

Aus der Neurologischen Klinik
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Direktor: Prof. Dr. med. Hans-Peter Hartung

Änderungen elektrophysiologischer Parameter während einer
Behandlung mit intravenösen Immunglobulinen bei Patienten mit
chronischer inflammatorischer demyelinisierender Polyneuropathie
(CIDP)

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von
Dr. rer. nat. Dominik Förster

2016

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität
Düsseldorf

gez.:

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Joachim Windolf

Erstgutachter: PD Dr. med. Helmar Lehmann

Zweitgutachter: Prof. Dr. med. Tim Lögters

Als Dissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

Ritter, C., Förster, D., Albrecht, P., Hartung, H.P., Kieseier, B.C., Lehmann, H.C.,
IVIg regulates BAFF expression in patients with chronic inflammatory
demyelinating polyneuropathy (CIDP) J Neuroimmunol 2014;274:225-229.

Zusammenfassung:

Eine Behandlung mit hoch dosierten polyklonalen intravenösen Immunglobulinen (IVIg) gehört zur Standardtherapie bei Patienten mit chronischer inflammatorischer demyelinisierender Polyneuropathie (CIDP). Trotz beträchtlicher Fortschritte in der Behandlung und der Pathogenese dieser Erkrankung bleiben Fragen zur Wirksamkeit von IVIg bestehen. Verschiedene Untersuchungen konnten zahlreiche Interaktionen zwischen IVIg und Komponenten des Immunsystems aufzeigen. Die Vielzahl der bereits verstandenen Einflüsse lässt einerseits das große Potenzial von IVIG erkennen, wirft andererseits aber auch viele neue Fragen bezüglich weiterer Wirkmechanismen auf.

Im Rahmen der durchgeführten Arbeit wurden Auswirkungen von IVIg auf Parameter der Elektroneurographie, der IgG-Konzentration, der Muskelkraft und der Zytokine BAFF und APRIL bei Patienten mit CIDP, die ambulant alle 4 Wochen mit IVIg behandelt wurden, untersucht.

Insgesamt konnten keine statistisch signifikanten Veränderungen bei Parametern der Elektroneurographie vor und direkt nach IVIg-Applikation bei Patienten mit CIDP beobachtet werden. Die IgG-Konzentrationen stiegen nach IVIg Gabe bei den Patienten signifikant an. Die Kraftänderung der Handmuskulatur und des *M. flexor hallucis longus* bei Patienten mit CIDP wurden vor und nach IVIg Gabe gemessen. Während bei der Handmuskulatur der CIDP-Patienten insgesamt keine statistisch signifikanten Kraftänderungen nach IVIg-Gabe beobachtet werden konnten, verbesserte sich statistisch signifikant die Kraft beim *M. flexor hallucis longus*.

Weiterhin wurden statistisch signifikante Konzentrationsänderungen bei den Zytokinen BAFF und APRIL nach IVIg-Applikation bei Patienten mit CIDP beobachtet. Es zeigte sich, dass unmittelbar nach IVIg-Gabe die BAFF Serumkonzentrationen bei fast allen Patienten statistisch signifikant abfiel, während die APRIL Konzentrationen statistisch signifikant stiegen.

Mit Hilfe von ELISA Messungen konnte in weiteren Experimenten nachgewiesen werden, dass Immunglobulin G an BAFF binden kann. Unsere Daten deuten darauf hin, dass die Konzentration der beiden Zytokine BAFF und APRIL durch eine IVIg-Behandlung bei der CIDP beeinflusst werden. Weitere Untersuchungen müssen klären, ob diese Zytokine möglicherweise als Surrogatmarker für das Ansprechen auf IVIg dienen könnten.

1.	<i>Immunneuropathien</i>	2
1.1	Die chronische inflammatorische demyelinisierende Polyneuropathie (CIDP)	2
1.2	Die Elektroneurographie	3
1.3	Die Diagnose einer CIDP	4
1.4	Elektrophysiologische Veränderungen bei der CIDP	5
1.5	Elektrophysiologische Kriterien der CIDP nach EFNS/PNS:	5
1.6	Intravenöse Immunglobuline (IVIg)	6
1.7	Wirkmechanismus der IVIg	9
1.8	BAFF und APRIL: Zwei Zytokine der TNF- α Familie	11
1.9	Aufgabenstellung	13
2	<i>Material und Methoden</i>	14
2.1	 Patienten	14
2.1.1	Bestimmung von BAFF	14
2.1.2	Bestimmung von APRIL	16
2.1.3	ELISA zum Nachweis von anti-BAFF Antikörpern in IgG	17
2.2	 Elektrophysiologische Messungen	19
2.2.1	Die distal motorische Latenz (DML)	19
2.2.2	Das Muskelsummenaktionspotential (MSAP)	19
2.2.3	Die motorische Nervenleitungs geschwindigkeit (mNLG)	20
2.2.4	F-Wellen	20
2.3	 Kraftmessung	21
2.3.1	Kraftmessung der Hand mittels Vigorimeter	21
2.3.2	Kraftmessung des Fußes mittels mechanischer Federwaage	21
2.4	 Geräte	21
2.5	 Statistik	22
3	<i>Ergebnisse</i>	23
3.1	Kurzzeitige Auswirkungen von IVIg auf die Muskelkraft	24
3.2	Konzentrationsänderungen von IgG im Serum	25
3.3	Auswirkungen von IVIg auf Parameter der Elektroneurographie	25
3.4	 Effekt von IVIg auf die Zytokine BAFF und APRIL	28
3.4.1	Effekt von IVIg auf Serum April-Konzentration	28
3.4.2	Effekt von IVIg auf Serum BAFF-Konzentrationen	29
3.4.3	IVIg bindet an BAFF	29
4	<i>Diskussion</i>	32
5	<i>Anhang</i>	39
5.1	Danksagung	39
5.2	Abkürzungen	40
5.3	Lebenslauf	43
6	<i>Literaturverzeichnis</i>	45

1. Immunneuropathien

Die Immunneuropathien oder immunvermittelten entzündlichen Neuropathien umfassen ein Spektrum von akut als auch chronisch verlaufenden, entzündlichen Erkrankungen des peripheren Nervensystems, denen eine autoimmune Pathogenese zugrunde liegt.¹ Die häufigste Form wird als chronische inflammatorische demyelinisierende Polyneuropathie (CIDP) bezeichnet. Neben der CIDP existieren Varianten, die je nach betreffender Fasermodalität und nach typischen elektrophysiologischen Befunden eingeteilt werden können: Die multifokale motorische Neuropathie (MMN),² die „multifocal acquired demyelinating sensory and motor Neuropathy“ (MADSAM),³ sowie Polyneuropathien, die mit einer monoklonalen Gammopathie unklarer Signifikanz (MGUS) assoziiert sind.⁴ Diese Neuropathien verlaufen chronisch, die wichtigste akut verlaufende entzündliche autoimmunvermittelte Neuropathie ist das Guillain-Barré-Syndrom⁵.

1.1 Die chronische inflammatorische demyelinisierende Polyneuropathie (CIDP)

Die CIDP ist eine erworbene immunvermittelte Erkrankung mit einer Prävalenz von etwa 1/100.000 Einwohner pro Jahr.⁶ Klinisch kann die CIDP schubförmig oder chronisch progredient verlaufen. Bei der CIDP-Erkrankung kommt es zu einer Entzündungsreaktion, die zu einer Destruktion der Myelinscheiden führt. In der Regel sind motorische und sensible Nerven beteiligt. Nach einiger Zeit findet zudem eine axonale Degeneration statt, die in der Regel irreversibel ist. Fortgeschrittene Stadien der Erkrankung sind charakterisiert durch eine Kombination von axonaler Degeneration und Demyelinisierungsherden in den Myelinscheiden der Nervenfasern.⁷ Das Therapieansprechen nimmt mit zunehmendem Krankheitsstadium ab. Junges Erkrankungsalter, schubförmiger Verlauf und die Abwesenheit von axonalen Schädigungen sind mit einer besseren Prognose assoziiert.⁸

1.2 Die Elektroneurographie

Die Elektroneurographie ist eine wichtige Untersuchungsmethode, mit der die Diagnose einer CIDP gestellt und der Krankheitsverlauf der CIDP bewertet wird.⁹ Verschiedene Parameter können hierzu herangezogen werden, wie z.B. die distale motorische Latenz (DML), das Muskelsummenaktionspotential (MSAP), die Nervenleitungsgeschwindigkeiten (NLG) und die F-Wellen.^{10,11,12}

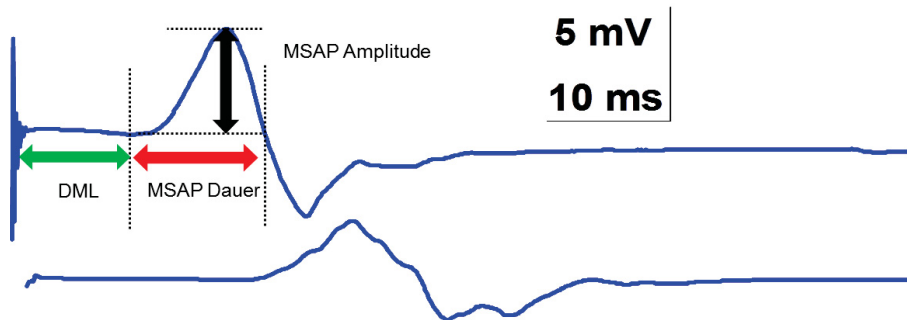


Abbildung 1: Parameter der Elektroneurographie (ENG)

Die DML ist charakterisiert als die Zeit (Latenz) vom Beginn der elektrischen Stimulation über dem Nerv bis zum Beginn des MSAPs (Abb. 1). Das MSAP ergibt sich aus der Summe der Aktionspotentiale der durch den Nerv stimulierten motorischen Einheiten. Die Amplitude des MSAPs ist somit ein Maß für die Zahl der gleichzeitig erregten Muskelfasern. Die NLG gibt die Geschwindigkeit an, mit welcher elektrische Impulse entlang einer Nervenfasern übertragen werden. Die F-Welle zeigt die motorische Spätantwort an, die nach überschwelliger Reizung eines peripheren Nervs entsteht. Nach einer elektrischen Stimulation eines peripheren Nervs wird der Impuls sowohl orthodrom (in physiologischer Verlaufsrichtung eines Nervs) als auch antidrom (entgegen der physiologischen Verlaufsrichtung eines Nervs) fortgeleitet. Die F-Welle bewegt sich zunächst antidrom und anschließend orthodrom, sodass sie mit einer Verzögerung nach dem Aktionspotential auftritt. Da es im Krankheitsverlauf der CIDP, wie oben beschrieben, durch eine autoimmunvermittelte Entzündungsreaktion zu einer Schädigung der Myelinscheiden und der Axone im peripheren Nervensystem kommt, kann man im Rahmen einer elektrophysiologischen Untersuchung eine verlängerte DML, eine Erniedrigung der Amplitude des MSAPs und zudem eine verzögerte NLG sowie eine verlängerte F-Latenz messen.

1.3 Die Diagnose einer CIDP

Um die Diagnose einer CIDP stellen zu können, sind verschiedene Untersuchungen erforderlich, da die klinische Manifestation sehr unterschiedlich sein kann. Neben klinischen kommen apparative Untersuchungen zum Einsatz.

Zu diesen gehören elektrophysiologische Messungen, die Kernspintomographie, Laboruntersuchungen, Liquoruntersuchungen, Nervensonographie und eine Nervenbiopsie.^{13,14}

Zur Diagnosesicherung einer CIDP stehen unterschiedliche Kriterien zur Verfügung, die sich hinsichtlich der Spezifität und Sensitivität voneinander abgrenzen.

Besonders häufig angewandte Kriterien stellen hierbei die „Inflammatory Neuropathy Cause and Treatment (INCAT)¹⁵“, die „American Academy of Neurology“ (AAN)¹⁶ - und die Saperstein et al.¹⁷ Kriterien dar.

Die verschiedenen Diagnosekriterien der CIDP sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Tabelle 1: Diagnostische Kriterien der CIDP

Parameter	INCAT-Kriterien	Saperstein et al.	AAN-Kriterien
Klinisches Bild	Progrediente oder schubförmige motorische und sensible Defizite in mehr als einer Extremität, reduzierte oder fehlende Muskeleigenreflexe	Hauptkriterium: symmetrische proximale oder distale Paresen Nebenkriterien: Ausschließlich distale Paresen oder Sensibilitätsstörung	Motorische und / oder sensible Defizite in mehr als einer Extremität, reduzierte oder fehlende MER
Zeitverlauf	≥ 2 Monate	≥ 2 Monate	≥ 2 Monate
Reflexstatus	Vermindert oder fehlend	Vermindert oder fehlend	Vermindert oder fehlend
Elektrophysiologie	Partieller Leitungsblock ≥2 motorischen Nerven und pathologische NLG oder DML oder verzögerte F-Wellen in anderem Nerv; falls kein partieller Leitungsblock vorliegt, reduzierte NLG, pathologische DML oder F-Wellen Latenz in 3 motorischen Nerven; oder elektrophysiologische Veränderungen, die auf	2 der 4 elektrophysiologischen Kriterien der AAN	3 von 4 Kriterien: partieller Leitungsblock an ≥ 1 motorischen Nerven, verminderte NLG an ≥ 2 motorischen Nerven, verlängerte DML an ≥2 Nerven oder verlängerte F-Wellen-Latenzen an ≥2 motorischen Nerven oder F-Wellen-Verlust

Liquor	eine Demyelinisierung in 2 Nerven hindeuten Untersuchung empfohlen, nicht obligat	Zellzahl < 10/ μ l, erhöhtes Eiweiß > 45mg/dl (unterstützend)	Zellzahl < 10/ μ l, negativer VDRL (Lues-)Test, erhöhtes Eiweiß (unterstützend)
Nervenbiopsie	Nicht zwingend (Ausnahmen: Fälle mit elektrophysiologischen Veränderungen in nur 2 motorischen Nerven)	Vorwiegend Zeichen der Demyelinisierung, Entzündung (nicht zwingend erforderlich)	Hinweise auf De- und Remyelinisierung

1.4 Elektrophysiologische Veränderungen bei der CIDP

Eine wesentliche Voraussetzung, um die Diagnose einer CIDP zu stellen, sind elektrophysiologische Veränderungen, die auf eine Demyelinisierung in motorischen und sensiblen Fasern hinweisen. Diese Veränderungen werden mittels Elektroneurographie erhoben. Pathologische Parameter, die bei der CIDP erhoben werden können, sind eine verlängerte DML, ein möglicherweise reduziertes MSAP, eine reduzierte mNLG und die Verlängerung der F-Wellen Latenz.¹⁸ In der Vergangenheit wurden diverse Versuche unternommen, diagnostische Kriterien auszuarbeiten, bei denen typische elektroneurographische Veränderungen mit berücksichtigt wurden, um die Sensitivität und Spezifität bei der Diagnose der CIDP zu verbessern.^{16,19,20,21,22,23,24,25,26,27} In den Leitlinien der European Federation of Neurological Societies bzw. der Peripheral Nerve Society wird anhand der beschriebenen Veränderungen zwischen definitiver, wahrscheinlicher und möglicher CIDP unterschieden.

1.5 Elektrophysiologische Kriterien der CIDP nach EFNS/PNS:

I. Definitive CIDP

- um $\geq 50\%$ über obere Normgrenze verlängerte DML in mindestens 2 Nerven
- motorische NLG $\geq 30\%$ unterhalb des unteren Normalwertes in mindestens 2 Nerven

- Verlängerung der F-Wellen-Latenzen um $\geq 20\%$ der oberen Normgrenze in mindestens 2 Nerven ($\geq 50\%$, wenn die Amplitude des MSAP $< 20\%$ des Normalwertes beträgt).
- Fehlen der F-Wellen in mindestens 2 Nerven, falls die Amplitude des MSAP $> 20\%$ der Norm und ein weiteres Demyelinisierungszeichen in einem weiteren Nerv vorliegt.
- partieller motorischer Leitungsblock: $\geq 50\%$. Reduktion der proximalen MSAP-Amplitude im Vergleich zu distal, wenn das distale MSAP $\geq 20\%$ der unteren Normgrenze in 2 Nerven oder in einem Nerv mit zusätzlich einem weiteren Demyelinisierungszeichen in einem weiteren Nerv.
- verlängerte zeitliche Dispersion des MSAP ($> 30\%$ der Dauer zwischen proximalem und distalem negativen Ausschlag des MSAP) in mindestens 2 Nerven.
- Dauer des distalen MSAP ≥ 9 ms in mindestens einem Nerv und zusätzlich ein Demyelinisierungszeichen in einem weiteren Nerven.

II. Wahrscheinliche CIDP

- $\geq 30\%$ Amplitudenreduktion des proximalen MSAP versus distal (mit Ausnahme des N. tibialis), wenn die distale MSAP-Amplitude in mindestens 2 Nerven $\geq 20\%$ des Normalwertes beträgt oder in einem Nerv mit Demyelinisierungszeichen in mindestens einem weiteren Nerven.

III. Mögliche CIDP

- wie in I., aber nur in einem Nerv.

1.6 Intravenöse Immunglobuline (IVIg)

Bei der Behandlung der CIDP kommen primär Kortikosteroide, intravenöse Immunglobuline oder die Plasmapherese zum Einsatz.^{28,29} Bei langfristigen Verläufen kann zudem Azathioprin, Cyclophosphamid, Ciclosporin A, Methotrexat und Mycophenolat mofetil verwendet werden, insbesondere um Kortikosteroide einsparen zu können.³⁰ Vorteile einer Therapie mit IVIg bestehen im Hinblick auf das günstige Nebenwirkungsprofil und einer hohen Evidenz bei guter Effektivität in der

Beeinflussung der CIDP. Nachteile dieser Therapie sind insbesondere die hohen Kosten.³¹

Immunglobuline wurden 1981 das erste Mal bei einer Autoimmunerkrankung eingesetzt.³² Seitdem kommen IVIg bei vielen chronischen Autoimmunerkrankungen therapeutisch zum Einsatz.³³ Abgesehen von Immunglobulin Ersatztherapien, wie beim variablen Immundefektsyndrom, sind Krankheitsbilder, die derzeit mit IVIg behandelt werden, in folgender Tabelle zusammengefasst.³⁴ (Tabelle 2)

Tabelle 2: Klinische Anwendung für IVIg Verabreichung

Anwendungsgebiete
Antiphospholipid Syndrom
Atopisches Ekzem
Autoimmune hämolytische Anämie
Autoimmune Neutropenie
CIDP
Dermatomyositis
Guillain-Barré-Syndrom (GBS)
Graft-versus-Host Reaktion
Hemmkörperhämophilie
Lupus erythematodes
MADSAM
Mucocutanes Lymphsyndrom
Multiple Sklerose
Myasthenia Gravis
Polymyositis
Rheumatoide Arthritis
Sepsis
Stiff-Person-Syndrom
Systemische Vaskulitis
Toxische epidermale Nekrolyse
Thrombotisch-thrombozytopenische Purpura

Etwa die Hälfte der in Tabelle 2 aufgeführten Behandlungen stellen einen sogenannten "off-label-use" dar.^{35,36} Es liegen mehrere Studien vor, die belegen, dass IVIg sowohl kurzfristig als auch längerfristig den Krankheitsverlauf bei einer CIDP günstig beeinflussen (Tabelle 3).³⁷

Tabelle 3: Ergebnisse klinischer Studien zur Wirksamkeit von IVIg im Vergleich zu Placebo bei CIDP

Studie	Literaturstelle	Patienten IVIg (n)	Patienten Placebo (n)	GMU*
Hahn et al.	38	25	25	+3,80
Mendell et al.	39	30	23	+4,22
Thompson et al.	40	7	7	+5,00
Vermeulen et al.	41	15	13	+1,16
Hughes et al. (ICE)	42	59	58	+2,62
Gesamtzahl		181	149	+2,83

*gewichtete mittlere Differenz bez. der Veränderung an klinischer Behinderung 4 Wochen nach Randomisierung: - zugunsten Placebo, + zugunsten IVIg

Aufgrund der ICE-Studie (engl.: Immunoglobulin CIDP efficacy trial) kam es zur Zulassung für die IVIg Therapie bei CIDP.

In dieser Studie wurden CIDP Patienten zunächst mit 2g IVIg pro kg Körpergewicht über 2-4 Tage und anschließend 1g IVIg pro kg Körpergewicht über 1-2 Tage alle 3 Wochen behandelt. Inzwischen haben sich unterschiedliche Therapieoptionen zur Behandlung von CIDP mit IVIg etabliert. In der Akutphase werden an 5 aufeinanderfolgenden Tagen 0,4g/kg Körpergewicht verabreicht. Anschließend werden 0,4-2g/kg Körpergewicht alle 4-12 Wochen für die Langzeittherapie gegeben.⁴³ Nicht nur bei der CIDP, auch beim Guillain-Barré-Syndrom und der MMN gilt die Behandlung mit IVIg als Therapie der ersten Wahl. Die Behandlung mit IVIg ist für das Guillain-Barré-Syndrom bereits zugelassen und die Leitlinien der „Deutschen Gesellschaft für Neurologie“ (DGN) empfehlen die Gabe von IVIg auch als Therapie der Wahl bei MMN.⁴⁴ Alternativ zur intravenösen Applikation von Immunglobulinen wurde über eine subkutane Verabreichung mit gleicher Dosierung

bei der Behandlung von CIDP in kleineren Fallserien berichtet.^{45,46} Allerdings muss die langfristige klinische Wirksamkeit der subkutanen Verabreichung noch in kontrollierten Studien überprüft werden. Zum jetzigen Zeitpunkt ist die intravenöse Applikation von Immunglobulinen die Therapie der ersten Wahl bei immunvermittelten Neuropathien.

1.7 Wirkmechanismus der IVIg

In den letzten drei Jahrzehnten wurden große Bemühungen unternommen, den Wirkmechanismus von IVIg bei der Behandlung von Autoimmun- und Entzündungskrankheiten zu entschlüsseln. Eine Reihe von Mechanismen für die Immunmodulation und entzündungshemmende Wirkung von IVIg wurde beschrieben.^{47,48} Dies beinhaltet eine Blockade von Fc-Rezeptoren sowie eine Modulation des B-Zell-Repertoires, die Hemmung oder Neutralisierung von Zytokinen und Wachstumsfaktoren, Blockade von Komplement-Aktivierung, die Neutralisation von Autoantikörpern, die Modulation von Adhäsionsmolekülen und Zell-Rezeptoren und die Aktivierung von regulatorischen Makrophagen durch den FcγRIIb Rezeptor. Eine Zusammenfassung der postulierten Wirkmechanismen ist in der nachfolgenden (Tabelle 4) beschrieben.⁴⁹

Tabelle 4: Wirkprofil von IVIg auf zelluläre und humorale Komponenten des Immunsystems

Zielstrukturen	Effekte
Antikörper gegen T-Zell-Rezeptor	Hemmung der T-Zell-Aktivierung
Antikörper gegen Human Leukocyte Antigen (HLA)	Hemmung der T-Zell-Aktivierung
Hemmung der Reifung von dendritischen Zellen	Hemmung der T-Zell-Aktivierung
Antiidiotypen gegen B-Zell-Rezeptoren	Hemmung der B-Zell-Aktivierung
Antikörper gegen Cluster of differentiation (CD) 5	Hemmung der B-Zell-Aktivierung
Antikörper gegen CD95	Induktion von B- und T-Zell-Apoptose
Fc-vermittelte Bindung an B-Zellen	Hemmung der Antikörperproduktion
Hemmung der Produktion von Interleukin 6	Hemmung der Antikörpersekretion
Neutralisierung von Autoantikörpern durch Antiidiotypen	Immunmodulation
Induktion antiinflammatorischer Zytokine	Immunmodulation
Verstärkung suppressiver Wirksamkeit regulatorischer T-Zellen	Immunmodulation
Bindung von Teilen des Komplementsystems	Immunmodulation
Antikörper gegen Chemokinrezeptoren	Hemmung der Leukozytenmigration
Antikörper gegen Adhäsionsmoleküle	Hemmung der Leukozytenmigration

Die oben aufgeführten multiplen Effekte der Immunglobuline zeigen das große Potential, das in dieser Behandlungsmöglichkeit steckt. Interessanterweise konnte bisher keiner der genannten Wirkmechanismen als entscheidend identifiziert werden.

Es bleibt noch abzuwarten, ob tatsächlich ein einzelner entscheidender Mechanismus wirksam ist oder ob die Induktion mehrerer Mechanismen ausschlaggebend bei der Therapie ist.

1.8 BAFF und APRIL: Zwei Zytokine der TNF- α Familie

In den vergangenen Jahren wurde eine Vielzahl neuer Zytokine identifiziert. Hierunter fallen unter anderem auch der B-cell activating factor (BAFF) und der a-proliferation-inducing-ligand (APRIL) aus der Tumornekrosefaktor (TNF)- α -Familie. BAFF und APRIL sind beide Zytokine, welche co-stimulierende Aktivitäten auf B- und T-Zellen ausüben.⁵⁰ Sie werden überwiegend von Monozyten, dendritischen Zellen und Granulozyten exprimiert.⁵¹ Weiterhin können sie von aktivierten und malignen B-Zellen exprimiert werden.⁵² BAFF und APRIL binden an die Rezeptoren transmembrane activator and cyclophilin ligand interactor (TACI) und an das B cell maturation antigen (BCMA), wobei BAFF stärker an TACI und schwächer an BCMA bindet und umgekehrt APRIL stärker an BCMA bindet und lediglich mäßig an TACI. Zusätzlich bindet BAFF stark an den BAFF Rezeptor (BAFF-R).^{53,54} Die drei genannten Rezeptoren haben wiederum getrennte Funktionen und unterschiedliche Auswirkungen bei den B-Zell Entwicklungsstufen.⁵⁵

Hohe BAFF Konzentrationen finden sich häufig im Serum von Patienten mit Autoimmunerkrankungen. Es wird vermutet, dass eine übermäßige BAFF Produktion eine Autoimmunerkrankung unterhalten kann durch übermäßige Stimulation von B-Zellen. Dementsprechend scheinen BAFF und APRIL attraktive therapeutische Zielstrukturen für die Behandlung von Autoimmunerkrankungen zu sein.⁵⁶ Le Pottier et al. hoben erhöhte BAFF-Konzentrationen im Serum von Patienten mit systemischem Lupus erythematoses (SLE), systemischer Sklerose (SSc), Multipler Sklerose (MS) und chronisch lymphatischer Leukämie (CLL) auf der einen Seite und die Wirksamkeit von IVIg bei diesen Erkrankungen auf der anderen Seite hervor und vermuteten daraufhin, dass BAFF-antagonisierende Antikörper in IVIg-Präparaten vorhanden sind. Le Pottier et al. konnten zeigen, dass Antikörper, die in IVIg vorhanden sind, an die Zytokine BAFF und APRIL binden können, aber beispielsweise nicht an TNF- α . Diese Beobachtung wurde durch eine Western-Blot-Analyse bestätigt.⁵⁷

Doi et al.⁵⁸ untersuchten die Veränderungen von BAFF- und APRIL-Serumkonzentrationen vor sowie nach IVIg-Gabe bei Patienten mit Kawasaki-

Syndrom. Die BAFF Konzentrationen im Serum der Patienten (zwischen 1504-6956 pg/ml) waren vor der IVIg Behandlung hoch und signifikant verringert (zwischen 640-1625 pg/ml) nach einer Behandlung mit IVIg. Die BAFF Serumkonzentrationen waren nach einer IVIg Behandlung mit denen von gesunden Patienten vergleichbar (zwischen 540-1238 pg/ml).

Bei der APRIL Konzentration im Serum der Patienten mit Kawasaki-Syndrom (zwischen 7,4-36,1 pg/ml) war kein signifikanter Unterschied zu gesunden Patienten (zwischen 3,9-26,1 pg/ml) feststellbar. Auffällig hierbei war allerdings der starke Anstieg der APRIL Konzentration nach IVIg-Gabe bei den Patienten mit Kawasaki-Syndrom (zwischen 71,6-208,9 pg/ml).

Zusammengefasst gibt es eine klinische und experimentelle Evidenz, die darauf hindeutet, dass BAFF und APRIL eine wichtige Rolle bei Autoimmunerkrankungen spielen. Wie schon weiter oben beschrieben sind erhöhte BAFF Konzentrationen im Rahmen einer Hypergammaglobulinämie als auch B-Zell-vermittelten Autoimmunerkrankungen^{59,60} bekannt. Bei einer erhöhten BAFF Serumkonzentration vor IVIg Behandlung kann es zu pathogenen IgG-Produktionen kommen, welche dann zu einem Kawasaki-Syndrom führen.

1.9 Aufgabenstellung

Das Ziel der Dissertation war zu untersuchen, ob eine Therapie mit IVIg zu einer kurzfristigen Änderung elektroneurographischer Parameter führen kann und ob die Therapie zu einer Expression von den Zytokinen BAFF und APRIL bei Patienten mit CIDP führt.

Dabei sollten in der vorliegenden Arbeit folgende Punkte adressiert werden:

- Untersuchung der elektrophysiologischen Nervenleitung unmittelbar vor und nach einer IVIg-Behandlung.
- Im Serum der Patienten sollen vor und nach IVIg-Infusion die IgG Konzentrationen erhoben werden.
- Mittels ELISA sollen die BAFF und APRIL Konzentrationen der Blutseren der Patienten vor und nach IVIg-Infusion bestimmt werden.

2 Material und Methoden

2.1 Patienten

Eingeschlossen in die Studie wurden 23 Patienten (Durchschnittsalter 64.4 ± 11.8 , 11 Frauen und 12 Männer) mit chronischer entzündlicher demyelinisierender Polyneuropathie (CIDP), die sich regulär im Rahmen der medizinisch notwendigen Therapie in der Neurologischen Klinik bzw. in der Interdisziplinären Ambulanz für Chemotherapie (IAC) vorstellten. Es handelte sich um männliche oder weibliche Patienten mit einem Mindestalter von 18 Jahren, die zuvor eine Einverständniserklärung unterschrieben hatten. Es wurden vor und nach der IVIg-Behandlung jeweils elektrophysiologische Messungen des *N. ulnaris* am rechten Arm und des *N. tibialis* am rechten Bein mittels Oberflächenelektroden durchgeführt. Veränderungen des Muskelsummenaktionspotentials, der distalen motorischen Latenz, der Nervenleitungsgeschwindigkeiten und der F-Wellen wurden dokumentiert.

Zudem wurden Blutproben von den 23 Patienten sowohl vor als auch nach der IVIg-Behandlung entnommen. Nach Zentrifugation für 15 Minuten bei 1500 G wurde das Serum bei -80°C gelagert und bei Bedarf aufgetaut. Das Studienprotokoll entsprach den ethischen Richtlinien der Deklaration von Helsinki und war genehmigt von der institutionellen Ethikkommission der Heinrich-Heine-Universität (HHU) Düsseldorf (Studiennummer des Ethikvotums: 3490).

Die Messung der IgG-Konzentrationen wurde im Zentrallabor der HHU erhoben. Die BAFF- und APRIL-Konzentrationen im Serum aller Patienten wurden unter Verwendung bestimmter enzyme-linked immunosorbent Assay-Kits (ELISA, R & D Systems, Invitrogen), bestimmt.

2.1.1 Bestimmung von BAFF

Der ELISA von R&D-System verwendet eine quantitative Sandwich-Enzym-Immunoassay-Technik. Hierbei wird ein monoklonaler Antikörper, der spezifisch an BAFF bindet, auf eine Mikrotiterplatte vorbeschichtet. Standards und Proben werden in Wells pipettiert und jede Probe, die BAFF enthält, wird von dem immobilisierten Antikörper gebunden. Nach dem Waschen werden alle ungebundenen Substanzen

entfernt. Anschließend wird ein enzymgebundener polyklonaler BAFF-spezifischer Antikörper in Wells pipettiert. Durch einen weiteren Waschschrift werden die ungebundenen enzymgebundenen polyklonalen BAFF-spezifischen Antikörper entfernt. Nachdem die Substrat-Lösung in die Wells gegeben wird, entwickelt sich im Verhältnis zu der Menge an BAFF eine entsprechend intensive Farbe. Die Farbentwicklung wird gestoppt und die Intensität der Farbe photometrisch gemessen.

2.1.1.1 Reagenzien

- BAFF/BLyS Mikrotitrierplatten: (96 Well Mikroplatte beschichtet mit einem monoklonalen Antikörper gegen BAFF)
- BAFF/BLyS Konjugat (Polyklonaler Antikörper gegen BAFF)
- BAFF/BLyS Standard (Rekombiniertes human BAFF)
- Patientenserum
- Assay Diluent RD1-72
- Calibrator Diluent RD6Q
- Farbreagenz A (stabilisiertes H₂O₂)
- Farbreagenz B (stabilisiertes TMB)
- Substratlösung: Farbreagenz A und B werden im Verhältnis 1:1 gemischt und sollten innerhalb von 15 Minuten eingesetzt und vor Licht geschützt werden.
- Waschpufferkonzentrat (phosphate buffered saline (PBS) mit 1% Tween 20)
- Stopplösung: (2N H₂SO₄)

2.1.1.2 Durchführung

1. Beschichten der Mikrotiterplatte mit 100 µl/Well mit Assay Diluent RD1-72 .
2. Zugabe von 50 µl/Well des Standards, der Kontrolle bzw. des Serums und Inkubation bei Raumtemperatur (RT) für 2h auf dem Schüttler bei 200 rpm
3. Dreimal Waschen mit Waschpufferkonzentrat
4. Zugabe von 200 µl/Well des BAFF/BLyS Konjugats und Inkubation für 2h bei RT auf dem Schüttler bei 200 rpm
5. Dreimal Waschen mit Waschpufferkonzentrat
6. Zugabe von je 200 µl/Well Substratlösung und Inkubation für 0,5h bei RT unter Lichtausschluß

7. Zugabe von 50 µl/Well Stopplösung. Die Farbe in den Wells sollte von blau nach gelb umschlagen.
8. Die optische Dichte sollte innerhalb von 30 Minuten mittels Photometrie bei 450 nm gemessen werden.

Zur Quantifizierung wurde eine Standardkurve aus schrittweise in Calibrator Diluent RD6Q verdünntem, rekombinanten, humanen BAFF Standard von 4000pg/ml erstellt, die Messungen erfolgten jeweils in Duplikaten.

2.1.2 Bestimmung von APRIL

Ein polyklonaler Antikörper, der spezifisch an APRIL bindet, wird auf eine Mikrotiterplatte vorbeschichtet. Das APRIL in den Serumproben oder in der Standardlösung bindet an den vorbeschichteten polyklonaler Antikörper in den Wells. Ein Biotin-konjugierter, polyklonaler anti-APRIL Antikörper wird zugegeben und bindet an den APRIL, das durch den polyklonalen Antikörper am Well fixiert ist. Nach dem Waschschrift werden nicht gebundene Biotin-konjugierte anti-APRIL Antikörper entfernt. Streptavidin-horseradish peroxidase (HRP) wird zugesetzt und bindet an den Biotin-konjugierten anti-APRIL Antikörper. Nach dem Waschen werden alle ungebundenen Substanzen entfernt. Nachdem die Substrat-Lösung in die Wells gegeben wird, entwickelt sich im Verhältnis zu der Menge an APRIL eine entsprechend intensive Farbe. Die Farbentwicklung wird durch Zugabe von Säure gestoppt und die Intensität der Farbe photometrisch gemessen.

2.1.2.1 Reagenzien

- APRIL Mikrotitrierplatten: (96 Well Mikroplatte beschichtet mit einem polyklonalen Antikörper gegen APRIL)
- Biotinkonjugierter anti-Hu APRIL polyklonaler Antikörper von der Maus
- Streptavidin-HRP
- Hu APRIL Standard
- Patientenserum
- Waschpufferkonzentrat (PBS mit 1% Tween 20)
- Assay Pufferkonzentrat (PBS mit 1% Tween 20 und 10%BSA)

- Probelösung
- Tetramethylbenzidin(TMB)-Substratlösung
- Stopplösung (1M H₃PO₄)

2.1.2.2 Durchführung:

- 1 Beschichten der Mikrotiterplatte mit 100 µl/Well mit Probelösung.
- 2 Zugabe von 100 µl in Well A1 und A2 des APRIL Standards. Von Well A1 und A2 werden 100 µl in Well B1 und B2 überführt. Dieselbe Prozedur wird über C1 und C2 fünfmal bis G1 und G2 wiederholt, die Wells H1 und H2 bleiben frei. Die Standardlösung bewegt sich zwischen 50 ng/ml in Well A1 und A2 bzw. 0,78 ng/ml in G1 und G2. Die 100 µl Überschüsse in G1 und G2 werden verworfen.
- 3 Zugabe von 50 µl Patientenseren in die übrigen Wells (Reihe 3-12).
- 4 Zugabe von 50 µl/Well des Biotin Konjugats und Inkubation für 2h bei RT auf dem Schüttler bei 200 rpm
- 5 Dreimal waschen mit Waschpufferkonzentrat
- 6 Zugabe von je 100 µl/Well Streptavidin-HRP und Inkubation für 1h bei RT auf dem Schüttler bei 200 rpm.
- 7 Dreimal waschen mit Waschpufferkonzentrat
- 8 Zugabe von 100 µl/ Well Substratlösung und Inkubation für 10 Minuten bei RT
- 9 Die Stopplösung sollte zugegeben werden, wenn die Standardwells A1 und A2 sich dunkelblau färben
- 10 Die optische Dichte sollte innerhalb von 30 Minuten mittels Photometrie bei 450 nm gemessen werden.

Zur Quantifizierung wurde eine Standardkurve aus schrittweise in Calibrator Diluent RD6Q verdünntem, rekombinantem, humanen APRIL Standard von 50 ng/ml-0,78 ng/ml erstellt. Die Messungen erfolgten jeweils in Duplikaten.

2.1.3 ELISA zum Nachweis von anti-BAFF Antikörpern in IgG

In Anlehnung an Le Pottier et al.⁵⁶ wurden die (ELISAs) durchgeführt.

2.1.3.1 Reagenzien

- PBS – Lösung (Sigma Aldrich; St. Louis, USA)
- BSA Fraktion V (Carl Roth Chemikalien, Karlsruhe)
- Peroxidase – konjugiertes anti-Human IgG
- o-Phenylendiamintabletten 15 mg (Sigma Aldrich)
- H₂O₂ – Lsg. 30 %
- 3M Schwefelsäure
- Citratpuffer (24,3 ml 0,1M Zitronensäurelösung, 25,7 ml 0,2M Dinatriumhydrogenphosphatlösung mit 50 ml destilliertem Wasser vermischen und anschließend einen pH von 5,0 einstellen).
- Baff (rekombinantes Protein, human)
- PBS – 3 % BSA.
- PBS – 0,1 % BSA.
- Anti-Human IgG bzw. in PBS – 0,1 % BSA lösen (5 µl in 15 ml).
- OPD – LSG (15 mg OPD – Tablette in 60 ml Citratpuffer + 20 µl H₂O₂, 30 %, lösen).
- PBS Waschpuffer (10 µl TWEEN-20 in 100 ml PBS lösen)

2.1.3.2 Durchführung:

Die ELISA-Platten werden zuerst mit BAFF (rekombinantes Protein) beschichtet. Hierzu werden 1 µg, 500 ng, 100 ng bzw. 10 ng BAFF in 100 µl PBS auf die Wells aufgetragen. Um die Negativkontrollen zu bestimmen, werden einige Spalten mit den o.g. BAFF Konzentrationen bzw. nur mit 100 µl PBS pro Well beschichtet.

Anschließend werden die Platten bei Raumtemperatur über Nacht inkubiert, bis das PBS verdunstet ist.

Die so vorbereiteten Platten können einige Wochen bei 4°C gelagert werden.

Die Platten werden zwei Stunden lang bei 4°C mit 200 µl einer 1 % igen BSA-Lösung pro Well geblockt. Anschließend wird die Lösung ausgeschlagen.

Das IVIg mit einer Konzentration von 100mg/ml wird aufgetaut und im Verhältnis 1:10, 1:100, 1:1000 bzw. 1:10.000 in einer 0,1 %igen BSA-Lösung vermengt.

Auch in diesem Schritt werden für die Negativkontrolle einige Spalten mit IVIg/BSA-Lösungen bzw. PBS/BSA Lösungen mit 100 µl pro Well aufgetragen.

Die Platten werden bei 4°C über Nacht inkubiert.

Die Platten werden viermal mit 100 µl Waschpuffer (10 µl Tween-20 in 100 ml PBS lösen) pro Well gewaschen und anschließend ausgeschlagen. Anschließend werden 100 µl einer Peroxidase-konjugierten anti-Human IgG-Lösung aufgetragen (im Verhältnis 1:2500 in 0,1 %iger BSA-PBS-Lösung gelöst) und zwei Stunden bei 4°C inkubiert. Die Platte wird anschließend nach dem o.g. Verfahren beschrieben gewaschen.

Im letzten Schritt werden 100 µl OPD-Lösung (15 mg OPD-Tablette in 60 ml Citratpuffer lösen und 20 µl H₂O₂ zugeben) pro Well aufgetragen und die Farbreaktion nach 10 Minuten mit 50 µl 3 M H₂SO₄ gestoppt.

Die Auswertung erfolgt photometrisch bei 492 nm.

2.2 Elektrophysiologische Messungen

Am rechten Arm und am rechten Bein wurde eine Routineneurographie (Zwei-Punkt-Stimulation) mit Oberflächenelektroden durchgeführt. Dabei wird der *N. ulnaris* (am Handgelenk und in der Ellenbeuge) und der *N. tibialis* (am Fußgelenk und in der fossa poplitea) stimuliert. Dabei werden das MSAP, die DML, die NLG und die F-Wellen bestimmt.

2.2.1 Die distal motorische Latenz (DML)

Die DML ist charakterisiert als die Zeit (Latenz) vom Beginn der elektrischen Stimulation über dem Nerv bis zum Beginn des MSAP. Um vergleichbare Ergebnisse zu erhalten, muss dabei die Entfernung zum Muskel standardisiert sein. Die DML unterscheidet sich von der NLG, da zur Nervenleitungszeit vom Stimulationsort bis zur Nervenendplatte die unbekannte neuromuskuläre Übertragungs- und intramuskuläre Ausbreitungszeit hinzuaddiert werden muss.

2.2.2 Das Muskelsummenaktionspotential (MSAP)

Das MSAP ergibt sich aus der Summe der Aktionspotentiale der durch den Nerv stimulierten motorischen Einheiten. Die Amplitude des MSAPs ist somit ein Maß für

die Zahl der gleichzeitig erregten Muskelfasern. Allerdings ist die Fläche unter der Kurve eines MSAP als Parameter für die Anzahl der erregten Muskelfasern besser geeignet als die Amplitude. Parameter zur Beurteilung des MSAPs sind die Zeitdauer bis zum Abgang der negativen Phase des Potentials (onset-Latenzzeit) sowie Amplitude, Fläche und Dauer des Potentials. Daneben wird auf die Phasenzahl des Potentials geachtet.

Sie kann unter anderem abnehmen bei einer Verminderung der Zahl der motorischen Nervenfasern. Somit spricht ein erniedrigtes MSAP für eine axonale Läsion. Bei einem demyelinisierenden Prozess ist zwar die Leitungsgeschwindigkeit herabgesetzt, aber dennoch werden die Muskelfasern erregt. Hier ist das MSAP also normal oder nur leicht erniedrigt. Andere Ursachen wären Myopathien oder Störungen der neuromuskulären Transmission.

2.2.3 Die motorische Nervenleitungsgeschwindigkeit (mNLG)

Zur Bestimmung der mNLG werden die Latenzzeiten nach Stimulation des peripheren Nervs an zwei verschiedenen Orten gemessen. Hierbei wird die Strecke zwischen den beiden Stimulationspunkten durch die Differenz von distaler und proximaler Latenzzeit dividiert. Die Latenzzeit setzt sich zusammen aus Zeit zur Übertragung des Stimulus auf den Nerv, Überleitungszeit im Nerv, Zeit für die neuromuskuläre Übertragung und Zeit für die Entstehung des Muskelpotentials.

2.2.4 F-Wellen

Die F-Wellen treten inkonstant nach überschwelliger Reizung eines peripheren Nervs als motorische Spätantwort auf. Mit Hilfe der F-Wellenuntersuchung kann man Schädigungen an peripheren Nerven frühzeitig erkennen. Nach einer elektrischen Stimulation eines peripheren Nervs wird der Impuls orthodrom und antidrom fortgeleitet. Bei der antidrom fortgeleiteten Erregung kann es im Bereich des Axonursprungs zu einer Erregung einzelner α -Motoneurone kommen. Die Erregung kann dann ohne synaptische Umschaltung vom gleichen Axon nach distal zum Muskel zurückgeleitet werden. Die F-Welle kann kurz nach dem MSAP als zweite Spannungsänderung abgeleitet werden. Die F-Wellen Latenz ergibt sich aus der Zeitdifferenz zwischen Stimulation und Ableitung.

2.3 Kraftmessung

2.3.1 Kraftmessung der Hand mittels Vigorimeter

Mit diesem Instrument kann die Kraft der Handmuskulatur non-invasiv quantifiziert werden: Ein tennisballgroßer Gummiball, der an ein Druckmesser angeschlossen ist, wird vom Patienten mit der Hand zusammengepresst und der Druck in Pascal (Pa) abgelesen.

2.3.2 Kraftmessung des Fußes mittels mechanischer Federwaage

Eine Feder wird durch die einwirkende Kraft gestreckt und die Längenänderung auf einer Präzisionsskala in bar angezeigt.

2.4 Geräte

Zur photometrischen Bestimmung der Mikroplatten wurde ein Mikroplatten Photometer der Neurologischen Abteilung der Universitätsklinik Düsseldorf genutzt:

Spezifikationen/Gerät EXPERT 96 (UV)

Wellenlängenbereich 400 (340) - 800 nm

Messbereich 0.000 – 4,000 OD

Lesegeschwindigkeit 5 Sek / Wellenlänge

Standardfilterbelegung 405, 450, 492, 620 nm (2 freie Pos.)

(340, 405, 492, 620 nm (2 freie Pos.))

Plattenformate 96-Well

Genauigkeit +/- 1 % (0 - 2.0 OD)

Präzision +/- 0,5 % (0 - 2.0 OD)

Lichtquelle Halogenlampe

Messsystem 8-Kanal optisches System mit Selbstkalibrierung und digitaler Lichtkontrolle

Schüttelfunktion 4 Modi integriert

Schnittstelle RS 232 bidirectional

Software externe Software-Pakete

Abmessungen 410 x 250 x 170 mm LxBxH

Stromanschluss 90 - 250 V / 47 - 63 Hz

2.5 Statistik

Alle Analysen wurden mit der Statistik-Software SPSS (Version 21) gerechnet. Eine deskriptive Statistik gibt Auskunft über Mittelwerte, Minimum, Maximum und Gesamtzahl der Probanden. Die Tests auf Normalverteilung erfolgten über die Kolmogorov-Smirnov-Tests der jeweiligen Stichprobe. Die Korrelationsrechnungen wurden für Normalverteilungen nach Pearson und für nichtparametrische Verteilung nach Kendall und Spearman erhoben. Zur Feststellung signifikanter Mittelwertunterschiede verschiedener Parameter in der „vor IVIg-Gabe und nach IVIg-Gabe“ Kondition wurden jeweils unabhängige T- Tests gerechnet.

3 Ergebnisse

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, zu untersuchen, ob es bei Patienten mit CIDP, die ambulant alle 4 Wochen mit IVIg in einer Konzentration von 1 g/kg bzw. 0,4 g/kg Körpergewicht und einer Infusionsrate von ca. 15 g/h behandelt wurden, zu einer kurzfristigen Änderung in der Nervenleitungsgeschwindigkeit betroffener und nicht betroffener Nerven kommt. Diese Änderung soll mit möglichen Autoantikörpertitern und der IgG Konzentration im Serum sowie mit einer standardisierten klinischen Testung korreliert werden. Hierbei wurde eine longitudinale Untersuchung über ein Jahr bei 23 Patienten (11 weiblichen und 12 männlichen) mit einem Altersdurchschnitt von 64.4 ± 11.8 Jahren mit CIDP durchgeführt (Tabelle 5).

Tabelle 5: Angaben zu den Patienten mit CIDP

Patient	Geschlecht	Alter	IVIg Dosierung g/kg KG	IVIg Behandlungszeitraum Monaten
1	W	71	1	2
2	W	53	1	12
3	M	72	1	4
4	W	69	1	8
5	W	63	1	9
6	W	65	0,4	4
7	M	61	1	3
8	W	67	1	4
9	W	74	1	30
10	M	80	1	4
11	M	41	1	4
12	W	76	0,4	15
13	M	75	1	7
14	M	65	1	16
15	M	67	1	3
16	M	61	1	36
17	M	76	0,4	23

18	M	51	0,4	18
19	M	62	1	3
20	W	78	1	3
21	W	77	1	10
22	M	68	1	3
23	W	73	0,4	25

3.1 Kurzzeitige Auswirkungen von IVIg auf die Muskelkraft

Der Kraftgrad der Handmuskulatur und des *M. flexor hallucis longus* wurde vor und unmittelbar nach IVIg-Gabe mit Hilfe eines Vigorimeters ermittelt (Abbildung 2).

Abbildung 2 zeigt, dass es nur zu einer minimalen, statistisch nicht signifikanten Änderung des Kraftgrades der Handmuskulatur 0,333 bar vor und 0,321 bar nach IVIg-Gabe kam. Bei der Kraftmessung des *M. flexor hallucis longus* konnte eine statistisch signifikante Verbesserung des Kraftgrades nach IVIg-Gabe beobachtet werden. Vor IVIg-Gabe 0,143 bar und nach IVIg-Gabe 0,173 bar, ($p < 0,05$).

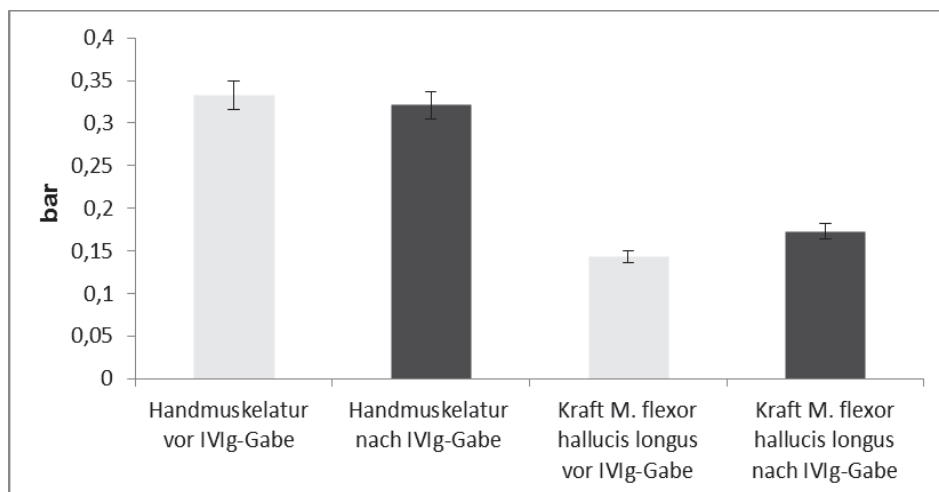


Abbildung 2: Kraftänderungen der Handmuskulatur und des *M. flexor hallucis longus* vor und nach IVIg-Gabe (Mittelwerte und Standardabweichung).

3.2 Konzentrationsänderungen von IgG im Serum

Im Zentrallabor der Heinrich-Heine-Universität wurden die IgG Konzentrationen in den Blutseren der Patientenkohorte vor und nach IVIg-Gabe untersucht. In der Abbildung 3 ist der Konzentrationsunterschied von IgG vor und nach IVIg-Gabe im Serum dargestellt. Die IgG Konzentration wurde im Patientenserum von 1656,9 mg/dl vor IVIg auf 3682,8 mg/dl nach IVIg-Gabe statistisch signifikant erhöht, ($p < 0,05$).

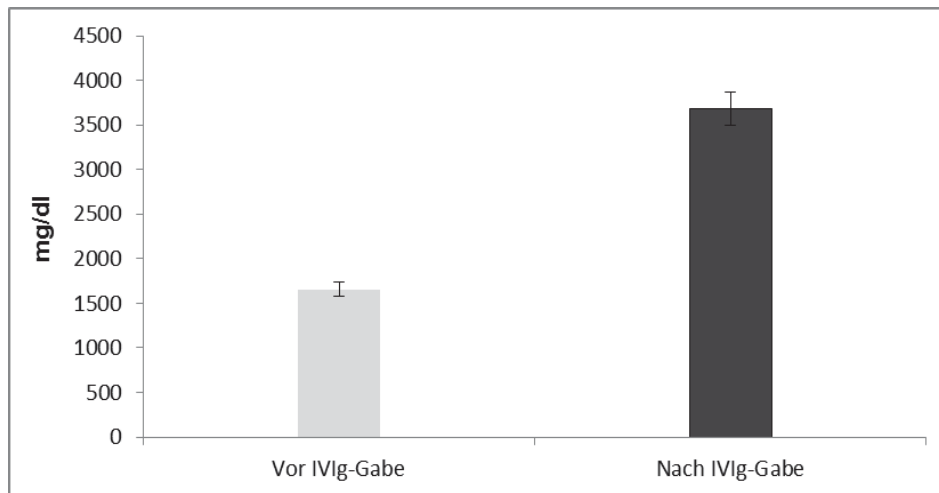


Abbildung 3: Konzentrationsänderungen von IgG im Serum der Patientenkohorte vor und nach IVIg-Gabe (Mittelwerte und Standardabweichung)

3.3 Auswirkungen von IVIg auf Parameter der Elektroneurographie

In den nachfolgenden Abbildungen sind Änderungen der Parameter der Elektroneurographie des *N. ulnaris* und des *N. tibialis* zusammengefasst. Abbildung 4 fasst die Auswirkungen der IVIg-Gabe auf die DML des *N. ulnaris* und des *N. tibialis* zusammen. Die Gabe von IVIg führte weder beim *N. ulnaris*, noch beim *N. tibialis* zu einer statistisch signifikanten Änderung der DML.

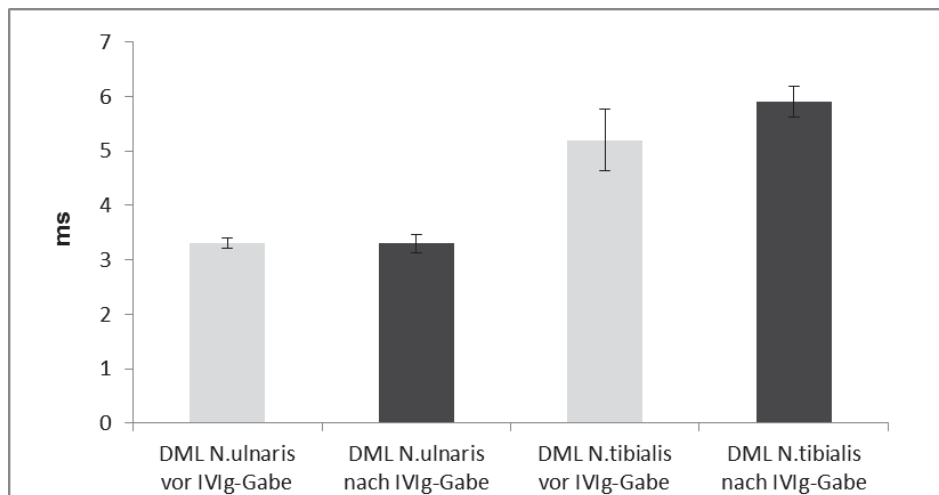


Abbildung 4: Änderungen der DML des *N. ulnaris* und des *N. tibialis* vor und nach IVIg-Gabe (Mittelwerte und Standardabweichung)

Die DML des *N. ulnaris* veränderte sich nicht signifikant nach der IVIg Infusion, beide Werte lagen im Durchschnitt bei 3,3 ms. Beim *N. tibialis* stieg die DML nach IVIg-Gabe im Mittel von 5,2 ms auf 5,9 ms an. Die Veränderung war jedoch nicht statistisch signifikant.

Abbildung 5 zeigt die Änderungen des distalen MSAP des *N. ulnaris* und *N. tibialis* nach IVIg Verabreichung. Eine Steigerung um 0,7 mV konnte unmittelbar nach IVIg-Gabe beim *N. ulnaris* im Durchschnitt bei der Patientenkohorte beobachtet werden.

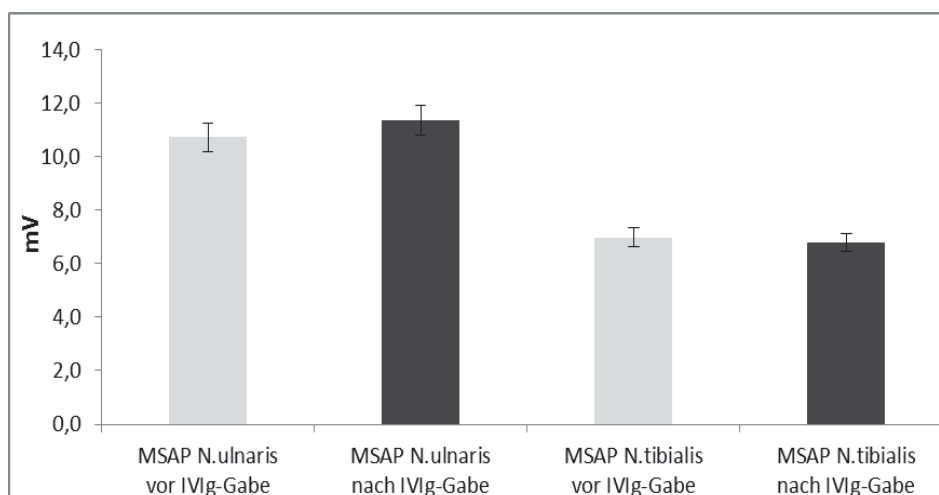


Abbildung 5: Änderung des MSAP beim *N. ulnaris* und *N. tibialis* vor und nach IVIg-Gabe (Mittelwerte und Standardabweichung)

Das MSAP beim *N. tibialis* fiel leicht von 7,0 mV vor - auf 6,8 mV - nach IVIg Infusion. Die Veränderungen waren jedoch ebenfalls nicht statistisch signifikant.

Die Veränderungen der NLG des *N. ulnaris* und des *N. tibialis* durch IVIg Applikation sind in Abbildung 6 dargestellt. Auch hier traten keine statistisch signifikanten Unterschiede für beide Nerven auf. Die Nervenleitungsgeschwindigkeit des *N. ulnaris* nahm im Durchschnitt ausgehend von 56 m/s vor IVIg-Gabe auf 56,9 m/s nach IVIg-Gabe zu. Die Nervenleitungsgeschwindigkeit des *N. tibialis* nahm ebenfalls nach IVIg-Gabe zu. Der Wert stieg im Durchschnitt von 37,5 m/s auf 37,9 m/s.

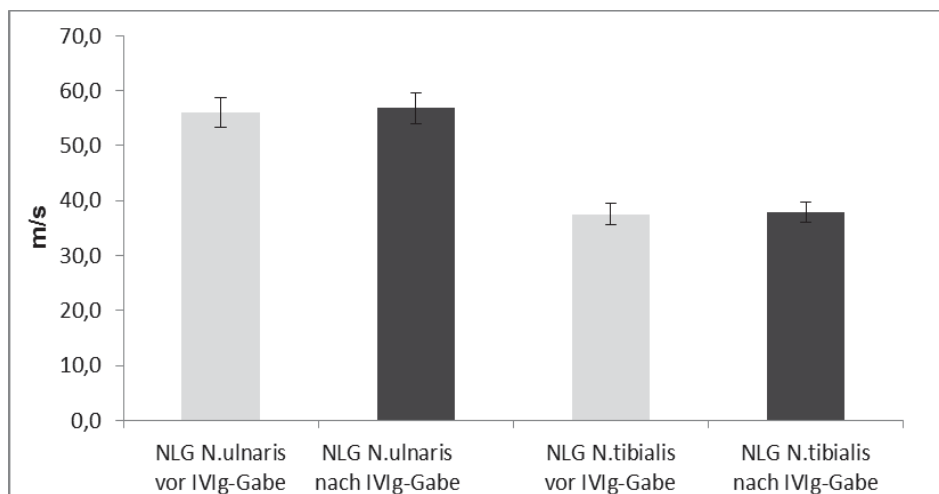


Abbildung 6: NLG des *N. ulnaris* und des *N. tibialis* vor und nach IVIg-Gabe (Mittelwerte und Standardabweichung)

In Abbildung 7 sind die Änderungen der F-Wellen-Latenz des *N. ulnaris* und des *N. tibialis* dokumentiert. Danach steigt beim *N. ulnaris* der Durchschnittswert von 29,1 ms vor auf 30,5 ms nach IVIg Applikation. Die Änderungen der F-Wellen des *N. tibialis* vor und nach IVIg-Gabe zeigen ein anderes Bild als beim *N. ulnaris*, hier konnte eine Zunahme von 56,3 ms auf 56,7 ms beobachtet werden. Auch hier waren die Auswertungen statistisch nicht signifikant.

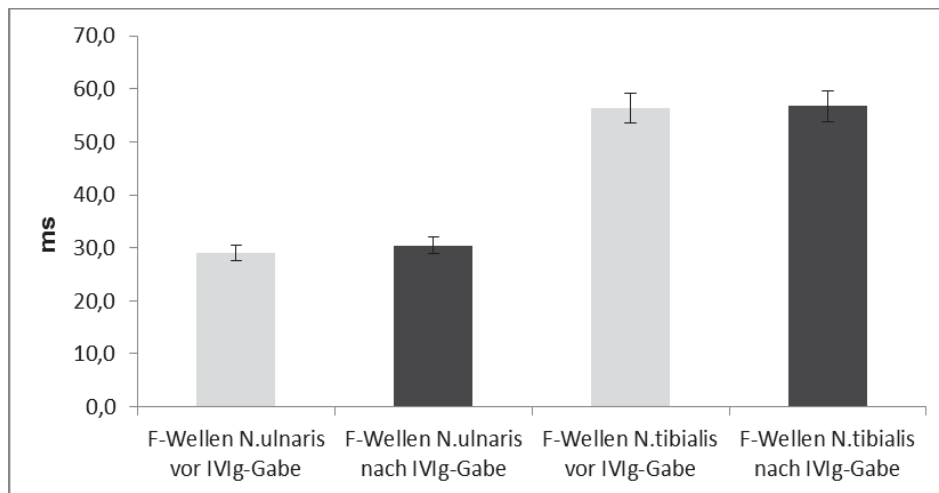


Abbildung 7: Änderung der F-Wellen des *N. ulnaris* und des *N. tibialis* vor und nach IVIg-Gabe (Mittelwerte und Standardabweichung)

3.4 Effekt von IVIg auf die Zytokine BAFF und APRIL

In den Serumproben der Patienten wurden die Effekte von IVIg auf die beiden Zytokine BAFF und APRIL mittels ELISA gemessen.

3.4.1 Effekt von IVIg auf Serum April-Konzentration

Der Mittelwert der APRIL Serumkonzentrationen vor IVIg-Behandlung 9,28 ng/ml war statistisch signifikant niedriger als nach IVIg Behandlung 21,00 ng/ml, ($p < 0,05$).

Die Änderungen der APRIL-Serumkonzentrationen vor und nach IVIg Behandlung sind in Abbildung 8 dargestellt.

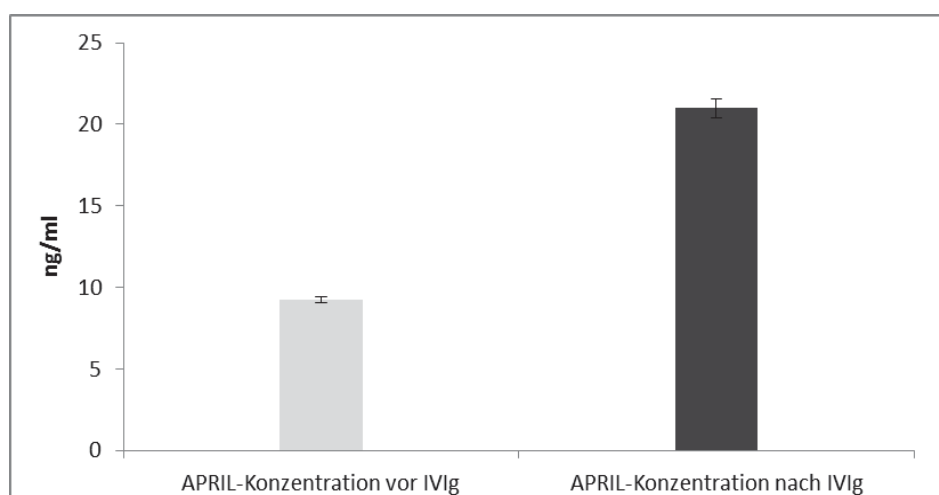


Abbildung 8: APRIL Konzentrationen (ng/ml) von CIDP Patienten vor und nach IVIg-Gabe (Mittelwerte und Standardabweichung).

3.4.2 Effekt von IVIg auf Serum BAFF-Konzentrationen

Mit Hilfe eines ELISAs wurden Konzentrationen des Zytokins BAFF in Serumproben der Patienten vor und nach IVIg Infusion bestimmt. Die Änderungen der BAFF-Serumkonzentrationen vor und nach IVIg Behandlung sind in Abbildung 9 dargestellt.

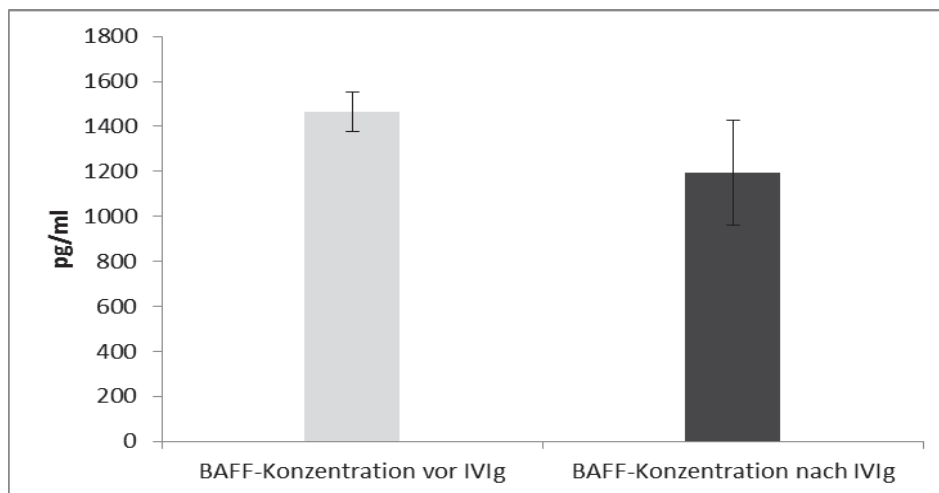


Abbildung 9: BAFF Konzentrationen (pg/ml) von CIDP Patienten vor und nach IVIg-Gabe (Mittelwerte und Standardabweichung).

Um die Auswirkungen von IVIg auf BAFF Serumspiegel zu untersuchen, wurde vor und nach der IVIg Behandlung die jeweilige Serumkonzentration überprüft. Es konnte gezeigt werden, dass es zu einer statistisch signifikanten Abnahme der BAFF-Serumspiegel nach IVIg Behandlung kam ($p < 0,05$). Vor IVIg 1464 pg/ml, nach IVIg 1194 pg/ml, ($p < 0,05$), (Abbildung 9).

3.4.3 IVIg bindet an BAFF

Mittels ELISA wurde untersucht, ob IgG, welches in IVIG Präparaten vorhanden ist, an BAFF bindet. Die Bindung von IgG auf reines BAFF, das

kommerziell in gelöster Form erhältlich ist, wurden hierbei untersucht. (Abbildung 10 und 11).

Mehrere Wells einer ELISA Platte wurden mit verschiedenen BAFF Konzentrationen (10/100/1000ng/ml) beschichtet und mit IgG (100µg/ml) vermengt. Mit Hilfe einer o-Phenyldiamin-Lösung erfolgte die photometrische Konzentrationsmessung der BAFF-IgG-Komplexe bei 492 nm.

Es stellte sich heraus, dass IgG an BAFF binden können und dass die Menge von IgG, die an BAFF bindet, mit zunehmenden Konzentrationen (10-1000ng/ml) ansteigt.

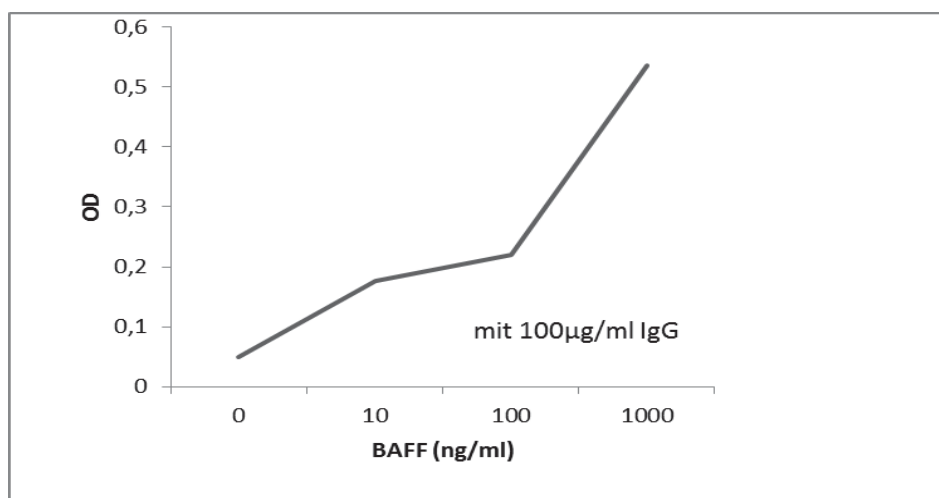


Abbildung 10: Nachweis einer IgG Bindung an BAFF in Abhängigkeit der Konzentration mittels ELISA.

Abbildung 11 zeigt die Abhängigkeit der Konzentrationen von BAFF und IgG und deren Bindungsverhalten.

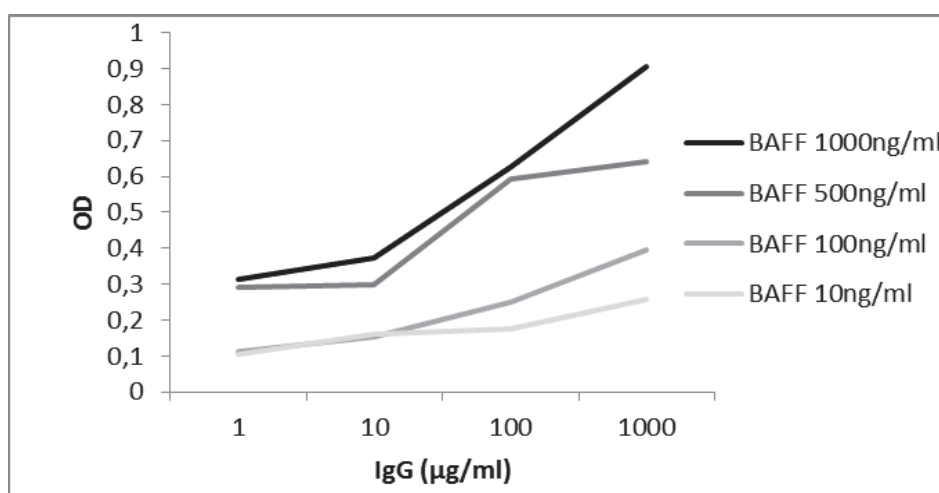


Abbildung 11: Nachweis des Bindungsverhaltens von IgG an BAFF in Abhängigkeit der Konzentrationen mittels ELISA.

Abbildung 11 zeigt, dass abhängig von der IgG- (1-1000 µg/ml) und BAFF- (10-1000 ng/ml) Konzentration das Bindungsverhalten ansteigt.

4 Diskussion

Die Aufgabenstellung der Arbeit lag darin, zu untersuchen, ob es zu einer kurzzeitigen Änderung der Elektroneurographie und der Expression von den beiden Zytokinen BAFF und APRIL unter Therapie mit IVIg bei Patienten mit CIDP kommt.

Zusammenfassend wurde dokumentiert, dass direkt nach Applikation von IgG keine unmittelbare Veränderung von Parametern der NLG eintritt. Allerdings konnten statistisch signifikante Konzentrationsunterschiede hinsichtlich der beiden Zytokine APRIL und BAFF gezeigt werden. Es wurde postuliert, dass IgG Antikörper, die in der Gesamtheit der IgG Moleküle in IVIg Präparaten vorhanden sind, sich gegen das BAFF Zytokin richten.

In einer kürzlich erschienen Publikation von Kuitwaard et al.⁶¹ konnten nur geringe Unterschiede der Serum IgG-Werte von CIDP Patienten unter einer Therapie mit IVIg beobachtet werden. In dieser Studie wurden die Konzentrationen von IgG bei insgesamt 25 Patienten mit CIDP untersucht. Die niedrigsten Serum-IgG-Werte vor der Infusion betragen 970 mg/dl (Mittelwert 1500 mg/dl) und der geringste IgG Anstieg nach Infusion betrug 370 mg/dl (Mittelwert 780 mg/dl). Die Tatsache, dass die IgG Spiegel über die Zeit relativ konstant blieben, zeigt, dass bei diesen Patienten bei konstantem IgG Infusionsschema ein Gleichgewichtszustand ohne Akkumulation von IgG eingetreten ist.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass ca. 2-4 Stunden nach IVIg-Applikation ein statistisch signifikanter Anstieg der IgG-Spiegel im Serum messbar war. Die Mittelwerte der IgG-Spiegel im Serum lagen vor IVIg-Gabe bei 1656,9 mg/dl und nach IVIg-Gabe bei 3682,8 mg/dl. Dies entspricht einem statistisch signifikanten Anstieg von 2025,9 mg/dl nach Infusion von IgG ($p < 0,05$). Die IgG-Ausgangskonzentrationen entsprechen ungefähr den Ausgangskonzentrationen der Studie von Kuitwaard et al.⁶¹ mit einem Mittelwert von 1500 mg/dl. Allerdings fällt der mittlere Anstieg mit 2025,9 mg/dl deutlich höher aus, verglichen mit einem mittleren Anstieg von 780 mg/dl. Die unterschiedlichen Ergebnisse der vorliegenden Arbeit im Vergleich zu der Studie von Kuitwaard et al., können damit erklärt werden, dass in der niederländischen Untersuchung die Patienten länger vorbehandelt waren und möglicherweise mit einer anderen Dosierung bzw. Dosierungsgeschwindigkeit behandelt wurden.

Auch die beiden Arbeitsgruppen von Doi⁵⁸ und Baba et al.⁶² untersuchen die Veränderungen der IgG Konzentration im Serum nach IVIg Infusion. Hierbei wurden die Effekte von IVIg bei Patienten mit Kawasaki-Syndrom analysiert. Die Blutkonzentrationen wurden dabei nach 5 Tagen (Doi) bzw. 12h (Baba) nach IVIg-Gabe bestimmt. Im Unterschied dazu wurden in der vorliegenden Arbeit die Messungen direkt nach Abschluss der Infusion erhoben. Auffällig sind die höheren Konzentrationen von IgG bei CIDP Patienten vor 1656,9 mg/dl und nach IVIg 3682,8 mg/dl im Vergleich zu Patienten mit Kawasaki-Syndrom vor IVIg-Gabe 617 mg/dl (Doi) bzw. 670 mg/dl (Baba) und nach IVIg-Applikation 2248 mg/dl (Doi) bzw. 2680 mg/dl (Baba).

Die Kraftänderungen, die in der vorliegenden Studie im Bereich der Handmuskulatur und des *M. flexor hallucis longus* überprüft wurden, ergeben kein eindeutiges Bild. Die Kraft der Handmuskulatur zeigte keine statistisch signifikante Änderung, dagegen nahm die Kraft des *M. flexor hallucis longus* statistisch signifikant zu ($p < 0,05$). In der Literatur ist beschrieben, dass es erst nach einigen Tagen bzw. nach einigen Wochen zu einer signifikanten Verbesserung der Kraft bei Patienten mit CIDP kommt.^{40,41,43}

Bisher wurde in der Literatur beschrieben, dass nach IVIg-Infusionen eine klinische Besserung bei der Therapie der Polyneuropathie in der Regel ein paar Wochen dauert.^{63,64,65} Diese Beobachtung wäre auch mit einem Prozess der Remyelinisierung und der axonalen Regeneration vereinbar. Die axonale Erregbarkeit kann dabei durch elektroneurographische Messungen beurteilt werden.⁶⁶ Im Vergleich zur bisher veröffentlichten Literatur wurden in einer kürzlich erschienenen Studie⁶⁷ Veränderungen der Elektroneurographie zeitnah innerhalb von 3-5 Tagen nach IVIg bei Patienten mit CIDP und bei einer Kontrollgruppe aufgezeigt. Neben den etablierten Parametern der Elektroneurographie wurden hierbei weitere Kenngrößen beschrieben, die die Erregbarkeit der Axone abbilden. Hierzu gehören die Depolarisation, die Hyperpolarisation, die Übererregbarkeit, die Untererregbarkeit, die Chronaxie und die sogenannte Rheobase. Dabei beschreibt die Rheobase ein Aktionspotential eines Nervs, der bei minimaler Stromstärke und unendlicher Reizdauer ausgelöst wird. Als Chronaxie wird das Zeitmaß angegeben, dass bei doppelter Reizstärke der Rheobase noch ein Aktionspotential in einem Nerv auslöst. Es konnte gezeigt werden, dass es bereits 3-5 Tagen nach IVIg-Gabe zu einer Änderung der axonalen Erregbarkeit kam, auch wenn die motorische Kraft bei den

Patienten subjektiv noch nicht verbessert war. Die Rheobase erhöhte sich nach IVIg-Infusion in allen Gruppen, während die Chronaxie sich bei den CIDP Patienten verringerte, aber nicht in der Kontrollgruppe. Die Autoren erklären die Veränderungen der Elektroneurographie, die bereits innerhalb einer Woche zu beobachten sind, mit einer Modulation der Na⁺-Ströme am Axon, die zeitnah nach IVIg-Gabe eintreten können.

In einer longitudinalen Studie von Lin et al.⁶⁸ wurden bei 20 CIDP Patienten elektroneurographische Parameter jeweils vor IVIg-Gabe und sowohl nach einer und nach zwei Wochen nach IVIg-Gabe (0,4 g/kg) jeden Monat in einem Zeitraum von 3 Jahren erhoben. Nach der Infusion konnten eine Reduktion der Chronaxie ($P = 0.003$), der Depolarisation ($P = 0.04$) der Hyperpolarisation ($P = 0,003$), sowie einer signifikanten Abnahme der Übererregbarkeit ($P = 0,03$) und Untererregbarkeit ($P = 0,02$) beobachtet werden. In der Kontrollgruppe, die an keiner peripheren Nervenerkrankung litt, blieben diese Veränderungen aus.

Die Ergebnisse der beiden Studien weisen darauf hin, dass bei CIDP Patienten die Nervenerregbarkeit vor IVIg-Gabe vermindert ist. Nach der IVIg Behandlung trat eine Normalisierung des Membranpotentials auf, die durch signifikante Reduzierung der Chronaxie begründet werden kann. Diese Veränderungen entsprachen im Verlauf der einhergehenden klinischen Verbesserung, die bei den CIDP Patienten beschrieben wurde.

In der vorliegenden Arbeit wurde aufgrund technischer Limitationen die o.g. Parameter nicht untersucht, sodass hierzu keine Aussage getroffen werden können. Die unmittelbaren Auswirkungen direkt nach der IVIg-Gabe auf die DML, das MSAP, die mNLG und die F-Wellen des *N. ulnaris* und des *N. tibialis* wurden in dieser Arbeit erstmals untersucht (Abbildungen 4-7). Es zeigte sich, dass es zu geringen Veränderungen kam, die nicht signifikant waren. Die Elektroneurographie-Messungen, die durch eine sog. Zwei-Punkt-Stimulation mit Oberflächenelektroden durchgeführt wurden, sind allerdings fehleranfällig und Messgenauigkeit limitiert. Bei unseren Messungen wurde streng darauf geachtet, dass die Stimulation der beiden Nerven durch farbliche Markierungen stets an den gleichen Punkten der Haut erfolgte und dass die Oberflächenelektrode beim Platzieren auf die Hautstellen stets senkrecht gehalten wurde. Aber selbst bei Einhaltung der o.g. Kriterien waren beim Versuch, die Messungen zu reproduzieren, geringe Abweichungen möglich. Aufgrund dessen und der kleinen Kohorte von 23 Patienten waren die erhobenen

Werte möglicherweise nicht signifikant unterschiedlich. Als Folgeuntersuchung wäre noch interessant, o.g. Parameter wie die Chronaxie, die Depolarisation, die Hyperpolarisation, die Rheobase, sowie die Übererregbarkeit und Untererregbarkeit ebenfalls unmittelbar nach IVIg-Gabe zu messen und mit den Ergebnissen von Boërio et al.⁶⁷ und Lin et al.⁶⁸ zu vergleichen, dabei müsste die Patientenkohorte vergrößert und idealerweise jeweils doppelt gemessen werden.

Das zur TNF α Familie gehörende Zytokin BAFF spielt eine wichtige Rolle als Kostimulator bei der B-Zell-Proliferation und -Funktion.⁶⁹ Bei transgenen Mäusen, die BAFF überexprimieren, waren die reifen B- und T-Effektorzellen stark erhöht und sie entwickelten Autoimmunerkrankungen mit hohen Rheumafaktoren, zirkulierenden Immunkomplexen, anti-DNA-Autoantikörpern und Immunglobulin-Abscheidungen in den Nieren. Dieser Phänotyp erinnert an bestimmte menschliche Autoimmunerkrankungen und legt nahe, dass eine Fehlregulation von BAFF Ausdruck sein kann für eine Kette von Ereignissen, die zu Autoimmunität führen.⁷⁰ Hohe BAFF-Konzentrationen wurden ebenfalls im Serum von Patienten mit verschiedenen Autoimmunerkrankungen nachgewiesen, wie z. B. bei systemischem Lupus erythematosus⁷¹, dem Sjögren-Syndrom⁷², der rheumatoiden Arthritis⁷³ und den idiopathischen entzündlichen Myopathien.⁷⁴ Interessanterweise ist die BAFF-Konzentration weder im Serum, noch im Liquor von Patienten mit Multipler Sklerose erhöht und steigt sogar während der Behandlung mit Interferonen.^{75,76} Allerdings konnte auch in zerebralen MS Plaques eine erhöhte BAFF-Expression von Astrozyten nachgewiesen werden.⁷⁷

Außerhalb des ZNS wird BAFF hauptsächlich in der Milz, den Lymphknoten und in den peripheren Leukozyten exprimiert. Dabei wird BAFF von myeloproliferativen Zellen wie Monozyten, Makrophagen und dendritischen Zellen, als auch von Stromazellen der Lymphknoten und der Milz gebildet.^{78,79,80,81}

Das gute Ansprechen von CIDP Patienten auf Plasmaaustausch-Verfahren^{82,83} zeigt den Zusammenhang der CIDP mit der B-Zellfunktion und dass die BAFF-Konzentrationen in diesem Zusammenhang eine wichtige Rolle in der Pathogenese von CIDP spielen könnte.

Eine kürzlich erschienene Publikation⁸⁴, die zeitgleich mit dieser Arbeit entstand, untersuchte Zusammenhänge von BAFF mit entzündlichen Neuropathien. Allerdings wurden hierbei die Messungen nicht direkt nach IVIg-Gabe erhoben, sondern die Blutabnahmen wurden vor Beginn der IVIg Behandlung, vor der IVIg-Gabe am Tag 3

und 2-3 Stunden nach der letzten Infusion IVIg am Tag 5 gemessen. Ebenfalls wurden in dieser Studie unter den myeloproliferativen Zellen die Monozyten als Hauptziel für die Hemmung der BAFF Expression unter IVIg Therapie identifiziert. Kinetische Untersuchungen zeigten eine maximale Abnahme nach 72 h Behandlungszeit. Die Tatsache, dass Patienten in intermittierenden Abständen IVIg erhalten müssen, konnte ebenfalls durch das Experiment von Bick et al.⁸⁴ erklärt werden, da die Entfernung der Immunglobuline aus der Monozyten Zelllinie zu einem raschen Erholungsprozess führte, bei der die BAFF Expression bereits innerhalb von 48h bis auf den Ausgangswert wiederanstieg.

In der vorliegenden Arbeit wurden die BAFF-Konzentrationen vor und direkt nach IVIg-Applikation verglichen. Es konnte gezeigt werden, dass unmittelbar nach IVIg-Gabe die BAFF Serumkonzentrationen bei fast allen Patienten statistisch signifikant abfiel.⁸⁵ Die Ergebnisse von Bick et al.⁸⁴ und von Doi et al.⁵⁸ stehen im Einklang mit unseren Beobachtungen.

Sinnvolle Folgeuntersuchungen wären in diesem Zusammenhang Langzeituntersuchungen von BAFF unter IVIg-Therapie in einem Beobachtungszeitraum von mehreren Monaten. Ein Vergleich der BAFF-Konzentrationen zwischen unterschiedlichen Therapiekonzepten (Plasmaaustausch, Kortison) wäre ebenfalls eine interessante Anschlussarbeit. In diesem Rahmen müsste eine Korrelation von BAFF-Konzentrationen und BAFF-Rezeptor-Expression auf peripheren B- und T-Zellen bei Patienten mit CIDP untersucht werden und diese beiden Faktoren müssten mit der Schwere der Krankheitssymptome überprüft werden. Hierbei ist der BAFF-Rezeptor-(BAFF-R oder BR3) einer der drei Rezeptoren, an die BAFF bindet⁸⁶. Weiterhin handelt es beim (BR3) BAFF-Rezeptor⁸⁷ um einen interessanten Rezeptor, da er von fast allen reifen B-Zellen exprimiert wird⁸⁸. Ochi et al⁸⁹ untersuchten den Einfluss von IVIg bei Patienten mit CIDP auf die beiden Zytokine Macrophage colony-stimulating factor (M-CSF) und Makrophagen-Chemoattraktorprotein-1 (MCP-1). Sowohl M-CSF, als auch MCP-1-Konzentrationen waren bei den Patienten an Tag 1 nach IVIg Applikation höher als die der Kontrollgruppe, die keine IVIg Applikation erhielten. Anschließend verringerten sich jedoch die Konzentrationen am Tag 5 nach IVIg Infusion bei den Patienten auf das Niveau, das vor der IVIg-Gabe herrschte. Diese Beobachtungen sind unerwartet und widersprüchlich, bewirken doch die beiden Zytokine eine verstärkende Aktivität der Monozyten. Frühere Studien schlugen als möglichen

Wirkmechanismus einer IVIg Therapie bei CIDP Patienten eine unterdrückende Funktion der Monozyten oder aktivierten T-Zellen vor.⁹⁰ Da IVIg multimodale Effekte verursacht, wäre in diesem Zusammenhang die Konzentrationsbestimmung der BAFF produzierenden Monozyten vor und nach IVIg-Gabe interessant.

Ebenfalls interessant zu wissen wäre, ob Belimumab, ein humanisierter monoklonaler anti-BAFF-Antikörper oder Atacicept, ein rekombinantes Fusionsprotein, bei der Behandlung von CIDP Patienten eine Verbesserung der Krankheitssymptome bewirken würde⁹¹.

In einer bereits publizierten Untersuchung wurde Rituximab, ein biotechnologisch hergestellter chimärer monoklonaler anti-CD20 Antikörper, der als Arzneistoff in erster Linie bei der Behandlung von malignen Lymphomen eingesetzt wird, bei Patienten mit Polyneuropathien angewendet.⁹² In dieser kleinen, prospektiven Studie wurden Patienten mit chronischer Polyneuropathie in einem Zeitraum von 12 Monaten mit Rituximab und IVIg behandelt. Es wurde dabei untersucht, ob man die IVIg-Dosierung reduzieren konnte, ohne dass sich dabei die Symptome der Patienten verschlechterten. Bei der Mehrheit der Patienten konnte allerdings die Rituximab Gabe nicht die IVIg-Applikation ersetzen.

APRIL ist ein Mitglied der Tumornekrosefaktor(TNF)-Superfamilie mit homologer Struktur und Funktion zu mehreren anderen Zytokinen in dieser Familie.⁹³

APRIL wird sowohl von malignen, als auch von physiologischen myeloischen Zellen exprimiert⁹⁴. Marsters et al.⁹⁵ zeigte, dass BAFF und APRIL an die Rezeptoren B cell maturation antigen (BCMA) und transmembran activator und CAML interactor (TACI) bindet. Durch diese Interaktion wird wiederum nuclear factor-kappaB (NF-kappaB) gebildet. NF-κB ist von großer Bedeutung für die Regulation der Immunantwort, der Zellproliferation und des Zelltodes. Im Gegensatz zu BAFF bindet APRIL noch an die Oberfläche von Proteoglykanen und nicht an den BAFF-Rezeptor.⁹⁶

Fallende BAFF-Konzentrationen und steigende APRIL-Spiegel und demzufolge die inverse Beziehung zwischen BAFF und APRIL nach Hochdosis-IVIg-Behandlung beschrieb erstmal Doi et al.⁵⁸ im Zusammenhang mit dem Kawasaki-Syndrom.

Zeitgleich zu unserer Arbeit wurden 2013 von Pranzatelli et al.⁹⁷ Unterschiede von BAFF und APRIL bei dem Opsoklonus-Myoklonus-Syndrom (OMS), auch Kinsbourne-Syndrom genannt, publiziert. BAFF und APRIL-Konzentrationen wurden bei 433 Kindern im Liquor sowie im Serum mittels ELISA gemessen.

Auch in dieser Studie wurden unterschiedlichen Wirkungen in der Immuntherapie für APRIL und BAFF gefunden. Während APRIL unter IVIg-Gabe stieg, wurde bei der OMS keine IVIg-wirkende Senkung auf BAFF im Serum erzielt.

Die Auswertungen der APRIL-Konzentrationen lieferten in dieser Arbeit bei der Therapie von CIDP Patienten mit Immunglobulinen wie bereits bei Doi et al.⁵⁸ ein inverses Bild zu den BAFF-Konzentrationen. Die APRIL-Konzentrationen stiegen statistisch signifikant von (Mittelwert: 9,28 ng/ml) vor auf (Mittelwert: 21,00 ng/ml) nach IVIg-Infusion ($p < 0,05$). Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass IVIg die Pathogenese der CIDP durch Veränderungen von BAFF und APRIL Konzentrationen beeinflusst.

Zusammenfassend konnte in dieser Arbeit eine Krafterhöhung des *M. hallucis longus* durch IVIg Gabe gezeigt werden. Ebenfalls sahen wir eine signifikante Erhöhung der IgG Konzentration nach IVIg Verabreichung. Konzentrationsveränderungen bei BAFF und APRIL durch Applikation von IVIg wurden untersucht. Ein Anstieg der APRIL Konzentration und ein Abfall der BAFF Konzentration wurde dabei nachgewiesen. Weiterhin wurde ein Bindungsverhalten in Abhängigkeit der Konzentrationen von BAFF und IgG gezeigt. Eine direkte Auswirkung bei CIDP Patienten nach IVIg Gabe auf Parameter der Elektroneurographie wurde nicht beobachtet. Ebenfalls zeigten sich keine unmittelbaren Auswirkungen nach IVIg Gabe hinsichtlich einer Stärkung der Handmuskulatur.

5 Anhang

5.1 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen Damen und Herren danken, die zum Gelingen der vorliegenden Arbeit beigetragen haben.

Meinem Betreuer Herrn PD Dr. med. *Helmar Lehmann* sei für die ausgiebigen Diskussionen, die Hilfestellungen und Anregungen gedankt.

Herrn Prof. Dr. med. *Hans-Peter Hartung* bin ich für die Bereitstellung optimaler Arbeitsbedingungen und für die interessante Themenstellung dankbar.

Den Damen Dr. med. *Meike Förster* und *Annelie Förster* danke ich für die kritische Durchsicht des Manuskriptes herzlichst.

Meiner Familie danke ich für die Unterstützung in allen Lebenslagen.

5.2 Abkürzungen

AIDP:	Akute inflammatorische demyelinisierende Polyneuropathie
AMAN:	Akute motorische axonale Neuropathie
AMSAN:	Akute motorisch-sensible axonale Neuropathie
APRIL:	a proliferation-inducing ligand
BAFF:	B-cell activating factor of the TNF family
BLyS:	B lymphocyte stimulator
BMCA:	B cell maturation antigen
BSA:	Bovines Serumalbumin
Bzw.	Beziehungsweise
CD:	Cluster of differentiation
CIDP:	chronische entzündliche demyelinisierende Polyneuropathie
CLL:	chronische lymphatische Leukämie
CV:	Coefficient of variation
DGN:	Deutsche Gesellschaft für Neurologen
DML:	Distale motorische Latenz
EAN:	Experimentelle allergische Neuritis
EFNS:	European Federation of Neurological Societies
ELISA:	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
EMG:	Elektromyographie
ENG:	Elektroneurographie
FACS:	fluorescence activated cell sorting
GBS:	Guillain-Barré Syndrom
GMU:	gewichtete mittlere Differenz bez. der Veränderung an klinischer Behinderung 4 Wochen nach Randomisierung: - zugunsten Placebo, + zugunsten IVIg
h:	Stunden
HLA:	Humane Leukozytenantigene
HRP:	Horseradish peroxidase (Meerrettichperoxidase)
IAC:	Interdisziplinäre ambulante Chemotherapie
ICE:	Information and Content Exchange

Ig:	Immunglobulin
INCAT:	Inflammatory Neuropathy Cause and Treatment
IVIg:	intravenöse Immunglobuline
lb:	Libra
Lsg:	Lösung
M.	Musculus
MADSAM:	multifocal acquired demyelinating sensory and motor Neuropathy
MCLS:	mukokutanen Lymphknotensyndrom (Kawasaki-Syndrom)
MCP-1:	Makrophagen-Chemoattraktorprotein-1
MCS-F:	Macrophage colony-stimulating factor
MGUS:	Monoklonale Gammopathie unklarer Signifikanz
MMN:	Multifokal motorische Neuropathie
MNLG:	Motorische Nervenleitgeschwindigkeit
ms:	Millisekunde
MS:	Multiple Sklerose
mv:	Millivolt
MSAP:	Muskelsummenaktionspotential
N.	Nervus
NLG:	Nervenleitgeschwindigkeit
Nm:	Nanometer
OD:	Optische Dichte
OMS:	Opsoklonus-Myoklonus-Syndrom
OPD:	o-Phenylendiamin
OR:	Odds Ratio
pH:	potentia hydrogenii
PBS:	Phosphate Buffered Saline
PNP:	Polyneuropathie
PNS:	Peripheral Nerve Society
Rpm:	Rounds per minute
RT:	Raumtemperatur
SLE:	Systemischer Lupus erythematoses
sNAP:	Sensorisches Nervenaktionspotential
sNLG:	Sensorische Nervenleitgeschwindigkeit
SSc:	Systemische Sklerose

TACI:	transmembran activator and CAML interactor
TMB:	Tetramethylbenzidin
TNF- α :	Tumornekrosefaktor-Alpha
TPP:	Thrombotisch-thrombozytopenische Purpura
VDRL:	Venereal Disease Research Laboratory
TWEEN 20:	Polysorbate 20
z.B.	zum Beispiel
ZNS:	Zentrales Nervensystem

5.3 Lebenslauf

PERSÖNLICHE DATEN

Name	Dominik Förster
Geburtsdatum	08. Juli 1977
Geburtsort	Aachen
Staatsangehörigkeit	deutsch
Familienstand	ledig

SCHULBILDUNG

Aug. 1984 - Jun. 1997	Gymnasium Inda, Aachen
Jun. 1997	Zeugnis der Allgemeinen Hochschulreife

AKADEMISCHE AUSBILDUNG

Okt. 1997 - Mai. 2004	Studium der Chemie (Diplom) an der RWTH Aachen
-----------------------	--

Mai. 2004	Diplom Diplomarbeit unter Anleitung von Prof. Dr. D. Enders am Institut für Organische Chemie der RWTH Aachen Thema: Asymmetrische <i>Michael</i> -Addition von chiralen lithiierten α -Aminonitrilen an Nitroalkene
-----------	---

Juni 2004 - APRIL. 2007	Promotion unter Anleitung von Prof. Dr. D. Enders am Institut für Organische Chemie der RWTH Aachen Thema: Asymmetrische Nucleophile Acylierung von α,β -ungesättigten Nitroalkenen, Malonaten und Iminen mit chiralen lithiierten α -Aminonitrilen
-------------------------	--

WS 2007/08	Medizinstudium Heinrich Heine Universität Düsseldorf
------------	--

APRIL 2010	Physikum
------------	----------

Mai 2014

Approbation als Arzt

Juni 2014

Assistenzarztausbildung in der Dermatologie

PUBLIKATIONSLISTE

„Asymmetric Michael Additions of a Chiral Phosphite to Nitroalkenes and Knoevenagel Acceptors“

D. Enders, L. Tedeschi, D. Förster *Synthesis* 2006;9:1447-1460.

„Asymmetric Synthesis of β -Nitroketones by Michael addition of lithiated α -aminonitriles to nitroalkenes“

D. Enders, D. Förster, G. Raabe, J. W. Bats *J Org Chem* 2008;74:9641-9646.

„IVIG regulates BAFF expression in patients with chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy (CIDP)“

C. Ritter, D. Förster, P. Albrecht, H. P. Hartung, B. C. Kieseier, H. C. Lehmann
J Neuroimmunol 2014;274:225-229.

6 Literaturverzeichnis

- ¹ Pollard, J.D., A critical review of therapies in acute and chronic inflammatory demyelinating polyneuropathies. *Muscle Nerve* 1987;10:214-221.
- ² Lawson, V.H., Arnold W.D., Multifocal motor neuropathy: a review of pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Neuropsychiatr Dis Treat* 2014;10:567-576.
- ³ Oh, S.J., Claussen G.C., Kim D.S., Motor and sensory demyelinating mononeuropathy multiplex (multifocal motor and sensory demyelinating neuropathy): a separate entity or a variant of chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy? *J Peripher Nerv Syst* 1997;2:362-369.
- ⁴ Alkhawajah, N.M., Samantha K.D., Bril V., Comparison of monoclonal gammopathy of undetermined significance-associated neuropathy and chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy patients. *J Neurol* 2014;261:1485-1491.
- ⁵ Trojaborg, W. "Acute and chronic neuropathies: new aspects of Guillain–Barré syndrome and chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy, an overview and an update." *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1998;107:303-316.
- ⁶ Martyn, C.N., Hughes R.A.C., "Epidemiology of peripheral neuropathy." *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1997;62:310-318.
- ⁷ Köller, H., Kieseier, B.C., Jander, S., Hartung, H.P., Chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *Nervenarzt* 2003;74:320-330.
- ⁸ Hadden, R., Hughes R.A.C., "Management of inflammatory neuropathies." *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2003;74:9-14.
- ⁹ Boukhris, S., Magy, L., Kabore, R., et al. Atypical electrophysiologic findings in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy (CIDP)—diagnosis confirmed by nerve biopsy. *Neurophysiol Clin* 2004;34:71-79.
- ¹⁰ Hopf H.C., Dengler, R., Röder R., *Elektromyographie-Atlas*, 1.Auflage 1996, Georg Thieme- Verlag Stuttgart- New York, S. 81-97.
- ¹¹ Conrad B., Bischoff C., *Das EMG – Buch*, 1. Auflage 1998, Georg Thieme- Verlag Stuttgart- New York, S. 26-43.
- ¹² Stöhr M., Bluthardt M., *Atlas der Elektromyographie und Elektroneurographie*, 3. Auflage 1993, Kohlhammer Stuttgart- Berlin- Köln, S. 134-143.
- ¹³ Tschernatsch, M., Blaes, F., *Klinik und Diagnostik von chronischen Immunneuropathien*. *Fortschr Neurol Psychiatr* 2011;79: 419-430.
- ¹⁴ Borchert, A., Dittrich, R., Ritter, M., Ringelstein, E.B., Schilling, M. Sonography of the Peripheral Nerves. *Klinische Neurophysiologie* 2010; 41:269-276.

- ¹⁵ Hughes, R., Bensa, S., Willison, H., Van den Bergh, P., Comi, G., Illa, I., Swan, A., Inflammatory Neuropathy Cause and Treatment (INCAT) Group. Randomized controlled trial of intravenous immunoglobulin versus oral prednisolone in chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. *Ann Neurol* 2001;50:195-201.
- ¹⁶ Cornblath, D. R., et al. Report from an Ad Hoc Subcommittee of the American Academy of Neurology AIDS Task Force. Research criteria for the diagnosis of chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy (CIDP). *Neurology* 1991;41:617-618.
- ¹⁷ Saperstein, D.S., Katz, J.S., Amato, A.A., Barohn, R. J. Clinical spectrum of chronic acquired demyelinating polyneuropathies. *Muscle Nerve* 2001;24:311-324.
- ¹⁸ Bromberg, M.B. Review of the evolution of electrodiagnostic criteria for chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. *Muscle Nerve* 2011;43:780-94.
- ¹⁹ Rajabally, Y.A., Manisha N., and Govindsinh C., Electrophysiological predictors of steroidresponsiveness in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *J Neurol* 2008;255:936-938.
- ²⁰ Albers, J.W., Kelly, J.J. Acquired inflammatory demyelinating polyneuropathies: clinical and electrodiagnostic features. *Muscle Nerve* 1989;12:435-451.
- ²¹ Haq, R.U., Pendlebury, W.W., Fries, T.J., Tandan, R., Chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy in diabetic patients. *Muscle Nerve* 2003;27:465-470.
- ²² Bromberg, M.B., Comparison of electrodiagnostic criteria for primary demyelination in chronic polyneuropathy. *Muscle Nerve* 1991;14:968-76.
- ²³ Nicolas, G., Maisonobe, T., Le Forestier, N., Léger, J.M., Bouche, P., Proposed revised electrophysiological criteria for chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. *Muscle Nerve* 2002;25:26-30.
- ²⁴ Van den Bergh, P.Y.K., Piéret, F., Electrodiagnostic criteria for acute and chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. *Muscle Nerve* 2004;29:565-74.
- ²⁵ Wilson, J., Chawla, J., Fisher, M., Sensitivity and specificity of electrodiagnostic criteria for CIDP using ROC curves: comparison to patients with diabetic and MGUS associated neuropathies. *J Neurol Sci* 2005;231:19-28.
- ²⁶ Hadden, R.D.M., Nobile-Orazio, E., Sommer, C., Hahn, A., Illa, I., Morra, E., Van Schaik, I.N., European Federation of Neurological Societies/Peripheral Nerve Society guideline on management of paraproteinaemic demyelinating neuropathies: report of a joint task force of the European Federation of Neurological Societies and the Peripheral Nerve Society*. *Eur J Neurol* 2006;13:809-818.
- ²⁷ Koski, C.L., Baumgarten, M., Magder, L.S., Barohn, R.J., Goldstein, J., Graves, M., Cornblath, D.R., Derivation and validation of diagnostic criteria for chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *J Neurol Sci* 2009;277:1-8.

- ²⁸ Hughes, R.A., Mehndiratta, M.M., Corticosteroids for chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. *Cochrane Database Syst Rev* 2012;15:1-35.
- ²⁹ Eftimov, F., Winer, J.B., Vermeulen, M., de Haan, R., van Schaik, I.N., Intravenous immunoglobulin for chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. *Cochrane Database Syst Rev* 2013;30:1-69.
- ³⁰ Mahdi-Rogers, M., van Doorn, P.A., Hughes, R.A., Immunomodulatory treatment other than corticosteroids, immunoglobulin and plasma exchange for chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. *Cochrane Database Syst Rev* 2013;14:1-46.
- ³¹ Cocito, D., Serra, G., Paolasso, I., et al. Economic and quality of life evaluation of different modalities of immunoglobulin therapy in chronic dysimmune neuropathies. *J Peripher Nerv Syst* 2012;17:426-428.
- ³² Imbach, P., d'Apuzzo, V., Hirt, A., Rossi, E., Vest, M., Barandun, S., Wagner, H.P., High-dose intravenous gammaglobulin for idiopathic thrombocytopenic purpura in childhood. *Lancet* 1981;317:1228-1231.
- ³³ Negi, V.S., Elluru, S., Sibénil, S., Graff-Dubois, S., Mouthon, L.U.C., Kazatchkine, M.D., Kaveri, S.V., Intravenous immunoglobulin: an update on the clinical use and mechanisms of action. *J Clin Immunol* 2007;27:233-245.
- ³⁴ Nimmerjahn, F., Ravetch, J.V., Anti-inflammatory actions of intravenous immunoglobulin. *Annu Rev Immunol* 2008;26:513-533.
- ³⁵ Prins, C., Gelfand, E.W., French, L.E., Intravenous immunoglobulin: properties, mode of action and practical use in dermatology. *Acta Derm Venereol* 2007;87:206-218 .
- ³⁶ Nimmerjahn, F., Ravetch, J.V., The antiinflammatory activity of IgG: the intravenous IgG paradox. *J Exp Med* 2007;204:11-15.
- ³⁷ Stangel, M., Hartung, H.P., Gold, R., Kieseier, B.C., The significance of intravenous immunoglobulin in treatment of immune-mediated polyneuropathies. *Nervenarzt* 2009;80:678-687.
- ³⁸ Hahn, A.F., Bolton, C.F., Pillay, N., Chalk, C., Benstead, T., Bril, V., Feasby, T.E., Plasma-exchange therapy in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy A double-blind, sham-controlled, cross-over study. *Brain* 1996;119:1055-1066.
- ³⁹ Mendell, J.R., Freimer, M.L., et al., Randomized controlled trial of IVIg in untreated chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. *Neurology* 2001;56:445-449.
- ⁴⁰ Thomson, N., Choudhary, P., Hughes, R.A.C., Quinlivan, R.M.A, novel trial design to study the effect of intravenous immunoglobulin in chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. *J Neurol* 1996;243:280-285.
- ⁴¹ Vermeulen, M., Van Doorn, P.A., Brand, A., Strengers, P.F., Jennekens, F.G., Busch, H.F., Intravenous immunoglobulin treatment in patients with chronic inflammatory demyelinating

polyneuropathy: a double blind, placebo controlled study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1993;56:36-39.

⁴² Hughes, R.A., Donofrio, P., Bril, V., Dalakas, M.C., Deng, C., Hanna, K., van Doorn, P.A., Intravenous immune globulin (10% caprylate-chromatography purified) for the treatment of chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy (ICE study): a randomised placebo-controlled trial. *Lancet Neurol* 2008;7:136-144.

⁴³ Bril, V., Katzberg, H., Donofrio, P., Banach, M., Dalakas, M.C., Deng, C., Van Doorn, P.A., Electrophysiology in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy with IGIV. *Muscle Nerve* 2009; 39:448-455.

⁴⁴ Pathway, C. Therapie akuter und chronischer immunvermittelter Neuropathien und Neuritiden Was gibt es Neues ? Definition und Klassifikation Diagnostik , Pathogenese und Epidemiologie Therapie 2012:1-16.

⁴⁵ Köller, H., Schroeter, M., Feischen, H., Hartung, H.P., Kieseier, B.C., Subcutaneous self-infusions of immunoglobulins as a potential therapeutic regimen in immune-mediated neuropathies. *J Neurol* 2006;253:1505-1506.

⁴⁶ Lee, D.H., Linker, R.A., Paulus, W., Schneider-Gold, C., Chan, A., Gold, R., Subcutaneous immunoglobulin infusion: a new therapeutic option in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *Muscle Nerve* 2008;37:406-409.

⁴⁷ Ballow, M. The IgG molecule as a biological immune response modifier: mechanisms of action of intravenous immune serum globulin in autoimmune and inflammatory disorders. *J Allergy Clin Immunol* 2011;127:315-323.

⁴⁸ Tha-In, T., Bayry, J., Metselaar, H.J., Kaveri, S.V, Kwekkeboom, J., Modulation of the cellular immune system by intravenous immunoglobulin. *Trends Immunol* 2008;29:608-615.

⁴⁹ Kieseier, B.C., Meyer Zu Hörste, G., Lehmann, H.C., Gold, R., Hartung, H.P., Intravenous immunoglobulins in the treatment of immune neuropathies. *Curr Opin Neurol* 2008;21:555-562.

⁵⁰ Daridon, C., Youinou, P., Pers, J.O., BAFF, APRIL, TWE-PRIL: who's who? *Autoimmun Rev* 2008;7:267-271.

⁵¹ Fu, L., Lin-Lee, Y.C., Pham, L.V., Tamayo, A., Yoshimura, L., Ford, R.J., Constitutive NF- κ B and NFAT activation leads to stimulation of the BlyS survival pathway in aggressive B-cell lymphomas. *Blood* 2006;107:4540-4548.

⁵² Kern, C., Cornuel, J.F., Billard, C., Tang, R., Rouillard, D., Stenou, V., Defrance, T., Ajchenbaum-Cymbalista, F., Simonin, P.Y., Feldblum, S., et al., Involvement of BAFF and APRIL in the resistance to apoptosis of B-CLL through an autocrine pathway. *Blood* 2004;103:679-688.

⁵³ Day E.S, Cachero T.G, Qian F, Sun Y, Wen D, Pelletier M, et al., Selectivity of BAFF/BlyS and APRIL for binding to the TNF family receptors BAFFR/BR3 and BCMA. *Biochemistry* 2005;44:1919-1931.

- ⁵⁴ Bossen, C., Schneider, P., BAFF, APRIL and their receptors: structure, function and signaling, *Semin immunol* 2006;18:263-275.
- ⁵⁵ Vincent, F.B., Saulep-Easton, D., Figgett, W.A., Fairfax, K.A., Mackay, F., The BAFF/APRIL system: emerging functions beyond B cell biology and autoimmunity. *Cytokine Growth Factor Rev* 2013;24:203-215.
- ⁵⁶ Le Pottier, L., Bendaoud, B., Dueymes, M., Daridon, C., Youinou, P., Shoenfeld, Y., Pers, J.O., BAFF, a new target for intravenous immunoglobulin in autoimmunity and cancer. *J clin immunol* 2007;27:257-265.
- ⁵⁷ Le Pottier, L., Sapir, T., Bendaoud, B., Youinou, P., Shoenfeld, Y., PERS, J.O., Intravenous immunoglobulin and cytokines. *Ann N Y Acad Sci* 2007;1110:426-432.
- ⁵⁸ Doi, M., Takeda, T., Sakurai, Y., Kato, J., Hayashi, T., Fukuda, K., Shima, M., Altered Immunoglobulin A and M Levels Associated With Changes in BAFF and APRIL After Administration of Intravenous Immunoglobulin to Treat Kawasaki Disease. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2010;20:413-418.
- ⁵⁹ Bosello, S., Pers, J., Rochas, C., Devauchelle, V., De Santis, M., Daridon, C., Youinou, P., BAFF and rheumatic autoimmune disorders: implications for disease management and therapy. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2007;20:1-8.
- ⁶⁰ Migita, K., Ilyassova, B., Kovzel, E.F., Nersesov, A., Abiru, S., Maeda, Y., Nakamura, M., Serum BAFF and APRIL levels in patients with PBC. *Clin Immunol* 2010;134:217-225.
- ⁶¹ Kuitwaard, K., van Doorn, P.A., Vermeulen, M., van den Berg L.H., Brusse, E., van der Kooi, A.J., van der Pol, W.L., van Schaik, I.N., Notermans, N., Tio-Gillen, A.P., van Rijs, W., van Gelder, T., Jacobs, B.C., Serum IgG levels in IV immunoglobulin treated chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2013;84:859-861.
- ⁶² Baba, R., Shibata, A., Tsurusawa, M., Single high-dose intravenous immunoglobulin therapy for kawasaki disease increases plasma viscosity. *Circ J* 2005;69:962-964.
- ⁶³ Chaudhry, V., Corse, A.M., Cornblath, D.R., Kuncl, R.W., Drachman, D.B., Freimer, M. L., Griffin, J.W., Multifocal motor neuropathy: response to human immune globulin. *Ann Neurol* 1993;33:237-242.
- ⁶⁴ Kaji, R., Shibasaki, H., Kimura, J., Multifocal demyelinating motor neuropathy: cranial nerve involvement and immunoglobulin therapy. *Neurology* 1992;42:506-509.
- ⁶⁵ Van den Berg-Vos, R.M., Franssen, H., Wokke, J.H.J., Van den Berg, L.H., Multifocal motor neuropathy: long-term clinical and electrophysiological assessment of intravenous immunoglobulin maintenance treatment. *Brain* 2002;125:1875-1886.
- ⁶⁶ Kiernan, M.C., Burke, D., Andersen, K.V., Bostock, H., Multiple measures of axonal excitability: a new approach in clinical testing. *Muscle Nerve* 2000;23:399-409.

- ⁶⁷ Boërio, D., Créange, A., Hogrel, J.Y., Guéguen, A., Bertrand, D., Lefaucheur, J.P., Nerve excitability changes after intravenous immunoglobulin infusions in multifocal motor neuropathy and chronic inflammatory demyelinating neuropathy. *J Neurol sci* 2010;292:63-71.
- ⁶⁸ Lin, C.S.Y., Krishnan, A.V, Park, S.B., Kiernan, M.C., Modulatory effects on axonal function after intravenous immunoglobulin therapy in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *Arch Neurol* 2011;68:862-869.
- ⁶⁹ Schiemann, B., Gommerman, J.L., Vora, K., Cachero, T.G., Shulga-Morskaya, S., Dobles, M., Scott, M.L., An essential role for BAFF in the normal development of B cells through a BCMA-independent pathway. *Science* 2001;293:2111-2114.
- ⁷⁰ Mackay, F., Woodcock S.A., Lawton, P., Ambrose, C., Baetscher, M., Schneider, P., Tschopp, J., Browning, J.L., Mice transgenic for BAFF develop lymphocytic disorders along with autoimmune manifestations. *J Exp Med* 1999;190:1697-1710.
- ⁷¹ Zhang, J., Roschke, V., Baker, K.P., Wang, Z., Alarcón, G.S., Fessler, B.J., Zhou, T., Cutting edge: a role for B lymphocyte stimulator in systemic lupus erythematosus. *J Immunol* 2001;166:6-10.
- ⁷² Mariette, X., Roux, S., Zhang, J., Bengoufa, D., Lavie, F., Zhou, T., Kimberly, R., The level of BLYS (BAFF) correlates with the titre of autoantibodies in human Sjögren's syndrome. *Ann Rheum Dis* 2003;62:168-171.
- ⁷³ Cheema, G.S., Roschke, V., Hilbert, D.M., Stohl, W., Elevated serum B lymphocyte stimulator levels in patients with systemic immune-based rheumatic diseases. *Arthritis Rheum* 2001;44:1313-1319.
- ⁷⁴ Kryštůfková, O., Vallerskog, T., Helmers, S.B., Mann, H., Půtová, I., Běláček, J., Lundberg, I.E., Increased serum levels of B cell activating factor (BAFF) in subsets of patients with idiopathic inflammatory myopathies. *Ann Rheum Dis* 2009;68:836-843.
- ⁷⁵ Krumbholz, M., Faber, H., Steinmeyer, F., Hoffmann, L.A., Kümpfel, T., Pellkofer, H., Meinl, E., Interferon- β increases BAFF levels in multiple sclerosis: implications for B cell autoimmunity. *Brain* 2008;131:1455-1463.
- ⁷⁶ Hedegaard, C.J., Sellebjerg, F., Krakauer, M., Hesse, D., Bendtzen, K., Nielsen, C.H., Interferon-beta increases systemic BAFF levels in multiple sclerosis without increasing autoantibody production. *Mult Scler* 2011;17:567-577.
- ⁷⁷ Krumbholz, M., Theil, D., Derfuss, T., Rosenwald, A., Schrader, F., Monoranu, C.M., Meinl, E., BAFF is produced by astrocytes and up-regulated in multiple sclerosis lesions and primary central nervous system lymphoma. *J Exp Med* 2005;201:195-200.
- ⁷⁸ Moore, P.A., Belvedere, O., Orr, A., Pieri, K., LaFleur, D.W., Feng, P., Hilbert, D.M., BLYS: member of the tumor necrosis factor family and B lymphocyte stimulator. *Science* 1999;285:260-263.

- ⁷⁹ Schneider, P., MacKay, F., Steiner, V., Hofmann, K., Bodmer, J.L., Holler, N., Tschopp, J., BAFF, a novel ligand of the tumor necrosis factor family, stimulates B cell growth. *J Exp Med* 1999;189:1747-1756.
- ⁸⁰ Nardelli, B., Belvedere, O., Roschke, V., Moore, P.A., Olsen, H.S., Migone, T.S., Hilbert, D.M., Synthesis and release of B-lymphocyte stimulator from myeloid cells. *Blood* 2001;97:198-204.
- ⁸¹ Mackay, F., Schneider, P., Cracking the BAFF code. *Nat Rev Immunol* 2009;9:491-502.
- ⁸² Yan, W.X., Taylor, J., Andrias-Kauba, S., Pollard, J.D., Passive transfer of demyelination by serum or IgG from chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy patients. *Ann Neurol* 2000;47:765-775.
- ⁸³ Lehmann, H.C., Hartung, H.P., Plasma exchange and intravenous immunoglobulins: mechanism of action in immune-mediated neuropathies. *J Neuroimmunol* 2011;231:61-69.
- ⁸⁴ Bick, S., Tschernatsch, M., Karg, A., Fuehlhuber, V., Trenczek, T.E., Faltermeier, K., Blaes, F., Intravenous immunoglobulin inhibits BAFF production in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy—A new mechanism of action? *J Neuroimmunol* 2013;256:84-90.
- ⁸⁵ Ritter, C., Förster, D., Albrecht, P., Hartung, H.P., Kieseier, B.C., Lehmann, H.C., IVIg regulates BAFF expression in patients with chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy (CIDP). *J Neuroimmunol* 2014;274:225-229.
- ⁸⁶ Mackay, F., Silveira, P. A., Brink, R., B cells and the BAFF/APRIL axis: fast-forward on autoimmunity and signaling. *Curr Opin Immunol* 2007;19:327-336.
- ⁸⁷ Ng, L.G., Sutherland, A.P., Newton, R., Qian, F., Cachero, T.G., Scott, M.L., Mackay, C. R., B cell-activating factor belonging to the TNF family (BAFF)-R is the principal BAFF receptor facilitating BAFF costimulation of circulating T and B cells. *J Immunol* 2004;173:807-817.
- ⁸⁸ Thangarajh, M., Kisiswa, L., Pirskanen, R., Hillert, J., The expression of BAFF-binding receptors is not altered in multiple sclerosis or myasthenia gravis. *Scand J Immunol* 2007;65:461-466.
- ⁸⁹ Ochi, K., Kohriyama, T., Higaki, M., Ikeda, J., Harada, A., Nakamura, S., Changes in serum macrophage-related factors in patients with chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy caused by intravenous immunoglobulin therapy. *J Neurol Sci* 2003;208:43-50.
- ⁹⁰ Mouthon, L., Kaveri, S.V., Spalter, S.H., Lacroix-Desmazes, S., Lefranc, C., Desai, R., Kazatchkine, M.D., Mechanisms of action of intravenous immune globulin in immune-mediated diseases. *Clin Exp Immunol* 1996;104:3-9.
- ⁹¹ Dalakas, M.C.B., cells as therapeutic targets in autoimmune neurological disorders. *Nat Clin Pract Neurol* 2008;4:557-567.

⁹² Gorson, K.C., Natarajan, N., Ropper, A.H., Weinstein, R., Rituximab treatment in patients with IVIg-dependent immune polyneuropathy: a prospective pilot trial. *Muscle Nerve* 2007;35:66-69.

⁹³ Hahne, M., Kataoka, T., Schröter, M., Hofmann, K., Irmeler, M., Bodmer, J.L., Tschopp, J., APRIL, a new ligand of the tumor necrosis factor family, stimulates tumor cell growth. *J Exp Med* 1998;188:1185-1190.

⁹⁴ Wang, G., Wang, F., Ding, W., Wang, J., Jing, R., Li, H., Wang, H., APRIL induces tumorigenesis and metastasis of colorectal cancer cells via activation of the PI3K/Akt pathway. *PloS one* 2013;8:1-14.

⁹⁵ Marsters, S.A., Yan, M., Pitti, R.M., Haas, P.E., Dixit, V.M., Ashkenazi, A., Interaction of the TNF homologues BLyS and APRIL with the TNF receptor homologues BCMA and TACI. *Curr Biol* 2000;10:785-788.

⁹⁶ Franciotta, D., Di Stefano, A.L., Jarius, S., Zardini, E., Tavazzi, E., Ballerini, C., Ceroni, M., Cerebrospinal BAFF and Epstein–Barr virus-specific oligoclonal bands in multiple sclerosis and other inflammatory demyelinating neurological diseases. *J Neuroimmunol* 2011;230:160-163.

⁹⁷ Pranzatelli, M.R., Tate, E.D., McGee, N.R., Travelstead, A.L., Colliver, J.A., Ness, J.M., Ransohoff, R.M., BAFF/APRIL system in pediatric OMS: relation to severity, neuroinflammation, and immunotherapy. *J Neuroinflammation* 2013;10:1-9.

Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere an Eides statt, dass die Dissertation selbständig und ohne unzulässige fremde Hilfe erstellt und die hier vorgelegte Dissertation nicht von einer anderen Medizinischen Fakultät abgelehnt worden ist.

Düsseldorf, den 09.11.2016

Dominik Förster