTB-10 Neuroblastoma) cell in children with Tourette's syndrome. *Biol Psychiatry* 46: 775-780, 1999.
- Spencer T, Biedermann J *et al.* The relationship between tic disorders and Tourette's syndrome revisited. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 34: 1133, 1995.
- Spitz M C, Jankovic J, Killian J M. Familial tic disorder, parkinsonism, motor neuron disease, and acanthocytosis: a new syndrome. *Neurology* 35: 366-370, 1985.
- Swedo S E, Leonard H L, Mittleman B B *et al.* Identification of children with pediatric autoimmune neuropsychiatric disorders associated with streptococcal infections by a marker associated with rheumatic fever. *Am J Psychiatry* 154: 110-112, 1997.
- Swedo S E, Leonard H L, Garvey M *et al.* Pediatric autoimmune neuropsychiatric disorders associated with streptococcal infections: clinical description of the first 50 cases. *Am J Psychiatry* 155: 264-271, 1998.
- Takeuchi T, Tsuzaka K *et al.* T cell abnormalities in systemic lupus erythematosus. *Autoimmunity* 38: 339-346, 2005.
- Taylor J R, Morshed S A, Parveen S, Mercadante M T *et al.* An animal model of Tourette's syndrome. *Am J Psychiatry* 159: 657-660, 2002.

- Thomas L. Labor und Diagnose: Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik. 6. Aufl., Frankfurt/Main: *TH-Books-Verlags-Gesellschaft*, 2005.
- Toren P, Toren A, Weizman A, Mozes T *et al.* Tourette's disorder: is there an association with the Antiphospholipid syndrome?. *Biol Psychiatry* 35: 495-498, 1994.
- Van den Eynde F, Naudts K H, de Saedeleer S *et al.* Olanzapine in Gilles de la Tourette syndrome: beyond tics. *Acta Neurol Belg* 105: 206-211, 2005.
- Van Wattum P J, Chappell P B, Zelterman D *et al.* Patterns of response to acute naloxone infusion in Tourette's syndrome. *Mov Disord* 15: 1252-1254, 2000.
- Weisz J L, McMahon W M, Moore J C, Augustine N H *et al.* D8/17 and CD19 expression on lymphocytes of patients with acute rheumatic fever and Tourette's disorder. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 11: 330-336, 2004.

8 Tourette's Syndrome Global Scale (TSGS) - Bewertungsbogen

Name: _____

Datum: _____

Untersucher: _____

Code für Frequenz	Frequenz (F)	Störung (S)
1 = 1 oder weniger in 5 Min.	0 = nicht vorhanden 1 = selten	1 = vertuschbar 2 = sicht-/hörbar keine Störung
2 = 1 in 2 bis 4.9 Min.	2 = gelegentlich	3 = leichte Störg.
3 = 1 in 1 Min. bis 4 in 1 Min.	3 = häufig	4 = Funktionsbeeinträchtigung
4 = 5 oder mehr in 1 Min.	4 = fast ständig	5 = Funktion unmöglich
5 = faktisch unzählbar	5 = ständig	

EINFACH MOTORISCH (EM): 0 1 2 3 4 5 1 2 3 4 5 FxS= ___
unwillkürlich, Tics,
Zuckungen, Bewegungen

KOMPLEX MOTORISCH (KM): 0 1 2 3 4 5 1 2 3 4 5 FxS= ___
willkürlich, bedachte
Handlungen (systematisch),
Rituale, sich selbst,
andere, Objekte berühren

EINFACH PHONETISCH (EP): 0 1 2 3 4 5 1 2 3 4 5 FxS= ___
unwillkürliche Geräusche,
Räuspern, Husten

KOMPLEX PHONETISCH (KP): 0 1 2 3 4 5 1 2 3 4 5 FxS= ___
willkürlich, Beleidigungen,
Koprolalie, Wörter, Sprache

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 assesment 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.

9 Danksagung

Ich möchte mich ganz herzlich bei Herrn Prof. Dr. med. Dipl.-Psych. Norbert Müller für die Ermöglichung dieser Arbeit bedanken. Er hat das Voranschreiten der Arbeit stets wohlwollend unterstützt.

Besonderer Dank gilt Herrn PD Dr. med. Rudolf Gruber, der mir während meiner gesamten Laborzeit zur Seite stand und immer ein offenes Ohr für Diskussionsfragen auch nach Abschluss des praktischen Teils hatte. Bei ihm möchte ich mich auch für das Korrekturlesen dieser Arbeit bedanken.

Für die erfolgreiche Mitarbeit möchte ich des weitern allen Mitarbeitern der verschiedenen Labors in der Psychiatrischen Klinik und der Medizinischen Poliklinik der LMU München Dank sagen. Ein herzliches Dankeschön auch dem Max von Pettenkoferinstitut.

Vielen Dank auch an meine Mit-Doktorandin Judith Nürnberger, die viele Stunden im Labor mit mir teilte.

Nicht zuletzt bin ich meinen lieben Eltern, Mathilde und Roland Resch, und meinem Lebensgefährten, Dr. Eynollah Rahimi-Galougahi, sehr dankbar für die Unterstützung meines gesamten Studiums. Auch meiner Schwester, Mag. Martina Resch, und allen Verwandten und Freunden danke ich, da sie mich immer begleitet und unterstützt haben.

10 CurriculumPERSÖNLICHE DATEN:

ROMANA RESCH

Geboren am 10. Mai 1980 in A-8020 Graz, österr. Staatsbürgerschaft, ledig, keine Kinder

SCHULBILDUNG:

1986-1990	Volksschule Karl-Morree in Graz
1990-1994	Hauptschule der Schulschwestern in Graz-Eggenberg
1994-1998	priv. Oberstufenrealgymnasium der Schulschwestern in Graz-Eggenberg
1998	Matura

STUDIUM:

1998/1999	Studium der Zahnmedizin an der Karl-Franzens-Universität in Graz
1999-2005	Studium der Zahnmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität in München
WS 2003/04	Auslandssemester in Siena
04.02.2005	Abgeschlossene Zahnärztliche Prüfung
24.02.2005	Approbation als Zahnärztin

DISSERTATION:

06/2003-2005	experimentelle Arbeit in der Psychiatrischen Universitätsklinik und an der Medizinischen Poliklinik der LMU in München bei Herrn Prof. N. Müller und PD Dr. R. Gruber
--------------	---

BERUF:

04/2005-11/2005	Assistenz Zahnärztin in Teilzeit in der Zahnarztpraxis Dr. Simone Frank in Poing
Seit 06/2005	Assistenz Zahnärztin in der Gemeinschaftspraxis Dr. Christine Spikofski/ Dr. Robert Meindl in München-Schwabing