

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

**Konfokale korneale Mikroskopie  
bei Patienten mit immunvermittelten  
Neuropathien**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin  
der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität  
Düsseldorf

vorgelegt von  
Lena Hinrichs  
(2018)

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

gez.:

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Erstgutachter: Prof. Dr. med. Bernd C. Kieseier

Zweitgutachter: Univ.-Prof. Dr. med. Dr. Stefan Schrader

Für meine Eltern, Lisa und Niklas

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht in: Stettner M, Hinrichs L, Guthoff R, Bairov S, Petropoulos IN, Warnke C, Hartung HP, Malik R, Kieseier BC (2015), Corneal confocal microscopy in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *Annals of Clinical and Translational Neurology*, (21(3)) 88-100

## Zusammenfassung

Immunvermittelte Neuropathien wie die chronisch inflammatorische demyelinisierende Polyneuropathie (CIDP) und die multifokale motorische Neuropathie (MMN) stellen eine diagnostische und therapeutische Herausforderung im klinischen Alltag dar. Es besteht der Bedarf an klinischen Markern, die eine Klassifikation der CIDP in Subgruppen zulassen und zudem ein Monitoring des klinischen Verlaufs und der Prognose erleichtern.

Diese Arbeit analysiert die Beteiligung der kleinen Nervenfasern sowie die Zellinfiltration der Kornea bei Patienten mit Immunneuropathien unter Verwendung der konfokalen kornealen Mikroskopie (KKM). Das jüngst etablierte Verfahren der KKM analysiert nicht-invasiv und reproduzierbar die kleinen Nervenfasern unter der Bowman-Membran am Auge, sowie die Infiltration durch korneale Zellen in dieser Ebene.

Insgesamt wurden 95 Neuropathie-Patienten sowie 86 gesunde Kontrollen in einer prospektiven Querschnittsstudie untersucht. Ziel war es, die diagnostisch ermittelten morphometrischen Ergebnisse der KKM mit klinischen Daten und Ergebnissen der Diagnostik zu korrelieren.

Es konnte sowohl bei Patienten mit CIDP als auch bei Patienten mit MGUS-assoziiertes Neuropathie (MGUSN) und MMN eine signifikante Reduktion der kornealen Nervenfasernparameter im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe nachgewiesen werden. Die CIDP-Patienten zeigten eine Verringerung der kornealen Nervenfasern und einen Anstieg der kornealen Zellinfiltrate. Zudem konnte eine Verringerung der kornealen Nervenfasern im Verlauf der Erkrankung nachgewiesen werden. Nervennahe dendritische Zellen waren bei Patienten in früheren Krankheitsstadien erhöht und zeigten zudem eine Korrelation zur klinischen Schwere der motorischen Beteiligung. Bei Patienten mit schmerzhafter Neuropathie war eine Reduktion der kornealen Nervenfasern begleitet von einem Anstieg der nichtdendritischen Zellen festzustellen. Darüber hinaus konnte eine Erhöhung nichtdendritischer Zellen bei Patienten mit antineuronalen Antikörpern dokumentiert werden.

Zusammenfassend konnte in der Arbeit das Potential der KKM als Surrogatmarker bezüglich klinischer und paraklinischer Aspekte der CIDP gezeigt werden. Die Reduktion der Hornhautnervenfasernparameter könnte als Indikator für den Nervenzelluntergang dienen, während differentielle Zellinfiltrate in der Nervenfaserschicht dabei helfen können Subgruppen der CIDP zu klassifizieren und den klinischen Verlauf und die Krankheitsaktivität zu stratifizieren.

## Abstract

Immune-mediated neuropathies of the peripheral nervous system, such as chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy (CIDP) and multifocal motor neuropathy (MMN), represent major diagnostic and therapeutic challenges in daily clinical practice. There is an unmet need for clinical markers to allow uniform diagnostics, to perform a classification of CIDP into subgroups and to facilitate monitoring of the clinical course and its prognosis.

Corneal confocal microscopy (CCM) is a reproducible and non-invasive imaging technique. CCM analyzes small fibers underneath the Bowman layer and the corneal cell infiltration in this area. The present study evaluated the benefits of CCM as a diagnostic surrogate in patients with CIDP, monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUSN) and MMN by visualizing axonal damage as well as signs of ongoing inflammatory activity. In a cross-sectional prospective approach, 95 patients with CIDP and MMN and 86 healthy controls were evaluated using CCM.

Patients with CIDP, MGUSN and MMN presented with a reduction of corneal nerve fiber measures and an increase in corneal immune cell infiltrates. In CIDP, the corneal nerve fiber parameters decreased with longer disease duration. The number of dendritic cells in proximity to the corneal nerves was increased in patients in an early disease stage. In addition, the number of dendritic cells in proximity to corneal nerve fibers correlated with the degree of motor involvement. An increase in nondendritic cells and a reduction in corneal nerve parameters were observed in CIDP patients with painful neuropathy. In patients presenting with anti-neuronal antibodies, the number of nondendritic cells was increased.

Our findings suggest a considerable potential of CCM as a surrogate marker for inflammation in CIDP. Corneal nerve fiber loss may reflect the severity of neuropathy. The quantification of distinct cells around the corneal nerve fiber plexus may help to differentiate CIDP subtypes, disease activity and the clinical course.

## Abkürzungsverzeichnis

<b>AAN</b>	American-Academy of Neurology
<b>Abb.</b>	Abbildung
<b>ACE</b>	Angiotensinkonversionsenzym
<b>AIDP</b>	Akute inflammatorische demyelinisierende Polyneuropathie
<b>ANA</b>	Antinukleäre Antikörper
<b>Anti-dsDNA-</b>	Antikörper gegen doppelsträngige DANN
<b>Antikörper</b>	
<b>Anti-GM1-</b>	Antikörper gegen Gangliosid GM1
<b>Antikörper</b>	
<b>BEP</b>	Subbasaler epithelialer Plexus
<b>BZ</b>	Blutzucker
<b>cANCA</b>	Anti-Neutrophile cytoplasmatische Antikörper mit cytoplasmatischer Anfärbung
<b>CASPR2</b>	Contactin assoziierte Protein 2
<b>CIDP</b>	Chronisch inflammatorische demyelinisierende Polyneuropathie
<b>cm</b>	Zentimeter
<b>CNBD</b>	Korneale Nervenfaserverzweigungsdichte
<b>CNFD</b>	Korneale Nervenfaserdichte
<b>CNFL</b>	Korneale Nervenfaserlänge
<b>DCF</b>	Dendritische Zelle mit Nervenfaserkontakt
<b>DCP</b>	Dendritische Zelle ohne Nervenfaserkontakt
<b>DML</b>	Distale motorische Latenzen
<b>EMG</b>	Elektromyographie
<b>ENG</b>	Elektroneurographie
<b>F</b>	Summe der nervennahen Infiltrate
<b>fps</b>	frames per second
<b>g/l</b>	Gramm/Liter
<b>GBS</b>	Guillain-Barré-Syndrom
<b>HRT III</b>	Heidelberg Retina Tomograph III
<b>HRV</b>	Herzratenvariabilität
<b>IENFD</b>	Intraepidermale Nervenfaserdichte
<b>IgA</b>	Immunglobulin A
<b>IgG</b>	Immunglobulin G
<b>IgM</b>	Immunglobulin M
<b>IL 2R</b>	Interleukin-2 Rezeptor

<b>INCAT</b>	Inflammatory Neuropathy Cause and Treatment
<b>IVIg</b>	Intravenöse Immunglobuline
<b>J</b>	Jahre
<b>kg</b>	Kilogramm
<b>KKM</b>	konfokale korneale Mikroskopie
<b>KNF</b>	Korneale Nervenfaserverparameter
<b>mA</b>	Milliampere
<b>MAG</b>	Myelin-assoziiertes Glykoprotein
<b>MAP</b>	Muskelaktionspotential
<b>MBP</b>	Myelin Basic Protein
<b>mg/dl</b>	Milligramm/Deziliter
<b>mg/kg</b>	Milligramm/Kilogramm
<b>MGUS</b>	Monoklonale Gammopathie unklarer Signifikanz
<b>MGUSN</b>	MGUS-assoziierte Neuropathie
<b>mm</b>	Millimeter
<b>MMN</b>	Multifokale motorische Neuropathie
<b>MRT</b>	Magnetresonanztomographie
<b>ms</b>	Millisekunden
<b>NC</b>	Gesamtanzahl nichtdendritischer Zellen
<b>NCF</b>	Nichtdendritische Zellen mit Nervenfaserkontakt
<b>NCP</b>	Nichtdendritische Zellen ohne Nervenfaserkontakt
<b>NLG</b>	Nervenleitgeschwindigkeit
<b>OGTT</b>	Oraler Glukosetoleranztest
<b>pANCA</b>	Anti-Neutrophile cytoplasmatische Antikörper mit perinukläarer Anfärbung
<b>PE</b>	Plasmapherese
<b>QST</b>	Quantitative sensorische Testung
<b>SEP</b>	Subepithelialer Nervenplexus
<b>SFN</b>	<i>small fiber</i> -Neuropathie
<b>SNAP</b>	Sensorisches Nervenaktionspotential
<b>SSR</b>	Sympathische sudomotorische Reizantwort
<b>RCM</b>	Rostock Cornea Module
<b>TC</b>	Gesamtanzahl aller Zellen
<b>TSH</b>	Thyreotropin
<b>VDRL</b>	Venereal Disease Research Laboratory
<b>µl</b>	mikroliter



# Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
1.1	Chronisch inflammatorische demyelinisierende Polyneuropathie.....	1
1.2	Monoklonale Gammopathie unklarer Signifikanz (MGUS) .....	10
1.3	Multifokale motorische Neuropathie (MMN).....	11
1.4	Konfokale korneale Mikroskopie .....	12
1.5	Ziele der Arbeit .....	15
2	Material und Methoden .....	16
2.1	Patientenkollektiv.....	16
2.2	Konfokale korneale Mikroskopie .....	18
2.3	Laborchemische Untersuchungen .....	27
2.4	Elektrophysiologische Diagnostik.....	27
2.5	Klinische Beurteilung .....	29
2.6	Korneale Sensibilitätstestung.....	32
2.7	Erstellung der Datenbank .....	32
2.8	Statistische Auswertungsmethoden .....	32
2.9	Vernetzung und Zusammenarbeit.....	33
3	Ergebnisse .....	34
3.1	Patientenkollektiv.....	34
3.2	Auswahl der Kontrollgruppe.....	38
3.3	KKM bei immunvermittelten Neuropathien.....	39
3.4	KKM und Dauer der Erkrankung .....	41
3.5	KKM und klinische Präsentation der Patienten .....	43
3.6	KKM und INCAT-Score.....	46
3.7	KKM und schmerzhafte Neuropathie .....	48
3.8	KKM und laborchemische Diagnostik .....	50
3.9	KKM und elektrophysiologische Ergebnisse .....	53
3.10	KKM und autonome Dysfunktion .....	54
3.11	KKM und weitere Parameter entzündlicher Aktivität.....	54
3.12	KKM und Confounder.....	57
4	Diskussion .....	58
4.1	Konfokale in vivo-Mikroskopie in der Literatur.....	58
4.2	Reduktion der kornealen Nervenfasern und erhöhte Anzahl von Nervenzellinfiltraten bei Immunneuropathien .....	58

4.3	Verlust kornealer Nervenfasern bei zunehmender Erkrankungsdauer .....	60
4.4	Verminderte Nervenfaserverparameter bei Patienten mit niedrigem INCAT-Score .....	60
4.5	Reduktion der kornealen Nervenfaserverparameter bei Patienten mit schmerzhafter Neuropathie.....	61
4.6	Verminderte CNBD bei Patienten mit kombiniert axonal-demyelinisierendem Schaden .....	61
4.7	Korneale Sensibilitätstestung.....	62
4.8	Zellinfiltration der Kornea bei verschiedenen Subgruppen der CIDP.....	62
4.9	Schlussfolgerungen .....	67
5	Literatur- und Quellenverzeichnis .....	68
6	Anhang.....	86
6.1	Abbildungsverzeichnis .....	86
6.2	Tabellenverzeichnis .....	87

# **1 Einleitung**

## **1.1 Chronisch inflammatorische demyelinisierende Polyneuropathie**

### **1.1.1 Epidemiologie**

Bei der chronisch inflammatorischen demyelinisierenden Polyneuropathie (CIDP) handelt es sich um eine erworbene demyelinisierende Erkrankung des peripheren Nervensystems. Die Prävalenz ist regional unterschiedlich und abhängig von den verwendeten Diagnosekriterien. Sie variiert zwischen 1-7,7/100 000 [1-7], wobei Männer in einem Verhältnis von 2:1 häufiger betroffen sind als Frauen [2, 8-10]. Die CIDP ist keiner bestimmten Altersgruppe zuzuordnen, es liegt jedoch eine Häufung in der 5. und 6. Dekade vor [11].

### **1.1.2 Pathogenese der CIDP**

Bis heute ist die Ursache der CIDP weitgehend ungeklärt. Als immunvermittelte Neuropathie spricht die CIDP gut auf immunmodulatorische Therapien an und ist dem Gullian-Barré-Syndrom (GBS) klinisch ähnlich [12].

Aktuelle pathophysiologische Konzepte gehen von einer aberranten Immunantwort auf zellulärer und humoraler Ebene aus, die autoreaktive T-Zellen, Makrophagen, Antikörper, Komplement und Zytokine beinhaltet und sich gegen Antigene des peripheren Nervens richtet [13]. Man geht davon aus, dass durch entzündliche Infiltrate sowie das Einwandern von Makrophagen und T-Zellen eine Schädigung der Myelinscheide peripherer Nerven ausgelöst wird [14-16]. Autoreaktive T-Lymphozyten werden durch antigenpräsentierende Zellen im systemischen Immunkompartiment aktiviert. Diese aktivierten Lymphozyten können sich zu proinflammatorischen T-Zellen vom Typ 1 (TH1) und Typ 17 (TH17) sowie zu antiinflammatorischen T-Helferzellen vom Typ 2 (TH2) differenzieren, die Blut-Nerven-Schranke passieren und in das periphere Nervensystem eindringen. Hier findet eine klonale Expansion der Lymphozyten statt. Proinflammatorische T-Zellen aktivieren ihrerseits Makrophagen, die durch Phagozytose, Produktion von Zytokinen, Freisetzung von toxischen Mediatoren und

proinflammatorischen Zytokinen zur Demyelinisierung und axonalen Schädigung des Nervens führen [16].

Im Verlauf der Erkrankung kommt es zu Phasen der De- und Remyelinisierung motorischer und sensibler Nervenfasern. Bislang ist weitgehend ungeklärt, wodurch die Aktivierung der T-Zellen und die darauf folgende Autoimmunität gegen das periphere Nervensystem ausgelöst wird. Während beim GBS eine vorangegangene Infektion sowie anti-GM1-Antikörper als kausale Ursache nachgewiesen werden konnten [17], konnte der Trigger für das Auslösen einer CIDP bislang nicht identifiziert werden. Ein möglicher Trigger scheint jedoch ebenfalls das molekulare Mimikry nach vorangegangener Infektion zu sein [12]. Eine Sonderform stellen die entzündlichen Neuropathien bei Paraproteinämie dar. Hier scheinen die Antikörper, zum Beispiel gegen das Myelin-assoziierte Glykoprotein (MAG), eine entscheidende Rolle in der Pathophysiologie zu spielen [18].

### **1.1.3 Klinische Präsentation**

Die CIDP wurde erstmals 1975 von Dyck et al. beschrieben und ist klinisch charakterisiert durch eine proximale und distale Muskelschwäche, Sensibilitätsverluste sowie Hypo- oder Areflexie [19-21]. Die Krankheit manifestiert sich initial meist durch symmetrische sensorische und motorische Symptome, die überwiegend distal beginnen. Bei einigen Patienten liegt eine rein sensorische Beteiligung vor, die jedoch auch im Verlauf in eine motorische Beteiligung übergehen kann [10, 22-24]. Bei Untergruppen der CIDP findet man teilweise auch eine asymmetrische Beteiligung [25]. Insbesondere im Rahmen der Erstmanifestation können Extremitäten- und Rückenschmerzen auftreten [26]. Gelegentlich kommt es auch zu einer Beteiligung der Hirnnerven [27]. Eine Affektion des autonomen Nervensystems ist eher selten [28].

Die Entwicklung der klinischen Symptomatik der CIDP erstreckt sich über mindestens zwei Monate, wodurch eine Abgrenzung von der akuten inflammatorischen demyelinisierenden Neuropathie (AIDP, Guillain-Barré-Syndrom (GBS)) möglich ist [29]. Bei dem GBS kommt es innerhalb von vier Wochen zu einer aufsteigenden Lähmung bis zum Erreichen des Krankheitshöhepunktes, der Verlauf ist monophasisch [30].

Der klinische Verlauf der CIDP und das Ansprechen auf die Therapie ist sehr variabel [31]. Rezidivierende sowie langsam oder schrittweise progrediente Verlaufsformen wurden beobachtet, wobei den rezidivierenden Verlaufsformen oft ein progredienter

Verlauf vorangeht [19, 32]. Bislang gibt es keinen zuverlässigen Surrogatparameter zur Einschätzung des Krankheitsverlaufs.

Die CIDP ist statistisch assoziiert mit verschiedenen Krankheiten, so wird zum Beispiel ein Zusammenhang zwischen CIDP und Diabetes mellitus diskutiert [33-36].

#### 1.1.4 Diagnostik der CIDP

Die CIDP stellt bislang sowohl eine diagnostische als auch eine therapeutische Herausforderung im klinischen Alltag dar [13, 37, 38]. Atypische Verläufe sind schwierig zu diagnostizieren und eine signifikante Anzahl an Patienten mit CIDP wird nicht erkannt [39]. In Tabelle 1 sind die differentialdiagnostischen Maßnahmen zur Abklärung der CIDP dargestellt.

<b>Zum positiven Nachweis der CIDP:</b>	
<b>ENG</b>	Nachweis der typischen elektrophysiologischen Veränderungen
<b>Liquorpunktion</b>	Typischerweise zytalbuminäre Dissoziation: erhöhtes Protein mit normaler Zellzahl
<b>MRT</b>	Optional, Nachweis von Schwellungen an spinalen Wurzeln und Plexus, zum Teil mit Schrankenstörung [40-43]
<b>Nervenbiopsie</b>	In Einzelfällen erforderlich [44]
<b>Differentialdiagnostik:</b>	
<b>Immundefizienz</b>	Nachweis einer Paraproteinämie
<b>Nüchtern-BZ, OGTT</b>	Ausschluss eines Diabetes Mellitus
<b>Vitamin B12</b>	Bei Verdacht auf funikuläre Myelose
<b>TSH</b>	Ausschluss einer Schilddrüsenerkrankung
<b>ANA</b>	Ausschluss von Kollagenosen/Vaskulitiden
<b>Anti-dsDNA-Antikörper</b>	Ausschluss eines SLE
<b>pANCA und cANCA</b>	Ausschluss von Vaskulitiden
<b>ACE, IL 2R</b>	Ausschluss einer Sarkoidose
<b>Borellienserologie</b>	Zusammen mit Liquor zum Ausschluss einer Neuroborreliose
<b>Röntgen-Thorax</b>	Bei Verdacht auf Sarkoidose
<b>Untersuchung von Angehörigen</b>	Bei Verdacht auf hereditäre Neuropathie
<b>genetische Testung</b>	Bei Verdacht auf hereditäre Neuropathie
<b>Überlangkettige Fettsäuren</b>	Bei Verdacht auf Adrenomyeloneuropathie

**Tabelle 1: Differentialdiagnostische Abklärung bei Verdacht auf CIDP**

Modifiziert nach Stangel et al. (2009) [37].

Die Diagnostik der CIDP basiert bislang auf klinischen neurologischen Untersuchungen und Ergebnissen der Nervenleitgeschwindigkeit (NLG) sowie der Elektromyographie (EMG). In der Elektroneurographie zeigt sich eine multifokale Demyelinisierung mit oder ohne zusätzlicher axonaler Degeneration. Es können eine verringerte Nervenleitungsgeschwindigkeit als Hinweis auf eine Demyelinisierung des Nervens, Verlängerung der distalen motorischen Latenzen (DML), Verzögerungen der F-Wellen-Latenzen und partielle Leitungsblöcke nachgewiesen werden [37]. Krankheitsverlauf und Regression unter Therapie werden durch die gleiche konventionelle elektrophysiologische Diagnostik beurteilt. Eine Regeneration der Nervenfasern sowie eine frühe Beteiligung der kleinen Nervenfasern kann mittels der ENG jedoch nur eingeschränkt erfasst werden.

Ergänzend können eine Liquorpunktion, Suralisbiopsie sowie Magnetresonanztomographie und Antikörper aus dem peripherem Blut die Diagnose unterstützen.

In der Liquorpunktion findet sich typischerweise eine zytalbuminäre Dissoziation mit normaler Zellzahl (oder  $<10/\mu l$ ) und erhöhtem Eiweiß ( $>45 \text{ mg/dl}$ ) [45]. Diese Untersuchung ist jedoch inzwischen für die Diagnosesicherung nicht mehr obligat.

Des Weiteren kann eine Nervenbiopsie die Diagnose der CIDP unterstützen. In der Nervenbiopsie können makrophagenassoziierte Demyelinisierung, Zwiebelschalenformationen und endoneurale Ödeme nachgewiesen werden. Jedoch schließt ein negatives Ergebnis in der Suralisbiopsie die Diagnose der CIDP nicht aus und ein positives Ergebnis ist zudem nicht immer spezifisch [29, 39].

Die Magnetresonanztomographie (MRT) der Spinalwurzeln sowie des Plexus lumbalis und brachialis zeigt bei der Mehrheit der Patienten eine Gadolinium-Anreicherung und kann somit zur Sicherung der Diagnose beitragen [43, 46]. Allerdings korrelieren die Ergebnisse der MRT nicht gut mit der Krankheitsaktivität [37].

Eine einheitliche Vorgehensweise bei der Diagnostik der CIDP ist bis heute nicht konkret definiert, was durch die Existenz von mindestens zwölf verschiedenen Sets an diagnostischen Kriterien verdeutlicht wird [4, 19, 20, 31, 45, 47-55]. Drei der am häufigsten verwendeten Kriterienkataloge sind in der folgenden Tabelle 2 dargestellt:

	<b>INCAT-Kriterien [56]</b>	<b>AAN-Kriterien [47]</b>	<b>Kriterien nach Saperstein [45]</b>
<b>Klinisches Bild</b>	Progredient oder schubförmige motorische und sensorische Dysfunktion an $\geq 1$ Extremität	Motorische Dysfunktion, sensorische Dysfunktion von $>1$ Extremität oder beides	Hauptkriterium: symmetrische proximale oder distale Paresen; Nebenkriterium: ausschließlich distale Paresen oder Sensibilitätsstörungen
<b>Zeitverlauf</b>	$\geq 2$ Monate	$\geq 2$ Monate	$\geq 2$ Monate
<b>Reflexstatus</b>	vermindert oder fehlend	vermindert oder fehlend	vermindert oder fehlend
<b>Elektro-physiologie</b>	Partieller Leitungsblock $\geq 2$ motorischen Nerven und gestörte NLG oder DML oder verzögerte F-Wellen in anderem Nerv; oder, falls kein partieller Leitungsblock vorliegt, reduzierte NLG, DML oder F-Wellen-Latenz in 3 motorischen Nerven; oder elektro-physiologische Veränderungen, die auf eine Demyelinisierung in 2 Nerven hindeuten und histologische Evidenz für Demyelinisierung	3 von 4 Kriterien: Partieller Leitungsblock an $\geq 1$ motorischen Nerven, verminderte NLG an $\geq 2$ motorischen Nerven, verlängerte DML an $\geq 2$ Nerven oder verlängerte F-Wellen-Latenzen an $\geq 2$ motorischen Nerven oder F-Wellen-Verlust	2 der 4 AAN-Kriterien
<b>Liquor</b>	Untersuchung empfohlen, nicht verpflichtend	Zellzahl $<10/\text{mm}^3$ , negativer VDRL Test, erhöhtes Eiweiß	Zellzahl $<10/\text{mm}^3$ , erhöhtes Eiweiß $>0,45 \text{ g/l}$
<b>Nerven-biopsie</b>	Nicht zwingend erforderlich (Ausnahme sind Fälle mit elektro-physiologischen Veränderungen in nur 2 motorischen Nerven)	Hinweis auf De/Remyelinisierung	Nicht zwingend erforderlich, vorwiegend Zeichen der Demyelinisierung; Entzündung

**Tabelle 2: Diagnosekriterien der CIDP**  
Stangel et al. (2009) [37]

Die CIDP ist von anderen Immunneuropathien abzugrenzen. Eine Übersicht der differentialdiagnostisch abzugrenzenden Immunneuropathien ist in der folgenden Tabelle 3 dargestellt.

<b>CIDP (Chronisch inflammatorische demyelinisierende Polyneuropathie)</b>	Meist symmetrisch, es gibt rein motorische Formen, die häufiger Leitungsblöcke zeigen, auch rein sensible Unterformen kommen vor
<b>DADS (Distal aquired demyelinating symmetric neuropathy)</b>	Klinisch ähnlich der CIDP, jedoch keine proximale Schwäche
<b>MMN (Multifokale motorische Neuropathie)</b>	Rein motorisch, typischerweise Leitungsblöcke und erhöhte anti-GM1 IgM im Serum
<b>MADSAM (Multifocal aquired demyelination sensory and motor neuropathy)</b>	Synonym: Lewis-Sumner Syndrom, klinische Präsentation ähnlich wie MMN, jedoch können auch sensible Nerven betroffen sein
<b>Anti-MAG-Polyneuropathie</b>	Monoklonale IgM-Gammopathie und Antikörper gegen MAG im Serum
<b>Paraproteinämische Polyneuropathie</b>	Paraprotein in der Immunfixation
<b>Vaskulitische Polyneuropathie</b>	Im Rahmen von Vaskulitiden, selten auch isolierte Vaskulitis des peripheren Nerven

**Tabelle 3: Unterteilung der Immunneuropathien**  
Stangel et al. (2009) [37]

Zudem beinhaltet die CIDP verschiedene Subtypen mit unterschiedlichem klinischen Verlauf und Ansprechen auf die Therapie [31]. Der Mangel an objektivierbaren praktikablen Untersuchungen zur Differenzierung solcher Subtypen macht es unmöglich das Ansprechen auf Therapien vorherzusagen [57]. Vor allem für das Ansprechen auf die Therapie mit intravenösen Immunglobulinen, eine Therapie, die mit großen Vorteilen, aber auch mit hohen Kosten und gegebenenfalls mit Nebenwirkungen verbunden ist, gibt es bislang keinen zuverlässigen Prädiktor [57].

Es fehlen reproduzierbare, einfach wiederholbare, verlässliche *in vivo* Methoden, welche den Nervenfasernstatus und die inflammatorische Aktivität im peripheren Nerven erfassen. Aus diesem Grund besteht ein Bedarf an noninvasiven klinischen Markern, die die zugrunde liegende Pathologie der Erkrankung besser definieren, um zum einen eine Etablierung einer einheitlichen Diagnostik und Klassifikation der CIDP in Untergruppen



zu ermöglichen und zum anderen ein Monitoring des klinischen Verlaufs und eine Prognose des Ansprechens auf die Therapie zu erleichtern [58, 59].

Bei der CIDP sind hauptsächlich die großen Nervenfaserbündel betroffen und die oben genannte konventionelle Diagnostik analysiert deren Beteiligung. Es besteht jedoch eine Evidenz, dass bei der CIDP zusätzlich eine Beteiligung der kleinen sensorischen Nervenfasern vorliegt [60]. Die dünnen A $\delta$  und C-Nervenfasern sind vor allem für die Weiterleitung von Temperatur- und Schmerzreizen zuständig und werden auch als „*small fibers*“ bezeichnet. Neben der isolierten *small-fiber*-Neuropathie (SFN) kann die Schädigung der kleinkalibrigen Nervenfasern auch eine Frühmanifestation gemischter Neuropathien darstellen [61].

Zu den etablierten Methoden zur Analyse der *small-fiber*-Beteiligung zählt die Hautbiopsie, die Quantitative sensorische Testung (QST) sowie die vegetative Diagnostik (Herzratenvariabilität (HRV) und sympathische Hautantwort (SSR)). Bei der CIDP besteht eine Reduktion der kutanen Innervationsdichte sowie abnormale Ergebnisse in der Temperaturschwellenmessung [62-64].

Bei der QST werden durch Reizung der Haut mit verschiedenen Sinnesqualitäten, wie zum Beispiel durch Temperaturveränderungen, die Funktionalität der kleinen sensorischen Nervenfasern überprüft [65]. Der Nachteil der QST ist jedoch eine geringe Sensitivität [66-70]. Auch die vegetative Diagnostik zeichnet sich durch eine schwache Sensitivität aus [66, 69, 71-74].

Die Stanzbiopsie der Haut stellt zur Zeit den Goldstandard zur Erfassung und Differenzierung feiner terminaler A $\delta$  und C Nervenfasern der Haut dar [65]. Die Gewebeentnahme erfolgt unter Lokalanästhesie mittels einer 3 mm-Stanze an definierten Stellen [75]. Die Hautbiopsie ermöglicht eine sensitivere Diagnostik zur Beteiligung der kleinen Nervenfasern als die QST [76]. Aufgrund der Invasivität der Hautbiopsie ist dieses Verfahren jedoch in seiner Wiederholbarkeit begrenzt und eignet sich nicht für Verlaufskontrollen [76].

### **1.1.5 Therapie der CIDP**

In der Therapie der CIDP kommen Plasmapheresen (PE), intravenöse Immunglobuline (IVIg), Kortikosteroide und immunsuppressive Medikamente zur Anwendung [12, 77]. Über einen Behandlungszeitraum von sechs Wochen werden hochdosierte IVIg, Steroide und die Anwendung einer Plasmapherese als gleichwertig angesehen. Über

die Hälfte der Patienten spricht auf die zuerst eingesetzte Therapie an (78% unter IVIg, 64% unter Steroiden und 56% unter PE). Nach einem Therapieversagen sprechen 50% auf eine Alternativtherapie an [78]. Die Wahl der Therapie hängt vom Verlauf der Erkrankung und den Vorerkrankungen des Patienten ab. Während die Kosten für Steroide wesentlich niedriger sind, zeichnen sich IVIg durch verminderte langfristige Nebenwirkungen aus [37].

Aufgrund der Heterogenität der Krankheitsverläufe bei CIDP ist es bei Diagnosestellung kaum möglich eine Prognose über den weiteren Verlauf und das Therapieansprechen zu machen.

### **Intravenöse Immunglobuline**

Es besteht eine Klasse I Evidenz für den Einsatz von IVIg als Standardtherapie bei der CIDP [57]. Die Wirksamkeit von IVIg bei der CIDP wurde bereits durch mehrere kontrollierte Studien belegt [56, 79-84]. In der ICE-Studie (IVIg-C CIDP Efficacy-Studie) zeigten 54% der Patienten nach Gabe von IVIg eine klinische Besserung, auch eine Verbesserung von elektrophysiologischen Parametern und ein Anstieg der Lebensqualität konnte festgestellt werden [56, 85, 86]. Nach Eintreten einer klinisch objektivierbaren Besserung sollte eine Reduktion der Frequenz oder der Dosis der IVIg-Therapie in Betracht gezogen werden [87]. Aktuelle Studien wägen den Nutzen einer subkutanen Applikation der Immunglobulinen ab [88, 89].

### **Steroide**

Bereits 1982 konnte die Effektivität von Steroiden nachgewiesen werden und seit 30 Jahren nehmen Steroide in der Therapie der CIDP eine relevante Rolle ein [90]. In der Regel werden 1-1,5 mg/kg Körpergewicht Methylprednisolon verwendet, wobei die Dosis nach vier Wochen bei entsprechendem klinischen Erfolg reduziert werden sollte [37]. Die Cushing-Schwelle sollte dabei möglichst nicht überschritten werden. Die Langzeittherapie mit Steroiden ist jedoch mit vielen Nebenwirkungen verbunden. In neueren Studien zeigte sich die Steroid-Pulstherapie z.B. mit Dexamethason als eine wirksame Alternative mit besserer Verträglichkeit [91-93].

### **Plasmapherese**

Die Plasmapherese (PE) findet ihren Einsatz vor allem bei akuten und schweren Verläufen der CIDP [94, 95]. Es werden in der Regel analog zum GBS vier bis fünf Zyklen

PE durchgeführt [96]. Aufgrund der Notwendigkeit eines venösen Zugangs und eines hohen Nebenwirkungsprofils der PE diskutieren sie viele Autoren nur als Alternative bei Therapieversagen der IVIg- und Steroidtherapie [37, 94].

### **Alternative Therapieverfahren**

Nicht alle Patienten mit CIDP sprechen auf die Behandlung mit intravenösen Immunglobulinen, Steroiden und Plasmapherese an. Hier wird eine Kombination der Therapieverfahren und/oder eine zusätzliche immunsuppressive Therapie empfohlen [29]. Kontrollierte Studien, die den Einsatz von Immunsuppressiva oder -modulatoren bei der CIDP unterstützen, liegen jedoch bislang nicht vor, sodass die Wirksamkeit bei Patienten individuell geprüft werden muss [97, 98]. Eine Behandlung mit Azathioprin parallel zur Steroidtherapie zeigte in Studien keinen zusätzlichen Effekt [99]. Allerdings könnte es daran liegen, dass die Dosierung der Azathioprin-Therapie zu niedrig oder der Behandlungszeitraum zu kurz gewählt worden war [37]. Bei der Therapie mit Cyclophosphamid konnte in einer retrospektiven Studie bei einigen Patienten eine komplette Remission erreicht werden [100-102]. Einige Fallstudien berichten von positiven Effekten bei der Behandlung mit Ciclosporin [103, 104]. Auch die Behandlung mit Mycophenolat-Mofetil parallel zur IVIg/Steroid-Therapie zeigte in Fallstudien positive Effekte [105, 106]. Unter Rituximab zeigten einige Patienten, die auf die konventionelle Therapie nicht ansprachen, eine klinische Verbesserung [107]. Eine Verminderung der Krankheitsaktivität unter der Therapie mit Alemtuzumab konnte in einer kleinen Patientengruppe beobachtet werden [108]. Eine Therapie mit Methotrexat sowie mit Interferon-Beta zeigte in Studien bislang keinen signifikanten Therapieerfolg [109-111]. Eine allogene Stammzelltransplantation kann bei ansonsten therapierefraktären Patienten zu einer Remission führen, allerdings fehlen hier Studien mit hohem Evidenzgrad [112-115].

## 1.2 Monoklonale Gammopathie unklarer Signifikanz (MGUS)

Bei der differentialdiagnostischen Abklärung von Patienten mit Verdacht auf CIDP wird gelegentlich eine monoklonale Gammopathie identifiziert. Die monoklonalen Gammopathien sind gekennzeichnet durch eine Erhöhung der Immunglobuline im Serum, die durch eine einzige klonale Plasmazelle produziert werden [116]. Die monoklonalen Immunglobuline sind als so genanntes „Paraprotein“ oder M-Protein nachweisbar. Bei den meisten Patienten liegt eine Monoklonale Gammopathie unklarer Signifikanz vor (MGUS), auch eine systemische Erkrankungen wie ein Multiples Myelom, Amyloidosen, Lymphome und Morbus Waldenström können Ursache hierfür sein [117-119]. Im Labor findet sich bei den Patienten mit MGUS eine geringe monoklonale Proteinkonzentration (<30 g/l). Die Diagnosekriterien der MGUS sind in Tabelle 4 dargestellt.

### Diagnosekriterien der MGUS

- 1) M-Protein <30 g/l
- 2) <10% klonale Plasmazellen im Knochenmark
- 3) Fehlen von Symptomen, die mit einer malignen Erkrankung der Plasmazellen assoziiert sind (CRAB Kriterien: Anämie, Hyperkalzämie, Niereninsuffizienz, Osteolysen), außer wenn diese Symptome durch eine andere Ursache erklärt werden können

#### **Tabelle 4: Kriterien der Monoklonalen Gammopathie unklarer Signifikanz**

Modifiziert nach International Myeloma Working Group (2003) [120].

Eine MGUS findet sich bei 1-3% aller Personen im Alter über 50 Jahren [121]. Die Inzidenz der MGUS steigt mit zunehmendem Alter, wobei Männer etwas häufiger betroffen sind als Frauen.

Es ist beschrieben, dass bei 22-30% der Patienten mit gesicherter CIDP eine MGUS vorliegt [26, 122, 123]. Es gibt uneinheitliche Studien zur Fragestellung, inwieweit sich MGUS-assoziierte Neuropathien durch die klinische Präsentation, elektrophysiologische Befunde und Therapieansprechen von der CIDP unterscheiden [26, 122-124]. Patienten mit Neuropathie bei monoklonaler Gammopathie unklarer Signifikanz (MGUSN) zeigen höchstwahrscheinlich einen überwiegend langsam progressiven, distalen, vorwiegend sensorischen Phänotyp [125, 126].

### 1.3 Multifokale motorische Neuropathie (MMN)

Die multifokale motorische Neuropathie (MMN) ist eine chronische, immunvermittelte Neuropathie. Die Prävalenz der MMN liegt schätzungsweise bei 1-2/100000 [127]. Männer sind häufiger betroffen als Frauen und haben durchschnittlich einen früheren Erkrankungsbeginn [128]. Die Erkrankung tritt meist zwischen dem 30-50. Lebensjahr auf [129].

Die Erkrankung ist charakterisiert durch eine asymmetrische, langsam progrediente Muskelschwäche ohne Sensibilitätsstörungen. Zu Beginn ist oft die distale Arm- und Handmuskulatur betroffen [130-132].

Ein für die MMN typisches elektrophysiologisches Merkmal stellen multifokale Leitungsblöcke der motorischen Nervenfasern dar. Eine Beteiligung sensibler Nervenfasern kann nicht nachgewiesen werden. Außerdem ist das Auftreten von anti-Gangliosid-GM1-IgM-Antikörpern typisch [133, 134]. Die cerebrospinale Protein- und Zellkonzentrationen sind in der Regel normwertig. In Tabelle 5 sind die Diagnosekriterien der MMN zusammengefasst [37].

Während Kortikosteroide und Plasmapherese in der Behandlung unwirksam sind, verbessern sich die Symptome unter IVIg und Cyclophosphamid [135, 136].

#### **Kernkriterien (müssen beide vorhanden sein)**

1. Langsam progrediente oder schrittweise progrediente, fokale, asymmetrische Extremitätenschwäche mit motorischer Beteiligung im Innervationsgebiet von mindestens 2 Nerven für länger als 1 Monat (meist mehr als 6 Monate)
2. Keine objektivierbare sensorische Beteiligung mit Ausnahme einer leichten Beteiligung der Vibrationsempfindung an den unteren Extremitäten

#### **Unterstützende klinische Kriterien**

1. Überwiegende Beteiligung der oberen Extremitäten
2. Abgeschwächte oder erloschene Muskeleigenreflexe in den betroffenen Extremitäten
3. Keine Beteiligung der Hirnnerven
4. Crampi und Faszikulationen der betroffenen Extremitäten
5. Ansprechen auf immunmodulatorische Therapie

#### **Ausschlusskriterien**

1. Zeichen für das erste Motoneuron
2. Deutliche bulbäre Beteiligung
3. Sensibilitätsstörungen, die über eine leichte Pallästhesiestörung der Beine hinausgehen
4. Diffuse symmetrische Schwäche während der ersten Wochen

#### **Tabelle 5: Diagnostische Kriterien der MMN**

Stangel et al. (2009) [37]

## 1.4 Konfokale korneale Mikroskopie

Die kleinen Nervenfasern (*small fiber*) gehören zu dem Teil des Nervensystems, der bei Neuropathien häufig als erstes betroffen ist und das Potential hat sich am schnellsten zu regenerieren [137-139]. Studien konnten eine Beteiligung der kleinen Nervenfasern und eine frühe axonale Schädigung bei Patienten mit CIDP nachweisen [140, 141]. Die Hautbiopsie, bei der intraepidermale Nervenfasern untersucht werden, gilt bislang als Goldstandard in der Diagnostik der *small-fiber*-Neuropathie. Diese Methode zur Quantifizierung der kleinen Nervenfasern hat jedoch den Nachteil, dass es sich um ein invasives und sehr kostenintensives Verfahren handelt. Durch die KKM ist es möglich nicht-invasiv den Untergang feinsten Nervenfasern zu dokumentieren [142].

### 1.4.1 Aufbau der Kornea

Bei der Kornea handelt es sich um den transparenten vorderen Anteil des Auges [143-145]. Die Kornea besteht aus Epithel, Bowman-Membran, Stroma, Descemet-Membran und Endothel. Das Epithel stellt die oberflächlichste Zellschicht der Kornea dar. Es besteht aus Superfizial-, Intermediär- und Basalzellen [146]. Die Bowman-Membran liegt zwischen Epithel und Stroma, die Descemet-Membran zwischen Stroma und Endothel [143-145]. Die Bowman-Membran ist eine amorphe Membran, die sich hinter den Basalzellen der Epithelzellschicht befindet. Sie enthält vor allem Kollagenfasern und unmyelinisierte C-Nervenfasern [143-145].

In der Kornea befindet sich eine höhere Dichte von Nervenfasern als an jeder anderen anatomischen Stelle unseres Körpers, sodass sich dieser Ort sehr gut eignet, um Veränderungen an den kleinen Nerven aufzuzeigen [147]. Physiologischerweise ist die Kornea dicht durch kleine unmyelinisierte sensorische und autonome Nervenfasern des Nervus Trigeminus sowie Fasern aus dem Ganglion cerviale superius innerviert [148, 149]. Die sensorische Innervation der Hornhaut entspringt der ophthalmologischen Aufzweigung des Nervus Trigeminus (V1), welcher anatomisch den Spinalnerven ähnelt. Sowohl der Nervus Trigeminus, als auch die Spinalnerven enthalten motorische und sensorische Wurzeln. Morphologisch haben die kleinen Nervenenden der Hornhaut große Ähnlichkeit mit den Nervenendigungen der Epidermis [145, 150-154].

Anatomisch treten die Nervenfaserbündel von der Peripherie ausgehend in die Kornea ein. Auf Höhe des Limbus kommt es zu einem Verlust der Myelinscheide und des Perineums. Man unterscheidet zwischen drei verschiedenen Nervenformationen, dem

subbasalen Nervenplexus, dem subepithelialen Nervenplexus und den Nerven des Stromas [145, 150-154].

In der konfokalen kornealen Mikroskopie kann vor allem der subbasale Nervenplexus, der die höchste Anzahl an Nervenverzweigungen in der Hornhaut enthält, gut dargestellt werden. Der subbasale Nervenplexus liegt zwischen der basalen Epithelzellschicht und der Bowman-Membran [151-154]. Er entspringt den stromalen Nervenfasern, die die Bowman-Membran passieren und sich dann in kleine Nervenfasern verzweigen, die parallel zur Oberfläche des Auges verlaufen [152]. Der subbasale Nervenplexus besteht aus geraden und perlenschnurartig verlaufenden Fasern, die homogen Licht reflektieren und sich in Bündeln organisieren [152-154]. Die längsten Nervenfasern werden im lateralen oberen Quadranten gefunden, dort verlaufen die Nervenfasern nahezu vertikal [152]. Zwischen den Nervenfasern bestehen zahlreiche Anastomosen, sodass ein homogener Nervenplexus entsteht [152].

Des Weiteren können in der Kornea Langerhans-Zellen nachgewiesen werden [155, 156]. Die Langerhans-Zellen kommen sowohl in der zentralen als auch in der peripheren Hornhaut vor [156]. Eine erhöhte Dichte an Langerhans-Zellen in der Kornea konnte bereits bei Patienten mit diabetischer Neuropathie gefunden werden [157].

#### **1.4.2 Methode der KKM**

Das jüngst etablierte Verfahren der KKM analysiert nicht-invasiv die kleinen Nervenfasern unter der Bowman-Membran und im kornealen Stroma des Auges [158-160]. Dabei ist es aufgrund der hohen Transparenz der Kornea möglich Nerven *in vivo* zu visualisieren [160, 161]. Die KKM ist eine Methode mit hoher Reproduzierbarkeit und hoher diagnostischer Validität [162-166]. Eine vollautomatische Bildanalyse ermöglicht eine schnelle Auswertung der Ergebnisse [167, 168]. Neben der Darstellung der kornealen Nerven ist es mit dieser Methode möglich das Vorhandensein und die Dichte an Langerhans-Zellen in der Kornea zu messen [157]. Vorausgehende Arbeiten unterteilten die Langerhans-Zellen in einen reifen (dendritische Zellen) sowie einen unreifen Phänotyp (nichtdendritische Zellen), um gegebenenfalls immunologische Veränderungen *in vivo* nachvollziehen zu können [155].

### 1.4.3 Anwendungsgebiete der KKM

Die Technik konnte bereits im Bereich der Diabetischen Neuropathie als Goldstandard in der Diagnostik etabliert werden [156, 157, 169-174]. Bei Patienten mit Diabetes zeigt sich eine signifikante Verminderung der kornealen Nervenfaserverparameter sowie eine Korrelation mit dem Schweregrad der Erkrankung und dem Verlust der Hornhautempfindlichkeit [76, 171]. Quattrini et al. konnten einen signifikanten Zusammenhang zwischen einer verminderten intraepidermalen Nervenfaserdichte und einem Untergang von kornealen Nervenfasern diabetischer Patienten nachweisen [76]. Bereits bei Diabetes-Patienten, bei denen elektrophysiologische Untersuchungen und quantitative sensorische Testung noch unauffällig waren, konnten mittels KKM eine Verminderung der kornealen Nerven nachgewiesen werden [175]. Diese Ergebnisse lassen vermuten, dass die *in vivo*-KKM ein sehr sensitives diagnostisches Werkzeug darstellt. Bereits ein früher Verlust der kleinen kornealen Nervenfasern kann mittels KKM nachgewiesen werden, bevor andere etablierte Verfahren dies vermögen. So kann bereits bei Patienten mit oraler Glukosetoleranzstörung eine Verminderung der kornealen Innervationsdichte festgestellt werden [176]. Zudem ermöglicht die wiederholte Anwendung der *in vivo*-KKM eine Beobachtung der kornealen Nervenfasern im Verlauf, wodurch eine Aussage über Therapieerfolge bei Patienten mit Diabetes gemacht werden kann. Vorangegangene Studien zeigen eine frühzeitige Nervenfaserverregeneration nach Pankreastransplantationen bei Patienten mit Diabetes [177].

Neben dem Anwendungsgebiet der diabetischen Neuropathie eignet sich die Methode zur Untersuchung anderer peripherer Neuropathien. Dazu zählen die idiopathische *small fiber*-Neuropathie, hereditäre sensorische und autonome Neuropathie, Morbus Fabry, Morbus Charcot-Marie Tooth, Oxaliplatin- und Chemotherapie-induzierter Neuropathie sowie das Sjögren's Syndrom [159, 178-183].

Die KKM ist in der Augendiagnostik ein etabliertes Verfahren. Klassischerweise kommt die KKM bei Untersuchungen der Kornea nach chirurgischen Interventionen, Kontaktlinsengebrauch, Hornhauttransplantationen sowie bei kornealen Pathologien wie Keratitis, Keratokonjunktivitis sicca, Fuchs-Endotheldystrophie, Glaukom, Herpes-Infektionen, Allergie und Keratokonus zur Anwendung [151, 154, 161, 184-201]. Des Weiteren ermöglicht die KKM neben der Untersuchung der Nervenfasern die Untersuchung des Epithels, des Endothels und der Keratozyten des Stromas [202-207].



## 1.5 Ziele der Arbeit

Mit dieser Arbeit sollte die Frage beantwortet werden, ob die konfokale korneale Mikroskopie (KKM) als Surrogatparameter zur Diagnostik von immunvermittelten Neuropathien Verwendung finden kann. Zudem war es Ziel, die Korrelation zwischen diagnostisch ermittelten morphologischen Ergebnissen der KKM und relevanten klinischen Daten und Ergebnissen der routinemäßig durchgeführten Diagnostik zu messen. Im Einzelnen waren dies:

- Korrelation der morphometrischen Ergebnisse der KKM mit den elektroneurographischen Befunden sowie mit der elektrophysiologischen vegetativen Diagnostik (Herzratenvariabilität (HRV) und der sympathischen Hautantwort (SSR)).
- Korrelation der morphometrischen Ergebnisse der KKM mit den klinischen Daten zur Erkrankung und dem Verlauf der Erkrankung. Zu den Daten zählten die Ausprägung, Art und Verteilung der klinischen Symptomatik, die Erkrankungsdauer sowie der Erkrankungsverlauf. Des Weiteren wurden die Art, das Ansprechen und die Verträglichkeit von Therapien erfasst und korreliert.
- Korrelation der morphometrischen Ergebnisse der KKM mit der laborchemischen Diagnostik wie beispielsweise der Eiweißerhöhung im Liquor und dem Vorhandensein von neurogenen Antikörpern.
- Korrelation der morphometrischen Ergebnisse der KKM mit der kornealen Sensibilität.
- Analyse des Einflusses von möglichen Störfaktoren auf die Ergebnisse der KKM.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Patientenkollektiv

Die Untersuchung wurde als prospektive, kontrollierte Studie durchgeführt. Eingeschlossen wurden Patienten mit entzündlichen Neuropathien, die sich zur Abklärung oder im Rahmen der medizinisch notwendigen Therapie ab dem Jahr 2015 in der Neurologischen Klinik der Universität Düsseldorf vorstellten. Die entsprechenden Untersuchungen wurden routinemäßig bei ambulanten oder stationären Vorstellungen durchgeführt. Alle Teilnehmer erteilten nach mündlicher und schriftlicher Aufklärung ihre schriftliche Einwilligung in die Verwendung der klinisch erhobenen Daten. Die Untersuchung wurde von der lokalen Ethikkommission genehmigt (Ethik Komitee Düsseldorf, Aktenzeichen 4870).

Insgesamt wurden 181 Patienten und gesunde Kontrollen untersucht, von denen bei 89 Patienten eine CIDP diagnostiziert worden war, einschließlich 12 Patienten mit einer Neuropathie bei Monoklonaler Gammopathie unklarer Signifikanz (MGUSN) und 6 Patienten mit MMN. Die Alters- und Geschlechterverteilung ist in Tabelle 6 dargestellt:

<b>Diagnose</b>	<b>Anzahl</b>	<b>Alter in Jahren (Mittelwert)</b>	<b>Alter in Jahren (Median)</b>	<b>Geschlechterverteilung (männlich:weiblich)</b>
<b>CIDP</b>	89	62,46	63	62:27
<b>MGUS</b>	12	56,25	56	6:6
<b>MMN</b>	6	66,00	66	5:1

**Tabelle 6: Alter und Geschlechterverteilung des Patientenkollektivs**

Die Diagnose wurde anhand der Kriterien der Peripheral Nerve Society/European Federation of Neurological Societies gestellt [25, 29, 208]. Die Diagnose MGUSN wurde bei Nachweis eines aberranten, monoklonalen Immunglobulins im Serum gestellt [125, 209]. Wie in früheren Studien vorgeschlagen, wurden die MGUSN Patienten für weitere Analysen in das CIDP-Kollektiv subsumiert [125, 210, 211].

Sechsendachtzig im Alter und Geschlecht übereinstimmende gesunde Kontrollen wurden im Zentrum für Endokrinologie und Diabetes der Universität Manchester in Großbritannien rekrutiert (Nord Manchester Ethik Komitee). Die Kontrollpatienten erhielten eine laborchemische und eine ausführliche klinische und neurophysiologische Untersuchung, um eine Neuropathie auszuschließen. Die Ergebnisse der Kontrollen waren äquivalent zu einer gesunden Kontrollgruppe, die in der Klinik für Neurologie in

Düsseldorf untersucht wurde. Aufgrund der Tatsache, dass mit dieser Kontrollgruppe aus Düsseldorf keine weiteren Untersuchungen durchgeführt wurden, wurde dieser Datensatz nicht in die vorliegende Untersuchung involviert.

Die Ein- und Ausschlusskriterien, sowie die Abbruchkriterien sind in Tabelle 7 dargestellt:

**Einschlusskriterien:**

Vorliegen einer Neuropathie (CIDP/MMN/MGUSN)  
Männliche oder weibliche Patienten ab 18 Jahren  
Einverständniserklärung vorhanden

**Ausschlusskriterien:**

Keine Einverständniserklärung  
Minderjährige und nicht-geschäftsfähige Personen  
Verletzung der Hornhaut  
Sjörgen-Syndrom  
Operationen am Auge  
Systemische Erkrankungen (außer Diabetes), die die Kornea betreffen  
Neuropathie anderer Ursachen

**Abbruchkriterien:**

Ablehnung der Teilnahme oder Zurückziehen der Einwilligung

**Tabelle 7: Ein-, Ausschluss- und Abbruchkriterien der Studie**

Alle Kontaktlinsenträger pausierten das Tragen der Linsen einen Tag vor der Untersuchung.

## **2.2 Konfokale korneale Mikroskopie**

Alle Patienten wurden mit einem Heidelberg Retinal Tomograph III (Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg, Germany) und einem Rostock Cornea Module [HRT III RCM] (Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg, Germany) untersucht.

### **2.2.1 Grundlagen der konfokalen kornealen Mikroskopie**

Bei der KKM wird mittels eines Laserstrahls das Gewebe in der Fokusebene zur Lichtreflektion angeregt. Der Laserstrahl wird ausgehend von einer Laser-Lichtquelle durch eine Lochblende zu dem zu untersuchenden Abschnitt des Gewebes fokussiert. Der vom Gewebe reflektierte Laserstrahl wird in einem Strahlenteiler separiert und durch eine zweite Lochblende zum lichtempfindlichen Detektor abgelenkt. Diese zweite Lochblende lässt lediglich Licht aus dem scharf abgebildeten fokussiertem Bildbereich durch, während Licht aus anderen Ebenen blockiert wird [146]. Durch diese Methode besteht die Möglichkeit, die zellulären Strukturen der Kornea hochauflösend darzustellen und optische Schnitte im Mikrometerbereich zu erzielen [186].

Bei der Untersuchung der Patienten mittels des HRT III Rostock Corneal Modules haben wir uns am Protokoll von Tavakoli et al. orientiert [158]. Vor der KKM erfolgte eine Untersuchung aller Patienten mittels Spaltlampe sowie die Messung der kornealen Sensibilität.

### **2.2.2 Vorbereiten der Kamera**

Vor der Verwendung des HRT III wurde das Objektiv vorbereitet. Zunächst wurde an der Objektivröhre der laser-scannenden Kamera eine Refraktion von +12 Dioptrien eingestellt und die Kamera in die niedrigste Position gebracht (Abb. 1).



**Abb. 1: Vorbereiten der Objektivröhre**

Vor Beginn der Untersuchung wurde an dem Objektiv der laser-scannenden Kamera eine Refraktion von +12 Dioptrien eingestellt.

Dann wurde ein blasenfreier, erbsengroßer Tropfen Viscotears (Carbomer 980, Novartis AG, Basel, Schweiz) auf die Spitze der Linse aufgetragen. Eine TomoCap (Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg, Germany) wurde aus einer sterilen Verpackung entnommen und auf die Spitze der Linse gesetzt, sodass das Gel eine Verbindungsschicht zwischen der Objektiv-Linse und der TomoCap bildete.

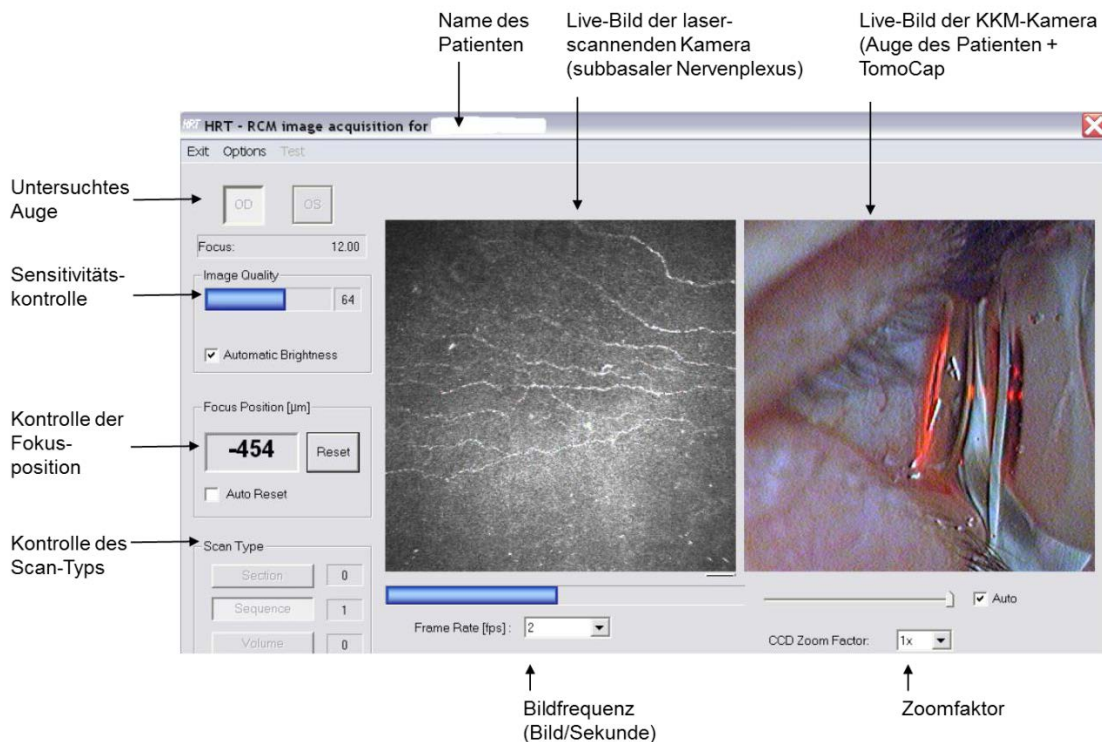
Die laser-scannende Kamera wurde bis zum Anschlag nach hinten positioniert. Die innere und äußere Oberfläche der TomoCap erschienen nun als helle Laser-Reflektion. Die Fokus-Position sollte nun zwischen -150 und +150 Mikrometer liegen, nun wurde der Tiefenwert auf null zurückgesetzt.

Das Auge des Patienten wurde mit jeweils zwei Tropfen 0,4% Benoxinate Hydrochloride anästhesiert und mit Viscotears befeuchtet. Der Patient setzte sich bequem, legte das Kinn auf der Kinn-Stütze ab und lehnte sich nach vorne gegen die Stirn-Stütze. Der Patient fokussierte mit dem nicht-untersuchten Auge ein Fixationslicht.

### **2.2.3 Ausrichten der Kamera**

Mittels der KKM-Kamera konnte die Position der laser-scannenden Kamera in Bezug zum Auge erfasst werden. Die KKM-Kamera sollte so ausgerichtet sein, dass die optische Achse des Auges senkrecht zur optischen Achse der laser-scannenden Kamera stand. Bei Untersuchung des rechten Auges sollte die Kamera auf der rechten Patientenseite angebracht sein und umgekehrt. In dieser Position sollte man die vordere Oberfläche der TomoCap auf dem Live Bild der KKM-Kamera sehen. Nun wurde die laser-scannende Kamera auf den Patienten zubewegt, bis sich die Hornhaut des Patienten in einem Abstand von 5-10mm zur TomoCap befand und dann mit den

Stellrädern so in Position gebracht, dass die TomoCap genau in der Mitte der Hornhaut positioniert war. Auf dem Live-Bild der KKM-Kamera (Abb. 2) konnte man nun überprüfen, ob sich das rote Laserlicht in der Mitte und dem vorderen Pol der Hornhaut befindet. Der Patient wurde gebeten seine Augen so weit wie möglich zu öffnen. Die laser-scannende Kamera wurde nun langsam nach vorne in Richtung des Patienten bewegt. Bei optimaler Ausrichtung war eine dünne Gelschicht zwischen der TomoCap und der Hornhaut auf dem KKM-Live-Bild sichtbar. Bei zu starkem Druck wurde die Hornhaut im KKM-Live-Bild abgeflacht dargestellt und in den akquirierten Bildern war eine Faltenbildung sichtbar.



**Abb. 2: Einstellung der KKM**

Im Programm der KKM kann zwischen Section-, Sequenz- und Volume-Mode ausgewählt werden. Außerdem erhält man Informationen über den untersuchten Patienten, das untersuchte Auge, die Position des Fokus und kann per Live-Bild der KKM-Kamera die Position der TomoCap in Relation zum Auge sowie das aktuelle Bild der laser-scannenden Kamera kontrollieren.

## 2.2.4 Aufnahme der Bilder und Wahl des Aufnahmemodus

Beim HRT III kann man zwischen drei verschiedenen Aufnahmemodi auswählen. Im Section-Modus wird durch Druck auf ein Fußpedal ein einzelnes Bild aufgenommen. Mit dem Sequenz-Mode kann man eine Sequenz von bis zu 100 Bildern aufnehmen, wobei man die Bildrate zwischen 1-30 Bildern pro Sekunde (fps) wählen kann. Im Volume-Scan-Modus wird automatisch eine Serie von 40 aufeinanderfolgenden Bildern in

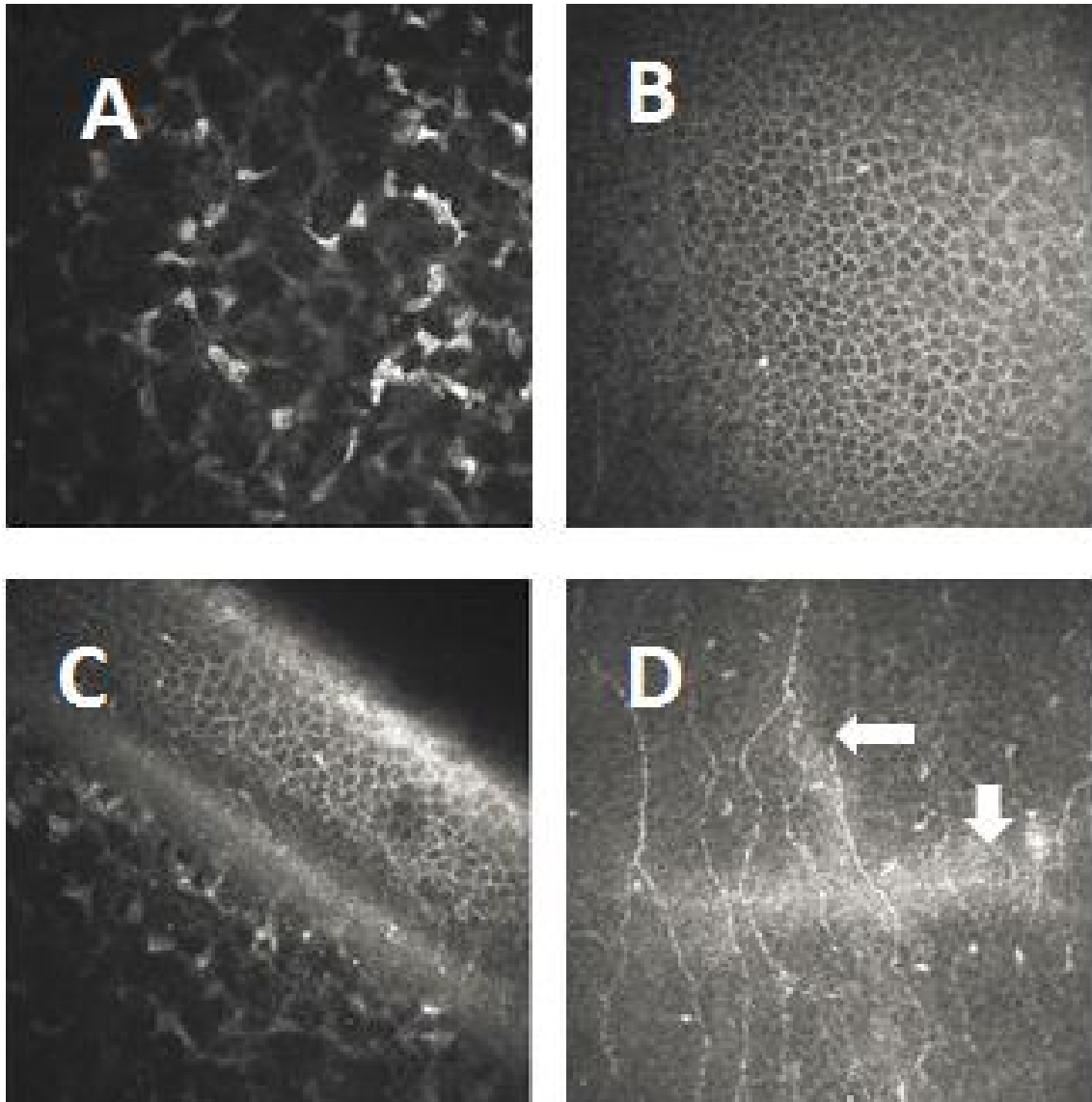
aufeinanderfolgenden Ebenen aufgenommen. In dieser Arbeit wurde ausschließlich der Sequenz-Mode verwendet und durch den Feinfokus am Objektiv die Tiefe so reguliert, dass der subbasale Nervenplexus in der Fokusebene lag. Im Durchschnitt wurden pro Auge 200 Bilder aufgenommen.

Um eine bessere Vergleichbarkeit der Bilder zu erreichen, wurden die KKM-Bilder ausschließlich im lateralen oberen Quadranten aufgenommen. Dort finden sich die längsten Nervenfasern, da die Nervenfasern hier nahezu vertikal verlaufen [152].

Nach der Untersuchung wurden die Patienten darauf hingewiesen, dass ein Reiben der Augen vermieden werden sollte, bis die örtliche Betäubung abgeklungen war, um Verletzungen zu vermeiden. Nach jeder Untersuchung wurde die TomoCap entsorgt und das Objektiv gereinigt.

### **2.2.5 Auswahl der Bilder**

Pro Patient wurden mindestens fünf (bis maximal 78) qualitativ einwandfreie Bilder ausgewählt. Nur die Bilder mit dem größtmöglichen Kontrast wurden zur weiteren Analyse verwendet. Es wurden Bilder ausgeschlossen, die Stroma, Epithel oder Anschnitte dieser beiden Schichten zeigten. Auch Bilder, auf denen Druckartefakte zu sehen waren, wurden nicht zur weiteren Analyse verwendet (Abb. 3) [162].



**Abb. 3: Auswahl der KKM-Bilder**

Ausgeschlossen wurden Bilder, die Stroma (A), Epithel (B), Anschnitte von Epithel, Nerven und Stroma (C) oder Druckartefakte (D) zeigten.

Um eine möglichst hohe Reproduzierbarkeit der Daten zu erreichen, wurden in der vorliegenden Arbeit durchschnittlich 10-20 Bilder des lateralen oberen Quadranten der Kornea analysiert. Andere Arbeitsgruppen arbeiten mit einer geringeren Bildanzahl, üblicherweise erfolgt dabei die Auswertung von drei bis fünf Bildern pro Patient [76, 172, 179, 212]. Eine Auswahl von mindestens vier Bildern unterschiedlicher Lokalisation erhöht dabei die Reproduzierbarkeit [213] und hat das Ziel, die kornealen Nervenfaserverparameter sowie die Zellinfiltration möglichst repräsentativ zu erfassen.



## 2.2.6 Automatische Bildauswertung

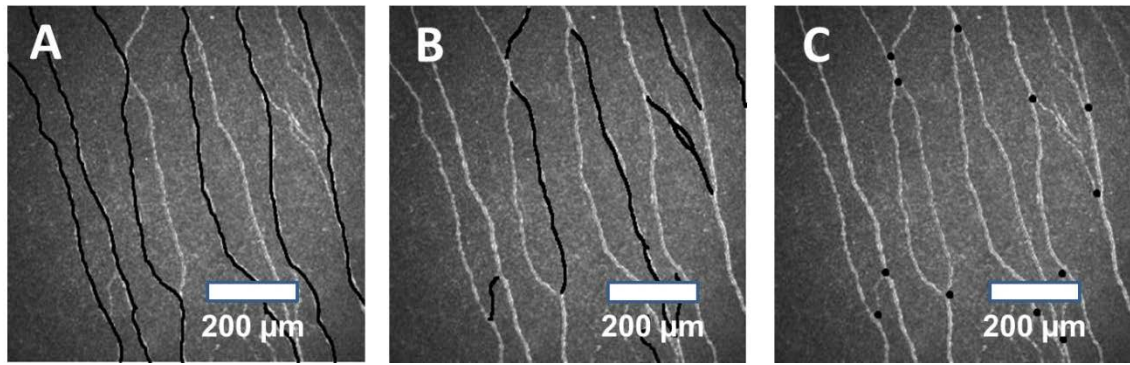
Zur Analyse der Bilder stehen zwei Verfahren zur Auswahl. Zum einen können die akquirierten Bilder mittels spezieller Software namens „CCM Image Analysis Tool“ manuell analysiert werden. Zum anderen ermöglicht das automatische Auswertungsprogramm ACCMetrics (ACCMetrics Image Analysis tool v1.1, Universität Manchester, Großbritannien) eine standardisierte Auswertung der KKM-Bilder. Die automatische Quantifizierung der Nervenfaserverparameter korreliert stark mit den manuell ausgewerteten Ergebnissen [214].

In der vorliegenden Arbeit kam die automatisierte Auswertung zur Anwendung, da dieses Verfahren eine exzellente Reproduzierbarkeit aller Nervenfaserverparameter sowie ein hohes Maß an Objektivität und Konsistenz bietet [163] (Abb. 4). ACCMetrics ermöglicht eine objektive Quantifizierung, erhöht die Interrater-Reliabilität und ermöglicht die Akquirierung vergleichbarer Ergebnisse in unterschiedlichen Zentren. Außerdem bietet dieses Verfahren den Vorteil einer signifikant reduzierten Auswertungszeit: 10-22 Sekunden pro Bild bei der automatisierten Auswertung, während die manuelle Auswertung je nach Innervationsdichte 2-7 Minuten pro Bild in Anspruch nimmt [168]. Erst die automatische Auswertung hat den Einsatz der KKM zur klinischen Diagnostik und als Surrogatparameter in klinischen Studien ermöglicht. Es konnte zudem eine signifikante Korrelation zwischen den automatisch erhobenen Parametern und den manuell erhobenen Daten gezeigt werden [168].

Die automatische Quantifizierung der kornealen Nervenfasern besteht aus zwei Schritten: Zunächst erfolgt die Verstärkung und Erkennung der kornealen Nerven. Dann erfolgt die Quantifizierung der morphometrischen Parameter, wobei alle End- und Verzweigungspunkte der detektierten Nervenfasern extrahiert werden, um zwischen Hauptnerven und Nervenabzweigungen zu unterscheiden.

Automatisch erhobene Nervenfaserverparameter:

- Korneale Nervenfaserverlänge (CNFL): die totale Länge aller Nervenfasern im Bild in mm/mm<sup>2</sup>
- Korneale Nervenfaserverdichte (CNFD): die Anzahl an Hauptnerven pro mm<sup>2</sup>
- Korneale Nervenfaserververzweigungsdichte (CNBD): die Anzahl der Aufzweigungen zwischen den Hauptnerven und den Nervenabzweigungen pro mm<sup>2</sup>

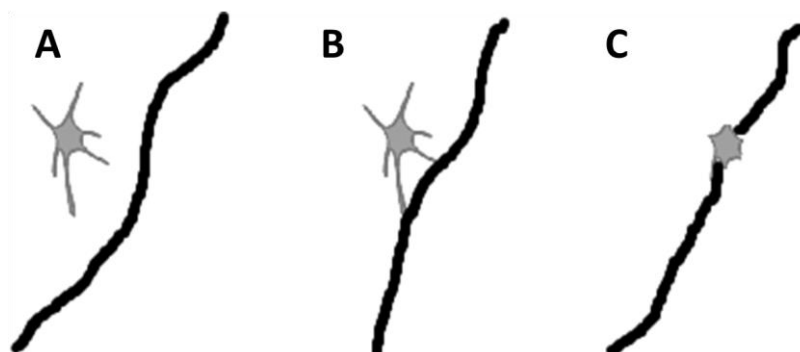


**Abb. 4: Automatische Bildauswertung mittels ACCMetrics**

Bei der automatischen Auswertung mittels AccMetrics analysiert das Programm die Hauptnervenfasern (A), die Nervenäste (B) sowie die Nervenfaserverzweigungspunkte (C).

### 2.2.7 Image J

Die manuelle Auswertung der Nervenzellinfiltrate erfolgte verblindet in denselben Bildern, die zur Quantifizierung der kornealen Nerven verwendet wurden. Mittels „Image J“ (Version 1.51f, Rasband, W.S., ImageJ, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA) erfolgte die manuelle Auszählung. Jedes Bild wurde vier Mal analysiert, wobei jeweils eine andere Zellkategorie ausgezählt wurde. Um die Anzahl der Zellen pro  $\text{mm}^2$  zu ermitteln wurden die Ergebnisse durch den Faktor 0,17203 dividiert. Zellen wurden als dendritisch bezeichnet, wenn mindestens ein Zellausläufer sichtbar war. Zellen ohne Zellausläufer wurden als nichtdendritisch deklariert. Dendritische Zellen wurden als nervennah bezeichnet, wenn ein oder mehrere Zellfortsätze oder der Zellkörper in direktem Kontakt zur Nervenfaser stand. Nichtdendritische Zellen wurden als nervennah deklariert, wenn der Zellkörper in Kontakt mit der Nervenfaser stand (Abb. 5).

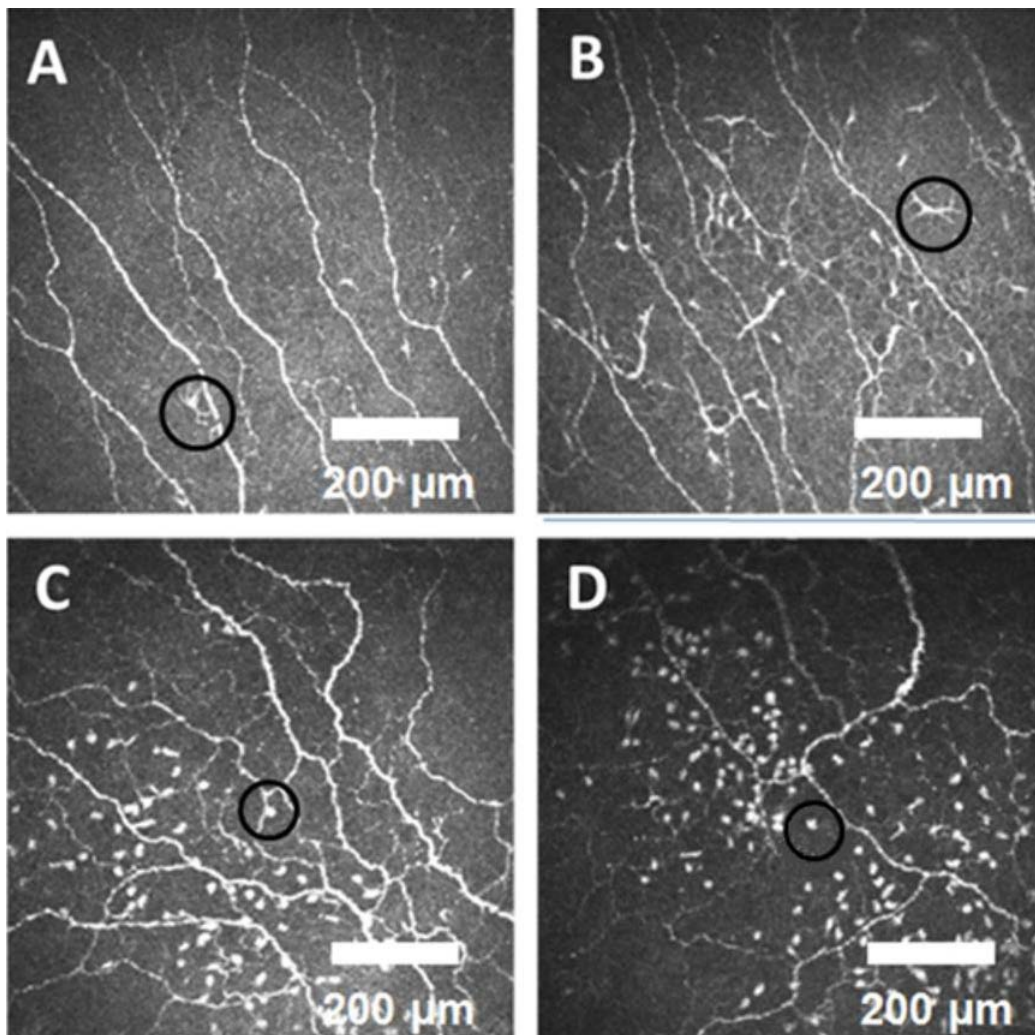


**Abb. 5: Zellen mit und ohne Nervenfaserkontakt**

Dendritische Zellen wurden als nervennah (DCF) bezeichnet, wenn ein oder mehrere Zellfortsätze oder der Zellkörper in direktem Kontakt zur Nervenfaser stand (B), nichtdendritische Zellen als nervennah (NCF), wenn der Zellkörper in Kontakt mit der Nervenfaser stand (C). Zellen ohne Kontakt zur Nervenfaser wurden als nichtdendritische (NCP) und dendritische Zellen ohne Nervenfaserkontakt (DCP) (A) bezeichnet.

Anhand ihrer Morphologie wurden die Zellen folglich in vier Kategorien unterteilt (Abb. 6).

- **Nichtdendritische Zellen mit Nervenfaserkontakt** (*Nondendritic cells with fiber contact =NCF*)
- **Dendritische Zellen mit Nervenfaserkontakt** (*Dendritic cells with fiber contact =DCF*)
- **Nichtdendritische Zellen ohne Nervenfaserkontakt** (*Nondendritic cells without fiber contact =NCP*)
- **Dendritische Zellen ohne Nervenfaserkontakt** (*Dendritic cells without fiber contact =DCP*)



**Abb. 6: Zellinfiltrate der Kornea**

Dendritische Zellen mit Nervenfaserkontakt (DCF) (A), Dendritische Zellen ohne Nervenfaserkontakt (DCP) (B), Nichtdendritische Zellen mit Nervenfaserkontakt (NCF) (C) und nichtdendritische Zellen ohne Nervenfaserkontakt (NCP) (D). Modifiziert nach Stettner et al. [215].

Zudem wurden folgende Parameter berechnet:

- **Summe der Zellen** (*Total cell number (TC)*)= $DCF+DCP+NCF+NCP$ )
- **Summe der nervennahen Zellen** ( $F=DCF+NCF$ )

## **2.3 Laborchemische Untersuchungen**

Um die Diagnose der CIDP beziehungsweise der MMN zu sichern und andere Ursachen einer Neuropathie auszuschließen wurden im Rahmen der routinemäßigen klinischen Aufarbeitung laborchemische Diagnostik im Blutserum, Untersuchungen der zerebrospinalen Flüssigkeit sowie elektrophysiologische Untersuchungen durchgeführt. Zu den untersuchten laborchemischen Parametern zählten HbA1c, oraler Glukosetoleranztest, Vitamin- und Folsäurespiegel, Nierenparameter, Leberfunktionstest, Differentialblutbild, C-reaktives-Protein, Serumelektrolyse, Immunfixation, Serumelektrophorese, Schilddrüsenfunktionstest, antinukleäre Antikörper, Antikörper gegen extrahierbare nukleäre Antigene, antineutrophile cytoplasmatische Antikörper, Rheumafaktor und Diagnostik zum Ausschluss von neurotrophen Infektionen, wie zum Beispiel einer Borreliose. Beim Vorliegen von monoklonalen Gammopathien im Serum wurde eine Urindiagnostik zum Nachweis von Bence-Jones-Proteinen durchgeführt.

Im Liquor wurde unter anderem die Zellzahl, das Gesamtprotein und die Höhe des Laktats bestimmt. Ein Proteingehalt der zerebrospinalen Flüssigkeit über 50 mg/dl bei einer Leukozytenzahl unter 10/mm<sup>3</sup> wird als zytalbuminäre Dissoziation bezeichnet.

Zusätzlich wurden folgende IgM-, IgG- und IgA-Serum-Antikörper bestimmt: anti-CASPR2, anti-MBP, anti-MAG, Antimyelin, Antimyelin des peripheren Nervens, Antinunmyelinisierte Fasern. Zudem wurden antiganglioside Antikörper gegen GM1, GM2, GM3, GD1a, GD1b, GT1b und GQ1b (jeweils für IgG and IgM) bestimmt. Diese Analysen wurden im externen zertifizierten Labor ‚Prof. Dr. Winfried Stöcker‘ in Lübeck durchgeführt.

## **2.4 Elektrophysiologische Diagnostik**

Alle Patienten erhielten elektroneurographische Untersuchungen, zudem wurden Nadelelektromyographien, quantitative sensorische Testungen, Herzraten-variabilität sowie die sympathische Hautantwort bestimmt. Die Messungen erfolgten nach standardisierten Verfahren.

### **2.4.1 Elektroneurographie**

Alle Patienten erhielten im Rahmen der klinischen Diagnostik und im Rahmen von Verlaufskontrollen Elektroneurographien der sensorischen und motorischen Nerven der unteren und oberen Extremitäten. Zur Diagnosestellung wurden hinsichtlich der Elektroneurographie die Kriterien der Peripheral Nerve Society/European Federation of Neurological Societies angewendet [216]. Die Elektroneurographie ist eine nicht-invasive, objektive und sensitive Technik, die in der Diagnostik der CIDP sowie in der Verlaufsbeurteilung der Erkrankung eine wichtige Rolle spielt. In der elektrophysiologischen Untersuchung wird die Nervenleitungsgeschwindigkeit der großen sensorischen und motorischen Nerven, sowie die Amplitude des neuronalen Signals gemessen.

Die Aussagekraft der Elektroneurographie ist limitiert durch die Tatsache, dass nur die Nerven mit einem entsprechend großen Diameter sowie stark myelinisierte Axone erfasst werden und dass die Untersuchung im Bereich der kleinen funktionellen Veränderungen der kleinen sensorischen Nerven mit niedrigem Diameter eine geringe Aussagekraft hat.

Grundsätzlich wurden die CIDP-Patienten entsprechend der elektrophysiologischen Befunde in drei Subtypen unterteilt. Beim demyelinisierenden Typ dominiert eine erniedrigte Leitgeschwindigkeit, während die MAP und SNAP normale oder nur gering erniedrigte Amplituden aufweisen. Beim axonalen Typ zeigen sich erniedrigte Amplituden der motorischen (MAP) und sensiblen (SNAP) Aktionspotenziale. Die Leitungsgeschwindigkeit ist beim axonalen Typ nur gering erniedrigt. Beim gemischten Typ zeigen sich Charakteristika der axonalen sowie demyelinisierenden Schädigung.

### **2.4.2 Herzratenvariabilität**

Die Herzratevariabilität (HRV) ist eine Untersuchung der neurovegetativen Aktivität und der autonomen physiologischen Regulationsmechanismen des Herzens. Sie beschreibt die Fähigkeit des Organismus die Frequenz des Herzschlages belastungsabhängig zu verändern [217]. Bei körperlicher oder psychischer Belastung kommt es in der Regel zu einer Erhöhung der Herzfrequenz. Durch Schädigung autonomer Leitungssysteme kommt es zu einer verminderten Anpassungsfähigkeit des Mechanismus an Belastung und zu einer verminderten Variabilität der Herzfrequenz.

### **2.4.3 Sympathische Hautantwort**

Die sympathische Hautantwort (SSR) ist ein einfaches, leicht verfügbares Verfahren zur Bewertung der Nervenfasern mit sudomotorischer Funktion [218]. Die sympathische Hautantwort ist eine reflexartig ausgelöste Änderung des elektrischen Potentials im Bereich der Haut, hervorgerufen durch einen unerwarteten beta-adrenergen Reiz, wie zum Beispiel eine elektrische Reizung eines somatischen Nervens. Die Patienten werden mehrmals unerwartet (um dem Störfaktor Habituation entgegenzuwirken) mit einem Stromimpuls gereizt und die Hautpotentiale gemessen. Eine Reduzierung des elektrischen Potentials sowie die Verlängerung der Latenzzeit werden als pathologisch betrachtet [218].

## **2.5 Klinische Beurteilung**

### **2.5.1 INCAT-Score**

Bei allen Patienten erfolgte eine Bewertung der motorischen Beteiligung mit Hilfe des etablierten INCAT-Scores (Inflammatory Neuropathy Cause and Treatment), der in Tabelle 8 dargestellt wird [56, 219]. Der INCAT-Score beurteilt die motorischen Einschränkungen des Patienten. Der Ergebnisbereich liegt dabei zwischen 0–6 Punkten, wobei eine niedrige Punktzahl für eine geringe motorische Beeinträchtigung spricht, während eine hohe Punktzahl auf eine hohe Einschränkung hindeutet. Es wurde separat jeweils der INCAT-Score für die obere und untere Extremität berechnet. Außerdem wurde die Summe sowie der Durchschnitt aus beiden Teilergebnissen berechnet.

	<b>Obere Extremität</b>	<b>Untere Extremität</b>
<b>0</b>	Keine Einschränkungen	Gehen nicht beeinträchtigt
<b>1</b>	Symptome in einem oder beiden Armen, ohne dass eine der folgenden Aktivitäten eingeschränkt ist:  <ul style="list-style-type: none"> <li>- Reißverschluss und Knöpfe öffnen/schließen</li> <li>- Haare waschen und bürsten</li> <li>- Benutzung von Messer und Gabel gleichzeitig</li> <li>- Umgang mit kleinen Menschen</li> </ul>	Gehen beeinträchtigt, aber selbständig ohne Hilfsmittel im Haus möglich
<b>2</b>	Symptome in einem oder beiden Armen, so dass zumindest eine der oben genannten Aktivitäten eingeschränkt, aber nicht unmöglich ist	In der Regel Nutzung einer einseitigen Gehhilfe (Stock, Krücke, Unterarmgehilfe), um sich außer Haus zu bewegen
<b>3</b>	Symptome in einem oder beiden Armen, so dass ein bis zwei der oben genannten Aktivitäten unmöglich sind	In der Regel Nutzung einer beidseitigen Gehhilfe (Stock, Krücke, Unterarmgehilfe), um sich außer Haus zu bewegen
<b>4</b>	Symptome in einem oder beiden Armen, so dass drei oder alle der oben genannten Aktivitäten nicht möglich, einige gezielte Bewegungen aber noch möglich sind	In der Regel Rollstuhlnutzung, um sich außer Haus zu bewegen, aber mit Hilfe fähig zu stehen und ein paar Schritte zu gehen
<b>5</b>	Gezielte Bewegungen in einem oder beiden Armen unmöglich	Rollstuhlpflichtig, unfähig mit Hilfe zu stehen oder zu gehen

**Tabelle 8: INCAT-Score (Inflammatory Neuropathy Cause and Treatment)**

Modifiziert nach Hughes et al. (2001) [56].

### 2.5.2 Hirnnervenbeteiligung

Eine Hirnnervenbeteiligung wurde positiv bewertet, wenn der Patient über einen Zeitraum von mindestens fünf Monaten Ausfallerscheinungen mindestens eines Hirnnervens zeigte. Zum Ausschluss anderer möglicher Ursachen einer Hirnnervenbeteiligung wurden weitere diagnostische Verfahren durchgeführt.



### **2.5.3 Therapieentscheidungen**

Therapieentscheidungen lagen in der Verantwortung des behandelnden Arztes und orientierten sich an internationalen Leitlinien [216]. Welche Therapie eingesetzt wurde, hing vom Verlauf, den Begleiterkrankungen und weiteren klinischen und paraklinischen Parametern ab.

### **2.5.4 Klinischer Verlauf**

Der Krankheitsverlauf wurde als stabil angesehen, wenn der INCAT-Score sich über 6 Monate nicht verändert hatte. Eine Abnahme des INCAT-Scores in diesem Zeitraum wurde als Regredienz bezeichnet, eine Zunahme als Progredienz. Klinische Merkmale, wie zum Beispiel die Unterscheidung zwischen schmerzhafter und schmerzloser Neuropathie sowie sensorischer und motorischer Beteiligung wurden anhand der Patientenakten erhoben.

### **2.5.5 End-of-Dose-Effekt**

Fluktuationen und eine Beschwerdezunahme gegen Ende eines Therapieintervalls werden als End-of-Dose-Effekt bezeichnet. Grundvoraussetzung war, dass diese vermehrte Krankheitsaktivität innerhalb von 14-40 Tagen nach der letzten Therapie mindestens fünf Mal in sechs Monaten auftraten (Intravenöse Immunglobuline [IVIg] oder Kortikosteroide) und bei der nächsten therapeutischen Intervention rückläufig waren.

### **2.5.6 Therapieansprechen**

Als sogenannte „Responder“ wurden Patienten bezeichnet, die nach vier Monaten Therapie eine Verbesserung des INCAT-Scores um einen Punkt zeigten [220] oder eine deutliche Verbesserung der sensorischen Beschwerden mit korrespondierender Verbesserung in der Neurographie aufwiesen: Patienten, bei denen nach vier Monaten eine klinische Verbesserung ausblieb, wurden entsprechend als „Nonresponder“ bezeichnet.

## **2.6 Korneale Sensibilitätstestung**

Die Quantifizierung der kornealen Sensibilität erfolgte mittels eines Luneau-Ästhesiometers nach Cochet-Bonnet (Luneau Technology Operations, Pont-de-l'Arches, Frankreich). Dazu wurde der Patient instruiert mit weit geöffneten Augen in die Ferne zu schauen und sich zu melden, sobald er eine Berührung auf der Hornhaut wahrnahm. Anschließend wurde am Ästhesiometer die größte Fadenzlänge eingestellt und die Kornea unter Ausübung eines longitudinalen Drucks mit der Spitze des Fadens berührt bis der Faden sich leicht durchbog. Bei Nichtwahrnehmung des Druckes wurde die Fadenzlänge um 0,5 cm reduziert. Dokumentiert wurde die Fadenzlänge, bei der eine Berührung vom Patienten detektiert werden konnte. Es erfolgte eine Überprüfung aller vier Quadranten im Seitenvergleich.

## **2.7 Erstellung der Datenbank**

Alle Daten wurden pseudonymisiert tabellarisch in Exceltabellen (Microsoft® GmbH, Unterschleißheim, Deutschland) erfasst. Graphen und Abbildungen wurden mittels Power Point (Microsoft® GmbH) bearbeitet.

## **2.8 Statistische Auswertungsmethoden**

Die erhobenen Daten wurden mittels des Programms Graph Pad Prism Software 4.0 (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA) statistisch ausgewertet. Vor Beginn der statistischen Analyse wurden die erhobenen Daten auf Normalverteilung überprüft. Abweichungen wurden mittels ungepaartem t-Test mit 95% Konfidenzintervall und der Einweg-Varianzanalyse (ANOVA) nach Bonferroni erfasst. Dabei wurde  $P < 0,05$  als statistisch signifikant angesehen ( $* < 0,05$ ,  $** < 0,01$ ,  $*** < 0,001$ ). Alle Daten werden in der vorliegenden Arbeit als Boxplot mit Standardabweichung und P-Wert präsentiert. Eine lineare Regressionsanalyse erfolgte zur Überprüfung des Einflusses von Geschlecht, Bluthochdruck, Diabetes und das Vorliegen einer Spinalkanalstenose auf die kornealen Nervenfaserverparameter.

## **2.9 Vernetzung und Zusammenarbeit**

Die Arbeit entstand in enger Kooperation mit dem internationalen Referenzzentrum für die KKM, Prof. Malik (Universität Manchester, Großbritannien) mit welchem wir hinsichtlich Qualitätskontrollen und Referenzwerten im kontinuierlichen Austausch stehen.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Patientenkollektiv

Kategorie		Absolute Patientenzahl	Prozentualer Anteil
<b><u>Klinische Merkmale der Patienten:</u></b>			
<b>Durchschnittliche Erkrankungsdauer:</b>	<b>½- 1 Jahr</b>	3	3,4%
	<b>1-2 Jahre</b>	8	9,0%
	<b>2-5 Jahre</b>	32	36,0%
	<b>&gt;5 Jahre</b>	35	39,3%
	<b>&gt; 10 Jahre</b>	6	6,7%
	<b>Keine Angaben</b>	5	5,6%
<b>Krankheitsverlauf</b>	<b>Stabil</b>	30	33,7%
	<b>Progredient</b>	25	28,2%
	<b>Regredient</b>	13	14,6%
	<b>Keine Angaben</b>	21	23,6%
<b>Klinische Beteiligung:</b>	<b>Sensomotorisch</b>	56	62,9%
	<b>Motorisch</b>	6	6,8%
	<b>Sensibel</b>	18	20,2%
	<b>Keine Angaben</b>	9	10,1%
<b>Verteilung der Beschwerden:</b>	<b>Distal und proximal</b>	29	32,6%
	<b>Rein distal</b>	21	23,6%
	<b>Keine Angaben</b>	39	43,8%
<b>Obere Extremität:</b>	<b>Betroffen</b>	47	52,8%
	<b>Nicht betroffen</b>	29	32,6%
	<b>Keine Angaben</b>	13	14,6%
<b>INCAT obere Extremität:</b>	<b>0</b>	43	48,3%
	<b>1</b>	34	38,3%
	<b>2</b>	6	6,7%
	<b>&gt;3</b>	6	6,7%

	<b>Keine Angaben</b>	0	0,0%
<b>INCAT untere Extremität:</b>	<b>0</b>	13	14,6%
	<b>1</b>	45	50,6%
	<b>2</b>	20	22,5%
	<b>&gt;3</b>	10	11,2%
	<b>Keine Angaben</b>	1	1,1%
<b>Schmerzen:</b>	<b>Vorhanden</b>	47	52,8%
	<b>Nicht vorhanden</b>	20	22,5%
	<b>Keine Angaben</b>	22	24,7%
<b>Klinisch vegetative Beteiligung:</b>	<b>Vorhanden</b>	38	42,7%
	<b>Nicht vorhanden</b>	32	36,0%
	<b>Keine Angaben</b>	19	21,3%
<b>Hirnnervenbeteiligung:</b>	<b>Vorhanden</b>	74	83,2%
	<b>Nicht vorhanden</b>	14	15,7%
	<b>Keine Angaben</b>	1	1,1%
<b>Alltagseinschränkungen:</b>	<b>Keine</b>	3	3,4%
	<b>Leichte</b>	16	18,0%
	<b>Schwere</b>	32	36,0%
	<b>Keine Angaben</b>	38	42,7%
<b><u>Diagnostik:</u></b>			
<b>ENG:</b>	<b>Motorisch</b>	79	88,8%
	<b>Sensomotorisch</b>	4	4,5%
	<b>Sensibel</b>	4	4,5%
	<b>Keine Angaben</b>	2	2,2%
	<b>Axonal-demyelinisierend</b>	44	49,4%
	<b>Demyelinisierend</b>	29	32,6%
	<b>Axonal</b>	8	9,0%
	<b>Keine Angaben</b>	8	9,0%
<b>Antikörperbefunde:</b>	<b>Positiv</b>	16	18,0%
	<b>Negativ</b>	61	68,5%
	<b>Keine Angaben</b>	12	13,5%

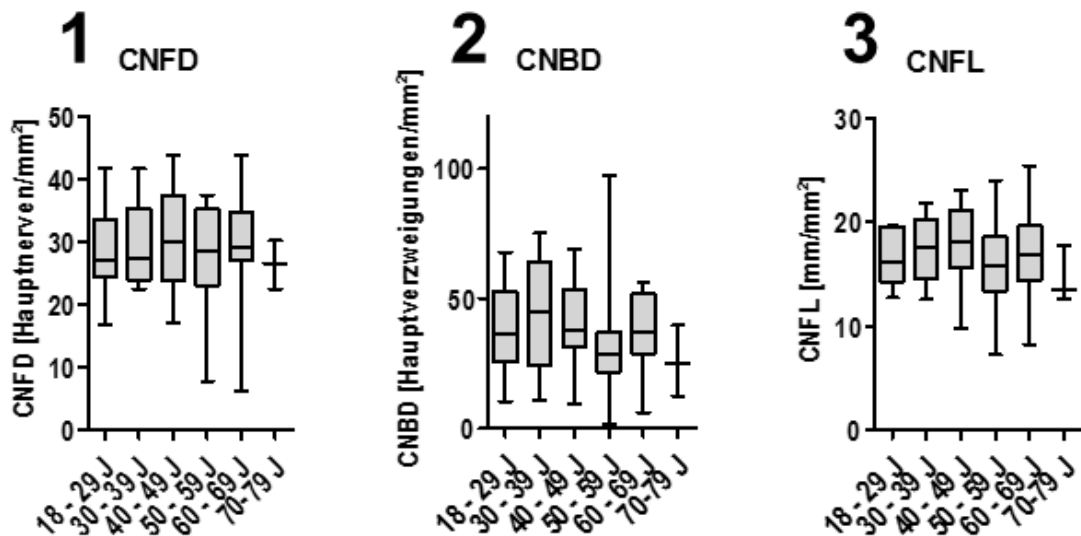
<b>GM1- Antikörper:</b>	<b>Positiv</b>	4	4,5%
	<b>Negativ</b>	73	82,0%
	<b>Keine Angaben</b>	12	13,5%
<b>MAG- Antikörper:</b>	<b>Positiv</b>	6	6,7%
	<b>Negativ</b>	71	79,8%
	<b>Keine Angaben</b>	12	13,5%
<b>Zytalbuminäre Dissoziation:</b>	<b>Vorhanden</b>	55	61,8%
	<b>Nicht vorhanden</b>	21	23,6%
	<b>Keine Angaben</b>	13	14,6%
<b>Vegetative Beteiligung (HRV/SSR):</b>	<b>Vorhanden</b>	24	27,0%
	<b>Nicht vorhanden</b>	31	34,8%
	<b>Keine Angaben</b>	34	38,2%
<b>Suralisbiopsie:</b>	<b>Positiv</b>	29	32,6%
	<b>Negativ</b>	4	4,5%
	<b>Keine Angaben</b>	56	62,9%
<b><u>Therapie:</u></b>			
<b>Aktuelle Medikation:</b>	<b>IVIg</b>	55	61,8%
	<b>Keine</b>	15	16,9%
	<b>Kortison</b>	5	5,6%
	<b>Cyclophosphamid</b>	3	3,4%
	<b>Rituximab</b>	3	3,4%
	<b>Azathioprin</b>	2	2,2%
	<b>Keine Angaben</b>	6	6,7%
<b>IVIg-Therapieansprechen</b>	<b>Responder</b>	50	56,2%
	<b>Nonresponder</b>	26	29,2%
	<b>Keine Angaben</b>	13	14,6%
<b>End of Dose-Effekt:</b>	<b>Vorhanden</b>	28	31,5%
	<b>Nicht vorhanden</b>	27	30,3%
	<b>Keine Angaben</b>	34	38,2%
<b>KKM-Untersuchung:</b>	<b>Prä-Therapie</b>	8	9,0%
	<b>Post-Therapie</b>	81	91,0%
	<b>Keine Angaben</b>	0	0,0%

<b><u>Komorbiditäten:</u></b>			
<b>Hypertonie:</b>	<b>Vorhanden</b>	43	48,3%
	<b>Nicht vorhanden</b>	45	50,6%
	<b>Keine Angaben</b>	1	1,1%
<b>Diabetes mellitus:</b>	<b>Vorhanden</b>	17	19,1%
	<b>Nicht vorhanden</b>	72	80,9%
	<b>Keine Angaben</b>	0	0,0%
<b>Spinalkanalstenose:</b>	<b>Vorhanden</b>	24	27,0%
	<b>Nicht vorhanden</b>	64	71,9%
	<b>Keine Angaben</b>	1	1,1%
<b>Psychische Beschwerden:</b>	<b>Vorhanden</b>	40	44,9%
	<b>Nicht vorhanden</b>	22	24,7%
	<b>Keine Angaben</b>	27	30,4%

**Tabelle 9: Patientenkollektiv CIDP**

## 3.2 Auswahl der Kontrollgruppe

Die Kontrollgruppe wurde in sechs Alterskategorien eingeteilt: 18-29 Jahre (n=20), 30-39 Jahre (n=17), 40-49 Jahre (n=18), 50-59 Jahre (n=16), 60-69 Jahre (n=12) und 70-79 Jahre (n=3). Bei der Analyse der Altersgruppen zeigten sich für die drei Hauptnervenparameter keine signifikanten Unterschiede in Abhängigkeit vom Alter der Patienten (CNFD  $p=0,8696$ , CNBD  $p=0,4357$ , CNFL  $p=0,5482$ ) (Abb. 7.1-3).



**Abb. 7: Nervenfaserparameter in Abhängigkeit vom Patientenalter**

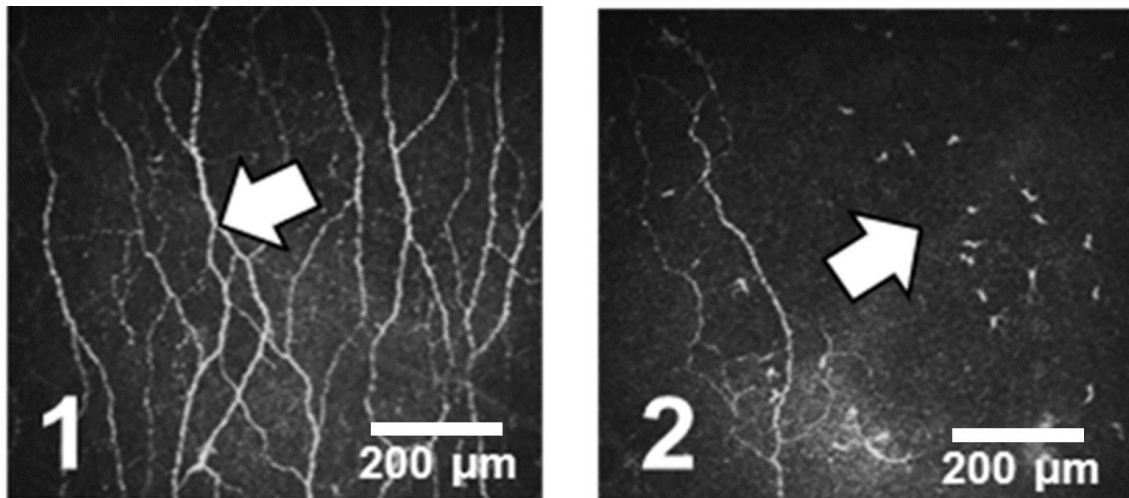
Die Kontrollgruppe wurde abhängig vom Alter in sechs Kategorien unterteilt (18-29 Jahre (n=20), 30-39 Jahre (n=17), 40-49 Jahre (n=18), 50-59 Jahre (n=16), 60-69 Jahre (n=12) und 70-79 Jahre (n=3)). Bei der Analyse der Altersgruppen konnten bei allen drei Nervenfaserparametern CNFD (A), CNBD (B) oder CNFL (C) keine signifikanten Unterschiede abhängig vom Alter der Patienten nachgewiesen werden.

Aufgrund der fehlenden Altersabhängigkeit wurde eine altersunabhängige Kontrollgruppe erstellt, die alle Alterskategorien von 18 bis 90 Jahren enthielt.



### 3.3 KKM bei immunvermittelten Neuropathien

Bei allen untersuchten immunvermittelten Neuropathien zeigte sich eine Verminderung der kornealen Nervenfaserverparameter sowie eine Zunahme der kornealen Zellen im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe (Abb. 8 und 9).

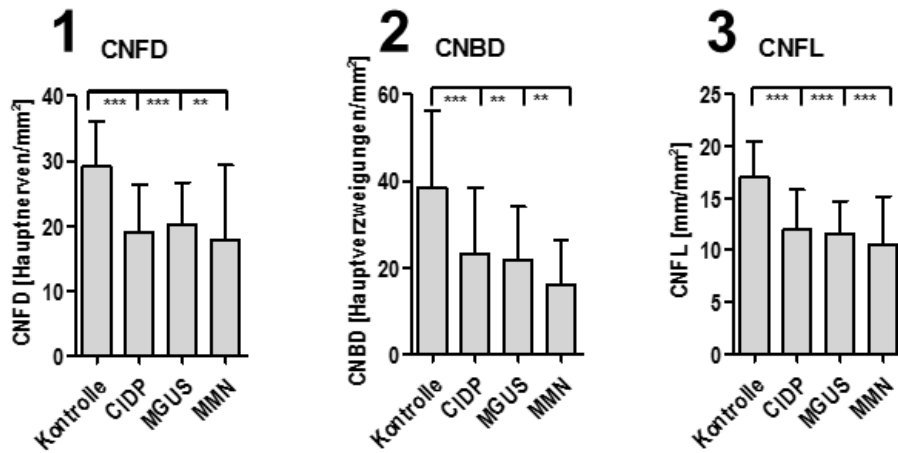


**Abb. 8: Korneale Nervenzellinfiltrate und Nervenfaserverreduktion bei Patienten mit immunvermittelter Neuropathie**

KKM-Bilder des subbasalen Nervenplexus der Kornea. In (1) zeigt sich die Kornea eines gesunden Kontrollobjektes mit subbasalen kornealen Nerven (Pfeil) ohne Zellinfiltrate. Eine Verminderung der kornealen Nervenfasern und konfluierenden Zellinfiltrate (Pfeil) bei einem Patienten mit CIDP sieht man in (2). Modifiziert nach Stettner et al. [215].

Sowohl bei Patienten mit CIDP als auch bei Patienten mit MMN und MGUSN waren die Nervenfaserverparameter korneale Nervenfaserdichte (CNFD), korneale Nervenfaserverzweigungsdichte (CNBD) und korneale Nervenfaserverlänge (CNFL) im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant reduziert (Kontrolle vs. CIDP: CNFD  $p < 0,0001$ , CNBD  $p < 0,0001$ , CNFL  $p < 0,0001$ , Kontrolle vs. MGUS: CNFD  $p < 0,0001$ , CNBD  $p = 0,0026$ , CNFL  $p < 0,0001$ , Kontrolle vs. MMN: CNFD  $p = 0,008$ , CNBD  $p = 0,0031$ , CNFL  $p = 0,001$ ) (Abb. 9.1-3) [215].

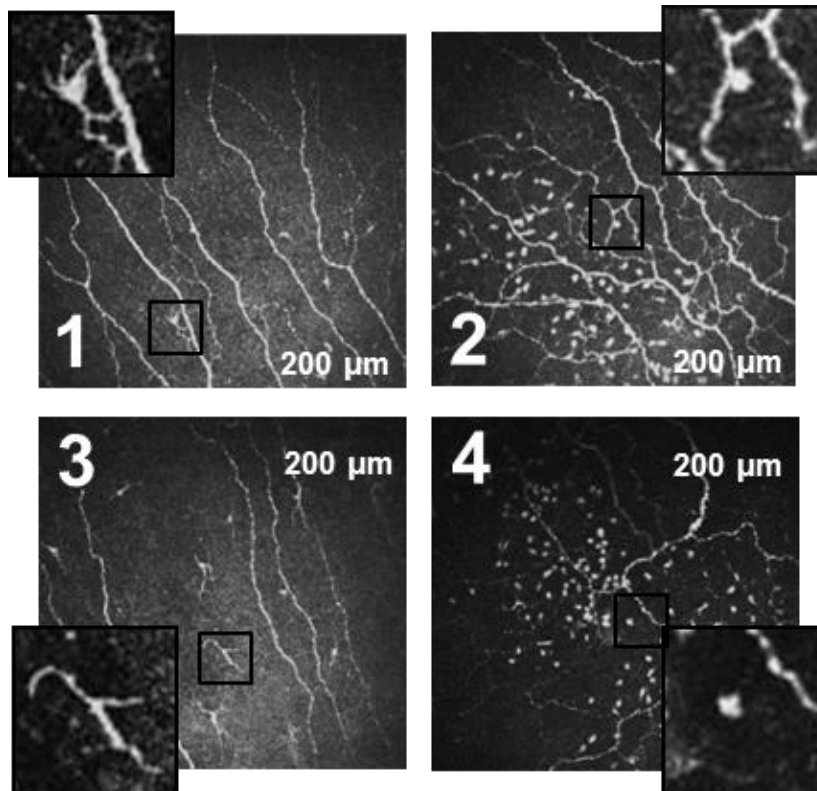
Zwischen den untersuchten Immunneuropathien konnte kein signifikanter Unterschied der Nervenfaserverparameter detektiert werden (CIDP vs. MGUS: CNFD  $p = 0,9662$ , CNBD  $p = 0,9906$ , CNFL  $p = 0,9877$ , CIDP vs. MMN: CNFD  $p = 0,9734$ , CNBD  $p = 0,7061$ , CNFL  $p = 0,7730$ , MGUS vs. MMN: CNFD  $p = 0,9140$ , CNBD  $p = 0,8874$ , CNFL  $p = 0,9292$ ), allerdings zeigten Patienten mit MMN einen Trend zu stärker reduzierten CNBD (Abb. 9.1-3).



**Abb. 9: Korneale Nervenfaserparameter bei Immuneropathien**

Untersuchung der kornealen Nervenfaserparameter bei Patienten mit CIDP (n=77), MGUSN (n=12), MMN (n=6) und gesunden Kontrollen (n=86). Abgebildet sind die korneale Nervenfaserdichte (CNFD) (1), Verzweigungsdichte (CNBD) (2) und korneale Nervenfaserlänge (CNFL) (3). Asteriks definiert den P-Wert wie folgt: \*\*<0,01 und \*\*\*<0,001. Modifiziert nach Stettner et al. [215].

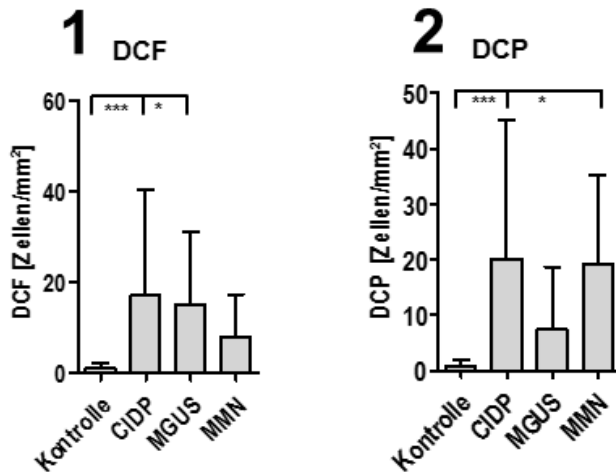
Bei allen Patientengruppen konnten dendritische Zellen in der Kornea nachgewiesen werden (Abb. 10).



**Abb. 10: Korneale Nervenzellinfiltrate und Nervenfaserreduktion bei Patienten mit immunvermittelter Neuropathie**

KKM-Bilder des subbasalen Nervenplexus der Kornea. In (1) ist eine nervennahe dendritische Zelle abgebildet (Box), in (3) sieht man eine dendritische Zelle ohne Nervenfaserkontakt (Box). In (2) handelt es sich um ein KKM-Bild eines CIDP-Patienten mit nichtdendritischen Zellen mit Nervenfaserkontakt (Box), in (4) sind nichtdendritische Zellen ohne Nervenfaserkontakt dargestellt (Box). Modifiziert nach Stettner et al. [215].

Patienten mit CIDP zeigten dabei vermehrt nervennahe dendritische Zellen im Vergleich zu den anderen Patientengruppen (CIDP vs. MGUS: DCF  $p=0,9984$ , CIDP vs. MMN: DCF  $p=0,6781$ ) [215]. Der überwiegende Teil der dendritischen Zellen bei MGUSN Patienten hatte Kontakt zu den Nervenfasern (Abb. 11.1-2) [215].

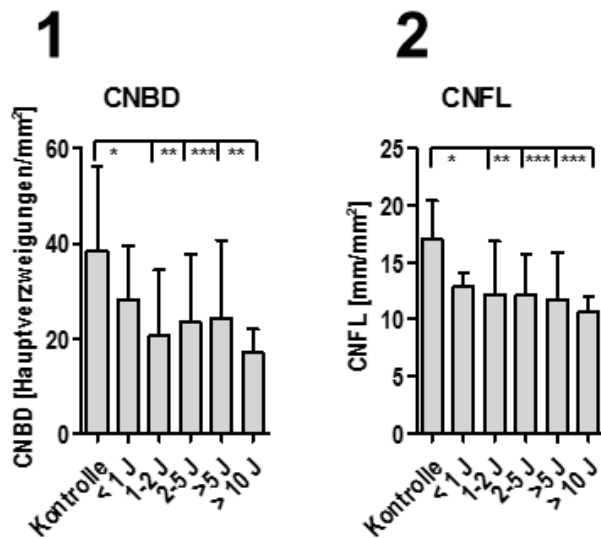


**Abb. 11: DCF und DCP bei Immunneuropathien**

Dendritische Zellen mit Nervenfaserkontakt (DCF) (1) und dendritische Zellen ohne Nervenfaserkontakt (DCP) (2) bei Patienten mit CIDP (n=77), MGUSN (n=12), MMN (n=6) und gesunden Kontrollen (n=86). Asteriks definiert den P-Wert wie folgt: \* $<0,05$  und \*\*\* $<0,001$ . Modifiziert nach Stettner et al. [215].

### 3.4 KKM und Dauer der Erkrankung

Die CIDP-Patienten wurden basierend auf der Zeit, die seit dem Auftreten der ersten Symptome vergangen war, in fünf Gruppen unterteilt:  $<1$  Jahr (n=3), 1-2 Jahre (n=8), 2-5 Jahre (n=32), 5-10 Jahre (n=35) und  $>10$  Jahre (n=6). Zu allen Zeitpunkten waren CNBD und CNFL im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe reduziert ( $<1$  Jahr: CNBD  $p=0,8911$ , CNFL  $p=0,3726$ , 1-2 Jahre: CNBD  $p=0,040$ , CNFL  $p=0,049$ , 2-5 Jahre: CNBD  $p=0,002$ , CNFL  $p=0,0011$ , 5-10 Jahre: CNBD  $p=0,0003$ , CNFL  $p=0,0001$ ,  $>10$  Jahre: CNBD  $p=0,0024$ , CNFL  $p=0,0007$ ) (Abb. 12) [215]. Es zeigte sich eine leicht zunehmende, nicht signifikante Reduktion der kornealen Nervenfaserverparameter in Abhängigkeit von der Dauer der Erkrankung. Bei Patienten, bei denen über 10 Jahre seit Symptombeginn vergangen waren, zeigte sich die stärkste Reduktion der CNBD und CNFL (Abb. 12).

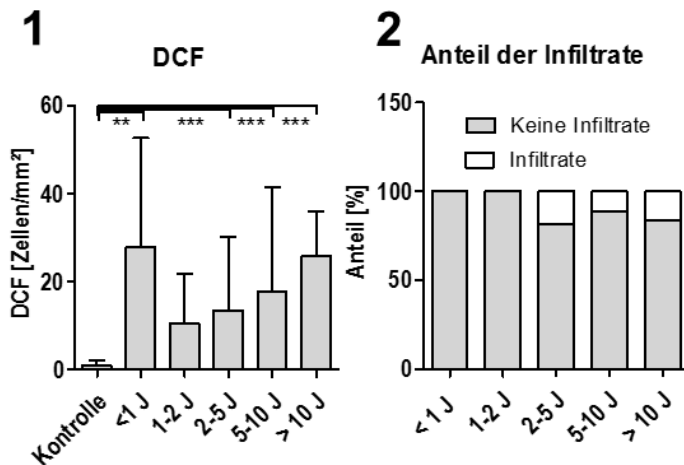


**Abb. 12: Korneale Nervenfaserparameter und Dauer der Erkrankung**

Es erfolgte eine Einteilung der Patienten anhand der Krankheitsdauer. Weniger als 1 Jahr (n=3), 1-2 Jahre (n=8), 2-5 Jahre (n=32), 5-10 Jahre (n=35) und mehr als 10 Jahre (n=6) im Vergleich zur gesunden Kontrolle (n=86). Dargestellt sind die korneale Nervenfaserdichte (CNBD) (1) und Nervenfaserlänge (CNFL) (2) in Abhängigkeit von der Dauer der Erkrankung. Asteriks definiert den P-Wert wie folgt: \* $<0,05$ , \*\* $<0,01$  und \*\*\* $<0,001$ . Modifiziert nach Stettner et al. [215].

Die Anzahl der nervennahen dendritischen Zellen mit Zellfortsätzen (DCF) war signifikant erhöht bei Patienten mit Symptomen  $<1$  Jahr ( $p=0,0091$ ). Bei Patienten mit Symptomen  $>1$  Jahr waren die nervennahen dendritischen Zellen niedriger, aber mit zunehmender Erkrankungsdauer stieg die Anzahl dieser Zellen wieder (Abb. 13.1). Dieser Verlauf der Zellzahl zeigte sich nur bei dendritischen Zellen mit Nervenfaserkontakt. Weder nervennahe nichtdendritische Zellen (NCF) noch die Gesamtanzahl aller Zellen zeigten eine Zunahme abhängig von der Dauer der Erkrankung (Daten nicht dargestellt) [215].

Keiner der Patienten war in den ersten zwei Jahren nach der Diagnose frei von Infiltraten der Kornea, während 18% der Patienten mit einer Erkrankungsdauer zwischen 2 und 5 Jahren, 11% der Patienten mit einer Erkrankungsdauer zwischen 5 und 10 Jahren und 16% der  $>10$  Jahren erkrankten Patienten keine Infiltrate mehr zeigten (keine Infiltrate definiert als  $>10$  Zellen pro mm<sup>2</sup>) (Abb. 13.2) [215].



**Abb. 13: Infiltrate und Dauer der Erkrankung**

Einteilung der Patienten anhand der Krankheitsdauer, also der Zeit seit der ersten Symptomanifestation. Weniger als 1 Jahr (n=3), 1-2 Jahre (n=8), 2-5 Jahre (n=32), 5-10 Jahre (n=35) und mehr als 10 Jahre (n=6) im Vergleich zur gesunden Kontrolle (n=86). Dargestellt sind dendritische Zellen mit Nervenfaserkontakt (DCF) (3) sowie der Anteil der Patienten mit (>10 Zellen pro mm<sup>2</sup>) und ohne Infiltrate (4). Asteriks definiert den P-Wert wie folgt: \*<0,05, \*\*<0,01 und \*\*\*<0,001. Modifiziert nach Stettner et al. [215].

### 3.5 KKM und klinische Präsentation der Patienten

Abhängig von der klinischen Präsentation der CIDP-Patienten wurde ein motorischer, sensorischer und kombiniert sensomotorischer Phänotyp unterschieden. Anschließend wurden die morphometrischen KKM-Resultate mit der klinischen Präsentation der Erkrankung korreliert.

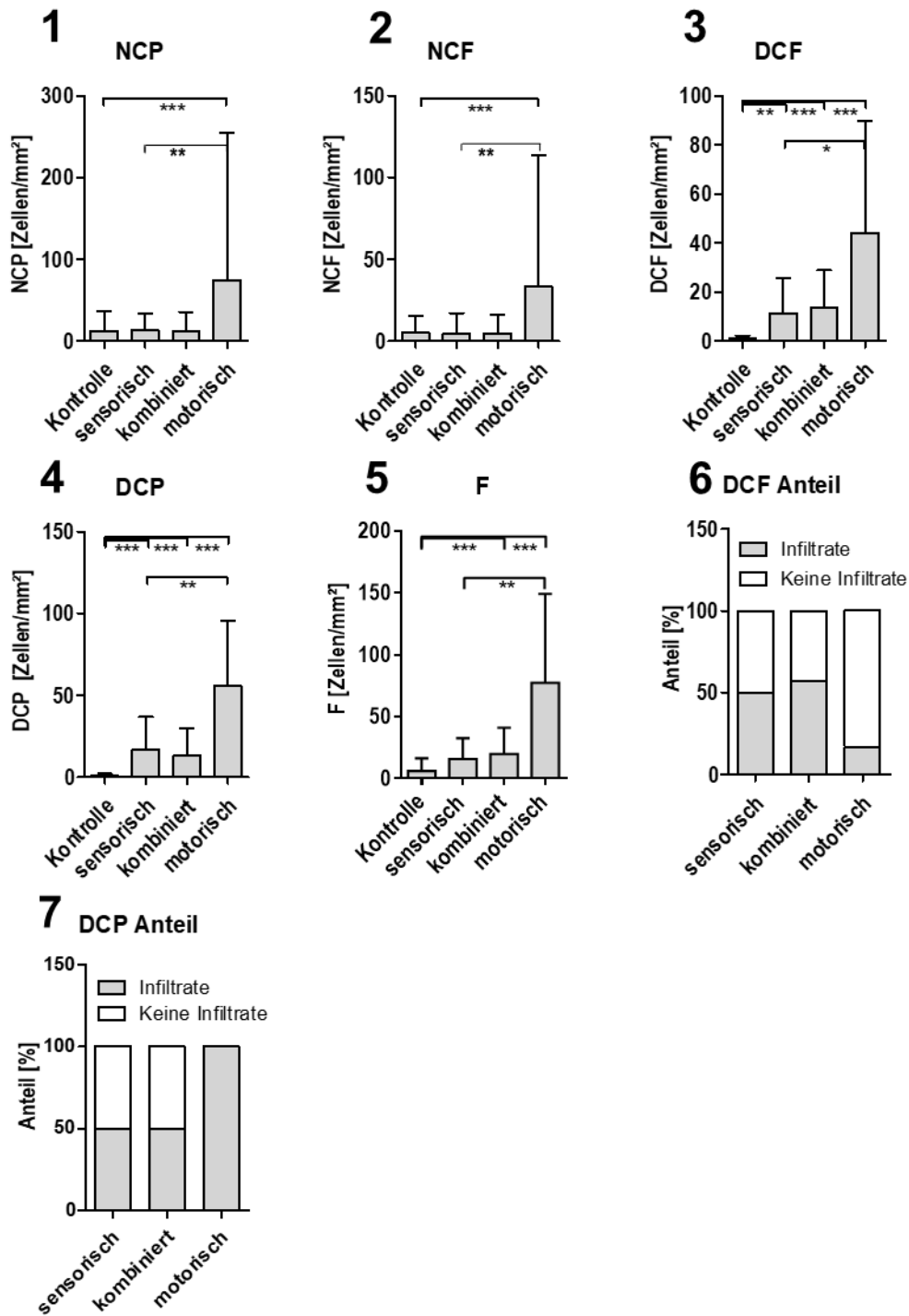
Die drei Nervenfaserparameter CNFD, CNBD und CNFL waren im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe in allen Gruppen signifikant erniedrigt (Kontrolle vs. sensorisch: CNFD  $p < 0,0001$ , CNBD  $p = 0,0002$ , CNFL  $p < 0,0001$ , Kontrolle vs. kombiniert: CNFD  $p < 0,0001$ , CNBD  $p < 0,0001$ , CNFL  $p < 0,0001$ , Kontrolle vs. motorisch: CNFD  $p = 0,0003$ , CNBD  $p = 0,0502$ , CNFL  $p = 0,0020$ ). Es zeigte sich eine etwas stärker ausgeprägte Reduktion der CNFD bei Patienten mit rein motorischer Beteiligung, dieser Unterschied war jedoch nicht signifikant (sensorisch vs. motorisch:  $p = 0,8768$ , kombiniert vs. motorisch:  $p = 0,7772$ ) (Daten nicht dargestellt).

Patienten mit klinisch rein motorischer Einschränkung zeigten eine signifikante Erhöhung der dendritischen und nichtdendritischen Zellen mit und ohne Nervenfaserkontakt im Vergleich zu Patienten mit sensorischen Symptomen und kombinierter sensomotorischer Beteiligung (NCP  $p = 0,0054$ , NCF  $p = 0,0031$ , DCP  $p = 0,0021$ , DCF  $p = 0,0231$ ) (Abb. 14.1–4), außerdem eine signifikante Zunahme der

Summe aller nervennahen Zellen (F) (Abb. 14.5) im Vergleich zur Kontrollgruppe ( $p=0,001$ ) [215].

Infiltrationen der Kornea mit dendritischen Zellen mit Nervenfaserkontakt (DCF) zeigten sich bei 16% der Patienten mit rein motorischer Funktionseinschränkungen, bei 50% der Patienten mit rein sensorischen Defiziten und bei 57% der Patienten mit kombinierter sensorischer und motorischer Beteiligung (keine Infiltrate definiert als  $>10$  Zellen pro  $\text{mm}^2$ ) (Abb. 14.6) [215].

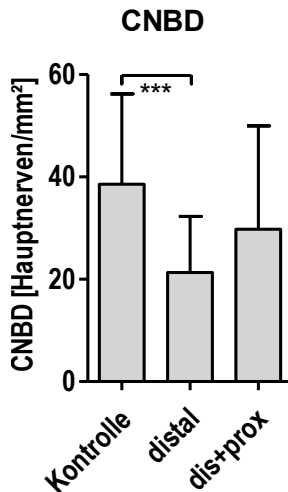
Infiltrationen der Kornea mit dendritischen Zellen ohne Nervenfaserkontakt (DCP) wurden bei 100% der Patienten mit rein motorischer Affektion, bei 50% der Patienten mit rein sensorischer Affektion und bei 50% der Patienten mit kombinierter sensorischer und motorischer Beteiligung gefunden (keine Infiltrate definiert als  $>10$  Zellen pro  $\text{mm}^2$ ) (Abb. 14.7) [215].



**Abb. 14: Korneale Infiltrate und klinische Präsentation**

Die Patienten wurden abhängig von der klinischen Präsentation in rein motorisch (n=6), rein sensorisch (n=18) und kombiniert sensomotorisch (n=56) betroffen eingeteilt. Abgebildet sind die Zellsubtypen im Vergleich zur Kontrollgruppe (n=86). Nichtdendritische Zellen ohne (NCP) (1) und mit Nervenfaserkontakt (NCF) (2), dendritische Zellen mit (DCF) (3) und ohne Nervenfaserkontakt (DCP) (4), Gesamtanzahl aller Zellen mit Nervenfaserkontakt (F) (5) sowie die Anzahl der Patienten mit mehr als 10 Zellen pro mm<sup>2</sup> im Verhältnis zu der Anzahl der Patienten mit weniger als 10 Zellen pro mm<sup>2</sup> dargestellt für dendritische Zellen mit (DCF) (6) und ohne Nervenfaserkontakt (DCP) (7). Asteriks definiert den P-Wert wie folgt: \*<0,05, \*\*<0,01 und \*\*\*<0,001. Modifiziert nach Stettner et al. [215].

Patienten mit typischen distalen sensorischen Symptomen im Vergleich zu distal und proximal betroffenen Patienten wiesen eine nicht signifikant reduzierte korneale Nervenfaserverzweigungsdichte (CNBD) auf ( $p=0,1920$ ) (Abb. 15). Unterschiede bezüglich der kornealen Zellen konnten nicht nachgewiesen werden.



**Abb. 15: Korneale Fasern und Verteilung der Symptome**

Es wurde klinisch zwischen Patienten mit rein distaler ( $n=29$ ) und kombinierter distaler und proximaler Beteiligung (*dis+prox*,  $n=21$ ) differenziert. Patienten mit einer rein distalen sensorischen Krankheitsbeteiligung zeigten eine leichte, nicht signifikante Verminderung der kornealen Nervenfaserverzweigungsdichte (CNBD) (1). Asteriks definiert den P-Wert wie folgt:  $***<0,001$ .

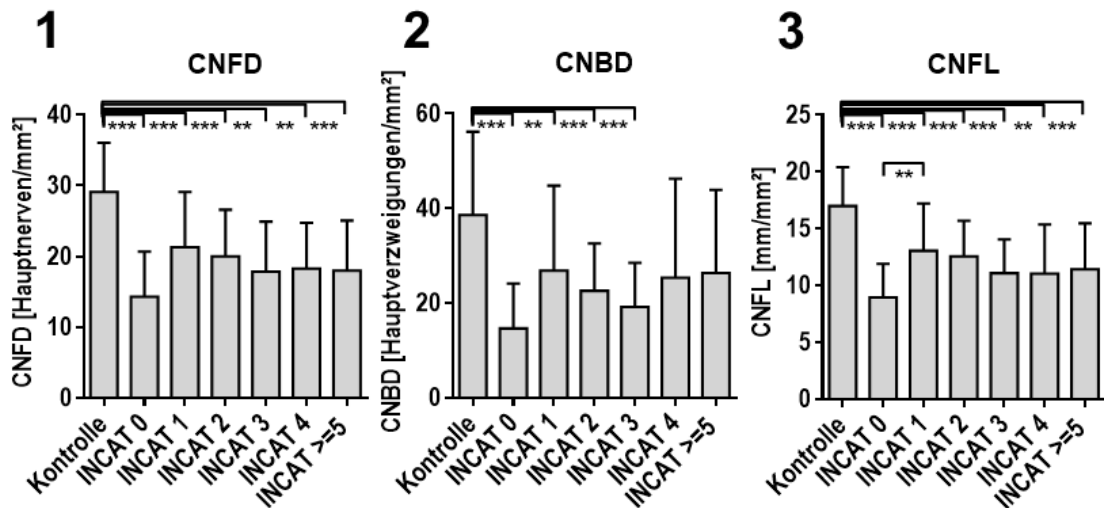
Nur bei 3 von 89 Patienten konnte eine minimale, nicht signifikante Verminderung der kornealen Sensibilität nachgewiesen werden.

### 3.6 KKM und INCAT-Score

Es erfolgte eine Bewertung der motorischen Funktionseinschränkung der CIDP-Patienten mittels INCAT-Score. Basierend auf dem INCAT-Score erfolgte eine Klassifizierung der Patienten (INCAT 0 ( $n=9$ ), INCAT 1 ( $n=32$ ), INCAT 2 ( $n=21$ ), INCAT 3 ( $n=14$ ), INCAT 4 ( $n=5$ ) und INCAT  $\geq 5$  ( $n=8$ )). Bei Patienten ohne motorische Funktionseinschränkung (INCAT=0) zeigten deutlich erniedrigte CNFL und CNFD im Vergleich zu Patienten mit höherer motorischer Funktionseinschränkung (INCAT=1) (CNFD  $p=0,1280$ , CNFL  $p=0,0376$ ) (Abb. 16.1-2) [215]. Überdies konnte keine signifikante Korrelation zwischen der Schwere der motorischen Beteiligung und den Ergebnissen der KKM nachgewiesen werden bei jedoch überwiegend signifikanter Reduktion der Faserparameter für alle Kategorien im Vergleich zu gesunden Kontrollen (Kontrolle vs. INCAT 0: CNFD  $p=<0,0001$ , CNBD  $p=0,0008$ , CNFL  $p=<0,0001$ , Kontrolle vs. INCAT 1: CNFD  $p=<0,0001$ , CNBD  $p=0,0107$ , CNFL  $p=<0,0001$ , Kontrolle vs. INCAT



2: CNFD  $p < 0,0001$ , CNBD  $p = 0,0015$ , CNFL  $p < 0,0001$ , Kontrolle vs. INCAT 3: CNFD  $p < 0,0001$ , CNBD  $p = 0,0010$ , CNFL  $p < 0,0001$ , Kontrolle vs. INCAT 4: CNFD  $p = 0,0178$ , CNBD  $p = 0,5656$ , CNFL  $p = 0,0061$ , Kontrolle vs. INCAT  $\geq 5$ : CNFD  $p = 0,0007$ , CNBD  $p = 0,3921$ , CNFL  $p = 0,0007$ ) (Abb. 16.1–3).

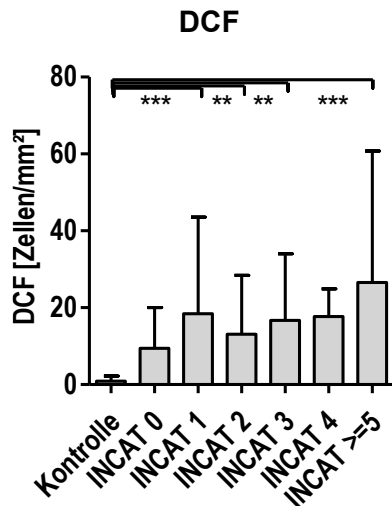


**Abb. 16: KKM und INCAT-Score**

Die motorische Beeinträchtigung bei Patienten mit CIDP wurde mittels des Inflammatory Neuropathy Cause and Treatment (INCAT) Scores quantifiziert (Kontrolle (n=86), INCAT 0 (n=9), INCAT 1 (n=32), INCAT 2 (n=21), INCAT 3 (n=14), INCAT 4 (n=5), INCAT  $\geq 5$  (n=8)) und in Relation zur kornealen Nervenfaserdichte (CNFD) (1), Verzweigungsdichte (CNBD) (2), Nervenfaserlänge (CNFL) (3) gesetzt. Asteriks definiert P-Werte wie folgt: \* $< 0,05$ , \*\* $< 0,01$  und \*\*\* $< 0,001$ . Modifiziert nach Stettner et al. [215].

Dendritische Zellen mit Nervenfaserkontakt (DCF) waren in allen INCAT-Gruppen im Vergleich zur Kontrollgruppe erhöht (Kontrolle vs. INCAT 0:  $p = 0,7145$ , Kontrolle vs. INCAT 1:  $p < 0,0001$ , Kontrolle vs. INCAT 2:  $p = 0,0276$ , Kontrolle vs. INCAT 3:  $p = 0,0109$ , Kontrolle vs. INCAT 4:  $p = 0,2447$ , Kontrolle vs. INCAT  $\geq 5$ :  $p = 0,0003$ ) (Abb. 17.1) [215]. Patienten mit einer ausgeprägten motorischen Beteiligung (INCAT=5) zeigten die stärkste Erhöhung der DCF (Abb. 17.1).

Es wurde zudem ein separater INCAT-Score der oberen und unteren Extremitäten erhoben. Eine signifikante Erniedrigung der kornealen Nervenfaserverparameter CNFD und CNFL konnte lediglich bei Patienten mit einer motorischen Beteiligung (INCAT=0) der unteren Extremität nachgewiesen werden (CNFD  $p = 0,0193$ , CNFL  $p = 0,0062$ ) (Daten nicht dargestellt) [215].



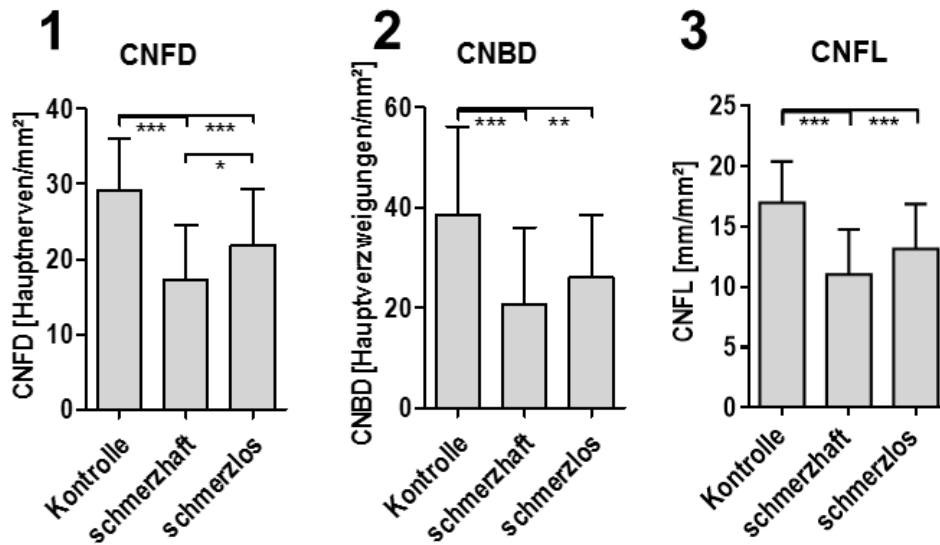
**Abb. 17: DCF und INCAT-Score**

Die motorische Beeinträchtigung wurde mittels Inflammatory Neuropathy Cause and Treatment (INCAT) Scores quantifiziert (Kontrolle (n=86), INCAT 0 (n=32), INCAT 2 (n=21), INCAT 3 (n=14), INCAT 4 (n=5), INCAT ≥5 (n=8)) und in Relation zur kornealen Infiltration mit dendritischen Zellen mit Nervenfaserkontakt (DCF) (1) gesetzt. Asteriks definiert P-Werte wie folgt: \*\*<0,01 und \*\*\*<0,001. Modifiziert nach Stettner et al. [215].

### 3.7 KKM und schmerzhafte Neuropathie

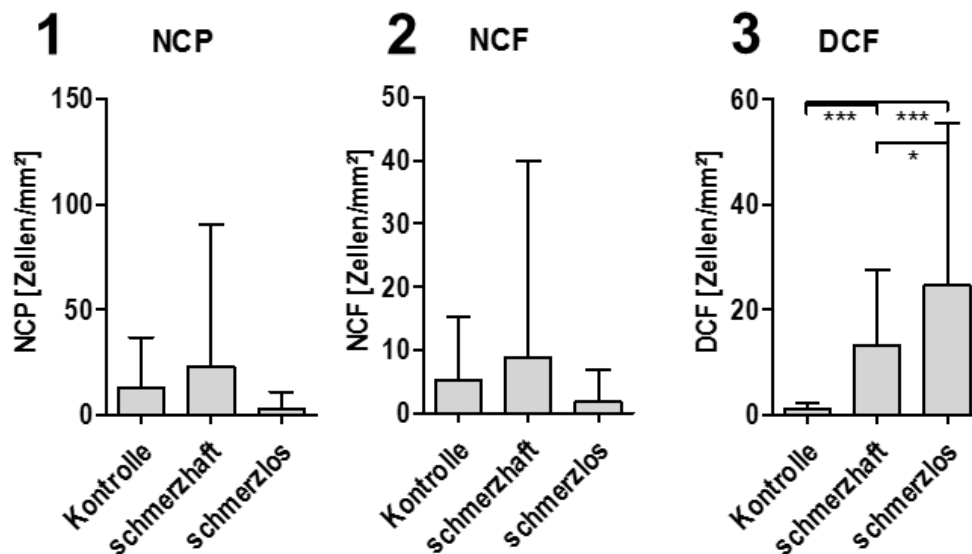
Sowohl bei der schmerzhaften als auch bei der schmerzlosen Neuropathie zeigte sich eine signifikante Reduktion von CNFD, CNBD und CNFL im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe (Schmerzlos: CNFD  $p=0,0002$ , CNBD  $p=0,0071$ , CNFL  $p<0,0001$ , Schmerzhaft: CNFD  $p<0,0001$ , CNBD  $p<0,0001$ , CNFL  $p<0,0001$ ) (Abb. 18.1-3). Zudem war die CNFD bei Patienten mit schmerzhafter Neuropathie im Vergleich zur schmerzlosen Neuropathie signifikant reduziert (CNFD  $p=0,0444$ ) (Abb. 18.1) [215].

Es konnte kein signifikanter Unterschied zwischen der Anzahl der nichtdendritischen Zellen bei Patienten mit schmerzhafter und schmerzloser Neuropathie festgestellt werden (NCP  $p=0,1506$ , NCF  $p=0,3098$ ) (Abb. 19.1-2). Es zeigte sich jedoch eine leichte Verschiebung in Richtung nichtdendritischer Zellen bei Patienten mit schmerzhafter Neuropathie im Vergleich zu Patienten mit schmerzloser Neuropathie. Zudem zeigte sich eine signifikant niedrigere Zahl an dendritischen Zellen mit Nervenfaserkontakt (DCF) bei Patienten mit schmerzhafter Neuropathie ( $p=0,0044$ ) (Abb. 10.3) [215].



**Abb. 18: Korneale Nervenfaserverparameter und schmerzhafte Neuropathie**

Patienten mit entzündlichen Neuropathien wurden klassifiziert in schmerzhaft (n=47) und schmerzlos (n=20). Korneale Nervenfaserdichte (CNFD) (1), Verzweigungsdichte (CNBD) (2) und Nervenfaserverlänge (CNFL) (3) sind dargestellt. Asteriks definiert die P-Werte wie folgt: \* $<0,05$ , \*\* $<0,01$  und \*\*\* $<0,001$ . Modifiziert nach Stettner et al. [215].

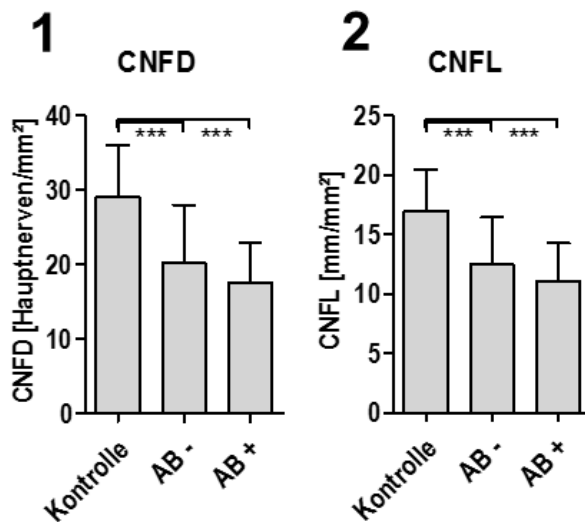


**Abb. 19: Korneale Infiltrate und schmerzhafte Neuropathien**

Patienten mit entzündlichen Neuropathien wurden klassifiziert in schmerzhaft (n=47) und schmerzlos (n=20). Die Anzahl nichtdendritischer Zellen ohne Nervenfaserverkontakt (NCP) (1) und nichtdendritischer Zellen mit Nervenfaserverkontakt (NCF) (2) sowie dendritischer Zellen mit Nervenfaserverkontakt (DCF) (3) sind dargestellt. Asteriks definiert die P-Werte wie folgt: \* $<0,05$  und \*\*\* $<0,001$ . Modifiziert nach Stettner et al. [215].

### 3.8 KKM und laborchemische Diagnostik

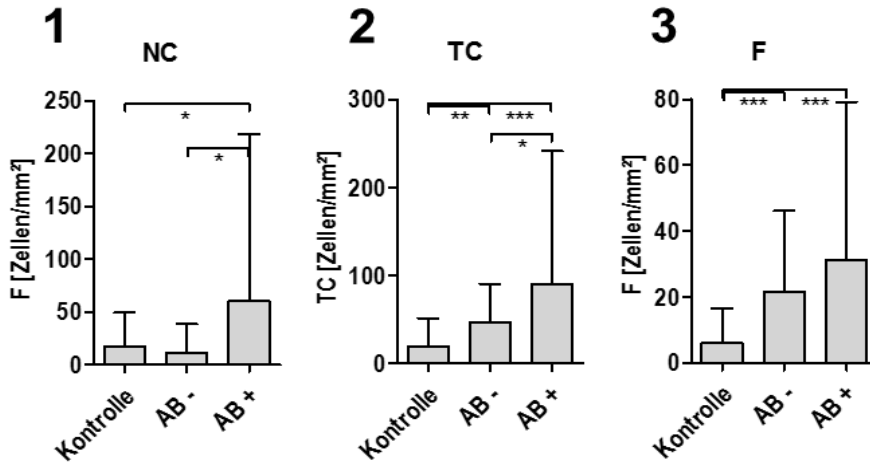
Im Rahmen der routinemäßigen laborchemischen Diagnostik wurden Antikörper gegen gliale, gangliosidische und axonale Epitope untersucht. Patienten mit mindestens einem nachgewiesenen Antikörper wurden als Antikörper-positiv bezeichnet. Es konnte kein signifikanter Unterschied der Nervenfaserverparameter CNFD, CNFL und CNBD bei Antikörper-positiven im Vergleich zu Antikörper-negativen Patienten nachgewiesen werden (CNFD  $p=0,4211$ , CNBD  $p=0,9736$ , CNFL  $p=0,3631$ ) (Abb. 20.1-2) [215]. Jedoch zeigten sowohl Antikörper-positive als auch Antikörper-negative Patienten signifikant reduzierte Nervenfaserverparameter im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe (Kontrolle vs. AK negativ: CNFD  $p<0,0001$ , CNBD  $p<0,0001$ , CNFL  $p<0,0001$ , Kontrolle vs. AK positiv: CNFD  $p<0,0001$ , CNBD  $p=0,0024$ , CNFL  $p<0,0001$ ).



**Abb. 20: Nervenfaserverparameter und Antikörperstatus**

CIDP-Patienten mit Antikörpern (AB+,  $n=16$ ) und ohne Antikörper (AB-,  $n=61$ ) im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe ( $n=86$ ). Korneale Nervenfaserdichte (CNFD) (1) und -länge (CNFL) (2) sind dargestellt. Asteriks definiert die P-Werte wie folgt: \*\*\* $<0,001$ . Modifiziert nach Stettner et al. [215].

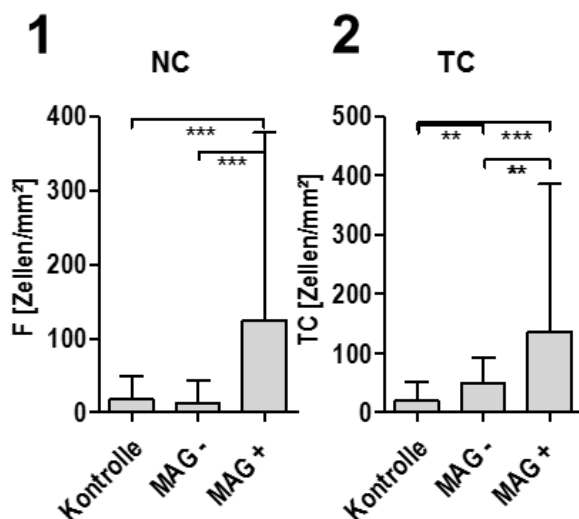
Die Gesamtanzahl nichtdendritischer Zellen und die Gesamtanzahl aller Zellen waren bei den Patienten mit oben genannten Antikörpern im Serum signifikant erhöht (NC  $p<0,04812$ , TC  $p=0,0263$ ) (Abb. 21.1-2). Es konnte kein signifikanter Unterschied der Anzahl nervennaher Zellen zwischen Patienten mit und ohne Antikörpernachweis gezeigt werden, jedoch zeigte sich eine nicht signifikante Zunahme der nervennahen Zellen bei Patienten mit mindestens einem antineuronalen Antikörper im Serum ( $p=0,2636$ ) (Abb. 21.3).



**Abb. 21: Zellinfiltrate und Antikörperstatus**

CIDP-Patienten mit Antikörpern (AB<sup>+</sup>, n=16) und ohne Antikörper (AB<sup>-</sup>, n=61) im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe (n=86). Dargestellt sind die Anzahl nichtdendritischer Zellen (NC) (3), die Gesamtanzahl aller Zellen (TC) (4) und die Anzahl aller nervennahen Zellen (F) (5). Asteriks definiert die P-Werte wie folgt: \*<0,05, \*\*<0,01 und \*\*\*<0,001. Modifiziert nach Stettner et al. [215].

Betrachtet man den positiven Nachweis von Antikörpern gegen das Myelin-assoziierte-Glykoprotein (MAG) so zeigten MAG-positive (MAG<sup>+</sup>) und –negative (MAG<sup>-</sup>) Patienten keinen Unterschied der kornealen Nervenfasernparameter CNFD, CNBD und CNFL (CNFD p=0,9198, CNBD p=0,9677, CNFL p=0,8923) (Daten nicht dargestellt). Die Gesamtanzahl aller Zellen sowie die Anzahl der nichtdendritischen Zellen in der MAG-positiven Gruppe war jedoch, im Vergleich zu den Patienten ohne MAG-Antikörper, signifikant erhöht (TC p=0,0011, NC p=<0,0001) (Abb. 22.1–2) [215].

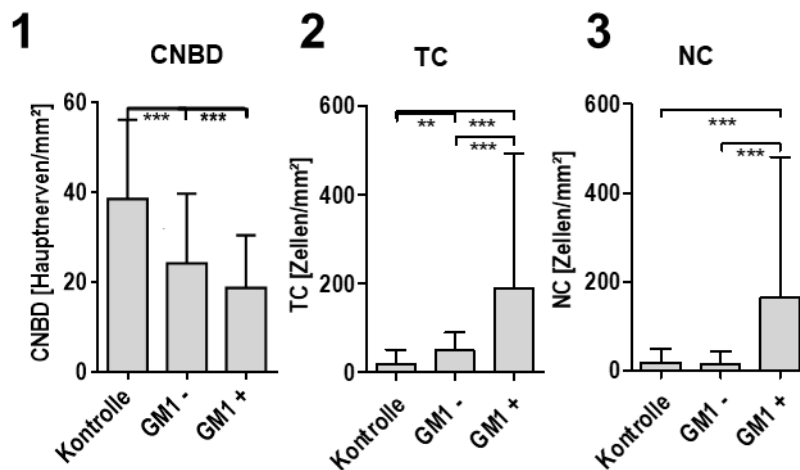


**Abb. 22: KKM und MAG-Antikörperstatus**

Vergleich von CIDP-Patienten mit anti-MAG-Antikörper (MAG<sup>+</sup>, n=6) und ohne anti-MAG-Antikörper (MAG<sup>-</sup>, n=71) sowie gesunder Kontrollgruppe (n=86). Dargestellt sind die Gesamtanzahl nichtdendritischer Zellen (NC) (1) sowie die Gesamtanzahl aller Zellen (TC) (2). Asteriks definiert die P-Werte wie folgt: \*\*<0,01 und \*\*\*<0,001. Modifiziert nach Stettner et al. [215].

Des Weiteren erfolgte eine isolierte Auswertung hinsichtlich des Gangliosid-GM1-Antikörpers. Es konnte kein signifikanter Unterschied bezüglich CNFD, CNBD und CNFL bei Patienten mit GM1- Antikörper (GM1+) und ohne (GM1-) festgestellt werden, bei nicht signifikantem Trend zur Reduktion der CNBD bei GM1-positiven Patienten (CNFD  $p=0,9997$ , CNBD  $p=0,7956$ , CNFL  $p=0,9791$ ) (Abb. 23.1, Daten für CNFD und CNFL nicht dargestellt) [215]. Es zeigte sich jedoch bei allen Patienten eine Verminderung der CNBD im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe (Kontrolle vs. GM1 negativ:  $p<0,0001$ , Kontrolle vs. GM1 positiv:  $p<0,0001$ ) (Abb. 23.1).

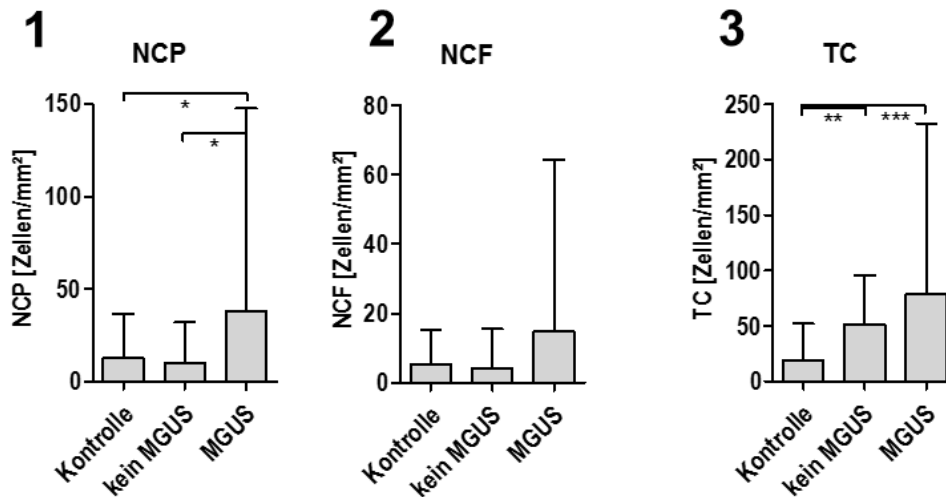
Die Anzahl an nichtdendritischen Zellen und die Gesamtzellzahl war bei GM1+ Patienten im Vergleich zu Patienten ohne GM1 Antikörpern signifikant erhöht (NC  $p<0,0001$ , TC  $p<0,0001$ ) (Abb. 23.2 und 23.3) [215].



**Abb. 23: KKM und GM1-Antikörperstatus**

Vergleich zwischen CIDP-Patienten mit (GM1+, n=4) und ohne anti-GM1 Antikörper (GM1-, n=85) sowie der Kontrollgruppe (n=86) bezüglich der kornealen Nervenfaserverzweigungsdichte (CNBD) (1), der Gesamtanzahl aller Zellen (TC) (2) und der Gesamtsumme der nichtdendritischen Zellen (NC) (3). Asteriks definiert die P-Wert wie folgt: \*\*<0,01 und \*\*\*<0,001. Modifiziert nach Stettner et al. [215].

Bei Patienten mit und ohne MGUS konnte kein signifikanter Unterschied zwischen CNFD, CNBD und CNFL gezeigt werden (CNFD  $p=0,7908$ , CNBD  $p=0,7219$ , CNFL  $p=0,9634$ ) (Daten nicht dargestellt). Die Anzahl der nichtdendritischen Zellen mit Nervenfaserkontakt (NCF) und die Gesamtanzahl aller Zellen waren bei Patienten mit MGUS nicht signifikant erhöht (NCF  $p=0,0774$ , TC  $p=0,1980$ ) während die Anzahl der nichtdendritischen Zellen ohne Nervenfaserkontakt (NCP) bei Patienten mit einem Nachweis von MGUS signifikant erhöht waren (NCP  $p=0,0262$ ) (Abb. 24.1-3) [215].

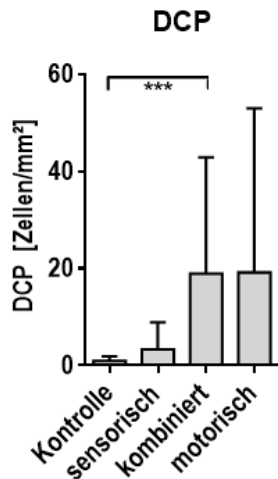


**Abb. 24: KKM und MGUS**

Vergleich zwischen CIDP-Patienten mit ( $n=16$ ) und ohne MGUS ( $n=71$ ) sowie der Kontrollgruppe ( $n=86$ ) bezüglich nichtdendritischer Zellen mit (NCF) (1) und ohne Nervenfaserkontakt (NCP) (2) und der Gesamtanzahl aller Zellen (TC) (3). Asteriks definiert die P-Wert wie folgt:  $* < 0,05$ ,  $** < 0,01$  und  $*** < 0,001$ .

### 3.9 KKM und elektrophysiologische Ergebnisse

Anhand der elektrophysiologischen Befunde wurden die Patienten in verschiedene Subgruppen klassifiziert. Zum einen wurde ein motorischer, sensorischer und kombinierter sensomotorischer Schaden unterschieden, zum anderen wurde zwischen axonalem und demyelinisierendem Nervenschaden differenziert. Patienten mit rein motorischem und kombiniert sensomotorischem Schaden zeigten eine erhöhte Anzahl dendritischer Zellen ohne Nervenfaserkontakt (DCP) (Kontrolle vs. kombiniert:  $p < 0,001$ , Kontrolle vs. motorisch:  $p=0,1416$ ) (Abb. 25.1).



**Abb. 25: DCP und elektrophysiologische Ergebnisse**

Vergleich der Patienten mit rein motorischem (n=4), rein sensorischem (n=4) und kombiniert sensomotorischem Nervenschaden (n=79) sowie der Kontrollgruppe (n=86) bezüglich der Anzahl dendritischer Zellen ohne Nervenfaserkontakt (DCP) (1). Asteriks definiert die P-Wert wie folgt: \*\*\*<0,001.

Außerdem zeigte sich eine nicht signifikant zunehmende Reduktion der kornealen Nervenfasernparameter bei Patienten mit kombiniertem axonalen und demyelinisierenden Schaden (Daten nicht dargestellt).

### 3.10 KKM und autonome Dysfunktion

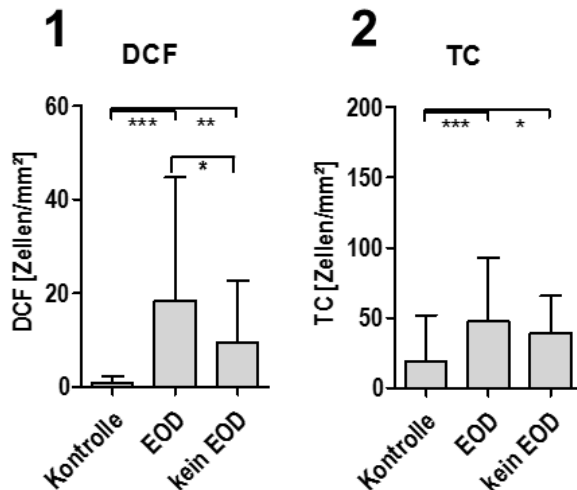
Anhand der Befunde der sympathischen Hautantwort (SSR) und der Herzratenvariabilität (HRV) wurde das Patientenkollektiv in eine Subgruppe mit und ohne autonome Dysfunktion klassifiziert. Die Korrelation der morphologischen Ergebnisse der KKM (Faser- wie auch Zellparameter) von Patienten mit und ohne Nachweis autonomer Dysfunktion erbrachte jedoch keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen (CNFD p=0,3877, CNBD p=0,8727, CNFL p=0,2541, NCP p=0,1472, NCF p=0,4001, DCP p=0,7913, DCF p=0,7631) (Daten nicht dargestellt).

### 3.11 KKM und weitere Parameter entzündlicher Aktivität

#### 3.11.1 KKM und End-of-Dose-Effekt

Zwischen Patienten mit und ohne End-of-Dose-Effekt fand sich kein signifikanter Unterschied der Nervenfasernparameter CNFD, CNBD und CNFL (CNFD p=0,9800, CNBD p=0,9171, CNFL p=0,9236) (Daten nicht dargestellt).





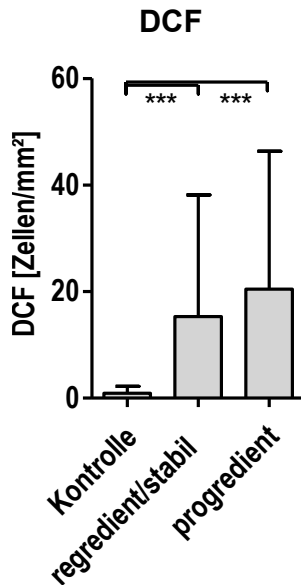
**Abb. 26: End-of-Dose-Effekt und korneale Infiltrate**

Dendritische Zellen mit Nervenfaserkontakt (DCF) (1) und die Anzahl der Gesamtzellen (TC) (2) bei Patienten mit (n=28) und ohne (n=27) End-of-Dose-Effekt. Asteriks definiert die P-Wert wie folgt: \* $<0,05$ , \*\* $<0,01$  und \*\*\* $<0,001$ .

Es zeigte sich jedoch eine signifikante Erhöhung dendritischer Zellen mit Nervenfaserkontakt (DCF) ( $p=0,0295$ ) und eine leichte, nicht signifikant erhöhte Anzahl der Gesamtzellen (TC) ( $p=0,6407$ ) bei Patienten mit End-of-Dose-Effekt (Abb. 26.1-2).

### 3.11.2 KKM und Krankheitsverlauf

Im Kollektiv wurden Patienten mit einem stabilen Krankheitsverlauf, Patienten mit klinischer Regredienz und klinischer Progredienz unterschieden. Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf die Nervenfaserparameter CNFD, CNBD und CNFL (regredient/stabil vs. progredient: CNFD  $p=0,7741$ , CNBD  $p=0,3111$ , CNFL  $p=0,5382$ ) (Daten nicht dargestellt). Lediglich eine minimale, nicht signifikante Zunahme dendritischer Zellen mit Nervenfaserkontakt (DCF) bei Patienten mit progressivem Krankheitsverlauf konnte beobachtet werden ( $p=0,3906$ ) (Abb. 27). Es zeigte sich jedoch bei allen Subgruppen eine signifikante Erhöhung der dendritischen Zellen mit Nervenfaserkontakt (DCF) im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe (Kontrolle vs. regredient/stabil:  $p=<0,0001$ , Kontrolle vs. progredient:  $p=<0,0001$ ) (Abb. 27).



**Abb. 27: KKM und Krankheitsverlauf**

Vergleich zwischen Patienten mit klinischer Progredienz (n=25) sowie Patienten mit klinischer Regredienz und mit einem klinisch stabilen Krankheitsverlauf (n=43) sowie der Kontrollgruppe (n=86) bezüglich dendritischer Zellen mit Nervenfaserkontakt (DCF) (1). Asteriks definiert die P-Wert wie folgt: \*\*\*<0,001.

### 3.11.3 KKM und Therapieansprechen auf intravenöse Immunglobuline

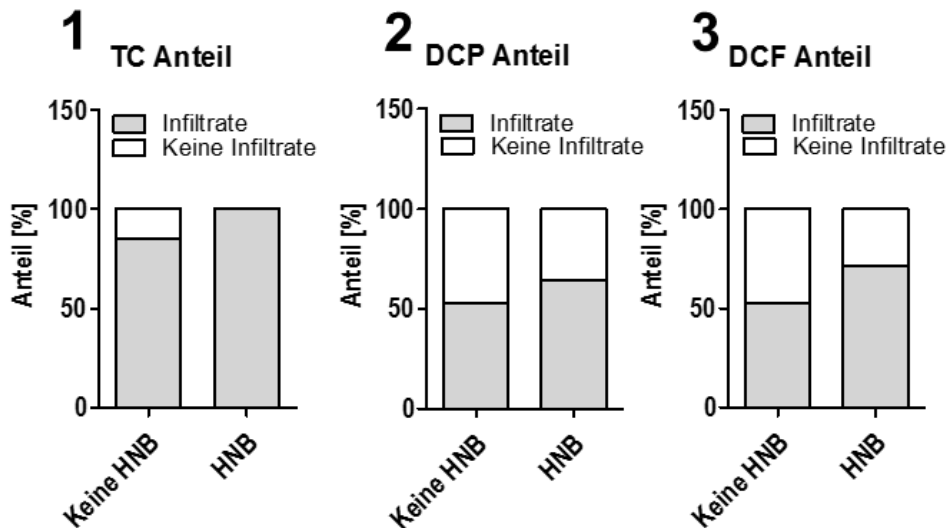
Patienten mit gutem Ansprechen auf eine intravenöse Therapie mit Immunglobulinen (Responder) zeigten einen nicht-signifikanten Trend der Reduktion der CNFD (p=0,2785) und einen nicht signifikanten Anstieg der nichtdendritischen Zellen im Vergleich zu Nonrespondern (NCP p=0,3696, NCF p=0,5162) (Daten nicht dargestellt).

### 3.11.4 KKM und Hirnnervenbeteiligung

Beim Vergleich von Patienten mit und ohne Hirnnervenbeteiligung konnte kein Unterschied der Nervenfaserparameter CNFD, CNBD und CNFL festgestellt werden (CNFD p=0,99, CNBD p=0,99, CNFL p=0,99) (Daten nicht dargestellt). Jedoch konnten bei 100% der Patienten mit einer Hirnnervenbeteiligung Infiltrate der Hornhaut nachgewiesen werden, während Patienten ohne Hirnnervenbeteiligung nur zu 85% Zellinfiltrate (keine Infiltrate definiert als >10 Zellen pro mm²) aufwiesen.

Eine weitere Differenzierung der Zellen ergab, dass bei 64% der Patienten mit Hirnnervenbeteiligung dendritische Zellen ohne Nervenfaserkontakt (DCP) nachgewiesen werden konnten, während nur bei 52% der Patienten ohne

Hirnnervenbeteiligung DCP nachzuweisen waren (keine Infiltrate definiert als >10 Zellen pro mm<sup>2</sup>). Hinsichtlich der dendritischen Zellen ohne Nervenfaserkontakt (DCF) konnten bei 71% der Patienten mit Hirnnervenbeteiligung und nur bei 52% der Patienten ohne Hirnnervenbeteiligung dendritische Zellen mit Nervenfaserkontakt nachgewiesen werden (keine Infiltrate definiert als >10 Zellen pro mm<sup>2</sup>) (Abb. 28.1-3).



**Abb. 28: KKM und Hirnnervenbeteiligung**

Es wurde zwischen Patienten mit (n=14) und ohne (n=74) Hirnnervenbeteiligung differenziert. Dargestellt sind der Anteil der Patienten, bei denen Zellen der Kornea nachgewiesen werden konnten (>10 Zellen pro mm<sup>2</sup>) (1), der Anteil der Patienten mit dendritischen Zellen ohne (DCP) (2) und mit (DCF) (3) Nervenfaserkontakt (>10 Zellen pro mm<sup>2</sup>).

### 3.12 KKM und Confounder

In der untersuchten Patientengruppe konnte in der Confounder-Analyse der Nervenfaserverparameter für Geschlecht, Bluthochdruck, Diabetes und das Vorliegen einer Spinalkanalstenose ein relevanter Einfluss als Störfaktor (*confounder*) ausgeschlossen werden. Die Regressionsanalysen zeigten keinen störenden Effekt durch das Vorliegen eines Diabetes mellitus [215].

Es konnte kein Unterschied der Nervenfaserverparameter CNFD, CNBD und CNFL abhängig vom Alter der Patienten beobachtet werden. Es zeigte sich lediglich eine leichte, altersabhängige Zunahme der infiltrierenden Gesamtzellen bei gesunden Kontrollen, jedoch konnte ein konfundierender Effekt durch eine Regressionsanalyse ausgeschlossen werden [215].

## **4 Diskussion**

### **4.1 Konfokale *in vivo*-Mikroskopie in der Literatur**

Bisher liegen wenige Daten zur diagnostischen Wertigkeit der konfokalen kornealen Mikroskopie bei Patienten mit chronisch inflammatorischer demyelinisierender Neuropathie und anderen immunvermittelten Neuropathien vor. Lediglich eine kleine Studie mit einer Kohorte von 16 Patienten hat sich bislang mit der Analyse der kornealen Nervenfaserverparameter bei CIDP beschäftigt [221]. In der vorliegenden Arbeit wurde erstmalig eine Einteilung der CIDP in krankheitsspezifische Unterkategorien vorgenommen und in Relation zu den morphologischen Ergebnissen der KKM gesetzt. Außerdem wurde erstmalig eine differentielle Analyse der kornealen Nervenzellinfiltrate bei immunvermittelten Neuropathien durchgeführt.

### **4.2 Reduktion der kornealen Nervenfasern und erhöhte Anzahl von Nervenzellinfiltraten bei Immunneuropathien**

In der vorliegenden Arbeit wurde das Potential der konfokalen kornealen Mikroskopie zur Beurteilung der Nervenfaserbeteiligung und der Immunzellinfiltration in der Kornea bei immunvermittelten Neuropathien im Zusammenhang mit klinischen und paraklinischen Parametern betrachtet. Es konnte sowohl bei Patienten mit CIDP als auch bei Patienten mit MGUSN und MMN eine signifikante Reduktion der kornealen Nervenfaserverparameter CNFL, CNFD und CNBD im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe nachgewiesen werden. Die vorliegenden Ergebnisse bestätigen kürzlich veröffentlichte Daten, die eine Reduktion von kornealen Nervenfaserverparametern in einer Kohorte von 16 Patienten mit CIDP nachweisen [221]. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit werden zudem von vorangegangenen Studien unterstützt, die zum einen eine Verminderung der intraepidermalen Nervenfaserdichte [62] und zum anderen eine Degeneration unmyelinisierter Nervenfasern in Suralisbiopsien bei Patienten mit CIDP zeigten [60]. Vermutlich entsteht eine sekundäre Schädigung der kleinen unmyelinisierten A $\delta$ - und C-Fasern durch oxidativen Stress, endoneurale Makrophagen sowie weitere Immunzellen [12].

Erstaunlicherweise erbrachte die vorliegende Untersuchung bei Patienten mit multifokaler motorischer Neuropathie die stärkste Erniedrigung der kornealen Nervenfaserverparameter als Hinweis auf einen axonalen Nervenschaden. Dies ist

verwunderlich, da es sich bei der MMN *per definitionem* um eine die motorischen Fasern betreffende Erkrankung handelt. So kann in der elektrophysiologischen Untersuchung bei der MMN zumeist eine isolierte motorische Affektion mit elektrophysiologischen Leitungsblöcken bei fehlender elektrophysiologischer Beteiligung der sensorischen Nervenfasern nachgewiesen werden [222]. Vorangegangene Studien belegen, dass bei der Mehrheit der Patienten mit MMN eine langsam progrediente axonale Degeneration festgestellt werden kann [223]. Passend zu den von uns erhobenen Daten liegen jedoch Studien vor, die zudem sensorische Defizite im Verlauf der Erkrankung beschreiben [224]. Müller et al. belegten, dass es bei Patienten mit einer Reduktion des Nervenaktionspotentials des sensiblen Nervus suralis (SNAP) eine schwerere Ausprägung der MMN und eine stärkere axonale Beteiligung vorliegt [225]. Der zugrundeliegende Mechanismus der sensiblen Beteiligung bei MMN-Patienten ist jedoch bisher nicht abschließend geklärt. Einige Autoren vermuten, dass eine Subgruppe von MMN-Patienten eventuell im Verlauf eine elektrophysiologisch fassbare sensorische Beteiligung entwickelt und diese Subgruppe den Übergang zwischen der klassischen MMN und dem Lewis-Sumner-Syndrom bilden könnte [224]. Die verminderten kornealen Nervenfaserverparameter ohne klinische sensorische Beteiligung sind möglicherweise durch die hohe Sensitivität der KKM zu erklären. Vorangegangene Studien zeigten, dass bei Diabetes-Patienten, deren elektrophysiologische Untersuchungen und quantitative sensorische Testung noch unauffällig sind, mittels KKM bereits eine Verminderung der kornealen Nerven nachgewiesen werden kann [175]. In dem vorliegenden Kollektiv fanden sich lediglich sechs MMN Patienten. Folglich sind weitere Studien mit einer größeren Patientenkohorte notwendig, um zu evaluieren, in welchem Ausmaß Patienten mit MMN pathologische Ergebnisse in der KKM haben und ob die kornealen Nervenschäden mit den jeweiligen klinischen und paraklinischen Parametern korrelieren.

In der vorliegenden Arbeit konnten erhöhte zelluläre Infiltrate in der Kornea bei Patienten mit CIDP, MGUSN und MMN festgestellt werden, welche möglicherweise zugrundeliegende Immunmechanismen dieser Erkrankungen abbilden. In jüngst veröffentlichten Studien konnten mittels KKM eine erhöhte Anzahl an Langerhans-Zellen im subbasalen Nervenplexus der Kornea bei Patienten mit Diabetes nachgewiesen werden [157]. Anhand der Morphologie wurden dendritische und nichtdendritische Zellen unterschieden. Es wird angenommen, dass bei Mäusen mit Diabetes der direkte Kontakt zwischen dendritischen Zellen und kornealen Nervenfasern im subbasalen Plexus den Nervenschaden triggert [226]. Die mögliche immunpathologische Rolle der zellulären Infiltrate wird weiter unten in dieser Arbeit diskutiert.

### **4.3 Verlust kornealer Nervenfasern bei zunehmender Erkrankungsdauer**

In der vorliegenden Arbeit konnte bei den CIDP-Patienten abhängig von der Erkrankungsdauer ein zunehmender Verlust kornealer Nervenfasern beobachtet werden. Dies steht im Einklang mit zuvor veröffentlichten Studien, in denen ein chronisch progressiver Verlauf der Erkrankung beschrieben wird [12]. Bei gesunden Patienten hingegen zeigt sich der korneale Nervenfasernstatus abhängig von der Zeit stabil [227]. Zudem konnte bei den CIDP-Patienten in der vorliegenden Untersuchung bereits im ersten Jahr nach Krankheitsbeginn eine deutliche Reduktion der kornealen Nervenfasernparameter nachgewiesen werden. Schon Quattrini et al. zeigten, dass die *in vivo*-KKM eine nicht-invasive Methode zur Bestimmung früher Veränderungen des Nervenfasernstatus der Kornea darstellt und somit schon in frühen Erkrankungsphasen der diabetischen Neuropathie zur Sicherung der Diagnose beitragen kann. Die Elektroneurographie hingegen eignet sich lediglich zur Evaluation der großen myelinisierten Nervenfasern [76]. Die vorliegenden Daten bestätigen die KKM als Methode zum frühen Nachweis eines Nervenschadens.

### **4.4 Verminderte Nervenfasernparameter bei Patienten mit niedrigem INCAT-Score**

Darüber hinaus konnten wir in der vorliegenden Arbeit keine Reduktion der kornealen Nervenfasernparameter in Abhängigkeit vom INCAT-Score beobachten. Es zeigte sich allerdings, dass Patienten ohne motorische Beteiligung (INCAT=0) deutlich erniedrigte Nervenfasernparameter im Vergleich zu Patienten mit einer leichten motorischen Beteiligung (INCAT=1) hatten. Möglicherweise ist dies dadurch zu erklären, dass korneale Nervenfasern sensible Fasern sind und Patienten mit einem INCAT-Score von 0 eine vorwiegend sensorische Neuropathie zu haben scheinen. Zudem weisen Patienten ohne motorischen Funktionsverlust höchstwahrscheinlich eine kürzere Erkrankungsdauer und folglich eine kürzere Therapiedauer auf. Diese Annahme wird durch die Beobachtung unterstützt, dass niedrigere korneale Nervenfasernparameter gerade mit einem Fehlen an motorischen Symptomen der unteren Extremität assoziiert sind und die Symptome bei der klassischen CIDP typischerweise in den unteren Extremitäten beginnen [216].

#### **4.5 Reduktion der kornealen Nervenfaserverparameter bei Patienten mit schmerzhafter Neuropathie**

Der Verlust von wenig myelinisierten A $\delta$ -Fasern und unmyelinisierten C-Fasern ist mit einer autonomen Dysfunktion und neuropathischem Schmerz assoziiert [228]. In der vorliegenden Untersuchung konnte gezeigt werden, dass CIDP-Patienten mit schmerzhafter Neuropathie, im Vergleich zu Patienten mit schmerzloser Neuropathie, eine stärkere Reduktion der kornealen Nervenfasern aufweisen. Dieses Ergebnis steht im Einklang mit zuvor veröffentlichten Studien, die feststellen konnten, dass Diabetes-Patienten mit schmerzhafter Neuropathie eine stärkere Erniedrigung der epidermalen und kornealen Nervenfaserdichte im Vergleich zu Patienten mit schmerzloser Neuropathie zeigen [76]. Von Interesse wäre, inwieweit die Reduktion der kornealen Nervenfasern, schon bevor Schmerzen im Erkrankungsverlauf auftreten, diese im Sinne eines prädiktiven Markers vorhersagen kann. Weitere prospektive Studien sind hierzu notwendig.

#### **4.6 Verminderte CNBD bei Patienten mit kombiniert axonal-demyelinisierendem Schaden**

Die vorliegenden Beobachtungen zeigten, dass ein kombiniert axonal-demyelinisierender Schaden zu einer stärkeren Verminderung des kornealen Nervenfaserverparameters CNBD führt als ein rein axonaler oder ein rein demyelinisierender Schaden. Bei CIDP-Patienten mit einem primär klassisch demyelinisierenden Erkrankungsmuster tritt der axonale Schaden häufig erst sekundär im Verlauf der Erkrankung auf [32, 229, 230]. Die starke Verminderung der CNBD bei Patienten mit kombiniert axonal-demyelinisierendem Schaden ist somit möglicherweise durch den längeren Krankheitsverlauf zu erklären. Die Ausprägung des axonalen Schadens hat zudem einen stärkeren Einfluss auf die Langzeitprognose der CIDP als die demyelinisierende Schädigung [12]. Bei dem klinisch nahen verwandten Guillain-Barré-Syndrom haben Patienten mit längerem oder schwerem Krankheitsverlauf und schlechter Prognose häufig einen kombinierten Schaden [231]. In diesem Kontext ist die CNBD Reduktion der CIDP-Patienten mit axonal-demyelinisierendem Schaden zu diskutieren. Die KKM könnte folglich in Zukunft dabei helfen Patienten mit einem besonders langen und schweren Krankheitsverlauf zu identifizieren, weitere Untersuchungen sind diesbezüglich jedoch notwendig.

## 4.7 Korneale Sensibilitätstestung

In der vorliegenden Arbeit konnte keine signifikante Reduktion der kornealen Sensibilität, welche klinisch mittels eines Luneau-Ästhesiometers getestet wurde, bei Patienten mit CIDP und anderen entzündlichen Neuropathien nachgewiesen werden. Folglich ergab sich auch keine Korrelation zwischen der Faserreduktion in der Kornea und der klinisch (nicht nachweisbaren) Reduktion der kornealen Sensibilität. Dies steht im Gegensatz zu einer zuvor veröffentlichten Studie, bei der eine leichte, nicht signifikante Verminderung der kornealen Sensitivität bei CIDP-Patienten festgestellt werden konnte [232]. Diese Diskrepanz legt die Vermutung nahe, dass die morphologischen Veränderungen der kornealen Innervation weitaus früher einsetzen als eine mögliche klinische Symptomatik. Diese These wird durch frühere Studien unterstrichen, die gezeigt haben, dass die konfokale korneale Mikroskopie im Vergleich zu kornealen Sensitivitätstestung eine frühere Detektion von Neuropathien ermöglicht [192]. Klinisch ergaben sich in der vorliegenden Untersuchung beim Großteil der Patienten keine Augensymptomatik.

## 4.8 Zellinfiltration der Kornea bei verschiedenen Subgruppen der CIDP

In der vorliegenden Untersuchung konnten wir zeigen, dass bei verschiedenen klinischen Subgruppen der CIDP eine Erhöhung der kornealen Zellinfiltration vorlag. Wir subtypisierten die Zellen anhand ihrer Morphologie in vier Untergruppen. Es wurde zwischen nichtdendritischen Zellen mit und ohne Nervenfaserkontakt, sowie dendritischen Zellen mit und ohne Nervenfaserkontakt unterschieden.

Es zeigte sich eine INCAT-abhängige Zunahme der dendritischen Zellen mit Nervenfaserkontakt. Patienten mit einer ausgeprägten motorischen Beteiligung (INCAT=5) zeigten hierbei die stärkste Erhöhung der DCF. Dieser Zelltyp korreliert folglich mit der Schwere der motorischen Betroffenheit der Patienten und könnte eine Rolle bei der Inflammation im peripheren Nervensystem spielen.

Parallel hierzu konnte in der vorliegenden Arbeit dargestellt werden, dass Patienten mit einer ausschließlich motorischen Affektion des Nervensystems eine erhöhte Anzahl an infiltrierenden Zellen der Kornea, insbesondere Zellen mit Nervenfaserkontakt, aufweisen. Motorische Funktionsverluste sind ein typisches Merkmal der CIDP. Auch Patienten mit primär sensorischen Symptomen entwickeln häufig im Krankheitsverlauf motorische Funktionsverluste [22, 210]. Ebenfalls basieren die Kriterien der *European*



*Federation of Neurological Societies/Peripheral Nerve Society* hauptsächlich auf den motorischen Krankheitssymptomen [55]. Das gute Ansprechen der Patienten mit vorwiegend motorischen Symptomen auf intravenöse Immunglobuline [233] lässt darauf schließen, dass Patienten dieser Subgruppe eine ausgeprägte entzündliche Krankheitsaktivität aufweisen. So konnte in vorangegangenen Studien gezeigt werden, dass eine Schädigung der Blut-Nerven-Schranke, als Merkmal entzündlicher Aktivität, vermehrt bei typischer, vorwiegend motorischer CIDP auftritt [234]. Im Lichte dieser Daten könnten die in der vorliegenden Arbeit insbesondere bei motorisch betroffenen Patienten detektierte, erhöhte Anzahl an dendritische Zellen mit Nervenfaserkontakt ein Korrelat der vorhandenen Neuroinflammation sein.

Des Weiteren konnten wir zeigen, dass Patienten mit zumindest einem Antikörper gegen gliale, gangliosidische und axonale Epitope eine erhöhte Zahl der Gesamtzellen und einen Anstieg der nichtdendritischen Zellen (im Gegensatz zu den oben beschriebenen dendritischen Zellen) mit Nervenkontakt aufweisen, selbiges gilt für Patienten mit Nachweis von MAG-Antikörpern. Der Beitrag von Antikörpern zur Pathogenese der CIDP wird schon seit längerem diskutiert. Dalakas et. al. konnten Immunglobulin- und Komplementablagerungen auf myelinisierten Nervenfasern sowie die Präsenz von oligoklonalen Banden in der Liquorpunktion nachweisen. Zudem konnte in vergangenen Studien gezeigt werden, dass durch den Transfer von IgG-Antikörpern von Patienten mit CIDP bei Ratten ein Leitungsblock sowie eine Demyelinisierung der Nerven hervorgerufen werden konnte [235]. Ein möglicher Trigger zur Bildung der Autoantikörper scheint, analog zum Guillain-Barré-Syndrom, das molekulare Mimikry nach vorangegangener Infektion, zumindest bei einer Untergruppe an CIDP Erkrankten, zu sein [12]. Bei einigen Patienten mit CIDP konnte ein serologischer Nachweis einer kürzlich vorangegangenen Infektion mit *Campylobacter jejuni* erbracht werden. Eine relevante Rolle von spezifischen Antikörperen suggeriert auch eine rezente Arbeit von Doppler et al., welche eine klinisch wie auch hinsichtlich des Ansprechens auf Therapien differente Unterform der CIDP beschreibt [236]. Ob es sich bei den in der vorliegenden Untersuchung nachgewiesenen kornealen Zellen um sekundär bei Vorhandensein von Antikörpern eingewanderte oder residente Zellen, beziehungsweise um Antikörperproduzierende Zellen oder ihre Vorläuferzellen (B-Zellen bzw. Plasmazellen) handelt, ist spekulativ. Die Beurteilung der pathophysiologischen Relevanz dieser Beobachtung erfordert weitere Studien.

In der vorliegenden Arbeit waren zudem bei Patienten mit Nachweis von GM1 Antikörpern die Zahl nichtdendritischer Zellen und die Gesamtzellzahl aller Zellen im

Vergleich zu Patienten ohne GM1 Antikörpern signifikant erhöht. Antikörper gegen Ganglioside, wie GM1 oder GD1, gelten als mitursächlich für das Auftreten der akuten motorischen axonalen Neuropathie [17, 237]. Es ist bislang jedoch wenig über die zelluläre Pathophysiologie bei GM1 oder GD1a positiven Patienten bekannt. Vorangegangene Studien zeigten, dass einige Antikörper gegen spezifische Epitope mit charakteristischen klinischen Merkmalen und Verläufen assoziiert sind [238]. Patienten mit autoimmuner demyelinisierender Neuropathie mit Antiglycosphingolipid-Antikörpern, darunter GM1b und GD1, weisen zum Teil eine schwerere Störung der Blut-Nerven-Schranke auf als Patienten ohne solche Antikörper. Die Diskontinuität dieser Barriere trägt möglicherweise zum Nervenschaden bei demyelinisierenden Neuropathien bei [239]. Diese ausgeprägte Schrankenstörung führt zu vermehrten zellulären Infiltraten in der Suralisbiopsie [12] und hinsichtlich der vorliegenden Ergebnisse der KKM ebenfalls zur erhöhten Zellzahl in der Kornea, wobei einschränkend in der Kornea bisher keine Blut-Nerven-Barriere definiert wurde.

Bei Patienten mit MGUS konnte ebenfalls eine erhöhte Zahl an Gesamtzellen sowie nichtdendritischer Zellen nachgewiesen werden. Patienten mit MGUS assoziierter Neuropathie, wie auch bei Patienten mit GM1-Antikörpern, zeigen abweichende klinische und elektrophysiologische Eigenschaften [45, 240]. Folglich bildet diese Gruppe möglicherweise eine eigene Entität unter den Immunneuropathien. Anzunehmen ist, dass die MGUSN pathophysiologisch eher eine Antikörper- oder Paraprotein vermittelte (also B-Zell-medierte) Erkrankung ist [241]. Diese Hypothese würde zur oben diskutierten Rolle der nicht dendritischen Zellen in der Kornea bei Antikörperpositiven Patienten passen.

Bei Patienten mit schmerzhafter Neuropathie konnten wir außerdem ein leichtes, nicht signifikant vermehrtes Auftreten von nichtdendritischen Zellen nachweisen, was eventuell darauf hinweist, dass dieser morphologisch definierte Zelltyp eine pathophysiologische Rolle bei der Entstehung neuropathischer Schmerzen spielen könnte. Experimentelle Studien konnten zeigen, dass Mediatoren wie Prostanoiden und der Nervenwachstumsfaktor (*Nerve Growth Factor, NGF*) zur Entstehung von neuropathischem Schmerz und Affektion der C-Fasern führen [242]. Die Infiltration der Kornea mit morphometrisch klassifizierten nichtdendritischen Zellen bei schmerzhafter Neuropathie könnte eine Rolle in der Pathophysiologie vermuten lassen. Untermauert wird dies durch rezent veröffentlichte Daten, die einen Anstieg von epidermalen Langerhans-Zellen bei Patienten mit schmerzhafter *small-fiber*-Neuropathie sowie eine Zunahme von Langerhans-Zellen in Hautbiopsien bei diabetischen Mäusen mit

mechanischer Allodynie nachwiesen [243, 244]. Einschränkend muss man anbringen, dass die vorliegende Arbeit auf einer Differenzierung der Zellinfiltrate nach morphologischen Kriterien basiert. Aus diesem Grund kann man nur spekulieren, um welche spezifischen immunologischen Subtypen es sich bei den quantifizierten Zellen handelt. Weitere Untersuchungen sind nötig, um die Infiltrate der Kornea immunhistologisch zu differenzieren.

In der vorliegenden Arbeit konnte eine erhöhte Anzahl dendritischer Zellen mit Nervenfaserkontakt bei Patienten mit End-of-dose-Effekt nachgewiesen werden. Außerdem zeigte sich eine erhöhte Anzahl dendritischer Zellen mit Nervenfaserkontakt bei Patienten mit einer Progression der Erkrankung. Der End-of-Dose Effekt äußert sich durch Fluktuationen gegen Ende des therapeutischen Intervalls. Hypothetisch kommt es während dieser Verschlechterung zu einem Aufflammen der entzündlichen Aktivität, sodass der End-of-Dose Effekt als klinisches Zeichen für eine anhaltende entzündliche Aktivität bei Patienten mit CIDP interpretiert werden kann. Die erhöhte Anzahl dendritischer Zellen mit Nervenfaserkontakt bei Patienten mit End-of-Dose Effekt suggeriert, dass es sich bei den dendritischen Zellen mit Nervenfaserkontakt um einen Parameter zur Detektion entzündlicher Aktivität handeln könnte.

Wir konnten in der vorliegenden Untersuchung darüber hinaus zeigen, dass bei allen Patienten mit klinischer Hirnnervenbeteiligung eine Zellinfiltration der Kornea festgestellt werden kann. Eine Hirnnervenbeteiligung kommt klinisch bei der CIDP, im Gegensatz zum GBS, eher selten vor [26, 245]. Klinische Zeichen einer Hirnnervenbeteiligung sind vor allem Papillenödeme, Gesichtsfeldausfälle, Schwäche in der vom Nervus facialis innervierten Gesichtsmuskulatur, Glossoparese und Ophthalmoplegie sowie das Auftreten eines Hornersyndroms [19, 20]. Eine klinische Affektion des Nervus trigeminus bei Patienten mit CIDP ist ungewöhnlich [27]. Vorangegangene Studien konnten jedoch eine subklinische Affektion des Nervus trigeminus und des Nervus facialis bei bis zu 85% der untersuchten CIDP-Patienten nachweisen [27]. Guibord et al. sowie Niino et al. detektierten zudem mittels MRT eine subklinische Verdickung des Nervus trigeminus bei Patienten mit CIDP [246, 247]. Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung zeigen, dass bei allen Patienten mit klinischer Hirnnervenbeteiligung eine Zellinfiltration der Kornea festgestellt werden konnte.

Patienten mit einer kurzen Krankheitsdauer von bis zu einem Jahr zeigten in dieser Arbeit eine hohe Zahl an kornealen Zellen, insbesondere eine Erhöhung der nervennahen dendritischen Zellen. Diese Daten könnten im Sinne einer initial starken Immunantwort mit hoher inflammatorischer Aktivität gedeutet werden. Zuweilen, auch

wenn nicht immer, liegt eine rasche initiale Symptomzunahme über 8 Wochen bei der CIDP vor [248]. Klassischerweise kommt es beim GBS innerhalb von vier Wochen zum Auftreten von Symptomen [249]. Longitudinale Studien der kornealen Nervenfaserverparameter und -infiltrate bei Patienten mit CIDP mittels KKM sind notwendig, um die Kinetik der zellulären Infiltration im Krankheitsverlauf zu untersuchen.

Interessanterweise konnte eine kleine Subgruppe an Patienten identifiziert werden, bei der keine kornealen Infiltrate vorlagen, neben der Mehrheit von Patienten mit einer erhöhten Anzahl an dendritischen Zellen mit Nervenfaserkontakt. Zu erwarten wäre hier eine fehlende oder minimale Krankheitsaktivität. Jedoch zeigte sich für diese Subgruppe keine Korrelation mit einem der oben genannten klinischen oder paraklinischen Parameter. Dies könnte in der niedrigen Patientenzahl oder auch in einer real fehlenden Korrelation begründet sein.

Offen bleibt die Frage, um welchen Subtypen es sich bei den morphometrisch klassifizierten Zellen handelt. In vorangegangenen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass der immunhistochemische Nachweis von Zellen in der Kornea mit morphologischen Ergebnissen der konfokalen kornealen Mikroskopie korreliert [250]. Die Annahme, dass es sich bei den mittels KKM als „dendritisch“ klassifizierte Zellen im subbasalen Nervenplexus um Langerhans-Zellen handelt, konnte bereits experimentell durch die Expression von Langerhans-Zell-spezifische Oberflächenmarkern gezeigt werden [250-252]. Aufgrund der Tatsache, dass es keine Tierstudien zur Zelldifferenzierung der kornealen Infiltrate bei inflammatorischen Neuropathien gibt und dass die Zelldifferenzierung der vorliegenden Untersuchung auf morphologischen Aspekten basiert, können wir nur spekulieren, um welchen immunologischen Subtyp es sich handelt.

## 4.9 Schlussfolgerungen

Zusammenfassend konnte in der vorliegenden Studie gezeigt werden, dass die konfokale korneale Mikroskopie den axonalen Nervenfaserverlust bei immunvermittelten Neuropathien erfassen kann. Außerdem konnte eine Zunahme der subbasalen Nervenzellen bei Patienten mit immunvermittelten Neuropathien beobachtet werden.

Es zeigte sich eine Korrelation zwischen den morphometrischen Ergebnissen der KKM und den klinischen und elektrophysiologischen Eigenschaften der Neuropathien. So konnte beispielsweise bei CIDP-Patienten eine Reduktion der kornealen Nervenfaserverparameter im Laufe der Jahre nach der Diagnose nachgewiesen werden. Nervennahe dendritische Zellen waren bei Patienten in früheren Krankheitsstadien erhöht und zeigten zudem eine Korrelation zur klinischen Schwere der motorischen Beteiligung. Zudem zeigte sich, dass weitere klinische Indikatoren für eine erhöhte Krankheitsaktivität mit der Anzahl der nervennahen dendritischen Zellen korrelierten.

Einschränkend muss man anbringen, dass die vorliegende Studie auf einer Differenzierung der Zellinfiltrate nach morphologischen Kriterien basiert. Aus diesem Grund kann man nur spekulieren, um welche spezifischen immunologischen Subtypen es sich bei den quantifizierten Zellen handelt. Weitere Studien sind nötig, um die Infiltrate der Kornea genauer zu differenzieren.

In dem vorliegenden Kollektiv fanden sich lediglich sechs MMN Patienten. Folglich sind weitere Studien mit einer größeren Patientenkohorte notwendig, um zu evaluieren in welchem Ausmaß Patienten mit MMN pathologische Ergebnisse in der KKM haben und ob die kornealen Nervenschäden mit den jeweiligen klinischen Parametern, wie zum Beispiel der Dauer der Erkrankung, korrelieren.

In der vorliegenden Studie konnte nachgewiesen werden, dass KKM als nicht-invasiver klinischer Marker zum einen dazu beitragen könnte eine Klassifikation der CIDP in Subgruppen zu entwickeln und zum anderen ein Monitoring des klinischen Verlaufes zu ermöglichen und als prognostischer Marker zu dienen. Weitere longitudinale Studien der kornealen Nervenfaserverparameter und -infiltrate sind unerlässlich, um die konfokale korneale Mikroskopie als validen Surrogatparameter bei Patienten mit CIDP und MMN zu etablieren. Insbesondere ist die Hypothese einer Korrelation der zellulären Infiltration mit dem Krankheitsverlauf und der assoziierten Entzündung sowie dem Therapieansprechen zu prüfen.

## 5 Literatur- und Quellenverzeichnis

1. Lunn MPT, et al., *Chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy: a prevalence study in south east England*. Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry, 1999. 66(5): p. 677-80.
2. McLeod JG, et al., *Prevalence of chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy in New South Wales, Australia*. Ann Neurol, 1999. 46(6): p. 910-13.
3. Chiò A, et al., *Idiopathic chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy: an epidemiological study in Italy*. Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry, 2007. 78(12): p. 1349-53.
4. Albers JW and Kelly JJ Jr., *Acquired inflammatory demyelinating polyneuropathies: clinical and electrodiagnostic features*. Muscle Nerve, 1989. 12(6): p. 435-51.
5. Mygland A and Monstad P, *Chronic polyneuropathies in Vest-Agder, Norway*. Eur J Neurol, 2001. 8(2): p. 157-65.
6. Rajabally YA, et al., *Epidemiologic variability of chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy with different diagnostic criteria: study of a UK population*. Muscle Nerve, 2009. 39(4): p. 432-38.
7. Mahdi-Rogers M and Hughes RAC, *Epidemiology of chronic inflammatory neuropathies in southeast England*. European Journal of Neurology, 2014. 21(1): p. 28-33.
8. McCombe PA, Pollard JD and McLeod JG, *Chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. A clinical and electrophysiological study of 92 cases*. Brain, 1987. 110 ( Pt 6): p. 1617-30.
9. Trojaborg W, *Acute and chronic neuropathies: new aspects of Guillain-Barre syndrome and chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy, an overview and an update*. Electroencephalogr Clin Neurophysiol, 1998. 107(5): p. 303-16.
10. Rotta FT, et al., *The spectrum of chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy*. J Neurol Sci, 2000. 173(2): p. 129-39.
11. Prineas JW and McLeod JG, *Chronic relapsing polyneuritis*. J Neurol Sci, 1976. 27(4): p. 427-58.
12. Koller H, et al., *Chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy*. N Engl J Med, 2005. 352(13): p. 1343-56.
13. Mathey EK, et al., *Chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy: from pathology to phenotype*. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2015. 86(9): p. 973-85.

14. Cornblath DR, et al., *Quantitative analysis of endoneurial T-cells in human sural nerve biopsies*. J Neuroimmunol, 1990. 26(2): p. 113-18.
15. Kiefer R, et al., *Macrophage differentiation antigens in acute and chronic autoimmune polyneuropathies*. Vol. 121. 1998. 469-79.
16. Kieseier BC, Lehmann HC and Meyer Zu Horste G, *Autoimmune diseases of the peripheral nervous system*. Autoimmun Rev, 2012. 11(3): p. 191-95.
17. Ogawara K, et al., *Axonal Guillain-Barre syndrome: relation to anti-ganglioside antibodies and Campylobacter jejuni infection in Japan*. Ann Neurol, 2000. 48(4): p. 624-31.
18. Dalakas MC, *Pathogenesis and Treatment of Anti-MAG Neuropathy*. Curr Treat Options Neurol, 2010. 12(2): p. 71-83.
19. Dyck PJ, et al., *Chronic inflammatory polyradiculoneuropathy*. Mayo Clin Proc, 1975. 50(11): p. 621-37.
20. Barohn RJ, et al., *Chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. Clinical characteristics, course and recommendations for diagnostic criteria*. Arch Neurol, 1989. 46(8): p. 878-84.
21. Dalakas MC and W.K. Engel, *Chronic relapsing (dysimmune) polyneuropathy: pathogenesis and treatment*. Ann Neurol, 1981. 9 Suppl: p. 134-45.
22. Berger AR, S. Herskovitz and J. Kaplan, *Late motor involvement in cases presenting as "chronic sensory demyelinating polyneuropathy"*. Muscle Nerve, 1995. 18(4): p. 440-44.
23. Viala K, et al., *A current view of the diagnosis, clinical variants, response to treatment and prognosis of chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy*. J Peripher Nerv Syst, 2010. 15(1): p. 50-56.
24. Ayrygnac X, et al., *Sensory chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy: an under-recognized entity?* Muscle Nerve, 2013. 48(5): p. 727-32.
25. Lewis RA, et al., *Multifocal demyelinating neuropathy with persistent conduction block*. Neurology, 1982. 32(9): p. 958-64.
26. Gorson KC, Allam G and Ropper AH, *Chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy: clinical features and response to treatment in 67 consecutive patients with and without a monoclonal gammopathy*. Neurology, 1997. 48(2): p. 321-28.
27. Kokubun N. and Hirata K, *Neurophysiological evaluation of trigeminal and facial nerves in patients with chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy*. Muscle Nerve, 2007. 35(2): p. 203-07.

28. Boukhris S, et al., *[Autonomic nervous system involvement in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy]*. Rev Neurol (Paris), 2005. 161(12 Pt 1): p. 1228-31.
29. Van den Bergh PY, et al., *European Federation of Neurological Societies/Peripheral Nerve Society guideline on management of chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy: report of a joint task force of the European Federation of Neurological Societies and the Peripheral Nerve Society - first revision*. Eur J Neurol, 2010. 17(3): p. 356-63.
30. Fokke C, et al., *Diagnosis of Guillain-Barre syndrome and validation of Brighton criteria*. Brain, 2014. 137(Pt 1): p. 33-43.
31. Breiner A and Brannagan TH 3rd, *Comparison of sensitivity and specificity among 15 criteria for chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy*. Muscle Nerve, 2014. 50(1): p. 40-46.
32. Bouchard C, et al., *Clinicopathologic findings and prognosis of chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy*. Neurology, 1999. 52(3): p. 498-503.
33. Sharma KR, et al., *Demyelinating neuropathy in diabetes mellitus*. Arch Neurol, 2002. 59(5): p. 758-65.
34. Chio A, et al., *Comorbidity between CIDP and diabetes mellitus: only a matter of chance?* Eur J Neurol, 2009. 16(6): p. 752-54.
35. Laughlin RS, et al., *Incidence and prevalence of CIDP and the association of diabetes mellitus*. Neurology, 2009. 73(1): p. 39-45.
36. Haq RU, et al., *Chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy in diabetic patients*. Muscle Nerve, 2003. 27(4): p. 465-70.
37. Stangel M and Kieseier B, *Neue Entwicklungen bei CIDP und MMN*. Aktuelle Neurologie, 2011. 38(06): p. 284-91.
38. Latov N, *Diagnosis and treatment of chronic acquired demyelinating polyneuropathies*. Nat Rev Neurol, 2014. 10(8): p. 435-46.
39. Vallat JM, et al., *Diagnostic value of nerve biopsy for atypical chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy: evaluation of eight cases*. Muscle Nerve, 2003. 27(4): p. 478-85.
40. Adachi Y, et al., *Brachial and lumbar plexuses in chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy: MRI assessment including apparent diffusion coefficient*. Neuroradiology, 2011. 53(1): p. 3-11.
41. Duggins AJ, et al., *Spinal root and plexus hypertrophy in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy*. Brain, 1999. 122 ( Pt 7): p. 1383-90.



42. Kuwabara S, et al., *Magnetic resonance imaging at the demyelinating foci in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy*. Neurology, 1997. 48(4): p. 874-77.
43. Midroni G, et al., *MRI of the cauda equina in CIDP: clinical correlations*. J Neurol Sci, 1999. 170(1): p. 36-44.
44. Haq RU, et al., *Chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy: a study of proposed electrodiagnostic and histologic criteria*. Arch Neurol, 2000. 57(12): p. 1745-50.
45. Saperstein DS, et al., *Clinical spectrum of chronic acquired demyelinating polyneuropathies*. Muscle Nerve, 2001. 24(3): p. 311-24.
46. Eurlings M, et al., *MRI of the brachial plexus in polyneuropathy associated with monoclonal gammopathy*. Muscle Nerve, 2001. 24(10): p. 1312-18.
47. *Research criteria for diagnosis of chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy (CIDP). Report from an Ad Hoc Subcommittee of the American Academy of Neurology AIDS Task Force*. Neurology, 1991. 41(5): p. 617-18.
48. Nicolas G, et al., *Proposed revised electrophysiological criteria for chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy*. Muscle Nerve, 2002. 25(1): p. 26-30.
49. Thaisetthawatkul P, Logigian EL and Herrmann DN, *Dispersion of the distal compound muscle action potential as a diagnostic criterion for chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy*. Neurology, 2002. 59(10): p. 1526-32.
50. Magda P, et al., *Comparison of electrodiagnostic abnormalities and criteria in a cohort of patients with chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy*. Arch Neurol, 2003. 60(12): p. 1755-59.
51. Berger AR, et al., *Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy*. J Peripher Nerv Syst, 2003. 8(4): p. 282-84.
52. Van den Bergh PY and Pieret F, *Electrodiagnostic criteria for acute and chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy*. Muscle Nerve, 2004. 29(4): p. 565-74.
53. Wilson J, Chawla J and 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(1-2): p. 19-28.
54. Koski CL, et al., *Derivation and validation of diagnostic criteria for chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy*. J Neurol Sci, 2009. 277(1-2): p. 1-8.

55. Rajabally YA, et al., *Validity of diagnostic criteria for chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy: a multicentre European study*. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2009. 80(12): p. 1364-68.
56. Hughes R, et al., *Randomized controlled trial of intravenous immunoglobulin versus oral prednisolone in chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy*. Ann Neurol, 2001. 50(2): p. 195-201.
57. Gold R and Kieseier BC, *Therapy of immune neuropathies with intravenous immunoglobulins*. J Neurol, 2006. 253 Suppl 5: p. V59-63.
58. Brannagan TH 3rd, *Current diagnosis of CIDP: the need for biomarkers*. J Peripher Nerv Syst, 2011. 16 Suppl 1: p. 3-13.
59. Dalakas MC, *Potential biomarkers for monitoring therapeutic response in patients with CIDP*. J Peripher Nerv Syst, 2011. 16 Suppl 1: p. 63-67.
60. Gibbels E and Kentenich M, *Unmyelinated fibers in sural nerve biopsies of chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy*. Acta Neuropathologica, 1990. 80(4): p. 439-47.
61. Periquet MI, et al., *Painful sensory neuropathy: prospective evaluation using skin biopsy*. Neurology, 1999. 53(8): p. 1641-47.
62. Chiang MC, et al., *Cutaneous innervation in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy*. Neurology, 2002. 59(7): p. 1094-98.
63. Sommer C. and Lauria G, *Skin biopsy in the management of peripheral neuropathy*. The Lancet Neurology, 2007. 6(7): p. 632-42.
64. Lombardi R, et al., *IgM deposits on skin nerves in anti-myelin-associated glycoprotein neuropathy*. Ann Neurol, 2005. 57(2): p. 180-87.
65. Cruccu G, et al., *EFNS guidelines on neuropathic pain assessment: revised 2009*. Eur J Neurol, 2010. 17(8): p. 1010-18.
66. Novak V, et al., *Autonomic impairment in painful neuropathy*. Neurology, 2001. 56(7): p. 861-68.
67. Holland NR, et al., *Small-fiber sensory neuropathies: clinical course and neuropathology of idiopathic cases*. Annals of neurology, 1998. 44(1): p. 47-59.
68. Tobin K, Giuliani MJ and Lacomis D, *Comparison of different modalities for detection of small fiber neuropathy*. Clin Neurophysiol, 1999. 110(11): p. 1909-12.
69. Hoitsma E, et al., *Abnormal warm and cold sensation thresholds suggestive of small-fibre neuropathy in sarcoidosis*. Clin Neurophysiol, 2003. 114(12): p. 2326-33.
70. Jamal GA, et al., *The neurophysiologic investigation of small fiber neuropathies*. Muscle Nerve, 1987. 10(6): p. 537-45.

71. Lacomis D, *Small-fiber neuropathy*. Muscle Nerve, 2002. 26(2): p. 173-88.
72. Low, P.A., *Evaluation of sudomotor function*. Clin Neurophysiol, 2004. 115(7): p. 1506-13.
73. Maselli RA, et al., *Comparison of sympathetic skin response with quantitative sudomotor axon reflex test in diabetic neuropathy*. Muscle Nerve, 1989. 12(5): p. 420-23.
74. Stewart JD, Low PA and Fealey RD, *Distal small fiber neuropathy: results of tests of sweating and autonomic cardiovascular reflexes*. Muscle Nerve, 1992. 15(6): p. 661-65.
75. Lauria G and Devigili G, *Skin biopsy as a diagnostic tool in peripheral neuropathy*. Nat Clin Pract Neurol, 2007. 3(10): p. 546-57.
76. Quattrini C, et al., *Surrogate markers of small fiber damage in human diabetic neuropathy*. Diabetes, 2007. 56(8): p. 2148-54.
77. Linker RA and Gold R, *Use of intravenous immunoglobulin and plasma exchange in neurological disease*. Curr Opin Neurol, 2008. 21(3): p. 358-65.
78. Cocito D, et al., *A nationwide retrospective analysis on the effect of immune therapies in patients with chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy*. Eur J Neurol, 2010. 17(2): p. 289-94.
79. Eftimov F, et al., *Intravenous immunoglobulin for chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy*. Cochrane Database Syst Rev, 2009(1): p. Cd001797.
80. Hahn AF, et al., *Intravenous immunoglobulin treatment in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. A double-blind, placebo-controlled, cross-over study*. Brain, 1996. 119 ( Pt 4): p. 1067-77.
81. Mendell JR, et al., *Randomized controlled trial of IVIg in untreated chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy*. Neurology, 2001. 56(4): p. 445-49.
82. Thompson N, et al., *A novel trial design to study the effect of intravenous immunoglobulin in chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy*. J Neurol, 1996. 243(3): p. 280-85.
83. Kubori T, et al., *[The clinical usefulness of high-dose intravenous immunoglobulin therapy for chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy and multifocal motor neuropathy]*. No To Shinkei, 1999. 51(2): p. 127-35.
84. Vermeulen M, et al., *Intravenous immunoglobulin treatment in patients with chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy: a double blind, placebo controlled study*. Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry, 1993. 56(1): p. 36-39.

85. Brill V, et al., *Electrophysiology in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy with IGIV*. Muscle Nerve, 2009. 39(4): p. 448-55.
86. Merkies IS, et al., *Health-related quality-of-life improvements in CIDP with immune globulin IV 10%: the ICE Study*. Neurology, 2009. 72(15): p. 1337-44.
87. Rajabally YA, Seow H and Wilson P, *Dose of intravenous immunoglobulins in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy*. J Peripher Nerv Syst, 2006. 11(4): p. 325-29.
88. Lee DH, et al., *Subcutaneous immunoglobulin infusion: a new therapeutic option in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy*. Muscle Nerve, 2008. 37(3): p. 406-69.
89. Koller H, et al., *Subcutaneous self-infusions of immunoglobulins as a potential therapeutic regimen in immune-mediated neuropathies*. J Neurol, 2006. 253(11): p. 1505-06.
90. Dyck PJ, et al., *Prednisone improves chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy more than no treatment*. Ann Neurol, 1982. 11(2): p. 136-41.
91. Lopate G, Pestronk A and Al-Lozi M, *Treatment of chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy with high-dose intermittent intravenous methylprednisolone*. Arch Neurol, 2005. 62(2): p. 249-54.
92. Muley SA, Kelkar P and Parry GJ, *Treatment of chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy with pulsed oral steroids*. Arch Neurol, 2008. 65(11): p. 1460-64.
93. van Schaik IN, et al., *Pulsed high-dose dexamethasone versus standard prednisolone treatment for chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy (PREDICT study): a double-blind, randomised, controlled trial*. Lancet Neurol, 2010. 9(3): p. 245-53.
94. Dyck PJ, et al., *Plasma exchange in chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy*. N Engl J Med, 1986. 314(8): p. 461-65.
95. Hahn AF, et al., *Plasma-exchange therapy in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. A double-blind, sham-controlled, cross-over study*. Brain, 1996. 119 ( Pt 4): p. 1055-66.
96. *Appropriate number of plasma exchanges in Guillain-Barre syndrome. The French Cooperative Group on Plasma Exchange in Guillain-Barre Syndrome*. Ann Neurol, 1997. 41(3): p. 298-306.
97. Meyer zu Horste G, Hartung HP and Kieseier BC, *From bench to bedside--experimental rationale for immune-specific therapies in the inflamed peripheral nerve*. Nat Clin Pract Neurol, 2007. 3(4): p. 198-211.

98. Kieseier BC, Wiendl H and Hartung HP, *The inflamed peripheral nervous system: update on immune therapies*. *Curr Opin Neurol*, 2006. 19(5): p. 433-36.
99. Dyck PJ, et al., *Combined azathioprine and prednisone in chronic inflammatory-demyelinating polyneuropathy*. *Neurology*, 1985. 35(8): p. 1173-76.
100. Good JL, et al., *Pulse cyclophosphamide therapy in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy*. *Neurology*, 1998. 51(6): p. 1735-38.
101. Brannagan TH 3rd, Alaedini A and Gladstone DE, *High-dose cyclophosphamide without stem cell rescue for refractory multifocal motor neuropathy*. *Muscle Nerve*, 2006. 34(2): p. 246-50.
102. Gladstone DE, Prestrud AA and Brannagan TH 3rd, *High-dose cyclophosphamide results in long-term disease remission with restoration of a normal quality of life in patients with severe refractory chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy*. *J Peripher Nerv Syst*, 2005. 10(1): p. 11-16.
103. Matsuda M, et al., *Cyclosporin A in treatment of refractory patients with chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy*. *J Neurol Sci*, 2004. 224(1-2): p. 29-35.
104. Odaka M, et al., *Intractable chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy treated successfully with ciclosporin*. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2005. 76(8): p. 1115-20.
105. Bedi G, et al., *Chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy responsive to mycophenolate mofetil therapy*. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2010. 81(6): p. 634-36.
106. Radziwill AJ, et al., *Mycophenolate mofetil for chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy: An open-label study*. *Eur Neurol*, 2006. 56(1): p. 37-38.
107. Benedetti L, et al., *Rituximab in patients with chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy: a report of 13 cases and review of the literature*. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2011. 82(3): p. 306-08.
108. Hirst C, et al., *Remission of chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy after alemtuzumab (Campath 1H)*. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2006. 77(6): p. 800-02.
109. Group RMCT, *Randomised controlled trial of methotrexate for chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy (RMC trial): a pilot, multicentre study*. *Lancet Neurol*, 2009. 8(2): p. 158-64.
110. Hadden RD, et al., *Randomized trial of interferon beta-1a in chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy*. *Neurology*, 1999. 53(1): p. 57-61.

111. Hughes RA, et al., *Intramuscular interferon beta-1a in chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy*. Neurology, 2010. 74(8): p. 651-57.
112. Vermeulen M and van Oers MH, *Relapse of chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy 5 years after autologous stem cell transplantation*. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2007. 78(10): p. 1154.
113. Mahdi-Rogers M, et al., *Autologous peripheral blood stem cell transplantation for chronic acquired demyelinating neuropathy*. J Peripher Nerv Syst, 2009. 14(2): p. 118-24.
114. Oyama Y, et al., *Nonmyeloablative autologous hematopoietic stem cell transplantation for refractory CIDP*. Neurology, 2007. 69(18): p. 1802-03.
115. Press R, et al., *Autologous haematopoietic stem cell transplantation: a viable treatment option for CIDP*. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2014. 85(6): p. 618-24.
116. Kyle RA, *Monoclonal gammopathy of undetermined significance. Natural history in 241 cases*. Am J Med, 1978. 64(5): p. 814-26.
117. Kissel JT and Mendell JR, *Neuropathies associated with monoclonal gammopathies*. Neuromuscul Disord, 1996. 6(1): p. 3-18.
118. Ramchandren S and Lewis RA, *Monoclonal gammopathy and neuropathy*. Curr Opin Neurol, 2009. 22(5): p. 480-85.
119. Kelly JJ Jr, *Peripheral neuropathies associated with monoclonal proteins: a clinical review*. Muscle Nerve, 1985. 8(2): p. 138-50.
120. International Myeloma Working, G., *Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders: a report of the International Myeloma Working Group*. Br J Haematol, 2003. 121(5): p. 749-57.
121. Kyle RA, et al., *Prevalence of monoclonal gammopathy of undetermined significance*. N Engl J Med, 2006. 354(13): p. 1362-69.
122. Simmons Z, et al., *Presentation and initial clinical course in patients with chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy: comparison of patients without and with monoclonal gammopathy*. Neurology, 1993. 43(11): p. 2202-09.
123. Bromberg MB, Feldman EL and Albers JW, *Chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy: comparison of patients with and without an associated monoclonal gammopathy*. Neurology, 1992. 42(6): p. 1157-63.
124. Simmons Z, Wald JJ and Albers JW, *Chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy in children: II. Long-term follow-up, with comparison to adults*. Muscle Nerve, 1997. 20(12): p. 1569-75.
125. Joint Task Force of the, E. and P.N.S. the, *European Federation of Neurological Societies/Peripheral Nerve Society Guideline on management of*

- paraproteinemic demyelinating neuropathies. Report of a Joint Task Force of the European Federation of Neurological Societies and the Peripheral Nerve Society-first revision.* J Peripher Nerv Syst, 2010. 15(3): p. 185-95.
126. Niermeijer JM, et al., *Prognosis of polyneuropathy due to IgM monoclonal gammopathy: a prospective cohort study.* Neurology, 2010. 74(5): p. 406-12.
127. Nobile-Orazio E, *Multifocal motor neuropathy.* J Neuroimmunol, 2001. 115(1-2): p. 4-18.
128. Cats EA, et al., *Correlates of outcome and response to IVIg in 88 patients with multifocal motor neuropathy.* Neurology, 2010. 75(9): p. 818-25.
129. Nobile-Orazio E, Cappellari A and Priori A, *Multifocal motor neuropathy: current concepts and controversies.* Muscle Nerve, 2005. 31(6): p. 663-80.
130. Arcila-Londono X and Lewis RA, *Multifocal motor neuropathy.* Handb Clin Neurol, 2013. 115: p. 429-42.
131. Taylor BV, et al., *Multifocal motor neuropathy: pathologic alterations at the site of conduction block.* J Neuropathol Exp Neurol, 2004. 63(2): p. 129-37.
132. Taylor BV, et al., *Natural history of 46 patients with multifocal motor neuropathy with conduction block.* Muscle Nerve, 2000. 23(6): p. 900-08.
133. Pestronk A, et al., *A treatable multifocal motor neuropathy with antibodies to GM1 ganglioside.* Ann Neurol, 1988. 24(1): p. 73-78.
134. van Schaik IN, et al., *Diagnostic value of GM1 antibodies in motor neuron disorders and neuropathies: a meta-analysis.* Neurology, 1995. 45(8): p. 1570-77.
135. Federico P, et al., *Multifocal motor neuropathy improved by IVIg: randomized, double-blind, placebo-controlled study.* Neurology, 2000. 55(9): p. 1256-62.
136. Pestronk A, *Multifocal motor neuropathy: diagnosis and treatment.* Neurology, 1998. 51(6 Suppl 5): p. S22-24.
137. Umaphathi T, et al., *Intraepidermal nerve fiber density as a marker of early diabetic neuropathy.* Muscle Nerve, 2007. 35(5): p. 591-98.
138. Loseth S, et al., *Early diabetic neuropathy: thermal thresholds and intraepidermal nerve fibre density in patients with normal nerve conduction studies.* J Neurol, 2008. 255(8): p. 1197-202.
139. Malik RA, et al., *Sural nerve pathology in diabetic patients with minimal but progressive neuropathy.* Diabetologia, 2005. 48(3): p. 578-85.
140. Cabasson S, et al., *Childhood CIDP: Study of 31 patients and comparison between slow and rapid-onset groups.* Brain Dev, 2015. 37(10): p. 943-51.
141. Luigetti M, et al., *Clinical and pathological heterogeneity in a series of 31 patients with IgM-related neuropathy.* J Neurol Sci, 2012. 319(1-2): p. 75-80.

142. Rosenberg ME, et al., *Corneal structure and sensitivity in type 1 diabetes mellitus*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2000. 41(10): p. 2915-21.
143. Trotter RR, *Cornea and sclera*. Arch Ophthalmol, 1969. 81(6): p. 875-87.
144. Laibson PR, *Cornea and sclera*. Arch Ophthalmol, 1972. 88(5): p. 553-74.
145. Trevor-Roper PD, *The eye and its disorders. 23. The cornea and sclera*. Int Ophthalmol Clin, 1974. 14(1-2): p. 422-68.
146. Guthoff RF, Baudouin C and Stave J, *Atlas of Confocal Laser Scanning In-vivo Microscopy in Ophthalmology*. 2006.
147. Rozsa AJ and Beuerman RW, *Density and organization of free nerve endings in the corneal epithelium of the rabbit*. Pain, 1982. 14(2): p. 105-20.
148. Belmonte C, et al., *Nerves and sensations from the eye surface*. Ocul Surf, 2004. 2(4): p. 248-53.
149. Ruskell GL, *Ocular fibres of the maxillary nerve in monkeys*. J Anat, 1974. 118(Pt 2): p. 195-203.
150. Mensher JH, *Corneal nerves*. Surv Ophthalmol, 1974. 19(1): p. 1-18.
151. Cruzat A. et al., *Inflammation and the nervous system: the connection in the cornea in patients with infectious keratitis*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2011. 52(8): p. 5136-43.
152. Marfurt CF, et al., *Anatomy of the human corneal innervation*. Exp Eye Res, 2010. 90(4): p. 478-92.
153. Al-Aqaba MA, et al., *Architecture and distribution of human corneal nerves*. Br J Ophthalmol, 2010. 94(6): p. 784-89.
154. Patel DV and McGhee CN, *In vivo confocal microscopy of human corneal nerves in health, in ocular and systemic disease and following corneal surgery: a review*. Br J Ophthalmol, 2009. 93(7): p. 853-60.
155. Zhivov A, et al., *In vivo confocal microscopic evaluation of Langerhans cell density and distribution in the normal human corneal epithelium*. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol, 2005. 243(10): p. 1056-61.
156. Zhivov A, et al., *Imaging and quantification of subbasal nerve plexus in healthy volunteers and diabetic patients with or without retinopathy*. PLoS One, 2013. 8(1): p. e52157.
157. Tavakoli M, et al., *Increased Langerhan cell density and corneal nerve damage in diabetic patients: role of immune mechanisms in human diabetic neuropathy*. Cont Lens Anterior Eye, 2011. 34(1): p. 7-11.
158. Tavakoli M and Malik RA, *Corneal confocal microscopy: a novel non-invasive technique to quantify small fibre pathology in peripheral neuropathies*. J Vis Exp, 2011(47).



159. Gemignani F, et al., *Non-length-dependent small fibre neuropathy. Confocal microscopy study of the corneal innervation.* J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2010. 81(7): p. 731-33.
160. Jalbert I, et al., *In vivo confocal microscopy of the human cornea.* Br J Ophthalmol, 2003. 87(2): p. 225-36.
161. Guthoff RF, Zhivov A and Stachs O, *In vivo confocal microscopy, an inner vision of the cornea - a major review.* Clin Experiment Ophthalmol, 2009. 37(1): p. 100-17.
162. Smith AG, et al., *Corneal confocal microscopy is efficient, well-tolerated and reproducible.* Journal of the Peripheral Nervous System, 2013. 18(1): p. 54-58.
163. Petropoulos IN, et al., *Repeatability of in vivo corneal confocal microscopy to quantify corneal nerve morphology.* Cornea, 2013. 32(5): p. e83-89.
164. Efron N, et al., *Repeatability of measuring corneal subbasal nerve fiber length in individuals with type 2 diabetes.* Eye Contact Lens, 2010. 36(5): p. 245-48.
165. Hertz P, et al., *Reproducibility of in vivo corneal confocal microscopy as a novel screening test for early diabetic sensorimotor polyneuropathy.* Diabet Med, 2011. 28(10): p. 1253-60.
166. Ahmed A, et al., *Detection of diabetic sensorimotor polyneuropathy by corneal confocal microscopy in type 1 diabetes: a concurrent validity study.* Diabetes Care, 2012. 35(4): p. 821-28.
167. Dabbah MA, et al., *Automatic analysis of diabetic peripheral neuropathy using multi-scale quantitative morphology of nerve fibres in corneal confocal microscopy imaging.* Med Image Anal, 2011. 15(5): p. 738-47.
168. Petropoulos IN, et al., *Rapid automated diagnosis of diabetic peripheral neuropathy with in vivo corneal confocal microscopy.* Invest Ophthalmol Vis Sci, 2014. 55(4): p. 2071-78.
169. Ziegler D, et al., *Early detection of nerve fiber loss by corneal confocal microscopy and skin biopsy in recently diagnosed type 2 diabetes.* Diabetes, 2014. 63(7): p. 2454-63.
170. Efron N, *The Glenn A. Fry award lecture 2010: Ophthalmic markers of diabetic neuropathy.* Optom Vis Sci, 2011. 88(6): p. 661-83.
171. Malik RA, et al., *Corneal confocal microscopy: a non-invasive surrogate of nerve fibre damage and repair in diabetic patients.* Diabetologia, 2003. 46(5): p. 683-88.
172. Messmer EM, et al., *In vivo confocal microscopy of corneal small fiber damage in diabetes mellitus.* Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol, 2010. 248(9): p. 1307-12.

173. Midea E, et al., *Corneal diabetic neuropathy: a confocal microscopy study*. J Refract Surg, 2006. 22(9 Suppl): p. S1047-52.
174. Petropoulos IN, et al., *Corneal nerve loss detected with corneal confocal microscopy is symmetrical and related to the severity of diabetic polyneuropathy*. Diabetes Care, 2013. 36(11): p. 3646-51.
175. Tavakoli M, et al., *Corneal confocal microscopy: a novel noninvasive test to diagnose and stratify the severity of human diabetic neuropathy*. Diabetes Care, 2010. 33(8): p. 1792-97.
176. Asghar O, et al., *Corneal confocal microscopy detects neuropathy in subjects with impaired glucose tolerance*. Diabetes Care, 2014. 37(9): p. 2643-46.
177. Mehra S, et al., *Corneal confocal microscopy detects early nerve regeneration after pancreas transplantation in patients with type 1 diabetes*. Diabetes Care, 2007. 30(10): p. 2608-12.
178. Tavakoli M, et al., *Corneal confocal microscopy detects small-fiber neuropathy in Charcot-Marie-Tooth disease type 1A patients*. Muscle Nerve, 2012. 46(5): p. 698-704.
179. Tavakoli M, et al., *Corneal confocal microscopy: a novel noninvasive means to diagnose neuropathy in patients with Fabry disease*. Muscle Nerve, 2009. 40(6): p. 976-84.
180. Villani E, et al., *The cornea in Sjogren's syndrome: an in vivo confocal study*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2007. 48(5): p. 2017-22.
181. Campagnolo M, et al., *Corneal confocal microscopy in patients with oxaliplatin-induced peripheral neuropathy*. J Peripher Nerv Syst, 2013. 18(3): p. 269-71.
182. Ferrari G, Gemignani F and Macaluso C, *Chemotherapy-associated peripheral sensory neuropathy assessed using in vivo corneal confocal microscopy*. Arch Neurol, 2010. 67(3): p. 364-65.
183. Mimura T, et al., *In vivo confocal microscopy of hereditary sensory and autonomic neuropathy*. Curr Eye Res, 2008. 33(11): p. 940-45.
184. Chen WL, et al., *In vivo confocal microscopic findings of corneal wound healing after corneal epithelial debridement in diabetic vitrectomy*. Ophthalmology, 2009. 116(6): p. 1038-47.
185. Babu K, Narasimha Murthy K and Ramachandra Murthy K, *Wavelike epitheliopathy after phacoemulsification: role of in vivo confocal microscopy*. Cornea, 2007. 26(6): p. 747-48.
186. Zhivov A, et al., *In vivo confocal microscopy of the ocular surface*. Ocul Surf, 2006. 4(2): p. 81-93.

187. Bucher F, et al., *Corneal nerve alterations in different stages of Fuchs' endothelial corneal dystrophy: an in vivo confocal microscopy study*. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol, 2014. 252(7): p. 1119-26.
188. Cavanagh HD, et al., *Clinical and Diagnostic Use of In Vivo Confocal Microscopy in Patients with Corneal Disease*. Ophthalmology, 1993. 100(10): p. 1444-54.
189. Chiou AG, et al., *Confocal microscopy in cornea guttata and Fuchs' endothelial dystrophy*. Br J Ophthalmol, 1999. 83(2): p. 185-89.
190. Zhang X, et al., *Tear dynamics and corneal confocal microscopy of subjects with mild self-reported office dry eye*. Ophthalmology, 2011. 118(5): p. 902-07.
191. Labbe A, et al., *The relationship between subbasal nerve morphology and corneal sensation in ocular surface disease*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2012. 53(8): p. 4926-31.
192. Benitez del Castillo JM, et al., *An in vivo confocal masked study on corneal epithelium and subbasal nerves in patients with dry eye*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2004. 45(9): p. 3030-35.
193. Villani E, Mantelli F and Nucci P, *In-vivo confocal microscopy of the ocular surface: ocular allergy and dry eye*. Curr Opin Allergy Clin Immunol, 2013. 13(5): p. 569-76.
194. Erie JC, et al., *Recovery of corneal subbasal nerve density after PRK and LASIK*. Am J Ophthalmol, 2005. 140(6): p. 1059-64.
195. Erie JC, J.W. McLaren and S.V. Patel, *Confocal microscopy in ophthalmology*. Am J Ophthalmol, 2009. 148(5): p. 639-46.
196. Hamrah P, et al., *Unilateral herpes zoster ophthalmicus results in bilateral corneal nerve alteration: an in vivo confocal microscopy study*. Ophthalmology, 2013. 120(1): p. 40-47.
197. Hamrah P, et al., *Corneal sensation and subbasal nerve alterations in patients with herpes simplex keratitis: an in vivo confocal microscopy study*. Ophthalmology, 2010. 117(10): p. 1930-36.
198. Hu Y, et al., *Corneal in vivo confocal scanning laser microscopy in patients with atopic keratoconjunctivitis*. Ophthalmology, 2008. 115(11): p. 2004-12.
199. Lin H, et al., *Changes in corneal epithelial layer inflammatory cells in aqueous tear-deficient dry eye*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2010. 51(1): p. 122-28.
200. Niederer RL, et al., *Corneal innervation and cellular changes after corneal transplantation: an in vivo confocal microscopy study*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2007. 48(2): p. 621-26.

201. Patel DV, et al., *Laser scanning in vivo confocal microscopy and quantitative aesthesiometry reveal decreased corneal innervation and sensation in keratoconus*. Eye (Lond), 2009. 23(3): p. 586-92.
202. Chang PY, et al., *Decreased density of corneal basal epithelium and subbasal corneal nerve bundle changes in patients with diabetic retinopathy*. Am J Ophthalmol, 2006. 142(3): p. 488-90.
203. Shenoy R, et al., *Corneal endothelium in patients with diabetes mellitus: a historical cohort study*. Eur J Ophthalmol, 2009. 19(3): p. 369-75.
204. Quadrado MJ, et al., *Diabetes and corneal cell densities in humans by in vivo confocal microscopy*. Cornea, 2006. 25(7): p. 761-68.
205. Schultz RO, et al., *Corneal endothelial changes in type I and type II diabetes mellitus*. Am J Ophthalmol, 1984. 98(4): p. 401-10.
206. Tsubota K, Chiba K and Shimazaki J, *Corneal Epithelium in Diabetic Patients*. Cornea, 1991. 10(2): p. 156-60.
207. Frueh BE, Korner U and Bohnke M, *[Confocal microscopy of the cornea in patients with diabetes]*. Klin Monbl Augenheilkd, 1995. 206(5): p. 317-19.
208. Hughes RA, et al., *European Federation of Neurological Societies/Peripheral Nerve Society guideline on management of chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy: report of a joint task force of the European Federation of Neurological Societies and the Peripheral Nerve Society*. Eur J Neurol, 2006. 13(4): p. 326-32.
209. Alkhawajah NM, Dunnigan SK and Brill V, *Comparison of monoclonal gammopathy of undetermined significance-associated neuropathy and chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy patients*. J Neurol, 2014. 261(8): p. 1485-91.
210. Vallat JM, Sommer C and Magy L, *Chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy: diagnostic and therapeutic challenges for a treatable condition*. Lancet Neurol, 2010. 9(4): p. 402-12.
211. Gorson KC, et al., *Efficacy of intravenous immunoglobulin in patients with IgG monoclonal gammopathy and polyneuropathy*. Arch Neurol, 2002. 59(5): p. 766-72.
212. Patel DV, et al., *Corneal sensitivity and slit scanning in vivo confocal microscopy of the subbasal nerve plexus of the normal central and peripheral human cornea*. Cornea, 2009. 28(7): p. 735-40.
213. Kim G, et al., *Assessing the Reproducibility of Quantitative In Vivo Confocal Microscopy of Corneal Nerves in Different Corneal Locations*. Cornea, 2013.

214. Chen X, et al., *An Automatic Tool for Quantification of Nerve Fibres in Corneal Confocal Microscopy Images*. IEEE Trans Biomed Eng, 2016.
215. Stettner M, et al., *Corneal confocal microscopy in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy*. Ann Clin Transl Neurol, 2016. 3(2): p. 88-100.
216. Joint Task Force of the, E. and P.N.S. the, *European Federation of Neurological Societies/Peripheral Nerve Society Guideline on management of chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. Report of a joint task force of the European Federation of Neurological Societies and the Peripheral Nerve Society*. J Peripher Nerv Syst, 2005. 10(3): p. 220-28.
217. *Heart rate variability. Standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology*. Eur Heart J, 1996. 17(3): p. 354-81.
218. Hilz MJ and Dutsch M, *Quantitative studies of autonomic function*. Muscle Nerve, 2006. 33(1): p. 6-20.
219. Merkies IS, et al., *Connecting impairment, disability and handicap in immune mediated polyneuropathies*. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2003. 74(1): p. 99-104.
220. Hughes RA, et al., *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(2): p. 136-44.
221. Schneider C, et al., *Corneal confocal microscopy detects small fiber damage in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy (CIDP)*. J Peripher Nerv Syst, 2014. 19(4): p. 322-27.
222. Vlam L, et al., *Multifocal motor neuropathy: diagnosis, pathogenesis and treatment strategies*. Nat Rev Neurol, 2012. 8(1): p. 48-58.
223. Harschnitz O, et al., *MMN: from immunological cross-talk to conduction block*. J Clin Immunol, 2014. 34 Suppl 1: p. S112-19.
224. Lambrecq V, et al., *Sensory loss in multifocal motor neuropathy: a clinical and electrophysiological study*. Muscle Nerve, 2009. 39(2): p. 131-36.
225. Delmont E, et al., *Do patients having a decrease in SNAP amplitude during the course of MMN present with a different condition?* J Neurol, 2009. 256(11): p. 1876-80.
226. Leppin K, et al., *Diabetes mellitus leads to accumulation of dendritic cells and nerve fiber damage of the subbasal nerve plexus in the cornea*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2014. 55(6): p. 3603-15.

227. Dehghani C, et al., *Morphometric stability of the corneal subbasal nerve plexus in healthy individuals: a 3-year longitudinal study using corneal confocal microscopy*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2014. 55(5): p. 3195-99.
228. Hoeijmakers JG, et al., *Small-fibre neuropathies--advances in diagnosis, pathophysiology and management*. Nat Rev Neurol, 2012. 8(7): p. 369-79.
229. Harbo T, Andersen H and Jakobsen J, *Length-dependent weakness and electrophysiological signs of secondary axonal loss in chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy*. Muscle Nerve, 2008. 38(2): p. 1036-45.
230. Dalakas MC, *Advances in the diagnosis, pathogenesis and treatment of CIDP*. Nat Rev Neurol, 2011. 7(9): p. 507-17.
231. Chio A, et al., *Guillain-Barre syndrome: a prospective, population-based incidence and outcome survey*. Neurology, 2003. 60(7): p. 1146-50.
232. Bansal S, et al., *Corneal sensitivity in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy*. Cornea, 2014. 33(7): p. 703-06.
233. Donaghy M, et al., *Pure motor demyelinating neuropathy: deterioration after steroid treatment and improvement with intravenous immunoglobulin*. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 1994. 57(7): p. 778-83.
234. Shimizu F, et al., *Severity and patterns of blood-nerve barrier breakdown in patients with chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy: correlations with clinical subtypes*. PLoS One, 2014. 9(8): p. e104205.
235. Yan WX, et al., *Passive transfer of demyelination by serum or IgG from chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy patients*. Ann Neurol, 2000. 47(6): p. 765-75.
236. Doppler K, et al., *Auto-antibodies to contactin-associated protein 1 (Caspr) in two patients with painful inflammatory neuropathy*. Brain, 2016. 139(Pt 10): p. 2617-30.
237. Kuwabara S and Yuki N, *Axonal Guillain-Barre syndrome: concepts and controversies*. Lancet Neurol, 2013. 12(12): p. 1180-88.
238. Kuwahara M, et al., *Clinical features of CIDP with LM1-associated antibodies*. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2013. 84(5): p. 573-75.
239. Kanda T, et al., *Glycosphingolipid antibodies and blood-nerve barrier in autoimmune demyelinating neuropathy*. Neurology, 2000. 54(7): p. 1459-64.
240. Katz JS, et al., *Distal acquired demyelinating symmetric neuropathy*. Neurology, 2000. 54(3): p. 615-20.
241. Nobile-Orazio E, *Chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy and variants: where we are and where we should go*. J Peripher Nerv Syst, 2014. 19(1): p. 2-13.

242. Dawes JM and McMahon SB, *Chemokines as peripheral pain mediators*. *Neurosci Lett*, 2013. 557 Pt A: p. 1-8.
243. Dauch JR, et al., *Neurogenic factor-induced Langerhans cell activation in diabetic mice with mechanical allodynia*. *J Neuroinflammation*, 2013. 10: p. 64.
244. Casanova-Molla J, et al., *Epidermal Langerhans cells in small fiber neuropathies*. *Pain*, 2012. 153(5): p. 982-89.
245. Maisonobe T, et al., *Chronic dysimmune demyelinating polyneuropathy: a clinical and electrophysiological study of 93 patients*. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 1996. 61(1): p. 36-42.
246. Guibord N, et al., *Trigeminal nerve hypertrophy in chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy*. *Neurology*, 1998. 51(5): p. 1459-62.
247. Niino M, Tsuji S and Tashiro K, *Chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy with multiple hypertrophic nerves in intracranial, and intra- and extra-spinal segments*. *Intern Med*, 1999. 38(5): p. 445-49.
248. Anadani M and Katirji B, *Acute-onset chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy: An electrodiagnostic study*. *Muscle Nerve*, 2015. 52(5): p. 900-05.
249. Dimachkie MM and Saperstein DS, *Acquired immune demyelinating neuropathies*. *Continuum (Minneap Minn)*, 2014. 20(5 Peripheral Nervous System Disorders): p. 1241-60.
250. Mayer WJ, et al., *Distribution of antigen presenting cells in the human cornea: correlation of in vivo confocal microscopy and immunohistochemistry in different pathologic entities*. *Curr Eye Res*, 2012. 37(11): p. 1012-18.
251. Chen W, et al., *Existence of small slow-cycling Langerhans cells in the limbal basal epithelium that express ABCG2*. *Exp Eye Res*, 2007. 84(4): p. 626-34.
252. Mayer WJ, et al., *Characterization of antigen-presenting cells in fresh and cultured human corneas using novel dendritic cell markers*. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2007. 48(10): p. 4459-67.

## 6 Anhang

### 6.1 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Vorbereiten der Objektivröhre .....	19
Abb. 2: Einstellung der KKM.....	20
Abb. 3: Auswahl der KKM-Bilder .....	22
Abb. 4: Automatische Bildauswertung mittels ACCMetrics .....	24
Abb. 5: Zellen mit und ohne Nervenfaserkontakt .....	24
Abb. 6: Zellinfiltrate der Kornea .....	25
Abb. 7: Nervenfaserverparameter in Abhängigkeit vom Patientenalter.....	38
Abb. 8: Korneale Nervenzellinfiltrate und Nervenfaserverreduktion bei Patienten mit immunvermittelter Neuropathie .....	39
Abb. 9: Korneale Nervenfaserverparameter bei Immunneuropathien .....	40
Abb. 10: Korneale Nervenzellinfiltrate und Nervenfaserverreduktion bei Patienten mit immunvermittelter Neuropathie .....	40
Abb. 11: DCF und DCP bei Immunneuropathien .....	41
Abb. 12: Korneale Nervenfaserverparameter und Dauer der Erkrankung.....	42
Abb. 13: Infiltrate und Dauer der Erkrankung.....	43
Abb. 14: Korneale Infiltrate und klinische Präsentation .....	45
Abb. 15: Korneale Fasern und Verteilung der Symptome .....	46
Abb. 16: KKM und INCAT-Score .....	47
Abb. 17: DCF und INCAT-Score.....	48
Abb. 18: Korneale Nervenfaserverparameter und schmerzhafte Neuropathie .....	49
Abb. 19: Korneale Infiltrate und schmerzhafte Neuropathien.....	49
Abb. 20: Nervenfaserverparameter und Antikörperstatus .....	50
Abb. 21: Zellinfiltrate und Antikörperstatus .....	51
Abb. 22: KKM und MAG-Antikörperstatus .....	51
Abb. 23: KKM und GM1-Antikörperstatus.....	52
Abb. 24: KKM und MGUS.....	53
Abb. 25: DCP und elektrophysiologische Ergebnisse .....	54
Abb. 26: End-of-Dose-Effekt und korneale Infiltrate.....	55
Abb. 27: KKM und Krankheitsverlauf.....	56
Abb. 28: KKM und Hirnnervenbeteiligung.....	57



## 6.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Differentialdiagnostische Abklärung bei Verdacht auf CIDP .....	3
Tabelle 2: Diagnosekriterien der CIDP .....	5
Tabelle 3: Unterteilung der Immuneuropathien .....	6
Tabelle 4: Kriterien der Monoklonalen Gammopathie unklarer Signifikanz .....	10
Tabelle 5: Diagnostische Kriterien der MMN.....	11
Tabelle 6: Alter und Geschlechterverteilung des Patientenkollektivs .....	16
Tabelle 7: Ein-, Ausschluss- und Abbruchkriterien der Studie .....	17
Tabelle 8: INCAT-Score (Inflammatory Neuropathy Cause and Treatment) .....	30
Tabelle 9: Patientenkollektiv CIDP .....	37

## **Danksagung**

Zum Gelingen dieser Arbeit haben der Einsatz und die Unterstützung verschiedenen Personen beigetragen, denen ich an dieser Stelle meinen herzlichsten Dank aussprechen möchte.

Ein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Bernd Kieseier, meinem Doktorvater, für die Ideengebung, die Betreuung dieser Arbeit sowie die fachliche Unterstützung. Er überließ mir ein spannendes Thema und weckte mein Interesse für die Forschung.

Für die besondere und intensive Betreuung möchte ich Dr. Dr. Mark Stettner ganz herzlich danken. Seine Leidenschaft für das Gebiet der Neuropathien und die mehrjährige umfassende Betreuung trugen in besonderem Maße zur Fertigstellung der vorliegenden Dissertation bei. Die zahlreichen Gespräche auf intellektueller und persönlicher Ebene werden mir immer als bereichernder und konstruktiver Austausch in Erinnerung bleiben. Unsere Dialoge haben mich stets ermutigt und motiviert.

Tief verbunden und dankbar bin ich meiner Familie, Niklas und meinen Freunden. Durch sie erfuhr ich uneingeschränkte Unterstützung in der Erreichung meiner Ziele sowie ermutigende und liebevolle Worte. Ich danke euch von ganzem Herzen für eure Unterstützung.

Zuletzt möchte ich den Teilnehmern dieser Studie danken, ohne deren Mitarbeit die Durchführung und das Gelingen dieser Dissertation nicht möglich gewesen wären.