

Immunfluoreszenzmikroskopische Autoantikörperdiagnostik bei Erkrankungen des Nervensystems

Detection of Autoantibodies by Indirect Immunofluorescence Test in the Diagnostics of Neurological Diseases

F. Blaes^{1,2}, G. Holzer¹, S. Merkelbach¹, M. Strittmatter¹, K. Schimrigk¹, K. H. Schäfer³

Zusammenfassung: Die diagnostische Relevanz und die Pathogenität von Autoantikörpern gegen zentralnervöse (ZNS) oder peripherenervöse (PNS) Strukturen sind bisher weitgehend unklar. Mittels eines indirekten Immunfluoreszenztests wurden in dieser Studie die Seren und Liquores von 116 neurologisch erkrankten Patienten auf das Vorkommen von Antikörpern gegen ZNS- oder PNS-Strukturen untersucht. Während Patienten mit Multipler Sklerose, Neuroborreliose oder amyotropher Lateralsklerose keine signifikanten Unterschiede gegenüber einer Kontrollgruppe mit nicht autoimmun bedingten neurologischen Erkrankungen zeigten, waren bei Patienten mit Polyradikulitis Guillain-Barré häufiger und höhertitrig Antikörper gegen Strukturen des peripheren Nervensystems nachweisbar (p jeweils $< 0,01$). Antikörper gegen Neurone oder gegen Purkinjezellen treten wahrscheinlich im Rahmen einer antitumoralen Immunantwort als Kreuzreaktion zwischen Tumor- und Nervenzellproteinen auf. Antineuronale Antikörper waren bei allen Patienten mit paraneoplastischen neurologischen Syndromen und bei 42% der Karzinompatienten ohne neurologische Symptomatik, jedoch bei keinem anderen Patienten nachweisbar ($p < 0,005$). Dabei traten diese Antikörper in der Paraneoplasiegruppe in höheren Titern als in der Karzinomgruppe auf ($p < 0,005$). Eine intrathekale Synthese dieser Autoantikörper ließ sich in 85,7% der Paraneoplasiepatienten, jedoch nicht bei Karzinompatienten ohne neurologische Störungen nachweisen ($p < 0,05$). Der immunfluoreszenzmikroskopische Nachweis von Autoantikörpern gegen Strukturen des Nervensystems erweist sich als hochspezifische Methode zur Erkennung paraneoplastischer neurologischer Syndrome. Positive Resultate in der Immunfluoreszenz sollten mittels Immunblot bestätigt werden. Möglicherweise können bestimmte Tumorerkrankungen ohne begleitende neurologische Symptomatik bei geringerer Sensitivität, aber ebenfalls hoher Spezifität, früher erkannt werden.

Schlüsselwörter: Autoantikörper/Serum; Autoantikörper/Liquor; Polyradikuloneuritis/Immunologie; Paraneoplastische Syndrome/Immunologie; Mikroskopie, Fluoreszenz-.

Summary: Diagnostic relevance and pathogenicity of autoantibodies against structures of the central and peripheral nervous system (anti-CNS-Ab, anti-PNS-Ab) are mainly unclear. We used indirect immunofluorescence to test sera and cerebrospinal fluid of 116 patients with neurological diseases or malignancies for anti-CNS/anti-PNS-Ab. While patients with multiple sclerosis, neuroborreliosis or amyotrophic lateral sclerosis showed no significant difference to the controls, patients with polyradiculitis had a higher incidence and higher titers of antibodies against PNS structures ($p < 0,01$). Antibodies against neurons or Purkinje cells were detected in all patients with paraneoplastic neurological syndromes and in 42% of carcinoma patients without neurological disturbances, but in none of the other patients ($p < 0,005$). The titers of these anti-neuronal/anti-Purkinje cell antibodies in the paraneoplasia group were higher than in the carcinoma group ($p < 0,005$). Intrathecal synthesis of these autoantibodies was seen in 85.7% of the patients with paraneoplasia, but in none of the patients with carcinoma only ($p < 0,05$). Detection of autoantibodies against neurons/Purkinje cell structures using indirect immunofluorescence proves to be a highly specific method for the identification of paraneoplastic neurological syndromes. In case of positive results in immunofluorescence test, immunoblot should be used as confirmation test. With less sensitivity, in some cases it may lead to an early detection of malignant processes without paraneoplasia.

Keywords: Autoantibodies/serum; Autoantibodies/cerebrospinal fluid; Polyradiculoneuritis/immunology; Paraneoplastic Syndromes/immunology; Microscopy, Fluorescence.

¹Neurologische Klinik, Universität des Saarlandes, Homburg
²Korrespondenzadresse: Dr. Franz Blaes, Neurologische Klinik, Universität des Saarlandes, D-66421 Homburg.
 Fax: +49-6841-164137

³Institut für Anatomie, Universität des Saarlandes, Homburg
 Eingegangen: 8. August 1997 / Angenommen: 27. Oktober 1997

Für eine zunehmende Zahl von neurologischen Erkrankungen wird eine Autoimmunpathogenese diskutiert. Die Polyradikulitis Guillain-Barré scheint durch autoaggressive Prozesse gegen das periphere Nervensystem bestimmt zu sein [1, 2, 3]. Eine Kreuz-

reaktivität zwischen Bakterienwandbestandteilen und Strukturen der Myelinscheiden der peripheren Nerven wird als eine mögliche Ursache des Autoimmunprozesses angeschuldigt [4]. Auch bei der Multiplen Sklerose, paraneoplastischen neurologischen Syndromen, der amyotrophen Lateralsklerose und Spätstadien einer Borrelieninfektion des ZNS sind Autoimmunphänomene im Verlauf der Erkrankung nachweisbar [5-8]. Bei einigen dieser Erkrankungen treten Autoantikörper gegen Strukturen des zentralen (ZNS) oder peripheren Nervensystems (PNS) auf [9-12]. Diese Befunde sind jedoch inkonstant und ihr differentialdiagnostischer Wert bei neurologischen Erkrankungen ist bisher nicht genügend untersucht.

Ziel dieser Studie war die Prüfung eines indirekten Immunfluoreszenztests auf seine Eignung zum Nachweis von Autoantikörpern gegen ZNS/PNS. Diese Untersuchungen erfolgten an Serum und Liquores von Patienten mit Multipler Sklerose (MS), Polyradikulitis Guillain-Barré (GBS), amyotropher Lateralsklerose (ALS), Neuroborreliose (NB), paraneoplastischen Syndromen, Karzinomen und einer Kontrollgruppe. Hierdurch sollten Vorkommen und diagnostische Relevanz von gegen Nervengewebe gerichteten Autoantikörpern weiter geklärt werden.

Material und Methoden

Laborproben

Von 116 Patienten wurden Serum- und Liquorproben bei Erstmanifestation der Erkrankung vor Therapiebeginn gewonnen und bis zur Austestung bei -20°C gelagert. Von 13 GBS-Patienten und 4 Patienten mit paraneoplastischem Syndrom wurden Serum- und Liquorproben 48 Stunden nach Abschluß der Therapie (Plasmapherese oder intravenöse Immunglobulingabe) gewonnen.

Patienten

Die Patienten wurden in 6 Diagnosegruppen und eine Kontrollgruppe unterteilt (s. Tabelle 1).

Tabelle 1 Diagnosegruppen, Fallzahlen und mittleres Alter der Gruppen

Diagnosegruppe	Fallzahl	mittleres Alter
Amyotrophe Lateralsklerose	19	59,47
Neuroborreliose	17	47,25
Malignome	12	57,85
Paraneoplasien	7	54,71
Guillain-Barré Syndrom	21	49,54
Multiple Sklerose	21	36,9
Kontrollen	19	44,76

Nicht standardisierte Abkürzungen: ALS, Amyotrophe Lateralsklerose; FITC, Fluoreszeinisothiocyanat; GBS, Guillain-Barré Syndrom; IAI, intrathekaler Antikörperindex; IFT, indirekter Immunfluoreszenztest; MS, Multiple Sklerose; NB, Neuroborreliose; PNS, Peripheres Nervensystem; ZNS, Zentralnervensystem.

Nach Poser [13] waren für die Diagnose einer MS ein Erkrankungsbeginn zwischen 10. und 59. Lebensjahr, mindestens zwei Schübe und zwei voneinander räumlich getrennte Herde im ZNS im Kernspintomogramm erforderlich. Zusätzlich wurde der Nachweis oligoklonaler IgG-Banden im Liquor gefordert.

Die Diagnose einer ALS galt als sicher, wenn in der klinischen Untersuchung Ausfälle des ersten und zweiten Motoneurons nachweisbar waren und eine monoklonale Gammopathie ausgeschlossen war. Neurologische Ausfälle, die nicht dem motorischen System zuzuordnen waren, führten zum Ausschluß.

Gemäß den Kriterien von Ashbury [14] war bei folgender Symptomatik von einer Polyradikulitis Guillain-Barré (GBS) auszugehen: Progressive motorische Schwäche an mehr als einer Extremität, Hypo- oder Areflexie und ein typisches Liquorsyndrom mit Eiweißerhöhung ohne oder mit geringer begleitender Zellzahlerhöhung (bis 50 Zellen/ μl).

Die Diagnose einer Neuroborreliose (NB) setzte die Anamnese eines Zeckenbisses oder eines Erythema chronicum migrans, eine anders nicht zu erklärende neurologische Symptomatik und einen signifikanten Titeranstieg des Serum-IgG oder eine intrathekale Synthese borrelienspezifischer Antikörper voraus.

Die Malignomgruppe bestand aus zufällig ausgewählten Patienten mit histologisch gesicherten Tumoren (5 Pat. mit Bronchialkarzinom, 3 Pat. mit Mammakarzinom, 2 Pat. mit kolorektalen Karzinomen und 2 Pat. mit Non-Hodgkin-Lymphom).

Patienten mit einem histologisch gesicherten malignen Tumor und einer nicht durch lokale Tumoren oder Metastasen bedingten neurologischen Symptomatik wurden in die Paraneoplasiegruppe aufgenommen. Ebenso wurden mit einem Anti-Purkinjezell-Antikörper (anti-Hu oder anti-Yo) assoziierte Syndrome als paraneoplastisch eingestuft, wenn der Antikörpertiter im indirekten Immunfluoreszenztest $> 1:500$ betrug [15] und im weiteren Verlauf ein Tumor auftrat.

In die Kontrollgruppe (Ko) wurden 19 Patienten mit anderen, nicht autoimmun bedingten, neurologischen Erkrankungen aufgenommen (6 Pat. mit diabetischer Polyneuropathie, 4 Pat. mit Bandscheibenvorfall, 3 Pat. mit peripherer Facialisparese, 6 Pat. mit viraler Enzephalitis).

Indirekter Immunfluoreszenztest (IFT)

Der im indirekten Immunfluoreszenztest (Fa. Euroimmun, Lübeck) verwendete Objektträger trägt auf je 5 Reaktionsfeldern 5 verschiedene Gewebeschnitte von 2×2 mm Größe [16]. Als antigenträgende Gewebe wurden Groß- und Kleinhirn von Primaten, fetaler Darm zum Nachweis von Antikörpern gegen vegetative Ganglien, peripherer Nerv (N. Ischiadicus) und ein Leberschnitt zur Erkennung antinukleärer Antikörper verwendet.

Die Serumproben wurden 1:16 mit phosphatgepufferter Kochsalzlösung mit Zusatz von 0,2% Tween verdünnt. Die Liquores wurden nativ belassen. Nach Inkubation mit Serumverdünnung bzw. Liquor über 30

min erfolgt eine 30-minütige Inkubation der Objektträger in fluoreszeinisothiocyanat (FITC)-markiertem anti-human-IgG (bzw. -IgM). Die Auswertung erfolgte mit einem Zeiss-Auflichtfluoreszenzmikroskop bei Vergrößerungen von 250x und 400x. Bei einem positiven Befund in der Anfangsverdünnungsstufe wurden nach Bestimmung der Antikörperklasse (IgG oder IgM) die höchste Verdünnungsstufe immunfluoreszenzmikroskopisch bestimmt.

Statistische Auswertung

Die Titer wurden zur weiteren Berechnung logarithmiert. Arithmetische Mittelwerte wurden aus den Ergebnissen aller Serien einer Diagnosegruppe berechnet. Zur Prüfung der Unterschiede zwischen den einzelnen Diagnosegruppen auf Signifikanz wurde der Wilcoxon-Test für unverbundene Stichproben verwendet. Bei signifikant höheren Ergebnissen eines Antikörpers in einer Diagnosegruppe wurden die diagnostische Spezifität und Sensitivität des Parameters mittels Vierfeldertafel berechnet und die Signifikanz der Vierfeldertafelergebnisse im Chi-Quadratstest überprüft. In der jeweiligen Vierfeldertafel wurde die zu untersuchende Gruppe mit der Gesamtheit der übrigen Gruppen verglichen. Zur Prüfung auf Altersabhängigkeit der Autoantikörperbefunde wurde im Gesamtkollektiv und den Einzelgruppen eine Kovarianzanalyse durchgeführt. Bezüglich des Durchschnittsalters bestand ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen (mittleres Alter in den Gruppen siehe Tabelle 1). Da durch die Kovarianzanalyse ein signifikanter Einfluß des Alters auf die Antikörperbefunde sowohl im Gesamtkollektiv, wie auch in den Einzelgruppen ausgeschlossen werden konnte, war ein Vergleich zwischen den Gruppen möglich.

Bei positivem Liquorbefund erfolgte die Berechnung des intrathekalen Antikörperindex (IAI) zum Nachweis einer spezifischen intrathekalen Antikörpersynthese [17]:

$$\text{IAI} = \frac{\text{Titer spezif. Antikörper (Liquor) / Titer spezif. Antikörper (Serum)}}{\text{IgG (Liquor) / IgG (Serum)}}$$

Eine intrathekale Synthese wurde bei einem IAI > 3 angenommen.

Ergebnisse

Multiple Sklerose, Neuroborreliose und Amyotrophe Lateralsklerose

Verglichen mit der Kontrollgruppe konnten wir in der MS-Gruppe (n=21), in der ALS-Gruppe (n=19) und in der Neuroborreliosegruppe (n=17) kein signifikant höheres Vorkommen von Autoantikörpern gegen ZNS-oder PNS-Gewebe nachweisen.

In der Neuroborreliosegruppe fand sich ein Patient mit einem antinukleären Antikörper (anti-Zentromerantikörper, Titer 1:5000). Dieser Patient litt an einer sensomotorischen Polyneuropathie und entwickelte nach etwa 6 Monaten ein CREST-Syndrom (Calcinosis cutis, Raynaud-Syndrom, Ösophagusbeteiligung, Sklerodaktylie, Teleangiectasien). Bei einem Patienten, bei dem initial eine Neuroborreliose diagnostiziert wurde, ließ sich ein hochtitriger antineuroner Antikörper (anti-Hu) in Serum und Liquor nachweisen. Der Patient erkrankte ein Jahr später an einem kleinzelligen Bronchialkarzinom und wurde daher der Paraneoplasiegruppe zugeordnet. Ein weiterer Patient, der klinisch Zeichen einer ALS entwickelte, wurde durch den Nachweis eines hochtitrigen anti-Hu-Antikörpers der Paraneoplasiegruppe zugeordnet, nachdem im weiteren Verlauf ein Bronchialkarzinom aufgetreten war. Zwei Patienten (1 ALS-Patient, 1 MS-Patient) zeigten eine nicht näher spezifizierbare Bindung im Großhirnschnitt (Titer jeweils 1:16). Bei diesen Patienten war im Verlauf kein Malignom nachweisbar.

Polyradikulitis Guillain-Barré (GBS)

In der GBS-Gruppe (n=21) traten signifikant häufiger und höherwertig (p jeweils < 0,01) Autoantikörper gegen peripheres Nervengewebe (anti-PNS Antikörper) auf als in allen anderen Gruppen (Tab. 2). Dies galt für die Antikörper der Klassen IgG und IgM. Diese Autoantikörper zeigten in der Immunfluoreszenz eine Bindung an N. Ischiadicus, jedoch konnte auch eine Färbung rund um die Purkinjezellen im Kleinhirnschnitt nachgewiesen werden. Diese zeigte in 89% der Fälle eine Koinzidenz mit anti-PNS Antikörpern. Spezifität und Sensitivität der anti-PNS-Antikörper wurden analog der Tab. 3 berechnet. Bezüglich der Erkennung einer Polyradikulitis konnte für IgG-anti-

Tabelle 2 Absolute und prozentuale Häufigkeiten und Mittelwerte der logarithmierten Titer der anti-PNS Antikörper (IgG und IgM); positiv = Titer > 1:64 (IgG) u. > 1:32 (IgM)

Diagnose	IgG anti-PNS Antikörper		IgM anti-PNS Antikörper	
	Positiv (%)	log Titer	positiv (%)	log Titer
Amyotrophe Lateralsklerose	1/19 (5,2)	1,00	0/19 (0)	0
Neuroborreliose	2/17 (11,7)	0,82	1/17 (5,8)	0,17
Multiple Sklerose	1/21 (4,7)	1,25	0/21 (0)	0
Guillain-Barré Syndrom	6/21 (28,5%)*	3,28*	12/21 (57,1%)*	2,38*
Malignome und Paraneoplasien	1/19 (5,2)	0,68	2/19 (10,4)	0,26
Kontrollen	1/19 (5,8)	1,10	0/19 (0)	0

* p jeweils < 0,01, Wilcoxon-Test

Tabelle 3 Vierfeldertafel - Berechnung der Sensitivität und Spezifität antineuronaler Antikörper zur Erkennung maligner und paraneoplastischer Erkrankungen (Positiv Titer $\geq 1:16$). Sensitivität: 63,1%; Spezifität 97,9%.

Gruppe	Positiv	Negativ
Malignom oder Paraneoplasie	12	7
Kein Malignom	2	95

PNS-Antikörper eine Spezifität von 93,6% bei einer Sensitivität von 28,5% berechnet werden, wenn ein Titer $>1:64$ als positiv galt. IgM-anti-PNS-Antikörper (positiv bei einem Titer $>1:32$) hatten eine Spezifität von 96,8% bei einer Sensitivität von 57%. Weiterhin waren in dieser Gruppe signifikant häufiger antinukleäre Antikörper nachweisbar als in der Kontrollgruppe (GBS-Gruppe 42,8%, Kontrollgruppe 5,2%, $p<0,05$). Weder die antinukleären Antikörper, noch die anti-PNS-Antikörper zeigten im Verlauf der Erkrankung signifikante Titeränderungen.

Karzinome und Paraneoplasien

Bei 5/12 (42%) der Karzinompatienten und bei 7/7 Patienten mit paraneoplastischem Syndrom ließen sich Antikörper gegen zentralnervöse Strukturen nachweisen. Diese Antikörper zeigten meist eine Bindung an Neuronen- bzw. Purkinjezellkerne unter Aussparung des Nukleolus und eine geringere Fluoreszenz des Zytoplasma (anti-Hu) oder eine Bindung an das Zytoplasma der Purkinjezellen (anti-Yo, Abb. 1). Desweiteren waren in beiden Gruppen auch atypische (d.h. nicht anti-Hu oder anti-Yo entsprechende) Bindungen nachzuweisen.

In den übrigen Gruppen war nur bei einem Patienten ein Antikörper gegen Großhirngewebe nachweis-

bar, dieser richtete sich Gegensatz zu allen Malignom- oder Paraneoplasiepatienten nicht gegen Neurone. Eine nähere Charakterisierung dieses Antikörpers war nicht möglich. Damit errechnete sich für antineuronale Antikörper eine Spezifität von 97,9% bei einer Sensitivität von 63,1% bezüglich der Erkennung von Malignomen oder Paraneoplasien (Tab.3). Vergleicht man die Paraneoplasiegruppe mit der Malignomgruppe, findet man bei Paraneoplasiepatienten signifikant höhere Autoantikörpertiter in Serum und Liquor (Abbildung 2). Ein signifikanter Unterschied war auch bei der Berechnung des intrathekalen Antikörperindex (IAI) festzustellen. Eine intrathekale Synthese des antineuronalen Antikörpers lag bei 6/7 der Paraneoplasiepatienten, jedoch bei keinem der Malignompatienten vor ($p<0,005$). Bei 4/7 Patienten mit einem paraneoplastischen Syndrom lagen Werte vor und nach Therapie vor (Tabelle 4). Ein Abfallen des Liquortiters bzw. des IAI verbunden mit einer klinischen Besserung konnte nur bei zwei Patienten, jeweils nach Therapie mit intravenöser Immunglobulingabe, beobachtet werden.

Diskussion

Unsere Ergebnisse bei MS, ALS und Neuroborreliose zeigen im Vergleich mit der Kontrollgruppe kein signifikant höheres Vorkommen von Autoantikörpern bei diesen Erkrankungen. In der Literatur findet sich eine Vielzahl von Beschreibungen über den Nachweis von Autoantikörpern bei diesen Erkrankungen. Martino konnte B-Lymphozyten mit Spezifität gegen basisches Myelinprotein bei MS-Patienten nachweisen [18]. Auch Warren et al. fanden Antikörper dieser Spezifität bei der MS [8]. Diese Antikörper finden sich jedoch auch bei anderen Erkrankungen, so zum Beispiel bei der Neuroborreliose [19, 20], so daß ein differentialdiagnostischer Nutzen derzeit fraglich ist. Auch lassen

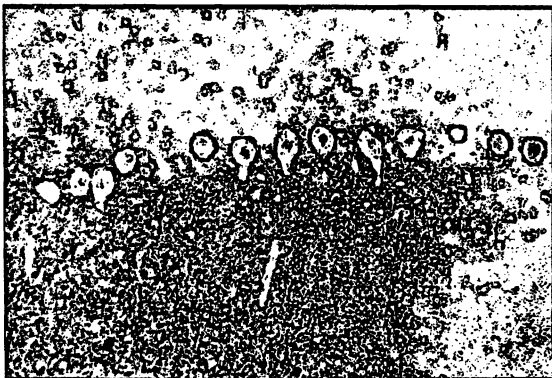


Abbildung 1 Humanes Kleinhirngewebe nach Inkubation mit anti-Yo Antikörper-positivem Serum einer Patientin mit paraneoplastischer Kleinhirndegeneration. Spezifische Färbung des Purkinjezellzytoplasmas. Serumverdünnung 1:100

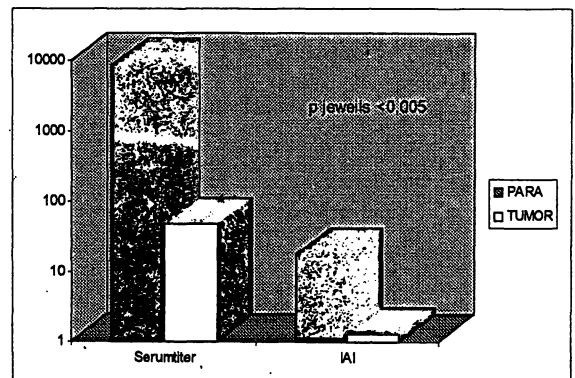


Abbildung 2 Mittelwerte der Serumtiters und der intrathekalen Antikörperindizes (IAI) der antineuronalen Antikörper bei Patienten mit paraneoplastischem Syndrom (PARA) und bei Patienten mit Malignom ohne Paraneoplasie (TUMOR)

Tabelle 4 Serum-, Liquortiter und intrathekaler Antikörperindex vor und nach Therapie des paraneoplastischen Syndroms

Pat.	Antikörper	Therapie	Serumtiter vor	Serumtiter nach	Liquortiter vor	Liquortiter nach	IAI vor	IAI nach
1	Anti-Yo	i.v. Ig	32000	8000	4000	1000	33,16	3,80
2	Atyp.	i.v. Ig	256	64	128	8	19,96	9,51
3	anti-Hu	Plasmaph.	16000	4000	256	256	0,87	(2,76)*
4	Anti-Hu	Plasmaph.	8000	1000	512	256	15,36	(13,14)*

* nach Plasmapherese nicht mehr beurteilbar (siehe Diskussion)

sich bei MS-Patienten Antikörper gegen Myelin-Oligodendrozyten-Glykoprotein [21, 22] oder gegen Astrozyten [9] nachweisen, ohne daß diese eine ausreichende diagnostische Spezifität und Sensitivität erreichen. Auch die bei der ALS gefundenen Autoantikörper [5, 23] lassen sich nicht als diagnostische Marker verwenden.

Das Vorkommen von Autoantikörpern gegen Bestandteile des peripheren Nerven bei Polyradikulitispatienten wurde bereits von Koski 1985 beschrieben [1]. Die korrespondierenden Antigene sind nur zum Teil bekannt, verschiedene Arbeitsgruppen konnten Antikörper gegen myelinassoziertes Glykoprotein [3], gegen LM1-Gangliosid [24] und auch gegen andere Ganglioside nachweisen (Übersicht in [25]). Eine Differenzierung dieser Antikörper ist im IFT bisher nicht möglich. Da in unserem Test eine hohe Koinzidenz von anti-PNS Antikörpern und faserartigen Bindungen im Kleinhirnschnitt nachweisbar waren, wären auch hier Ganglioside als ein mögliches Antigen zu diskutieren. Laev und DeBaecque konnten ähnliche Bindungen in Kleinhirngewebe durch Gangliosidantikörper erzeugen, wie sie durch die Seren von Polyradikulitispatienten in unseren Kleinhirnschnitten erzeugt wurden [26, 27]. Unter Berücksichtigung des ultrastrukturellen Aufbaus der Kleinhirnrinde kann eine Bindung der Antikörper an Axone der Korbzellen diskutiert werden, da diese den Purkinjezellkörpern unmittelbar anliegen. Wenn auch eine signifikante Änderung dieser Antikörper im Verlauf der Erkrankung nicht gefunden wurde, erlaubt die hohe Spezifität insbesondere der IgM-Antikörper möglicherweise die Unterscheidung immunologisch bedingter Polyradikulitiden von anderen akuten oder subakuten verlaufenden, insbesondere auch von paraneoplastischen Polyneuropathien, bei denen wir solche Bindungen nicht nachweisen konnten.

Antikörper gegen neuronale Strukturen zeigen sowohl in unserer Studie, wie auch bei anderen Autoren eine hohe Spezifität zur Erkennung maligner und paraneoplastischer Erkrankungen [15, 28, 29]. Einige der entsprechenden Antigene sind inzwischen identifiziert. Es handelt sich hier um eine Gruppe von RNA/DNA-bindenden Proteinen im Bereich 38-40 kDa (anti-Hu [30]) bzw. 55 und 80 kDa (anti-Ri [31]). Diese Proteine werden fast ausschließlich in Neuronen und Tumorzellen exprimiert [32].

Im Gegensatz zu Moll et al. [15] konnten wir bei 42% unserer Malignompatienten ohne Paraneoplasie antineuronale Antikörper detektieren. Hier konnten wir auch atypische (d.h. nicht anti-Hu- oder -Yo entsprechende) neuronale Bindungen nachweisen, die in Serum und Liquor signifikant niedrigere Titer als die Paraneoplasiepatienten aufwiesen. Die unterschiedlichen Ergebnisse beider Studien erklären sich zum einen durch die Wahl der als positiv anzusehenden Titerstufen. Da in unserer Studie ein Screening auf Autoantikörper durchgeführt wurde, werteten wir alle Serumtiter von antineuronalen Antikörpern $\geq 1:16$ als positiv. Moll et al. untersuchten die diagnostische Relevanz dieser Autoantikörper ausschließlich bei paraneoplastischen Syndromen, weshalb erst Titer von $\geq 1:500$ als positiv angesehen wurden. Auch Dalmau et al. konnten mit einem Western Blot mit Purkinjezellhomogenisat als Antigen in 16% ihrer Patienten mit kleinzelligem Bronchialkarzinom ohne neurologische Symptome niedrigtitrige anti-Hu-Antikörper nachweisen [33]. Mit unserer Methode wird jedoch eine größere Anzahl neuronaler Antigene gleichzeitig miterfaßt. Die Kombination verschiedener Gewebeschnitte erlaubt eine weitgehende Differenzierung der bisher bekannten paraneoplasie-assoziierten Antikörper. So kann man anti-Hu-Antikörper und den mit dem adulten, paraneoplastischen Opsoklonus-Myoklonus-Syndrom assoziierten anti-Ri-Antikörper [34] wegen der identischen Bindung im Kleinhirn- und Großhirnschnitt nicht differenzieren. Da anti-Hu im Gegensatz zu anti-Ri jedoch auch an Neurone des peripheren und vegetativen Nervensystems bindet [35], ist eine sichere Differenzierung durch den mitgeführten Darmschnitt (Auerbachplexus) möglich. Da bisher jedoch nicht alle Paraneoplasie-assoziierten antineuronalen Antikörper charakterisiert sind, sollte bei einem positiven Resultat im IFT ein Immunoblot zur genauen Charakterisierung des Antikörpers durchgeführt werden [36].

Da etwa 50-60% der paraneoplastischen neurologischen Syndrome vor der eigentlichen Manifestation des Tumorleidens auftreten [29], könnten diese Antikörper möglicherweise zur Früherkennung maligner Prozesse verwendet werden und damit zur Prognoseverbesserung der Grunderkrankung beitragen.

In allen von uns untersuchten Serum- und Liquorproben war ein Positivbefund bereits aus dem Serum zu erkennen. Ebenso konnte Henneberg die von ihr ge-

fundenen Bindungen an Ponsgewebe bei MS-Patienten im Serum nachweisen [10]. Graus et al. zeigten, daß die Autoantikörper bei Paraneoplasiepatienten im Serum immer in höheren Titern vorlagen als im Liquor [37]. Das geringe Vorkommen von Autoantikörpern im Liquor erklärt sich unter anderem durch die um den Faktor 200-400 geringere Gesamt-IgG-Konzentration im Liquor bei ungestörter Blut-Liquorschranke. Die Autoantikörperbestimmung im Liquor bietet sich trotzdem für zwei Fragestellungen an:

- (1) Zur Differenzierung paraneoplastischer neurologischer Syndrome von anderen neurologischen Erkrankungen bei Tumorpatienten kann die Berechnung der intrathekalen Synthese des antineuronalen Antikörpers (IAI) herangezogen werden. In unserer Studie war eine intrathekale Synthese antineuronaler Antikörper (IAI > 3) ausschließlich in der Paraneoplasiegruppe nachweisbar. Da bei Patienten ohne Antikörpernachweis im Liquor eine intrathekale Synthese des Antikörpers sehr unwahrscheinlich ist, wurde in diesen Fällen der IAI = 1 gesetzt. Furneaux konnte eine intrathekale Synthese des antineuronalen Antikörpers bei 14/18 Patienten mit paraneoplastischen, neurologischen Syndromen nachweisen [38].
- (2) Auch im Erkrankungsverlauf ist die Bestimmung des Liquortiters und Berechnung des IAI aussagekräftiger als nur der Serumtiter der antineuronalen Autoantikörper. Ebenso wie Graus [39] konnten wir bei unseren Paraneoplasiepatienten unter verschiedenen Therapieformen eine Abnahme des Antikörpertiters im Serum ohne begleitende klinische Besserung beobachten. In zwei Fällen trat eine klinische Besserung nach intravenöser Gabe von Immunglobulinen auf [40]. Die Besserung korrelierte mit einer deutlichen Abnahme des IAI und des Autoantikörpertiters im Liquor. Die Erhöhung des Serum-IgG durch Immunglobulingabe ist dabei vernachlässigbar, da dies rechnerisch zu einem Anstieg des IAI führen müßte. Daher kann die Abnahme des IAI als Ausdruck einer Abschwächung der intrathekalen Immunreaktion gewertet werden.

Zwei Patienten ohne klinische Besserung nach Plasmapherese zeigten keine signifikante Veränderung des IAI. Im Rahmen dieser Therapie werden den Patienten Albumin und Immunglobuline entzogen, danach jedoch nur Albumin ersetzt. Die Verschiebung der Immunglobulinquotienten durch die Therapie führt in diesem Fall zu nicht berechenbaren Änderungen des IAI, was eine Verlaufsbeurteilung der intrathekalen Antikörperproduktion unter Plasmapherese unsicher werden läßt.

Der IAI eignet sich damit als Verlaufsparemeter immunglobulintherapierter paraneoplastischer neurologischer Syndrome, kann jedoch bei plasmapherisierten Patienten nicht eingesetzt werden. Derzeit steht bei letzteren lediglich der Titerverlauf im Liquor zur Beurteilung des Therapieerfolges zur Verfügung.

Insgesamt zeigt unsere Studie, daß die immunfluoreszenzmikroskopische Bestimmung antineuronaler

Antikörper als hochspezifische Methode zur Erkennung und Verlaufskontrolle paraneoplastischer neurologischer Syndrome anzusehen ist. Die mögliche Verwendung des Tests zur Früherkennung von Malignomen ohne begleitende neurologische Symptome ist bis zur Untersuchung eines größeren Patientenkollektivs als experimentell anzusehen. Ein weiterer Vorteil liegt in der schnellen Erkennung der Beteiligung des Nervensystems bei Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises und in der Differenzierung immunologisch bedingter Polyneuropathien.

Literatur

1. Koski CL, Humphrey R, Shin ML. Anti-peripheral myelin antibody in patients with demyelinating neuropathy: quantitative and kinetic determination of serum antibody by complement component 1 fixation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985;82:905-9.
2. Simone IL, Annunziata P, Maimone D, Liguori M, Leante R, Livrea P. Serum and CSF anti-GM1 antibodies in patients with GBS and CIDP. *J Neurol Sci* 1993;28:49-55.
3. Sato S, Baba H, Inuzuka T, Miyake T. Anti-myelin-associated glycoprotein antibody in sera from patients with demyelinating diseases. *Acta Neurol Scand* 1986;74:115-20.
4. Wirguin I, Suturkova L, Della-Latta P, Fisher T, Brown RH, Latov N. Monoclonal IgM antibodies to GM1 and asialo-GM1 in chronic neuropathies cross-react with Campylobacter jejuni lipopolysaccharides. *Ann Neurol* 1994;35:698-703.
5. Appel SH, Smith RG, Engelhardt JJ, Stefani E. Evidence for autoimmunity in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Sci* 1993;118:169-74.
6. Suchanek G, Kristoferitsch W, Stanek G, Bernheimer H. Anti-myelin antibodies in cerebrospinal fluid and serum of patients with meningopolyneuritis Garin-Bujadoux-Bannwarth and other neurological diseases. *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg A* 1986;263:160-8.
7. Rosenblum MK. Paraneoplasia and autoimmune injury of the nervous system: The anti-Hu syndrome. *Brain Pathol* 1993;4:199-212.
8. Warren KG, Catz I. Cerebrospinal fluid autoantibodies to myelin basic protein in multiple sclerosis patients. Detection during first exacerbations and kinetics of acute relapses and subsequent convalescent phases. *J Neurol Sci* 1989;91:143-51.
9. Gorny M, Losy J, Wender M. Anti-GFAP antibodies in the cerebrospinal fluid of patients with multiple sclerosis and other neurological diseases. *Neurol Neurochir Pol* 1990;24:17-22.
10. Henneberg A, Mayle DM, Kornhuber HH. Antibodies to brain tissue in sera of patients with chronic progressive multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 1991;34:223-7.
11. Stevens A, Weller M, Wiethölter H. CSF and serum ganglioside antibody patterns in MS. *Acta Neurol Scand* 1992;86:485-9.
12. Zanetta JP, Tranchant C, Kuchler-Bopp S, Lehmann S, Warter JM. Presence of anti-CSL antibodies in the CSF of patients: A sensitive and specific test in the diagnosis of multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 1994;52:175-82.
13. Poser CM. The diagnosis of multiple sclerosis. *Stuttgart (DE): Thieme*, 1984.
14. Asbury AK, Cornblath DR. Assessment of current diagnosis criteria for Guillain-Barre syndrome. *Ann Neurol* 1990;(suppl): S21-S24.
15. Moll JWB, Henzen-Logmanns SC, Splinter TAW, Van der Burg MAL, Vecht CJ. Diagnostic value of antineuronal antibodies for paraneoplastic disorders of the nervous system. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1990;53:940-3.
16. Stöcker W. Rationelle Histochemie mit einer neuen Mikroanalysemethode. *Acta histochem (Jena)* 1985; 31(Suppl):269-81.
17. Holzer G, Schmirigk K, Tönjes W. Intrathekale Antikörpersynthese der IgG-Klasse gegen Masern-, Mumps- und Herpesviren und ihre Beziehung zu Multipler Sklerose und anderen neurologischen Erkrankungen. *Akt Neurol* 1988;15:97-101.
18. Martino G, Olsson T, Fredrikson S, Hojeberg B, Kostulas V, Grimaldi LME, Link H. Cells producing antibodies specific for myelin basic protein region 70-89 are predominant in cerebrospinal

- fluid from patients with multiple sclerosis. *Eur J Immunol* 1991;21:2971-6.
19. Martin R, Ortlaf J, Sticht-Groh V, Bogdahn U, Goldmann SF, Mertens HG. Borrelia burgdorferi-specific and autoreactive T-cell lines from CSF in Lyme radiculomyelitis. *Ann Neurol* 1988;24:509-16.
20. Kaiser R. Intrathecal immune response in patients with neuroborreliosis: specificity of antibodies for neuronal proteins. *J Neurol* 1995;242:319-25.
21. Hirayama M, Kawai K, Iida M. The study of anti-oligodendrocyte antibody in sera and CSF of patients with multiple sclerosis. *Rinsho Shin* 1991;56:224-9.
22. Xiao BG, Linnington C, Link H. Antibodies to myelin-oligodendrocyte glycoprotein in CSF from patients with multiple sclerosis and controls. *J Neuroimmunol* 1991;31:91-96.
23. Stevens A, Weller M, Wiethölter H. A characteristic ganglioside antibody pattern in the CSF of patients with amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1993;56:361-4.
24. Svennerholm L, Fredman P. Antibody detection in GBS. *Ann Neurol* 27 (Suppl), S 36 1990;S 40
25. Latov N (1994): Antibodies to glycoconjugates in neuropathy and motor neuron disease. *Progr Brain Res* 101:295-303.
26. Laev H, Rapport MM, Mahadik SP, Silverman AJ. Immunohistological localization of ganglioside in rat cerebellum. *Brain Res* 1978;157:136-41.
27. De Baecque C, Johnson AB, Naiki M, Schwarting G, Marcus DM. Ganglioside localization in cerebellar cortex: an immunoperoxidase study with antibody to GM1 ganglioside. *Brain Res* 1976;114:117-22.
28. Anderson NE, Rosenblum MK, Graus F, Wiley RG, Posner JB. Autoantibodies in paraneoplastic syndromes with small cell lung cancer. *Neurology* 1988;38:1391-8.
29. Dalmau J, Graus F, Rosenblum MK, Posner JB. Anti-Hu-associated paraneoplastic encephalomyelitis/Sensory neuronopathy. *Medicine* 1992;71:59-72.
30. Dropcho EJ, King PH. Autoantibodies against the Hu-N1 RNA-binding protein among patients with lung carcinoma: an association with type I anti-neuronal nuclear antibodies. *Ann Neurol* 1994;36:200-5.
31. Buckanovich RJ, Posner JB, Darnell RB. Nova, the paraneoplastic Ri antigen, is homologous to an RNA-binding protein and is specifically expressed in the developing motor system. *Neuron* 1993;11:657-72.
32. Dalmau J, Furneaux HM, Cordon-Cardo C, Posner JB. The expression of the Hu (Paraneoplastic encephalomyelitis/ Sensory neuronopathy) antigen in human normal and tumor tissues. *Am J Pathol* 1992;141:881-6.
33. Dalmau J, Furneaux HM, Gralla RJ, Kris MG, Posner JB. Detection of the anti-Hu antibody in the serum of patients with small cell lung cancer - a quantitative western blot analysis. *Ann Neurol* 1990;27:544-52.
34. Budde-Steffen C, Anderson NE, Rosenblum MK et al. An anti-neuronal antibody in paraneoplastic opsoclonus. *Ann Neurol* 1988;23: 528-31.
35. Graus F, Rowe G, Fueyo J, Darnell RB, Dalmau J. The neuronal nuclear antigen recognized by the human anti-Ri autoantibody is expressed in central but not peripheral nervous system neurons. *Neurosci Letters* 1993;150: 212-4.
36. Moll JW, Antoine JC, Brashear HR, Delattre J, Drlicek M, Dropcho EJ, Giometto B, Graus F. 36. Greenlee J, Honnorat J. et al. Guidelines on the detection of paraneoplastic anti-neuronal-specific antibodies: report from the Workshop to the Fourth Meeting of the International Society of Neuro-Immunology on paraneoplastic neurological disease, held October 22-23, 1994, in Rotterdam, The Netherlands. *Neurology* (1994)1995; 45:1937-41.
37. Graus F, Vega F, Delattre JY, Bonaventura I, Rene R, Arbaiza D, Tolosa E. Plasmapheresis and antineoplastic treatment in CNS paraneoplastic syndromes with antineuronal antibodies. *Neurology* 1992;42: 536-40.
38. Furneaux HF, Reich L, Posner JB. Autoantibody synthesis in the central nervous system of patients with paraneoplastic syndromes. *Neurology* 1990;40:1085-91.
39. Graus F, Abos J, Roquer J, Mazzara R, Pereira A. Effect of plasmapheresis on serum and CSF autoantibody levels in CNS paraneoplastic syndromes. *Neurology* 1990;40: 1621-3.
40. Blaes F, Merkelbach S, Jost V, Holzer G, Schimrigk K. Paraneoplastische Kleinhirndegeneration - Therapie und Verlauf. *Nervenheilkunde* 1994;13(Suppl), S19-S21.

Die „NOBIS“ präsentiert die Gewinner der MEDICA '97

Auf der diesjährigen MEDICA hatten die Messebesucher die Möglichkeit am NOBIS-Stand an einem Gewinnspiel teilzunehmen.

Fast 300 Kunden nahmen ihre Chance wahr und hofften neben den Trostpreisen (kleine Klemm-Koalas) - die alle Teilnehmer erhielten - einen der Tagespreise oder sogar den Hauptpreis zu gewinnen.

Bei den täglichen Verlosungen für die großen Plüsch-Koalas wurden folgende Gewinner ermittelt: Fritz Hesse-Krabbe, Kleve • Birgit Roters, Haltern • Axel Simon, Essen • Doris Achtzehn, Kamp-Lintfort • Eleonore Puff, Essen • Anja Meng, Viersen • Anja Schulte, Eslohe.

Über die vom Zoo Duisburg gestifteten Eintrittskarten für je zwei Personen können sich folgende Gewinner freuen: Dorothe Eichstadt-Hübler, Isny • Karin Pfleger, Aachen • Frau Riemer, Dormagen • Carmen Jung, Eschweiler.

Den Hauptpreis - eine dreitägige Seereise von Kiel nach Göteborg und zurück für zwei Personen geht an: Brigitte Meyer, Dormagen.

Die Preise sind zum Teil auf der Messe ausgehängt worden, die restlichen Preise werden zum Jahreswechsel zugestellt.

Herzlichen Glückwunsch allen Gewinnern von:
NOBIS Labordiagnostica GmbH, Elsässer Str. 18,
D-79346 Endingen.



Die NOBIS-Mitarbeiter bei der Gewinnziehung

Gonick, Larry / Wheelis, Mark

Genetik in Cartoons

Pareys Studentexte einmal anders

Vorwort und Übersetzung aus dem Amerikanischen von Graf, Thomas

4. Auflage. 1989. 224 Seiten. 15,5 x 23,5 cm. Broschiert.

DM 34,- / öS 248,- / sFr 31,50 ISBN 3-8263-2892-2

Cartoons als Mittel zum Zweck, zur vereinfachenden Erläuterung der Begriffe der klassischen und molekularen Genetik – das ist es, was den großen Erfolg dieses Buches ausmacht! Mit spitzer Feder wird alles aufgespießt und mit lockerem Text kommentiert, was zum Verständnis der Grundlagen der Genetik und damit der raschen Weiterentwicklung der Gentechnik mit immer neuen Anwendungsbereichen und ihren Chancen und Risiken für die Menschheit beiträgt.

Blackwell Wissenschafts-Verlag Berlin · Wien

Kurfürstendamm 57 · D-10707 Berlin · Tel.: +49 30 32 79 06-27/28 · Fax: +49 30 32 79 06-44
e-mail: vertrieb@blackwis.de · Internet: <http://www.blackwis.com>

Preisstand: 1. Januar 1998

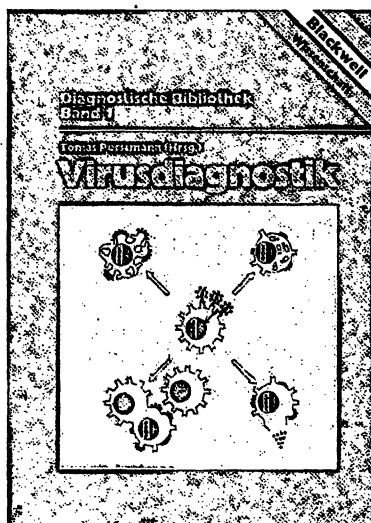
Blackwell
Wissenschaft

Tomas Porstmann (Hrsg.)

Virusdiagnostik

Diagnostische Bibliothek, Band 1

1996. VIII, 578 Seiten mit 180 Abbildungen und 120 Tabellen. 17 x 24 cm.
Gebunden. DM 298,-/öS 2175,-/sFr 274,50 ISBN 3-89412-178-5



Der erste Band der »Diagnostischen Bibliothek« behandelt die Labordiagnostik medizinisch relevanter Viruserkrankungen sowie molekularbiologische Grundlagen, soweit sie für das spezielle diagnostische und differentialdiagnostische Verständnis Voraussetzung sind.

Ergänzungen der Spezialkapitel durch komprimierte Darstellungen der Epidemiologie, des klinischen Bildes sowie der grundlegenden Therapieformen machen das Buch nicht nur für den Diagnostiker interessant, sondern auch für klinisch tätige und niedergelassene Ärzte sowie für Studenten der Medizin. Sie können sich in diesem Buch schnell über die wesentlichen Eigenschaften der Viren und der durch sie hervorgerufenen Krankheiten informieren.

Die einführenden Methodenkapitel konzentrieren sich bewußt, stets beispielerorientiert, auf die molekularbiologischen Techniken, die sich vor allem in Form der verschiedenen Festphasenimmunoassays einen festen Platz in der Virusdiagnostik erobert haben, während die klassische Virusserologie nur gestreift wird. Dem Leser werden damit die diagnostischen Trends der nächsten Jahre aufgezeigt.

Preisstand: 1. Januar 1997

Blackwell Wissenschafts-Verlag Berlin · Wien

Eine neue Ära der Pankreasdiagnostik - ScheBo®. Pankreatische Elastase 1

Nicht-invasive Pankreasdiagnostik

Die Bestimmung der Pankreatischen Elastase 1 im Stuhl entwickelt sich zum neuen nicht-invasiven Goldstandard zur Überprüfung der exokrinen Pankreasfunktion. Der Test erlaubt die sichere Diagnose oder den Ausschluß einer exokrinen Pankreasinsuffizienz, die klinisch am häufigsten im Rahmen einer chronischen Pankreatitis auftritt. Meßergebnisse des ScheBo®. Pankreatische Elastase 1-Tests korrelieren sehr gut mit Resultaten, die mit invasiven Funktionstests erzielt werden. Der neue Test ist jedoch kostengünstiger und für die klinische Praxis deutlich besser geeignet. Darüber hinaus stört eine Substitutionstherapie mit Pankreasenzymen die Quantifizierung der Elastase 1 nicht. Wegen der geringen intraindividuellen Variabilität der fäkalen Elastasekonzentration reicht die Analyse einer beliebigen, erbsgroßen Stuhlprobe, um repräsentative Meßwerte zu erhalten. Sammelstühle sind nicht erforderlich.

Die Überlegenheit des neuen ScheBo®. Pankreatische Elastase 1-Tests über andere nicht-invasive Pankreasfunktionstests konnte in verschiedenen Studien gezeigt werden.

Frühe Diagnose von Mukoviszidose ist möglich

Der ScheBo®. Pankreatische Elastase 1-Test erlaubt die frühe Diagnose von Mukoviszidose mit Beteiligung des exokrinen Pankreas. Hintergrund ist die Übertragbarkeit des für Erwachsene festgelegten Normbereichs auf Kinder. Neugeborene erreichen diesen Normbereich bereits nach zwei Wochen. Elastase 1-Werte von Mukoviszidosekindern bleiben dagegen niedrig. Die Sensitivität des ScheBo®. Tests für die Diagnose von Mukoviszidose mit Pankreasbeteiligung beträgt 100% bei einer Spezifität von 99%.

Weitere Auskünfte erteilt Ihnen Dr. Hans-Joachim Quandt, Produktmanager, ScheBo®. Tech GmbH, Bahnhofstraße 6, D-35435 Wettenberg, Tel.: 06406-9155 0, Fax: 06406-9155 77.

Sie finden uns auch im Internet unter: <http://www.medizin-forum.de/schebo/>

ECC-2/BICON-7

*Second European Congress of
Chemotherapy and the seventh Biennial
Conference On Anti-infective Agents and Chemotherapy*

May 10-13th 1998, Hamburg Conference Centre
President: KG Naber; Vice Presidents: W Hiddemann, U Ullmann

Scientific programme includes:

Expert Lectures
Congress Symposia
Research Forums
Industrial Symposia
Industrial Workshops
Research Posters
and Communications
Special Interest Groups

The Social Programme will allow plenty of opportunities to continue fruitful discussions, to meet old friends and make new ones. It includes mixers, receptions, evening entertainment and a farewell lunch party.

Optimal antibiotic use.
Treatment of bacterial,
fungal and viral infections.
Developments with new quinolones, macrolides and
β-lactam drugs.
New targets for new antibiotics.
New antivirals and antifungals.
Hospital Infection.
Community acquired infections.
Immunocompromised patients.
Pharmacology.
Microbiology.
Clinical uses.
Antibiotic resistance.

Details of Congress available from:

Congrex Sweden
P Box 5619
S-114 86 Stockholm
Sweden
Tel: +46 (0)8 459 66 00
Fax: +46 (0)8 661 91 25
e-mail: ecc@congrex.se

ECC Scientific Office
7 William Road
London NW1 3ER
Tel: +44(0)171 380 0933
Fax: +44(0)171 380 0828
e-mail:
gr.micro@dial.pipex.com