

AUS DEM INSTITUT FÜR KLINISCHE CHEMIE

Direktor: PROF. DR. MED. RALF JUNKER

im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel  
an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

---

# **Untersuchung einer nationalen Kohorte von Patienten mit anti-N-Methyl-D- Aspartat-Rezeptor-Enzephalitis und der Bedeutung des Nachweises von IgA und IgM NMDA-Rezeptor-Antikörpern**

Inauguraldissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde der Medizin

der Medizinischen Fakultät

der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

Vorgelegt von

Gunnar Nissen

aus Kiel

Kiel 2020



1. Berichterstatter/in: Priv.-Doz. Dr. med. Frank Leyoldt, Institut für Klinische Chemie
2. Berichterstatter/in: Prof. Dr. Wolfgang Lieb, Institut für Epidemiologie

Tag der mündlichen Prüfung: 26.04.2021

Zum Druck genehmigt, Kiel, den 16.12.2020

gez.: Prof. Dr. Johann Roider

(Vorsitzende/r der Prüfungskommission)

Meinem verstorbenen Vater Bodo Nissen gewidmet

# Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis .....	I-III
1 Einleitung .....	1
1.1 Enzephalitis .....	1
1.2 Anti-N-Methyl-D-Aspartat-(NMDA)-Rezeptor-Enzephalitis.....	2
1.3 Epidemiologie und klinische Präsentation der anti-NMDA-Rezeptor-Enzephalitis.....	3
1.4 Apparative Zusatzuntersuchungen .....	4
1.5 Verlauf der anti-NMDA-Rezeptor-Enzephalitis .....	5
1.6 Der anti-NMDA-Rezeptor-Antikörper und Pathophysiologie .....	6
1.7 Prognostische Biomarker und die Bedeutung der IgA/M Isotypen .....	8
2 Patienten, Material und Methoden .....	9
2.1 Patienten .....	9
2.2 Bestimmung der IgA/M NMDA-Rezeptor-Antikörper.....	12
2.3 Statistische Analyse.....	14
3 Ergebnisse .....	17
3.1 Patienten .....	17
3.2 Epidemiologie .....	17
3.3 Klinik.....	19
3.4 Apparative Untersuchungsergebnisse .....	21
3.5 Tumorassoziationen.....	21
3.6 Therapie.....	22
3.7 Krankheitsschwere und Verlauf .....	23
3.8 Häufigkeit von IgA und IgM Antikörpern gegen NMDA-Rezeptoren in der Kohorte..	25
3.9 Assoziation von IgA und IgM Antikörpern gegen NMDA-Rezeptoren mit klinischen Parametern.....	26
3.9.1 Assoziation von IgA und IgM Antikörpern gegen NMDA-Rezeptoren mit Liquorparametern .....	30

3.9.2 Zellzahl und Gesamteiweiß sowie isolierte oligoklonale Banden.....	30
3.9.3 Titerhöhen IgG, IgA und IgM NMDA-Rezeptor-Antikörper .....	31
3.9.4 Vortherapie und Krankheitsschwere zum Zeitpunkt der Lumbalpunktion .....	34
4 Diskussion .....	37
4.1 Ziele.....	37
4.2 Vergleich mit internationalen Kohorten.....	37
4.3 Klinische Relevanz der Coexistenz von NMDA-Rezeptor-Antikörpern vom Isotyp IgA und IgM neben dem krankheitsdeterminierenden Isotyp IgG.....	39
4.4 Schlussfolgerungen .....	40
4.5 Kritik .....	41
4.6 Ausblick .....	42
5 Zusammenfassung .....	43
6 Literaturverzeichnis.....	45
7 Anhang .....	49
Abkürzungsverzeichnis .....	49
Abbildungsverzeichnis .....	50
Tabellenverzeichnis.....	51
Übersicht über Datenerhebung innerhalb des GENERATE Registers .....	52
A – Behandelnder Arzt.....	52
B – Demographie.....	52
C – Symptome .....	52
D – Befunde.....	53
E – Autoantikörper .....	53
F – Therapie.....	54
G – Krankenhausentlassung .....	55
H – Biomaterial .....	55
Follow-Up .....	55

8 Danksagung ..... 57

# 1 Einleitung

## 1.1 Enzephalitis

Entzündliche Erkrankungen des Gehirns werden als Enzephalitiden bezeichnet. Abgegrenzt werden in der Neurologie entzündliche Erkrankungen der weißen Substanz (demyelinisierende Syndrome) und entzündliche Erkrankungen der Hirnhäute (Meningitiden).

Enzephalitiden sind seltene Erkrankungen mit einer geschätzten Inzidenz von 4,32/100.000 Personen/Jahr (Granerod et al., 2013). Dennoch sind sie mit einer hohen Morbidität und Mortalität assoziiert und in den USA für 6,9 jährliche Krankenhauseinweisungen/100.000 Personen/Jahr sowie jährliche direkte Kosten für die Krankenhausbehandlung von über 2 Milliarden Dollar verantwortlich (Vora et al., 2014).

Wie in Abbildung 1 dargestellt, können Enzephalitiden erregerbedingt oder im Rahmen von autoimmunen Syndromen auftreten. Zwar sind, absolut gesehen erregerbedingte Ursachen von Enzephalitiden (z.B. Herpes simplex Virus 1 Enzephalitis) etwas häufiger als autoimmune Enzephalitiden (22% vs. 33%) (Granerod et al., 2013), allerdings ist die im Folgenden diskutierte autoimmune anti-N-Methyl-D-Aspartat-(NMDA)-Rezeptor-Enzephalitis häufiger als jede einzelne Virusenzephalitis (Gable et al., 2012).

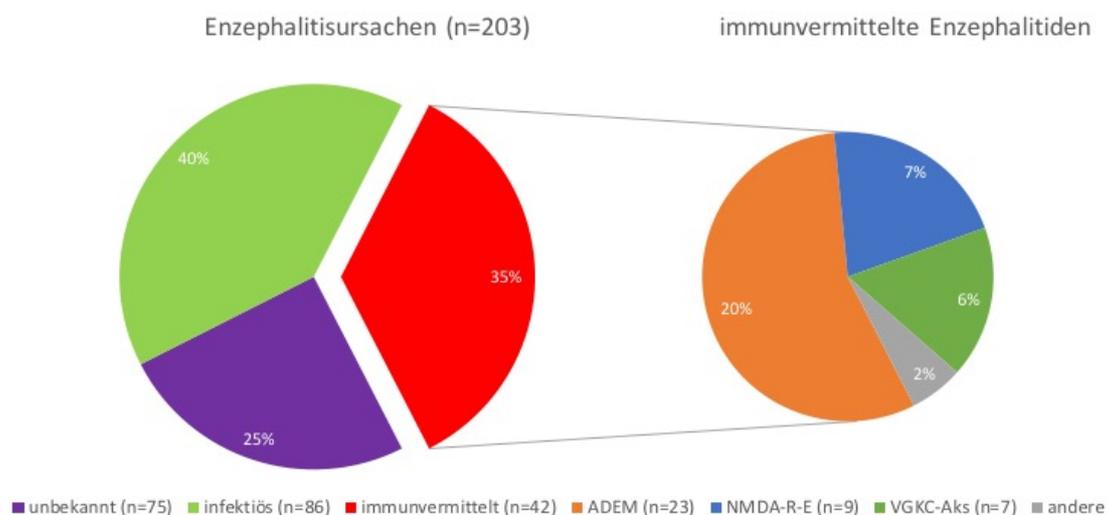


Abbildung 1: Klassifikation und Kausalität einzelner Enzephalitis-Subformen in Südwestengland zwischen 2005 und 2008 nach Granerod et al., 2010.

Der immunvermittelte Teil wird zu 56% (n=23) durch die ADEM (Akute Disseminierte Enzephalomyelitis), zu 21% (n=9) durch die NMDA-Rezeptor-Enzephalitis und zu 23% (n=9) von anderen immunvermittelten Formen gebildet, wovon 17% (n=7) durch die VGKC-AK-Form (Antikörper gegen spannungsabhängige Kaliumkanäle) dargestellt werden und zwei Prozent als Sekundärsymptom bei Vaskulitiden, Multipler Sklerose sowie als paraneoplastisches Phänomen auftreten.

## 1.2 Anti-N-Methyl-D-Aspartat-(NMDA)-Rezeptor-Enzephalitis

Die anti-NMDA-Rezeptor-Enzephalitis wurde im Jahr 2007 durch Josep Dalmau erstbeschrieben (Dalmau et al., 2007). Basis seiner Forschung war eine kleine Fallserie von Frauen mit prominenten psychiatrischen Symptomen, Gedächtnisdefiziten, Aufmerksamkeitsdefiziten und Hypoventilationsstörungen sowie Ovarialteratomen (Vitaliani et al., 2005). Bei einigen dieser Patientinnen fanden sich mittels speziell fixierter immunhistochemischer Färbungen von Rattenhirnschnitten Autoantikörper gegen hippocampale neuronale Fortsätze (Hippocampus-Neuropil).

Zwei Jahre später wurde dann in einer Arbeit mittels Immunpräzipitation gezeigt, dass das Zielantigen die aminoterminal Domäne der GluN1 Untereinheit des ionotropen, heterotetrameren, neuronalen Glutamaterezeptors (N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptor) war (Dalmau et al., 2007).

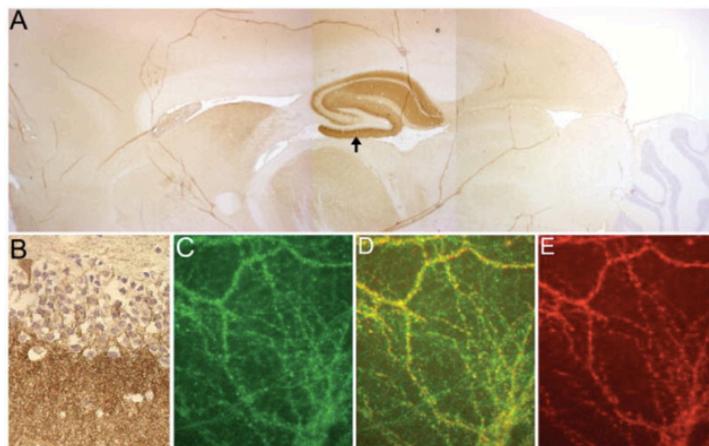


Abbildung 2: Reaktion von Patientenantikörpern mit Hippocampus und Vorderhirn und Kolokalisation mit der NR2B-Untereinheit des N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptors (NMDAR). (A) Sagittalschnitt eines Rattenhirns immunmarkiert mit einer cerebrospinalen Patientenzusammenfassung. (B) Höhere Vergrößerung der molekularen Schicht des Hippocampus (Pfeil aus A); dieses Muster ist identisch zu der zuvor in der Arbeit berichteten Reaktion aus der Arbeit von paraneoplastischen Enzephalitiden und ovariellen Teratomen. (C-E) Doppel-Immunmarkierung von Kulturen des Rattenhippocampus bei Verwendung eines Patientenantikörpers (C, grün) und einem Antikörper gegen die NR2B-Untereinheit des NMDAR (E, rot); Man beachte die signifikante Kolokalisation der Reaktionen (D, gelb). Diese Ergebnisse suggerieren, dass sich Patientenantikörper direkt gegen den NMDAR richten. Anschließende Studien zeigten, dass Patienten ebenso Antikörper gegen die NR2B-Untereinheit hatten (hier nicht gezeigt), was in Teilen die partielle Kolokalisation der Reaktionen erklärt. Originalvergrößerungen x2,5 (A) und x400 (B), beide gegengefärbt mit Hematoxylin; x800 (Öl-Linse), Immunfluoreszenz (C-E).

Übernommen aus Dalmau et al., 2007 mit freundlicher Genehmigung von *Annals of Neurology*

### **1.3 Epidemiologie und klinische Präsentation der anti-NMDA-Rezeptor-Enzephalitis**

In den letzten Jahren wurde das typische, klinisch stadienhaft verlaufende Syndrom der anti-NMDA-Rezeptor-Enzephalitis detailliert beschrieben (Abbildung 3). Grundsätzlich tritt die Erkrankung in jedem Alter auf, betrifft aber bevorzugt Kinder und junge Erwachsene mit oder ohne Tumorassoziation. Bei Frauen im gebärfähigen Alter wurde bisher eine Tumorassoziation in 50% der Fälle in Form eines Teratoms beschrieben (Dalmau et al., 2011; Titulaer et al., 2013). Männer weisen nur selten eine Tumorassoziation auf. Sofern eine solche Assoziation bei Männern vorliegt, sind diese älter als 45 Lebensjahre. Bei Kindern ist eine Tumorassoziation noch seltener (Dalmau et al., 2011; Titulaer et al., 2013).

Siebzig Prozent der Patienten berichten über prodromale Symptome, z.B. in Form von Kopfschmerzen, allgemeinem Krankheitsgefühl, Fieber, Diarrhoe, Übelkeit und Erbrechen (Dalmau et al., 2011).

Die eigentliche Erkrankung beginnt, wie Abbildung 3 illustriert, mit akut auftretenden Verhaltensauffälligkeiten, die sich in der Regel nach zwei Wochen präsentieren, z.B. in Form von Angst, Schlaflosigkeit, Furcht, Hyperreligiosität, Manie und Paranoia, aphasischen Symptomen, epileptischen Anfällen oder Bewegungsstörungen (Dalmau et al., 2011).

Im Verlauf treten dann autonome Störungen, z.B. Hypoventilationen mit und ohne Beatmungspflicht bis hin zum zentral bedingten Atemstillstand, Herzrhythmusstörungen in Form von Bradykardie, Tachykardie bis hin zum Herzstillstand sowie Bewusstseinsminderungen hinzu, die mitunter zum Koma führen (Dalmau et al., 2011; Titulaer et al., 2013).

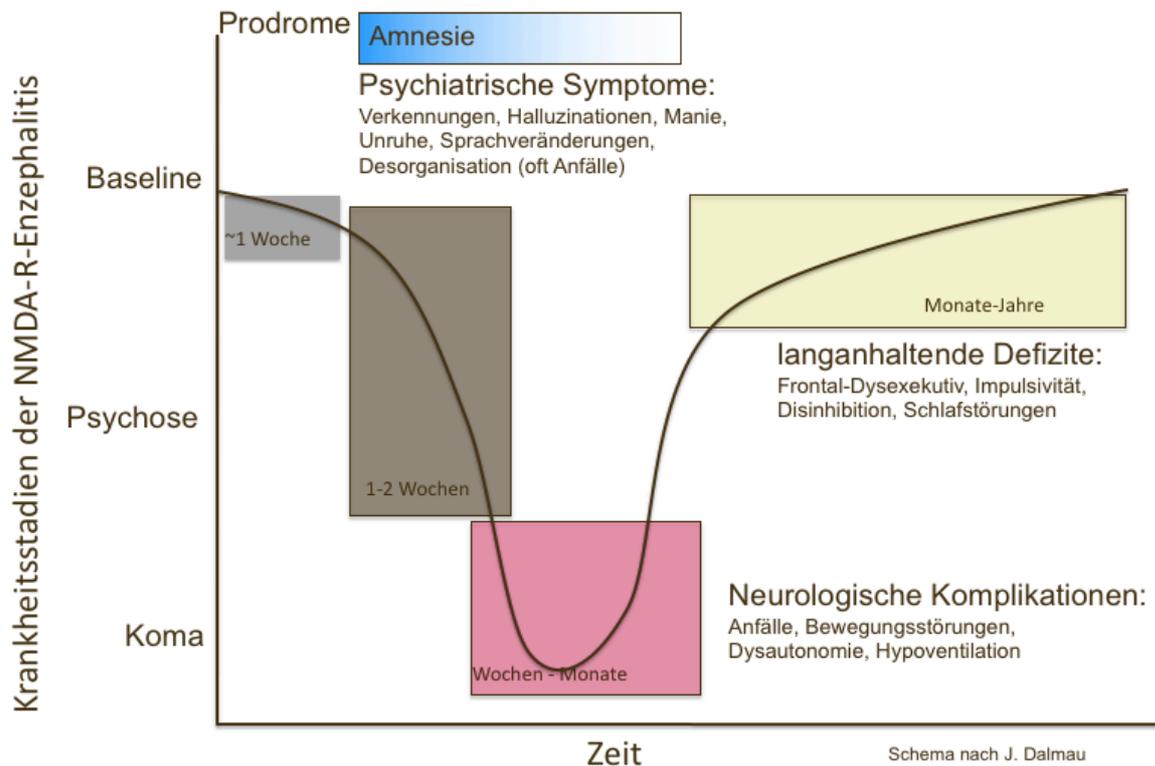


Abbildung 3: Schematische Darstellung des stadienhaften Krankheitsverlaufes der anti-NMDA-Rezeptor-Enzephalitis basierend auf Dalmau et al., 2011.

Dieser Symptombeginn findet sich vor allem bei Erwachsenen. Bei Kindern stellt sich die Erstpräsentation der Erkrankung häufig in Form von epileptischen Anfällen dar, wobei auch andere Verhaltensänderungen, z.B. in Form von neu aufgetretener Aggressivität, beobachtet wurden (Dalmau et al., 2011). Die typischerweise auftretenden Bewegungsstörungen sind oro-lingual-faciale Dyskinesien, jedoch kommen auch andere Bewegungsstörungen vor, wie ein Ophistotonus oder Störungen der Extremitätenbewegungen (Dalmau et al., 2011).

#### 1.4 Apparative Zusatzuntersuchungen

Nur 25% der anti-NMDA-Rezeptor-Enzephalitiden gehen mit MRT-Veränderungen einher. Diese sind meist unspezifische juxtakortikale oder periventrikuläre T2/FLAIR Hyperintensitäten. Selten treten auch bitemporomesiale oder generalisierte T2/FLAIR Auffälligkeiten auf (Dalmau et al., 2011; Titulaer et al., 2013). Der Liquor ist in 80% der Fälle pathologisch verändert, meist in Form einer moderaten Liquorpleozytose mit lymphozytärem Zellbild sowie normalen oder milden Erhöhungen des Eiweißgehaltes. In 60% der Fälle können oligoklonale Banden (OKBs) nachgewiesen werden (Dalmau et al., 2011).

EEG-Veränderungen sind bei dem Großteil der Patienten nachzuweisen, in der Regel in Form von unspezifischen Allgemeinveränderungen, teils auch mit epilepsietypischen Potentialen (ETP) oder Herdbefunden (Dalmau et al., 2008).

### **1.5 Verlauf der anti-NMDA-Rezeptor-Enzephalitis**

Die anti-NMDA-Rezeptor-Enzephalitis spricht meist gut auf eine immunsuppressive Therapie an. Rund 78% der Patienten einer großen internationalen retrospektiven Kohortenanalyse (n=43) können zwei Jahre nach einer Behandlung (Steroide, intravenöse Immunglobuline oder Plasmapheresen und ggf. Tumorbehandlung) ein selbständiges Leben ohne fremde Hilfe führen (definiert durch einen modified Rankin Skala-Punktwert <3) (Titulaer et al., 2013). Achtundneunzig Prozent der Patienten, die ein rasches Ansprechen auf diese Therapien zeigen, erlangen nach zwei Jahren ein selbständiges Leben. Bis zu 50% der Patienten weisen schwere Verläufe mit Intensivpflichtigkeit auf und sprechen nur verzögert oder zu gering auf diese Immuntherapie an. Konsekutiv erfolgt dann in der Regel eine Eskalation der Immuntherapie mit dem therapeutischen B-Zell-depletierenden CD20 Antikörper Rituximab.

Die Erkrankung verläuft meist monophasisch. Die Besserung der Symptome erfolgt in umgekehrter Reihenfolge ihres Auftretens. Die Erholung kann Monate bis Jahre dauern, und bei 10-15% der Patienten kommt es zu Rückfällen.

## 1.6 Der anti-NMDA-Rezeptor-Antikörper und Pathophysiologie

Der Nachweis eines IgG Autoantikörpers im Serum oder Liquor, gerichtet gegen die GluN1 Untereinheit des NMDA-Rezeptors (Abbildung 4), stellt einen spezifischen Biomarker und diagnostischen Marker für die anti-NMDA-Rezeptor-Enzephalitis dar (Graus et al., 2016; Gresa-Arribas et al., 2014).

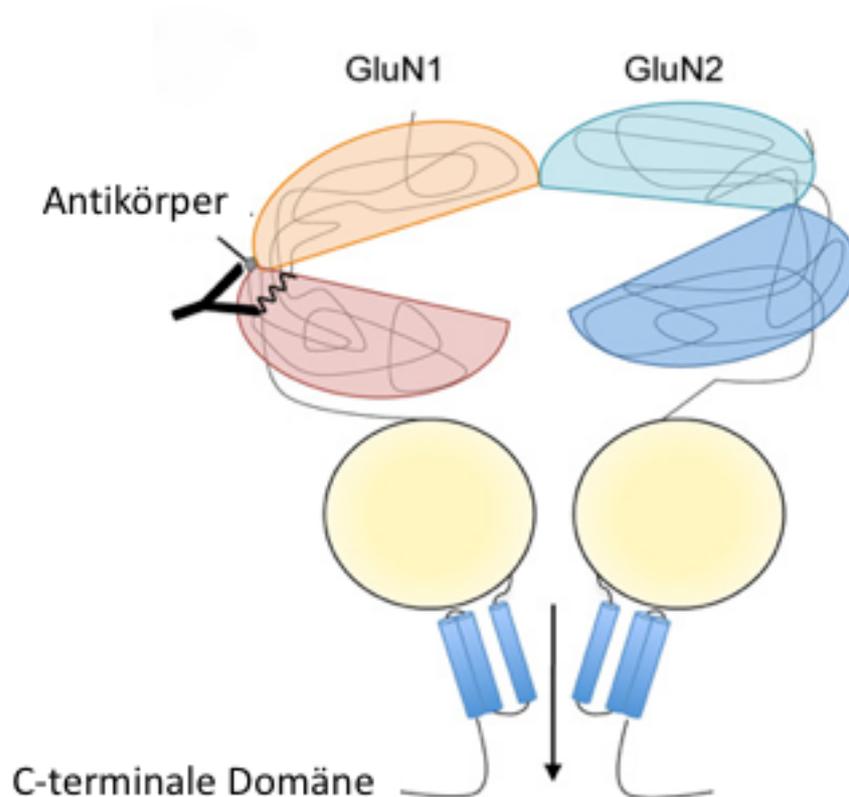


Abbildung 4: Schematische Darstellung der anti-NMDA-Rezeptor-Antikörper an der GluN1 Untereinheit des NMDA-Rezeptor, modifiziert nach Gleichman et al., 2012.

Zusätzlich sind *in vitro* und *in vivo* Daten vorhanden, die zeigen, dass der Autoantikörper auch direkt pathogen wirkt. So führt die Behandlung von hippocampalen Primärkulturneuronen mit Liquor von Patienten zu einer reversiblen Internalisierung der NMDA-Rezeptoren von der Oberfläche der Neurone nach erfolgreicher Bindung des Antikörpers an der entsprechenden Bindungsstelle (Abbildung 5) (Hughes et al., 2010; Moscato et al., 2010).

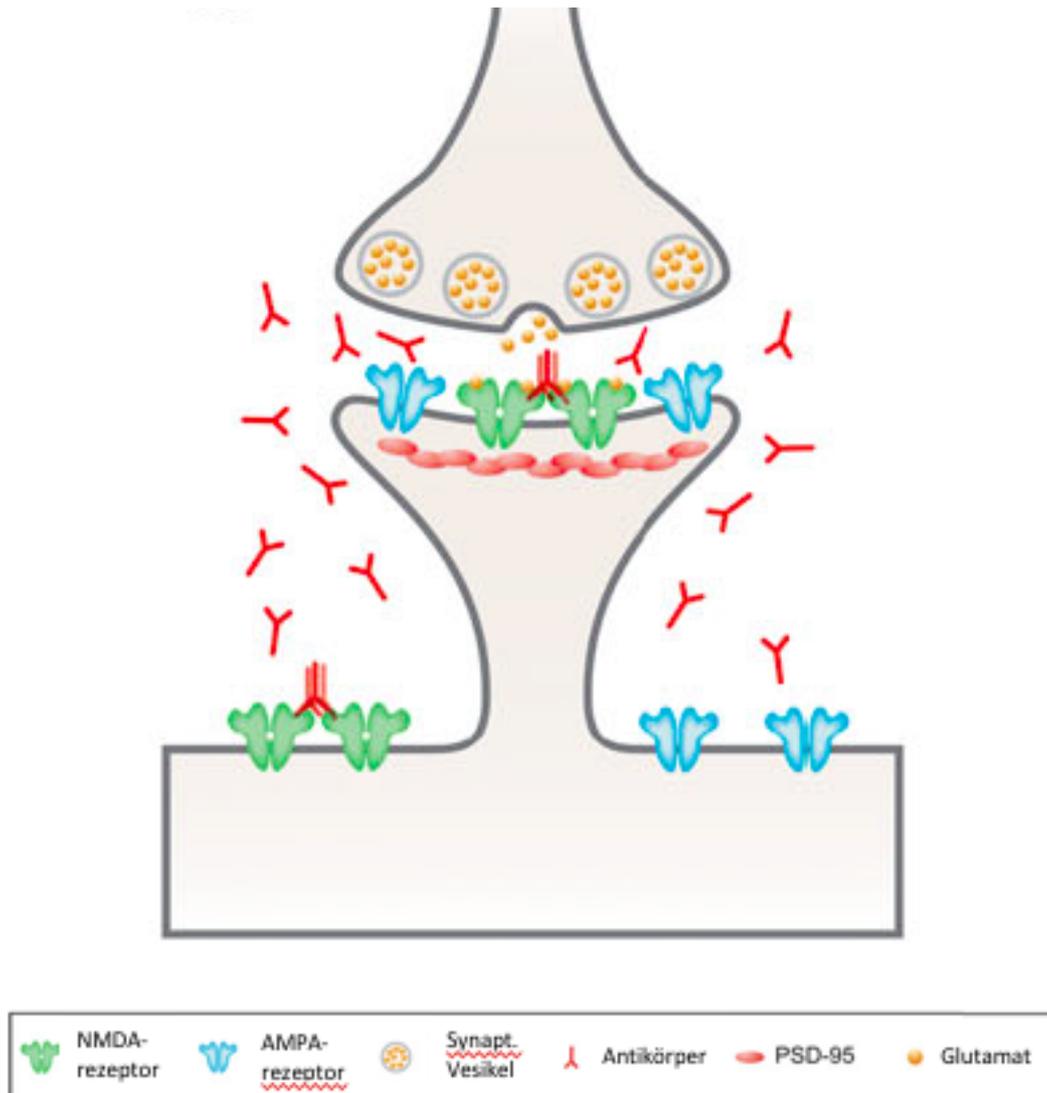


Abbildung 5: Bindungsstelle des anti-NMDA-Rezeptor-Antikörpers vom IgG Typ an der Synapse in Anlehnung an Leypoldt et al., 2014.

Dieser Effekt ist an die quervernetzenden Eigenschaften der Antikörper gebunden (Hughes et al., 2010). Die Infusion von NMDA-Rezeptor-antikörperhaltigem Liquor in die Ventrikel führt im Mausexperiment zu einer reversiblen Amnesie und ebenfalls zu einer Internalisierung der NMDA-Rezeptoren, vor allem im Hippocampus (Planagumà et al., 2015).

## **1.7 Prognostische Biomarker und die Bedeutung der IgA/M Isotypen**

Bei der Behandlung von Patienten mit anti-NMDA-Rezeptor-Enzephalitiden bleibt die Einschätzung der Prognose eine Herausforderung. Zwar spricht die Hälfte der Patienten auf die initiale Immuntherapie ausreichend an, aber bei der anderen Hälfte müssen intensive Immuntherapien initiiert werden. Trotzdem kommt es zu teilweise monatelangen Intensivaufenthalten und teils jahrelangen Verläufen. Anhand retrospektiver Registerdaten haben sich bisher einzelne klinische Prognoseparameter etabliert. Neben dem Alter ist vor allem die Krankheitsschwere, gemessen an der Notwendigkeit eines Intensivaufenthaltes, sowie die Zeit bis zur Immuntherapie und die Intensität der Immuntherapie ein Prognosefaktor (Titulaer et al., 2013). Allerdings existiert bisher kein humoraler prognostischer Marker. Es besteht eine gewisse Assoziation zwischen der Höhe des Liquor-IgG NMDA-Rezeptor-Antikörpertiters und dem klinischen Verlauf (Gresa-Arribas et al., 2014; Leypoldt et al., 2015b), allerdings ist dieser Zusammenhang nur im intraindividuellen Verlauf und nur im Liquor, nicht aber im Serum nachweisbar.

Einzelfallbeobachtungen zeigen, dass neben den krankheitsdefinierenden IgG Isotyp-NMDA-Rezeptor-Antikörpern oft auch IgM und IgA Isotyp-Antikörper gegen diesen Rezeptor, am Anfang oder im Verlauf der Erkrankung, in Serum und Liquor nachweisbar sind.

Die experimentelle Fragestellung dieser Promotion ist, ob sich IgA oder IgM NMDA-Rezeptor-Antikörper bei der anti-NMDA-Rezeptor-Enzephalitis als unabhängige Aktivitäts- oder Prognoseparameter dieser Erkrankung eignen.

## 2 Patienten, Material und Methoden

### 2.1 Patienten

Für die Studie wurden Patienten mit einer gesicherten anti-NMDA-Rezeptor-Enzephalitis retrospektiv erfasst und ausgewertet, die im deutschlandweiten GENERATE-Netzwerk (German Network for Research on Autoimmune Encephalitis, [www.generate-net.de](http://www.generate-net.de)) dokumentiert waren. In diesem Netzwerk werden Patienten mit autoimmunen Enzephalitiden prospektiv und retrospektiv dokumentiert. Einschluss- und Ausschlusskriterien für die Erfassung im GENERATE Netzwerk waren nach Graus et al., 2016 folgende:

*Tabelle 1: Diagnosekriterien der anti-NMDA-Rezeptor-Enzephalitis nach Graus et al., 2016.*

<b>Wahrscheinliche anti-NMDA-Rezeptor-Enzephalitis</b> (Diagnose bei gleichzeitigem Vorliegen der folgenden drei Kriterien)
Schnell einsetzende Symptome (Beginn innerhalb weniger als drei Monate mit mindestens vier von den folgenden sechs Symptomen): <ul style="list-style-type: none"><li>• Abnormales psychiatrisches Verhalten oder kognitive Dysfunktion</li><li>• Sprach-/Sprechdysfunktion (Mutismus, Wortreduktion, druckvolles Sprechen)</li><li>• Epileptische Anfälle</li><li>• Bewegungsstörungen, Dyskinesien, Rigidität / abnormale Körperhaltung</li><li>• Aufmerksamkeitsstörungen</li><li>• Autonome Dysfunktionen oder zentrale Hypoventilationen</li></ul>
Mindestens eines der folgenden Laborbefunde: <ul style="list-style-type: none"><li>• Pathologisches EEG (fokale oder diffuse Verlangsamungen oder diffuse Aktivität, epileptische Aktivität oder extreme „delta-brushes“)</li><li>• Liquor mit Pleozytose oder oligoklonalen Banden</li></ul>
Gesicherter Ausschluss anderer möglicher Ursachen
<b>Definitive anti-NMDA-Rezeptor-Enzephalitis</b> (Diagnose bei Vorhandensein von einem oder mehr der sechs Major-Group-Kriterien der Symptomliste und dem IgG anti-gluN1-NMDA-Rezeptor-Antikörper nach Ausschluss anderer möglicher Ursachen)

Alle geeigneten Patienten wurden in den jeweiligen Zentren aufgeklärt und pseudonymisiert. Die Dateneingabe erfolgte mittels einer passwortgeschützten serverbasierten Datenbank durch den einschließenden Arzt. Zum Endpunkt der Studie nahmen 50 Zentren am GENERATE-Netzwerk teil, von denen 25 Zentren aktiv Patienten rekrutiert hatten. In jedem aktiv rekrutierenden Zentrum wurde die Registerstudie von der lokalen Ethikkommission genehmigt.

*Tabelle 2: Auflistung der aktiv einschließenden GENERATE-Zentren für die untersuchte Patientenkohorte*

<b>Aktive GENERATE-Zentren</b>	
Berlin Schlossparkklinik	Kiel
Berlin Charité	Köln
Bielefeld	Leipzig
Bochum	Lübeck
Cottbus	Magdeburg
Düsseldorf	München – LMU
Erlangen	Münster
Köln	Osnabrück
Freiburg	Rostock
Hamburg – UKE	Teupitz
Hannover	Ulm
Halle	Wernsdorf
Jena	

Es wurden alle Patienten in diese Studie eingeschlossen, die zwischen dem 01.03.2015 und 31.12.2015 im Netzwerk erfasst waren und bei denen anti-IgG-NMDA-Rezeptor-Antikörper im Liquor oder Serum nachgewiesen wurden. Es wurden alle dokumentierten demographischen, klinischen, laborchemischen Daten sowie Therapie- und Verlaufsdaten exportiert und ausgewertet. Fehlende oder unplausible Daten wurden mit dem einschließenden Arzt besprochen und ergänzt.

Die Krankheitsschwere und der Verlauf wurden quantitativ mittels der modifizierten Rankin-Skala erfasst, kurz mRS-Score, einer kategorialen Skala, die ein Maß der Selbstständigkeit im Alltag darstellt (Tabelle 3).

Es können numerische Scores von 0 bis 6 mit folgender Wertung vergeben werden:

*Tabelle 3: Bedeutung des mRS-Scores in Hinblick auf die Lebensbeeinträchtigung.*

<b>MRS-SCORE</b>	
<b>0</b>	Keine Symptome
<b>1</b>	Keine relevante Beeinträchtigung
<b>2</b>	Leichte Beeinträchtigung
<b>3</b>	Mittelschwere Beeinträchtigung
<b>4</b>	Höhergradige Beeinträchtigung
<b>5</b>	Schwere Behinderung
<b>6</b>	Tod

Zusätzlich wurden weitere Daten direkt bei den einschließenden Ärzten nacherhoben (Tabelle 4):

Tabelle 4: Auflistung der nacherhobenen Parameter außerhalb des GENERATE-Standards

<b>Zusätzlich nacherhobene Parameter</b>
Zeit in Tagen zwischen Krankheitsbeginn und Liquorpunktion
Jeweilige Titer für den anti-NMDA-Rezeptorantikörper vom Isotyp IgA und IgM, sofern vorhanden, jeweils für das Serum und den Liquor
Einschätzung des mRS-Scores zum Zeitpunkt der Liquorpunktion
Ggf. Kombinationen von Erstsymptomen aus den Kategorien: psychiatrisch / Verhaltensauffälligkeiten, epileptische Anfälle, Bewegungsstörungen oder andere
War das erste MRT pathologisch, differenziert zu der Frage, ob jemals ein MRT pathologisch im Krankheitsverlauf gewesen ist, mit entsprechendem Befund?
War das erste EEG pathologisch, differenziert zu der Frage, ob jemals im Krankheitsverlauf ein EEG pathologisch gewesen ist, durch entsprechenden Befund belegt?
Krankenhausverweildauer im ersten Erkrankungsjahr
Vergangene Zeit vom Erkrankungsbeginn bis zum letzten Follow-Up
Zeit zwischen Erkrankungsbeginn und einem Rückfall, sofern vorliegend

## 2.2 Bestimmung der IgA/M NMDA-Rezeptor-Antikörper

Die Bestimmung der NMDA-Rezeptor-Antikörper erfolgte mittels kommerziell erhältlicher Biochips (Euroimmun, Seekamp 31, 23560 Lübeck). Hierbei werden mit der GluN1 und GluN2b Untereinheit kotransfizierte HEK-Zellen fixiert und auf ein Biochip-Mosaik transferiert. Diese werden dann mit Patientenserum in einer Einstiegskonzentration von 1:10 und mit Liquor in einer Einstiegskonzentration von 1:1 inkubiert und anschließend mit fluoreszierendem antihumanem Antiserum detektiert. Die Titer werden als die letzte Konzentration angegeben, bei der gerade noch ein positives Signal sichtbar ist. Diese Untersuchung hat das Ziel, krankheitsdefinierende IgG NMDA-Rezeptor-Antikörper zu detektieren. Für diese retrospektive Analyse wurden die in vielen Fällen aus der klinischen Routinediagnostik vorhandenen Messergebnisse dieser kommerziell erhältlichen und standardisierten Testung verwendet. Die Positivität und der Titer der IgA und IgM NMDA-Rezeptor-Antikörper lag in den meisten Fällen vor, da ein großes kommerzielles Antikörper-Diagnostiklabor (Labor Professor Stöcker, Seekamp 31, 23560 Lübeck) durch die Verwendung

eines polyvalenten Anti-Humanglobulins (anti-humanes IgG/A/M) diese als Nebenbefund detektiert und im positiven Fall mittels spezifischem humanem Antiserum (Anti-IgG-spezifisch, Anti-IgA-spezifisch, Anti-IgM-spezifisch) die zugrundeliegenden Antikörper-Isotypen subdifferenziert hat. Für diese Arbeit wurden IgG, IgA und IgM Antikörper-Positivität und Titer im Serum und Liquor für alle vorhandenen korrespondierenden Liquor/Serum-Pärchen und einzelne Serumuntersuchungen erfasst, die in der GENERATE Datenbank dokumentiert waren. Bei allen Proben, für die noch Biomaterial vorhanden war, aber keine IgA/M Werte vorlagen, wurden diese Parameter im gleichen Labor mit dem gleichen Testsystem nachbestimmt. Hierfür wurde bei -80°C gefrorenes Biomaterial aufgetaut, aliquotiert und zur Nachbestimmung mittels o.g. Methode im Rahmen einer Kooperation pseudonymisiert an das Labor Professor Stöcker verschickt. Die Ergebnisse wurden zu den jeweiligen Patienten erfasst. Proben, für die kein Titer vorlag, sondern nur eine Information über Positivität, wurden nur als positiv gewertet.

## 2.3 Statistische Analyse

Es erfolgte eine deskriptive Analyse des vorhandenen Datensatzes bezogen auf:

Tabelle 5: Parameter für die deskriptive statistische Analyse

Parameter	
Alter	Ethnie
Prodrome	Erstsymptompräsentation
Epileptische Anfälle	Bewegungsstörungen
Autonome Störungen	Psychiatrische Auffälligkeiten
Gedächtnisstörungen	Schlafstörungen, bzw. Störungen der circadianen Rhythmik
Beeinträchtigungen höherer kognitiver Funktionen	Liquorpathologie (pathologischer Befund allgemein, Zellzahl, oligoklonale Banden), MRT-Untersuchungen für das Erst-MRT und MRT-Untersuchungen im Verlauf, EEG-Pathologien
Tumorsuche mit Klassifizierung	Intensivstationsaufenthalte mit deren Länge sowie ggf. Intubationspflichtigkeit
Erfolgte Therapie, aufgeteilt in First-Line Therapie (iv. Methylprednisolon, ivIG, Plasmapherese/Immunadsorption, Tumorexstirpation), Second-Line Therapie (Cyclophosphamid oder Rituximab) und anderer immunsuppressiver Therapie, antikonvulsive Therapie mit deren Anzahl, medikamentöse antipsychotische Therapie	Verweildauer im Krankenhaus im ersten Erkrankungsjahr
mRS-Score zum Krankheitshöhepunkt, zur Krankenhausentlassung mit vergangener Zeit ab Krankheitsbeginn, bei der letzten Follow-Up Untersuchung, wann er unter drei fiel (entspricht einem selbständigen Leben)	Rückfallvorkommen (mit Zeit zwischen Krankheitsbeginn und Rückfall sowie dem mRS-Score zum Rückfallzeitpunkt)

Zur Testung der experimentellen Fragestellung erfolgte eine Korrelationsanalyse mittels einzelner univariater binärer logistischer Regression. Die folgende Tabelle zeigt die durchgeführten Analysen mit den jeweiligen Variablen.

Tabelle 6: Statistische Verwendung/Zuordnung der untersuchten Parameter in den durchgeführten logistischen Regressionsanalysen 1a-3

Abhängige Variable	Confounder	Unabhängige Variablen
1a. Nachweis von IgM, IgA Anti-NMDA-Rezeptorantikörper im Liquor	Alter Geschlecht	Notwendigkeit einer intensivmedizinischen Behandlung Tumorassoziation
1b. Nachweis von IgM, IgA Anti-NMDA-Rezeptorantikörper im Serum		Zeit bis Therapiebeginn Notwendigkeit einer Eskalations-Therapie
2a. Funktionelle Selbständigkeit (mRS dichotomisiert <3 vs >=3) an Tag 90		Zellzahl, Gesamteiweiß und oligoklonale Banden im Liquor
2b. Funktionelle Selbständigkeit (mRS dichotomisiert <3 vs >=3) an Tag 180		MRT-Auffälligkeiten
2c. Funktionelle Selbständigkeit (mRS dichotomisiert <3 vs >=3) an Tag 360		
3. Rückfall (bei Patienten mit Verläufen >90 Tage)		

Abhängige Parameter waren dabei (1) der Nachweis eines IgM oder IgA anti-NMDA-Rezeptor-Antikörpers im Liquor (1a) oder Serum (1b) während des Krankheitsverlaufs, (2) der klinische Verlauf als Erreichen eines selbständigen Lebens (mRS  $\leq 3$ ) nach drei (2a), sechs (2b) und zwölf (2c) Monaten) oder (3) das Auftreten von Rückfällen. Anschließend wurden demographische Parameter (Alter, Geschlecht) und schrittweise klinische Parameter (Tabelle 6, z.B. MRT-Auffälligkeiten, Liquorauffälligkeiten etc.) hinzugefügt. Es wurden weitere klinisch bedeutsame Parameter der Epidemiologie (Tumornachweis, Prodromalsymptome), der Krankheitsschwere (Intensivpflicht, mRS), der MRT-Ergebnisse und Liquoranalyse (jede MRT-Auffälligkeit, Zellzahlerhöhung im Liquor, oligoklonale Banden im Liquor, Gesamteiweiß im Liquor), der Therapie (Zeit bis zur ersten Immuntherapie, Eskalationstherapie) und des Verlaufes (Erreichen eines selbständigen Lebens nach drei, sechs und zwölf Monaten) für die Analyse verwendet, sofern diese nicht als abhängige Parameter in der jeweiligen Analyse verwendet wurden.

In einem zweiten Schritt wurden sämtliche Liquoruntersuchungen bezüglich der Antikörpertiter, der Zellzahl, dem Nachweis isolierter oligoklonaler Banden und der Dauer bis zur Lumbalpunktionen, der Erkrankungsschwere sowie Vorbehandlung mit dem Nachweis und dem Titer der IgG, IgA, IgM NMDA-Rezeptor-Antikörper im Serum und im Liquor korreliert. Kategoriale Daten wurden mittels Fisher Exact Test, Intervall-Daten mittels T-Test, bzw. bei nicht normalverteilten Variablen mittels Mann-Whitney-U-Test, verglichen. In einem letzten Schritt wurden individuelle Verläufe bei Patienten mit mehreren Lumbalpunktionen im Verlauf analysiert und graphisch dargestellt.

Alle statistischen Auswertungen wurden mit IBM SPSS Version 25 und Graph Pad Prism 6 durchgeführt.

## **3 Ergebnisse**

### **3.1 Patienten**

Während des Studienzeitraumes waren 292 Patienten im GENERATE-Netzwerk erfasst. Bei 112 von ihnen (38%) wurden NMDA-Rezeptor-Antikörper in Serum oder Liquor nachgewiesen. Von diesen erfüllten 89% (100/112) die Diagnosekriterien einer gesicherten NMDA-Rezeptor-Enzephalitis (Graus et al., 2016; Tabelle 1). Bei den übrigen zwölf Patienten fanden sich bei elf Patienten zu keinem Zeitpunkt IgG NMDA-Rezeptor-Antikörper (nur IgA und IgM NMDA-Rezeptor-Antikörper im Serum bei 4/12 Patienten ohne IgG Antikörper, nur IgA NMDA-Rezeptor-Antikörper im Serum bei 3/12 Patienten, nur IgM NMDA-Rezeptor-Antikörper im Serum bei 2/12 Patienten, Fehleingabe bei 2/12 Patienten). Bei einem dieser Patienten wurde der IgA/M NMDA-Rezeptor-Antikörper auch im Liquor nachgewiesen. Ein Patient (1/12) wurde ausgeschlossen, da keine idiopathische oder paraneoplastische, sondern eine post-Herpes-Enzephalitis vorlag, die zu einem anti-NMDA-Rezeptor-Enzephalitis-Antikörpernachweis führen kann.

### **3.2 Epidemiologie**

Von 97 der 100 Patienten mit einer anti-NMDA-Rezeptor-Enzephalitis war das Alter bekannt. Im Mittel waren die Patienten 28,8 Jahre alt (n=97; Standardabweichung 13,4). Kinder (<13 Lebensjahre; vier Prozent [4/97]) und Jugendliche (13-19 Lebensjahre; 18% [18/97]) stellten fast ein Viertel der Patienten (22% [22/97]) dar. Frauen waren signifikant häufiger betroffen; 75% (75/100) der Patienten waren weiblich. Die Mehrheit aller Patienten waren Frauen im gebärfähigen Alter (definiert als 12-45 Lebensjahre; [63/97]).

Bei 96 der 100 Patienten war die Ethnie bekannt. Die ethnische Gruppe der Kaukasier umfasste 89 von 96 Patienten (93%) und sieben Prozent (7/96) waren anderer ethnischer Herkunft. Eine Zusammenfassung der epidemiologischen und klinischen Parameter zeigt Tabelle 7.

Tabelle 7: Überblick der demographischen und klinischen Parameter der untersuchten Kohorte.

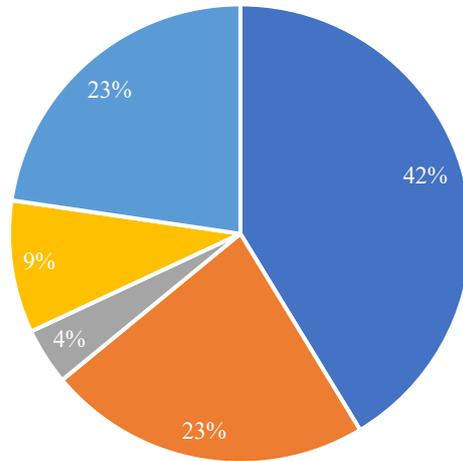
Parameter	Mittelwert +/- SD [Median +/- IQR]
Alter	28,8 Jahre +/- 13,4 [24,1 +/- 19,3-34,5] n=97
Geschlecht	75 weiblich; n=100
Ethnie	93% Kaukasier, 7% andere; n=96
Prodromale Symptome	52%; n=87
Erstmanifestation	41% psychiatrisch, 18% Epileptische Anfälle, 4% Bewegungsstörungen, 36% andere oder Kombinationen; n=98
Gedächtnisstörungen	80%; n=65
MRT-Auffälligkeiten initial (im Verlauf)	43%; n=41 (61%; n=56)
Entzündliches Liquorsyndrom	59%; n=57
EEG-Auffälligkeiten initial (im Verlauf)	72%; n=65 (80%; n=69)
Tumor	22%; n=21
Therapie: First-Line	96%; n=95
Therapie: Second-Line	46%; n=45
Intensivpflicht	44%; n=44
Krankenhausaufenthaltsdauer erstes Erkrankungsjahr	75,1 +/- 54,4 [60 +/- 35-97,5] n=71
Rehabilitationsdauer	[Median 35,5 IQR 28,5-60]
MRS bei Krankheitsmaximum	Median 4 +/- 1,1, IQR 3-5
MRS bei Krankenhausentlassung	Median 3 +/- 1,2, IQR 2-3,25
Zeitpunkt der letzten Verlaufsuntersuchung	Median 22 Monate, IQR 9-42
MRS bei letzter Verlaufsuntersuchung	1, IQR 0-2; n=95
Rezidiv	26%; n=23
MRS beim Rezidiv	3 +/- 1,4, IQR 2-4; n=18

### **3.3 Klinik**

Prodromale Symptome, d.h. der Krankheitsmanifestation vorausgehende unspezifische Symptome, traten bei 52% (45/87) der Patienten auf. Unspezifische Verhaltensauffälligkeiten und psychiatrische Symptome waren mit 41% (40/97) die häufigste Erstmanifestation, gefolgt von epileptischen Anfällen (18% [18/97]) und Bewegungsstörungen (vier Prozent [4/97]).

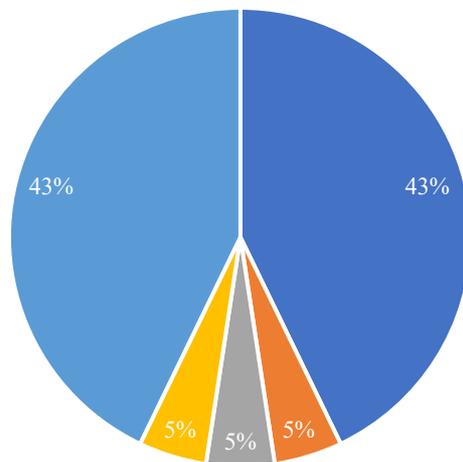
Bei Kindern und Jugendlichen kamen im Vergleich zu Erwachsenen seltener epileptische Anfälle vor, jedoch mehr psychiatrische Auffälligkeiten (Abbildung 6). Die übrige Erstmanifestation präsentierte sich vergleichbar. Bewegungsstörungen traten nicht vermehrt auf (Abbildung 6).

## Initialsymptome bei Erwachsenen



- Psychiatrich/Verhaltensauffälligkeiten
- Epileptische Anfälle
- Bewegungsstörungen
- Andere
- Kombiniert

## Initialsymptome bei Kindern und Jugendlichen



- Psychiatrich/Verhaltensauffälligkeiten
- Epileptische Anfälle
- Bewegungsstörungen
- Andere
- Kombiniert

Abbildung 6: Initialsymptome bei verschiedenen Altersgruppen. Dargestellt sind die Initialsymptome bei Kindern und Jugendlichen (unten) sowie bei Erwachsenen (oben) in Prozent. Der Bereich „kombiniert“ umfasst unterschiedlichste Kombinationen der Initialsymptome.

Im Verlauf der Hauptphase der Erkrankung stellte sich bei der Mehrheit der Patienten das klinische Vollbild ein. Bei 91% (90/99) der Patienten traten psychiatrische Symptome/Verhaltensauffälligkeiten auf, bei 80% (65/81) der Patienten kam es zu Gedächtnisstörungen und bei 68% (66/97) der Patienten zu epileptischen Anfällen (davon in 29% mit einem Status epilepticus [19/66]). Häufig waren auch Bewegungsstörungen (49%, [48/97]), autonome Störungen (49%, [46/94]) und Schlafstörungen (49%, [38/77]) vorhanden. Bis zur Diagnosestellung vergingen im Median 25 Tage (IQR 14-101; SD 331).

### **3.4 Apparative Untersuchungsergebnisse**

Bei Krankheitsbeginn zeigten 43% (41/95) der Patienten Auffälligkeiten im cerebralen MRT. Im Krankheitsverlauf traten Auffälligkeiten im MRT bei 61% (56/92) der Patienten auf. Meist waren diese Auffälligkeiten unspezifische T2/FLAIR Hyperintensitäten (17%, [16/93]). Temporo-mesiale Hyperintensitäten, wie bei limbischen Enzephalitiden, konnten jedoch bei 27% (25/93) und großflächige Hyperintensitäten bei neun Prozent (8/93) der Patienten nachgewiesen werden. Kontrastmittelanreicherungen wurden bei 20% (15/74) der Patienten beschrieben.

Entzündliche Liquorsyndrome mit Zellzahlerhöhung, isolierten oligoklonalen Banden im Liquor oder einer Kombination dieser konnten bei 59% (57/97) der Patienten nachgewiesen werden (79% [74/94] Pleozytose; 63% [49/78] isolierte oligoklonale Banden im Liquor).

Bei Krankheitsbeginn wurden bei 72% (65/90) der Patienten EEG-Auffälligkeiten nachgewiesen, im weiteren Verlauf bei 80% (69/86) der Kohorte. Generalisierte Verlangsamungen wurden bei 28% (22/79) der Patienten nachgewiesen, fokale Verlangsamungen bei 35% der Patienten (28/79), oder generalisierte und fokale Verlangsamungen bei 27% (21/79) der Patienten. Epilepsietypische Potentiale (ETP) traten bei 25% (22/88) der Patienten auf.

### **3.5 Tumorassoziationen**

Tumore kamen bei 22% (21/96) der Patienten vor. Von dieser Subgruppe war die Mehrheit weiblich (90% [19/21]). Innerhalb der Gruppe der Frauen zwischen 12 und 45 Lebensjahren lag der Anteil der tumorassoziierten Fälle bei 25% (16/64). Hierbei handelte es sich ausschließlich um Ovarialteratome.

Die übrigen drei Tumore gliederten sich in ein großzelliges B-Non-Hodgkin-Lymphom der Nieren beidseits, ein kleinzelliges Bronchialkarzinom und einen nicht weiter klassifizierbaren

Tumor auf. Die Tumorfrequenz in Abhängigkeit vom Lebensalter stellt Abbildung 7 dar. Einer von den drei Patienten mit einem Tumor anderer Entität (kein Teratom) war jünger als 45 Jahre (39 Jahre; männlich) und zwei waren älter (weiblich; 45 Jahre und 63 Jahre).

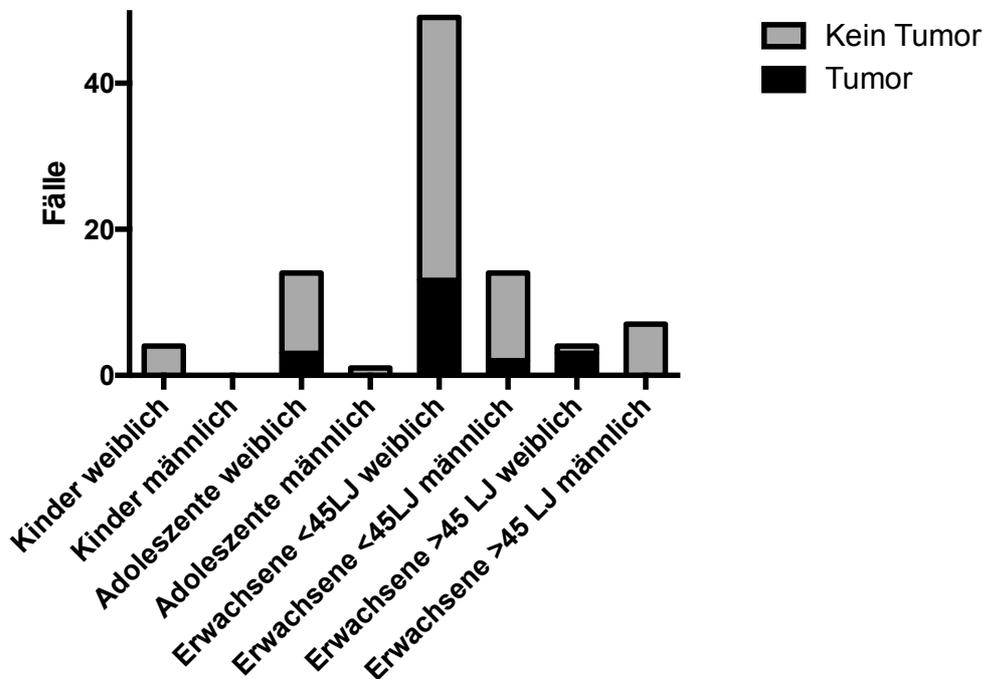


Abbildung 7: Tumorfrequenz abhängig vom Erkrankungsalter (Kinder Adoleszente, Erwachsene <45 Jahren, >45 Jahren.) und Geschlecht. Fälle mit Tumoren in schwarz, ohne Tumore in grau.

### 3.6 Therapie

Die große Mehrheit der Patienten wurde immuntherapeutisch behandelt. Eine intravenöse Kortisonstoßtherapie, intravenöse Immunglobuline, Plasmaaustauschverfahren (Plasmapherese oder Immunabsorption) und ggf. Tumorexstirpation kamen initial zur Anwendung. Insgesamt wurden 96% (95/99) der Patienten mit einer dieser Therapien behandelt.

Im Einzelnen wurden 91% (89/98) der Patienten mit intravenöser Methylprednisolon-Steroidstoßtherapie, 50% (48/97) mit intravenöser Gabe von Immunglobulinen und 60% (58/97) der Patienten mit Plasmaaustauschverfahren behandelt. Sechszwanzig Prozent (44/95) der Patienten erhielten eine Kombinationstherapie aus einem intravenösen (i.v.) Methylprednisolonstoß und der intravenösen Applikation von Immunglobulinen, 57% (54/95) der Behandelten eine Kombination aus i.v. Methylprednisolon und Plasmareinigungsverfahren (Immunadsorption oder Plasmapherese). Sechszwanzig Prozent (25/95) der Erkrankten

erhielten eine Dreifachkombinationstherapie in Form von i.v. Kortisonstoß mit Methylprednisolon, i.v. Immunglobulinen und Plasmareinigungsverfahren. Bei 90% (19/21) der Patienten mit einem Tumor wurde neben der Immuntherapie ebenfalls eine Tumorexstirpation durchgeführt.

Am schnellsten wurden die Kinder therapiert. Die Immuntherapien wurden im Mittel innerhalb eines Monats nach Symptombeginn initiiert, im Median bereits nach 14 Tagen (n=3; IQR 11-30; SD 20,4), bei Jugendlichen im Median nach 16,5 Tagen (n=14; IQR 6-31; SD 26) und bei Erwachsenen im Median nach 30 Tagen (n=71; IQR 10-85; SD 309,3).

Bei der Hälfte der Patienten (46% [45/99]) wurde die Immuntherapie im Verlauf eskaliert (sogenannte Second-Line Therapie). Eine Second-Line Therapie in Form von Rituximab oder Cyclophosphamid erhielten insgesamt 46% (21/45) der Patienten, wobei 31% von ihnen (14/45) Rituximab, vier Prozent (2/45) Cyclophosphamid und sieben Prozent (3/45) beide Medikationen erhielten.

Bis zum Erhalt einer Second-Line Therapie vergingen im Median 64 Tage (n=44; IQR 37-271; SD 397,7). In der Gruppe der Jugendlichen lag der Median bis zur Second-Line Therapie bei 91 Tagen (n=10; IQR 43-299; SD 438,6). Die Erwachsenen erhielten die Second-Line Therapie nach 64 Tagen im Median (n=35; IQR 45-271; SD 400,2). Andere Therapien (z.B. Azathioprin oder orales Kortison) erhielten insgesamt 23% [23/99] des Gesamtpatientenkollektivs.

Zweiundsiebzig Prozent (71/98) der Patienten erhielten eine antikonvulsive Therapie, wobei nur bei 68% (66/97) der Subgruppe epileptische Anfälle klinisch verifiziert werden konnten. Im Median erhielten die Patienten drei (IQR 1-4; SD 1,4) verschiedene Antikonvulsiva, bei denen sich die Anzahl auf den Komplettverlauf der Krankheit bezieht und nicht zwangsläufig gleichzeitig stattgefunden hat. Antipsychotika bekamen insgesamt 65% (61/94) der Patienten.

### **3.7 Krankheitsschwere und Verlauf**

Intensivpflicht bestand bei 44% (44/99) der Patienten. Eine Intubation aufgrund respiratorischer Insuffizienz wurde bei 61% (27/44) dieser Patienten notwendig. Erwachsene waren häufiger unter den Intensivpflichtigen Patienten vertreten als Kinder und Jugendliche (Erwachsene 77% [34/44]; Kinder und Jugendliche 23% [10/44]). Die mediane Liegezeit im Krankenhaus lag bei 60 Tagen (IQR 35-97,5). Im Median betrug die Rehabilitationsaufenthaltsdauer im ersten Erkrankungsjahr 35,5 Tage (IQR 28,5-60).

Die Mehrheit der Patienten war während der Hauptphase der Erkrankung schwer oder sehr schwer betroffen. Die Schwere der Betroffenheit wurde anhand des mRS-Scores bestimmt (Abbildung 8). Im Median lag der mRS-Score zum Krankheitshöhepunkt bei vier (IQR 3-5). Bei Krankenhausentlassung betrug der mRS-Score im Median drei (IQR 2-3,25). Die letzte Verlaufsuntersuchung fand im Median nach 22 Monaten statt (IQR 9-42), wobei ein mRS-Score von eins im Median (n=95; IQR 0-2) ermittelt wurde. Arbeitsfähigkeit bestand zu diesem Zeitpunkt bei 74% (52/70) der Patienten.

Ein Rezidiv erlitten 26% (23/90) der Patienten, davon kamen 26% (6/23) bei männlichen Patienten und 74% (17/23) der Rezidive bei weiblichen Patienten vor. Neun Prozent (2/23) der Rezidivpatienten waren Kinder, 13% (3/23) Adoleszente und 78% (18/23) Erwachsene. Insgesamt kam es bei 15% (3/29) der Patienten mit paraneoplastischen NMDA-Rezeptor-Enzephalitiden und bei 29% [20/69] der Patienten mit nicht-paraneoplastischen Enzephalitiden zu Rückfällen. Der mRS-Score betrug im Median zum Zeitpunkt des Rezidivs drei Punktwerte (IQR 2-4; SD 1,36; n=18) und die mediane Dauer lag bis zum Rezidiv bei 379 Tagen (IQR 237-532; n=21).

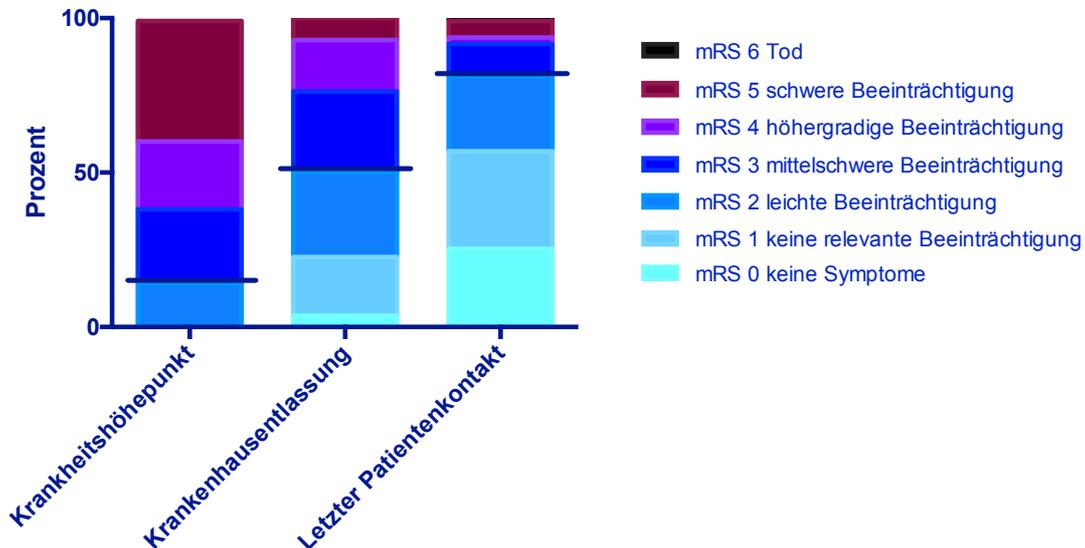


Abbildung 8: mRS-Score zu verschiedenen Untersuchungszeitpunkten. Die Linie zeigt die Grenze zwischen  $mRS < 2$  (selbständiges Leben möglich) und  $mRS > 3$  (Hilfe im Alltag notwendig) im Verlauf an.

### 3.8 Häufigkeit von IgA und IgM Antikörpern gegen NMDA-Rezeptoren in der Kohorte

Im nächsten Schritt wurde untersucht bei wie vielen Patienten sich neben den definitionsgemäß vorhandenen IgG Isotyp NMDA-Rezeptor-Antikörpern auch IgA oder IgM Isotyp Autoantikörper im Krankheitsverlauf im Serum und/oder Liquor nachweisen ließen. Hierfür wurden die Daten von insgesamt 551 Liquoruntersuchungen dieser 100 Patienten analysiert. Im Median erfolgten vier Lumbalpunktionen (IQR 2-6). Die erste Lumbalpunktion erfolgte im Median 18 Tage (IQR 4-45) und die letzte Lumbalpunktion im Median nach 568 Tagen (IQR 190-1191) nach Symptombeginn. Bei 63,5% der Lumbalpunktionen waren mehr als 90 Tage, bei 53,7% mehr als 180 Tage, bei 42,1% mehr als 360 Tage und bei 26,7% mehr als 720 Tage seit Beginn der Enzephalitis vergangen. Insgesamt lagen bei 67,3% (371/551) der Lumbalpunktionen von insgesamt 87/100 Patienten Informationen über die IgA bzw. IgM NMDA-Rezeptor-Antikörpertiter im Liquor oder im Serum vor. Bei 64 dieser Liquor/Serum-Pärchen wurden die Titer nachträglich aus asserviertem Material in Kooperation mit dem Labor Professor Stöcker gemessen.

Per Einschlusskriterien wurden bei 100% der Patienten im Serum oder im Liquor IgG NMDA-Rezeptor-Antikörper nachgewiesen ([100/100], [84/100] im Liquor und [89/100] im Serum).

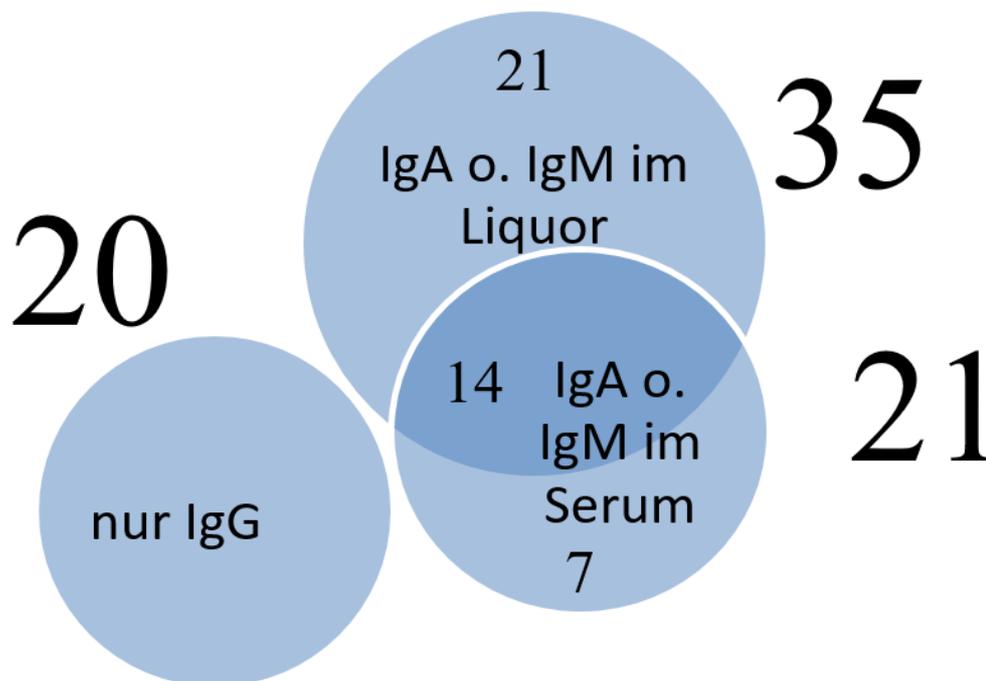


Abbildung 9: Schnittmengendiagramm zur IgA- und IgM Anti-NMDA-Rezeptorantikörperdiagnostik im Liquor und Serum

Bei 89/100 Patienten lagen Informationen zu IgA oder IgM anti-NMDA-Rezeptor-Antikörpern im Serum und/oder im Liquor vor. Insgesamt konnten bei 19% (104/551) der Proben und 50% (44/89) der Patienten nach Beginn der anti-NMDA-Rezeptor-Enzephalitis IgA oder IgM anti-NMDA-Rezeptor-Antikörper im Serum oder im Liquor detektiert werden.

Bei 76/100 Patienten lagen neben Informationen zu dem IgG anti-NMDA-Rezeptor-Antikörper Informationen zu den Isotypen IgA und IgM vor. Diese wurden bei 28% der Patienten ausschließlich im Liquor (21/76), bei 18,5% (14/76) der Patienten im Liquor und Serum und bei 9% (7/76) der Patienten nur im Serum ausfindig gemacht. Im Liquor nachgewiesen wurden meist IgA und IgM anti-NMDA-Rezeptor-Antikörper (neben IgG) gemeinsam. Bei 36/76 Patienten wurden sowohl IgA als auch IgM anti-NMDA-Rezeptor-Antikörper neben IgG anti-NMDA-Rezeptor-Antikörpern im Liquor nachgewiesen. Seltener wurde ausschließlich IgA im Liquor nachgewiesen (bei 22% der Patienten [8/36]) und noch seltener IgM alleine (17% der Proben [6/36]).

Zusammenfassend ist der Nachweis von nicht-IgG Isotyp NMDA-Rezeptor-Antikörpern bei Patienten mit einer anti-NMDA-Rezeptor-Enzephalitis häufig (50%). Die Antikörper waren jeweils in der Mehrzahl der Fälle im Liquor nachweisbar in Form der Koexistenz von IgM und IgA (61%) Isotypen.

### **3.9 Assoziation von IgA und IgM Antikörpern gegen NMDA-Rezeptoren mit klinischen Parametern**

Als Nächstes wurde untersucht, ob einer der erhobenen klinischen Parameter (unabhängige Variablen) mit dem Nachweis von IgA und/oder IgM NMDA-Rezeptor-Antikörpern (abhängige Variable) zu einem beliebigen Zeitpunkt nach Auftreten der anti-NMDA-Rezeptor-Enzephalitis korreliert. Dazu wurde eine logistische Regressionsanalyse der 76 Patienten durchgeführt, bei denen das Vorhandensein dieser Isotyp-Antikörper während des Krankheitsverlaufes im Liquor nachgewiesen wurde. Die gleiche Untersuchung wurde für den Nachweis dieser Antikörper-Isotypen im Serum wiederholt. Die Zuordnung der untersuchten Variablen sind Tabelle 6 zu entnehmen.

Im ersten Schritt wurde ermittelt, ob der Nachweis von IgA/M NMDA-Rezeptor-Antikörpern als abhängige Variable mit klinischen Parametern der frühen ersten Krankenhausphase (unabhängige Variablen) korrelierten. Aufgrund der Datenstruktur und der Häufigkeit fehlender Daten und den einzelnen Kategorien, wurden folgende Parameter ausgewählt: Alter, Geschlecht, Liquorauffälligkeiten, MRT-Auffälligkeiten, Präsenz eines Tumors,

Intensivpflicht, Zeit bis zum Beginn einer Immuntherapie, Durchführung einer Eskalationstherapie (Immuntherapie) und Grad der Beeinträchtigung zum Krankheitsmaximum via mRS-Score. Bei allen 76 Patienten lagen für alle Parameter Daten vor. In der binären logistischen Regressionsanalyse (Tabelle 8) zeigte sich, dass ein signifikanter Zusammenhang zwischen einer Intensivpflichtigkeit (unabhängige Variable) und dem Nachweis von IgA/M NMDAR Antikörpern (abhängige Variable) bestand. Hieraus geht hervor, dass Patienten mit Intensivpflicht während der Enzephalitis ein 10,85-fach erhöhtes Risiko für den Nachweis von IgA und/oder IgM NMDA-Rezeptor-Antikörpern im Liquor hatten. Bei intensivpflichtigen Patienten mit anti-NMDA-Rezeptor-Enzephalitis wurden in 57,5% der Fälle ein IgA/M NMDA-Rezeptor-Antikörper-Nachweis im Liquor erbracht. Dies gelang nur bei 28,8% der nicht intensivpflichtigen Patienten ( $p=0,003$ , Fisher Exact-Test). Der Nachweis von IgA/M im Serum zeigte diesbezüglich keine Assoziation. Hier konnte eine knapp signifikante Assoziation mit dem Geschlecht verifiziert werden.

Tabelle 8: Binäre, univariate logistische Regressionsanalyse mit dem Nachweis von IgA/M NMDA-Rezeptor-Antikörpern im Liquor (linke Spalte) oder im Serum (rechte Spalte) und klinischen Parametern zum Erkrankungsbeginn. Signifikante Befunde ( $p < 0,05$ ) fettgedruckt. CI Konfidenzintervall.

n=76	IgA/M Nachweis im Liquor		IgA/M Nachweis im Serum	
	P	Odds Ratio (95% CI)	P	Odds Ratio (95% CI)
Alter	0,387	1,02 (0,98 - 1,07)	0,957	1,00 (0,96 - 1,05)
Geschlecht	0,024	0,19 (0,05 - 0,80)	<b>0,043</b>	<b>0,19 (0,04 - 0,95)</b>
Liquorauffälligkeit (57/76)	0,094	8,70 (0,69 - 109,82)	0,657	1,76 (0,15 - 21,49)
MRT-Auffälligkeit (33/76)	0,832	0,89 (0,29 - 2,73)	0,952	0,96 (0,28 - 3,31)
Tumor (17/76)	0,095	3,12 (0,82 - 11,85)	0,797	1,19 (0,31 - 4,60)
Intensivpflicht (34/76)	<b>0,001</b>	<b>10,85 (2,50 - 47,01)</b>	0,17	2,93 (0,63 - 13,62)
Second-Line Therapie (36/76)	0,073	2,93 (0,90 - 9,53)	0,088	3,01 (0,85 - 10,69)
Dauer bis zum Therapiebeginn	0,481	1,00 (1,00 - 1,00)	0,332	1,00 (1,00 - 1,01)
Erkrankungsschwere (mRS) am Krankheitshöhepunkt	0,321	1,39 (0,73 - 2,64)	0,98	0,99 (0,51 - 1,94)

Als nächstes wurde ermittelt, ob neben vorbekannten (Titulaer et al. 2013) Parametern wie Intensivpflicht, Durchführung einer Eskalationstherapie, Alter, Geschlecht, Tumorstatus und Dauer bis zur Therapieeinleitung zusätzlich auch das Vorhandensein von IgA oder IgM NMDA-Rezeptor-Antikörpern mit der Prognose korrelierte. Dafür wurde die Subgruppe der Patienten, bei denen mindestens 90 Tage Verlauf ( $n=80$ ), mindestens 180 Tage Verlauf ( $n=73$ ) oder mindestens 360 Tage Verlauf ( $n=53$ ) vorlagen, dahingehend geprüft. In diesen Gruppen wurden die genannten Parameter mit der Abhängigkeit von fremder Hilfe ( $mRS < 3$  vs.  $\geq 3$ ) zum letzten Untersuchungszeitpunkt auf Korrelation analysiert. Es zeigte sich, dass der Nachweis von IgA/M im Serum oder im Liquor keinerlei signifikante Korrelation mit der Prognose nach 90 Tagen hatte. Lediglich Alter und Geschlecht korrelierten signifikant mit der Erholung nach 90 Tagen (Tabelle 9). Auch bei Begrenzung der Auswertung auf Patienten mit bekannten Verläufen über mindestens 180 oder 360 Tage fanden sich keine signifikanten Assoziationen (nicht dargestellt).

Tabelle 9: Binäre, univariate logistische Regressionsanalyse der Prognose mit klinischen Parametern und dem IgA/M Nachweis im Liquor (linke Spalte) oder im Serum (rechte Spalte) und klinischen Parametern. Signifikante Befunde ( $p < 0.05$ ) fettgedruckt. Als abhängige Variable wurde eine gute Prognose mit mRS Grad  $< 3$  (selbständiges Leben) gegen eine schlechte Prognose mit einem mRS  $\geq 3$  (Abhängigkeit von fremder Hilfe) abgegrenzt und dichotomisiert.

mRS $\geq 3$ zum letzten Untersuchungszeitpunkt, $\geq 90$ Tage Verlauf	IgA/M Nachweis im Liquor		IgA/M Nachweis im Serum	
	P	Odds Ratio (95% CI)	P	Odds Ratio (95% CI)
n=75				
Alter	<b>0,017</b>	<b>1,10 (1,02 - 1,19)</b>	<b>0,009</b>	<b>0,01 (1,13 - 1,03)</b>
Geschlecht	0,073	0,04 (0,00 - 1,34)	<b>0,03</b>	<b>0,03 (0,02 - 0,00)</b>
Tumor	0,116	8,74 (0,59 - 130,08)	0,083	0,08 (10,54 - 0,73)
Intensivpflicht	0,211	0,35 (0,07 - 1,82)	0,358	0,36 (0,45 - 0,08)
Second-Line Therapie	0,54	0,60 (0,12 - 3,07)	0,831	0,83 (1,23 - 0,18)
Zeit bis First-Line Therapiebeginn (t)	0,614	1,00 (0,99 - 1,00)	0,731	0,73 (1,00 - 0,99)
IgA oder IgM NMDA- Antikörper	0,908	0,90 (0,16 - 5,05)	0,061	0,06 (0,13 - 0,02)

Es wurde mit der gleichen statistischen Strategie sondiert, ob bei Patienten mit einer anti-NMDA-Rezeptor-Enzephalitis der Nachweis von IgA/M NMDA-Rezeptor-Antikörpern mit der Rezidivwahrscheinlichkeit korrelierte. Von 72 Patienten mit einem bekannten Verlauf länger als ( $\geq$ ) 90 Tage erlitten 22% ein Rezidiv (16/72, im Median 440 Tage nach der Enzephalitis mit einer Zeitspanne von 199-1407 Tagen). Die Wahrscheinlichkeit eines Rezidivs korrelierte jedoch nicht mit dem Nachweis von IgA/M NMDA-Rezeptor-Antikörpern im Liquor oder im Serum (Tabelle 10).

Tabelle 10: Binäre, univariate logistische Regressionsanalyse der Rezidivwahrscheinlichkeit mit klinischen Parametern und dem IgA/M Nachweis im Liquor (linke Spalte) oder im Serum (rechte Spalte) und klinischen Parametern.

Rezidiv	IgA/M Nachweis im Liquor		IgA/M Nachweis im Serum	
	P	Odds Ratio (95% CI)	P	Odds Ratio (95% CI)
≥90 Tage Verlauf n=72				
Alter	0,396	0,40 (1,03 - 0,97)	0,422	0,42 (1,03 - 0,96)
Geschlecht	0,204	0,20 (4,48 - 0,44)	0,16	0,16 (5,22 - 0,52)
Tumor	0,467	0,47 (0,53 - 0,09)	0,35	0,35 (0,45 - 0,08)
Intensivpflicht	0,876	0,88 (1,10 - 0,32)	0,952	0,95 (0,96 - 0,29)
Second-Line Therapie	0,347	0,35 (1,80 - 0,53)	0,478	0,48 (1,57 - 0,45)
Zeit bis First-Line Therapiebeginn (t)	0,567	0,57 (1,00 - 1,00)	0,467	0,47 (1,00 - 1,00)
IgA oder IgM NMDA-Antikörper	0,527	0,53 (0,64 - 0,16)	0,665	0,67 (1,38 - 0,32)

Schließlich gab es einen Zusammenhang zwischen Intensivpflicht und dem Nachweis von IgA/M NMDA-Rezeptor-Antikörpern im Liquor, nicht jedoch zwischen dem Nachweis von IgA/M NMDA-Rezeptor-Antikörpern im Serum oder Liquor und der Prognose oder Rezidivwahrscheinlichkeit. Allerdings korrelierten Alter und Geschlecht mit der Prognose.

### 3.9.1 Assoziation von IgA und IgM Antikörpern gegen NMDA-Rezeptoren mit Liquorparametern

Final wurde der Zusammenhang zwischen IgA/M NMDA-Rezeptor-Antikörpern und Parametern, die bei den jeweiligen Liquoruntersuchungen erhoben wurden, beleuchtet. Beispielsweise konnte so der Zusammenhang zwischen der Zellzahlerhöhung im Liquor als Ausdruck der akuten Entzündungsreaktion und den Antikörpertitern begutachtet werden. Weitere Parameter, die mit dem Nachweis von IgA/M NMDA-Rezeptor-Antikörpern auf Korrelation untersucht wurden, waren die IgG NMDA-Rezeptor-Antikörpertiterhöhe, das Gesamteiweiß, der Nachweis isolierter oligoklonaler Banden, und die Zeit seit Symptombeginn sowie die zu diesem Zeitpunkt durchgeführten Therapien und die Erkrankungsschwere, gemessen am mRS-Score.

### 3.9.2 Zellzahl und Gesamteiweiß sowie isolierte oligoklonale Banden

Es konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Vorliegen einer erhöhten Zellzahl im Liquor und dem Nachweis von IgA/M NMDA-Rezeptor-Antikörpern im Serum oder Liquor nachgewiesen werden (n=138 Punktionen; p=0,118; Fisher Exact), sowie nur im Liquor (n=120; p=0,343) oder nur im Serum (n=128; p=0,245). Auch die mittlere Zellzahl im Liquor war nicht unterschiedlich zwischen Liquorpunktionen mit IgA/M NMDA-Rezeptor-

Antikörpern und ohne dessen Nachweis (n=114; ohne IgA/M Median 3 IQR 14; mit IgA/M Median 6 IQR 30; p=0,279; Mann-Whitney-U Test). Da bekannt ist, dass die Liquorzellzahl, unabhängig von der Erkrankung, mit der Zeit fällt (Abbildung 9 A), wurden die ersten Liquoruntersuchungen reevaluiert. Bei 26 Liquoruntersuchungen lag der Beginn der Symptomatik weniger ( $\leq$ ) als 30 Tage zurück. Bei der Hälfte wurden IgA/M anti-NMDA-Rezeptor-Antikörper im Liquor nachgewiesen (n=13), jedoch waren auch hier die Mediane der Zellzahlerhöhung nicht signifikant unterschiedlich (n=26; ohne IgA/M Median 30 IQR 65; mit IgA/M Median 34 IQR 46; p=0.724; Mann-Whitney-U Test).

Auch das Gesamteiweiß war nicht signifikant häufiger auffällig bei IgA/M NMDA-Rezeptor-Antikörpern (n=108; p=0,596; Fisher Exact). Ebenso wenig waren die Mediane unterschiedlich (n=105; ohne IgA/M Median 373 mg/l IQR 178; mit IgA/M Median 393 mg/l IQR 211; p=0,483; Mann-Whitney-U Test). Auch die Mittelwerte der Albuminquotienten (Qalb) unterschieden sich nicht signifikant zwischen den beiden Gruppen (n=93; P=0,984; Mann-Whitney-U Test).

Des Weiteren wurde differenziert, ob Patienten mit IgA/M NMDA-Rezeptor-Antikörper-Nachweis im Liquor eine andere Prävalenz isolierter oligoklonaler Banden im Liquor hatten als Patienten ohne diesen Nachweis. Dies war jedoch nicht der Fall. Liquorproben von Patienten mit einem IgA oder IgM NMDA-Rezeptor-Antikörper im Liquor hatten in 55% (21/38) der Fälle, und Liquorproben von Patienten ohne diesen Nachweis in 65% (37/57) der Analysen nachweisbare isolierte oligoklonale Banden (P=0,394; Fisher Exact). Dies traf ebenfalls für den Serumnachweis zu (Daten nicht gezeigt).

Zusammenfassend konnte keine Korrelation zwischen der Liquorzellzahl, dem Gesamteiweiß und den IgA/M NMDA-Rezeptor-Antikörpern im Liquor oder Serum und der Häufigkeit isolierter oligoklonaler Banden im Liquor beobachtet werden.

### **3.9.3 Titerhöhen IgG, IgA und IgM NMDA-Rezeptor-Antikörper**

Zuerst wurde ermittelt, ob die Wahrscheinlichkeit des Vorkommens von IgA/M NMDA-Rezeptor-Antikörpern im Liquor oder Serum abhängig von der Zeit seit Beginn der Symptomatik ist. Es zeigte sich allerdings kein Unterschied der Prävalenz der IgA/IgM NMDA-Rezeptor-Antikörper abhängig von dieser Zeit. Bei 30,3% (20/66) der Patienten, bei denen Liquoruntersuchungen während der ersten 30 Tage durchgeführt wurden, konnten IgA/M NMDA-Rezeptor-Antikörper gefunden werden. Bei Liquoruntersuchungen zwischen dem

zweiten und sechsten Monat (>30 Tage; <180 Tage) wurden in 30,2% der Proben (19/63) diese Antikörper (>6 Monate 29,0%; Fisher Exact;  $p=0,8$ ) auffindig gemacht.

Im nächsten Schritt wurde der Zusammenhang zwischen der IgG Titerhöhe und den IgA/IgM Titerhöhen beleuchtet. Graphisch ist ersichtlich, dass die Titer der IgG NMDA-Rezeptor-Antikörper über die Zeit abfallen. Dies trifft jedoch nicht eindeutig für die IgA/M Isotypen zu (Abbildung 10 B-D). Beide Beobachtungen bestätigten sich statistisch für IgG NMDA-Rezeptor-Antikörper (Steigung der linearen Regressionskurve mit logarithmierten Titern signifikant unterschiedlich von 0;  $n=258$ ;  $p=0,035$ ;  $R^2=0,033$ ) und für die nicht-signifikante Abnahme der IgA-Isotyp Antikörper ( $n=189$ ;  $p=0,50$ ;  $R^2=0,002$ ) oder IgM-Isotyp Antikörper mit der Zeit ( $n=189$ ;  $p=0,62$ ;  $R^2=0,001$ ). Da diese Auswertung durch viele Liquorproben ohne IgA/M anti-NMDA-Rezeptor-Antikörper-Nachweis Effekte auf Einzelpatientenebene übersehen werden kann, wurde konsekutiv die Dynamik der IgA/M anti-NMDA-Rezeptor-Antikörpertiter im Liquor bei Patienten mit mehr als zwei auswertbaren Liquorproben, bei denen in mindestens einer Liquoruntersuchung IgA oder IgM-NMDA-Rezeptor-Antikörper im Liquor nachgewiesen wurden, untersucht. Hier konnte aufgezeigt werden, dass auf individueller Ebene auch die IgA/M NMDA-Rezeptor-Antikörpertiter im Liquor regelhaft abfallen (Abbildung 11 A, B). Bei den NMDA-Rezeptor-Antikörpern im Serum ließ sich für alle drei Isotypen (IgG, IgA und IgM) kein Abfall über die Zeit darstellen (nicht dargestellt). Sowohl für den Isotyp IgA, als auch für den Isotyp IgM konnte in der individuellen Darstellung ein Abfall der Titer im Liquor beobachtet werden (Abbildung 11).

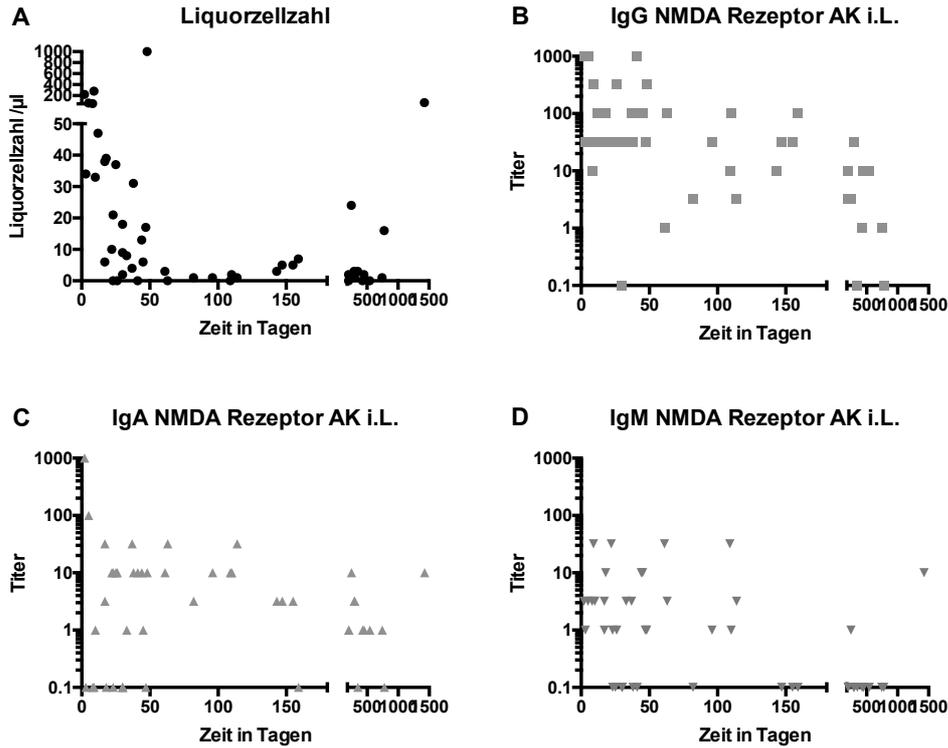


Abbildung 10: Liquorzellzahl (A, Kreise) bzw. anti-NMDA-Rezeptor-Antikörpertiter im Liquor für IgG (B, Quadrate), IgA (C, Dreiecke) und IgM (D, inverse Dreiecke) Isotypen aufgetragen über die Zeit seit Beginn der Symptomatik in Tagen. Bei B-D sind negative Werte (Titer kleiner als Einstiegsverdünnung 1:1 als 0.1 angegeben). Aufgetragen wurden alle vorliegenden Liquoruntersuchungen, für die Informationen über die Liquorzellzahl und mindestens ein Titer vorlagen (n=49 von 40 Patienten).

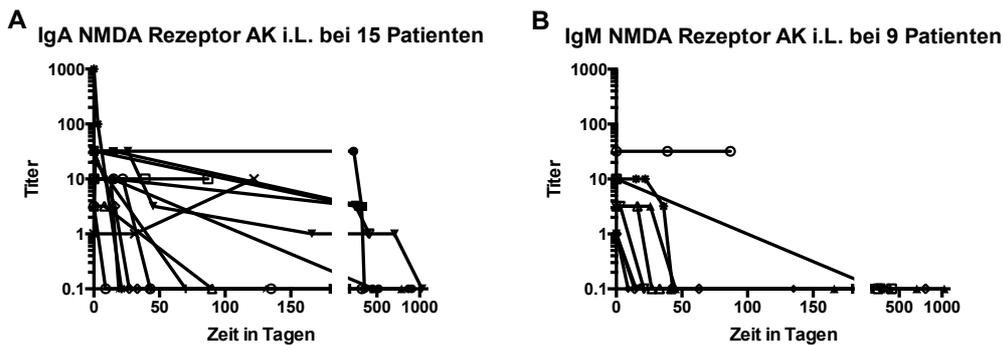


Abbildung 11: Individuelle Anti-NMDA-Rezeptor-Antikörpertiter im Liquor für IgA (15 Patienten, A) und IgM (9 Patienten, B) zeigen den Abfall der Titer im Verlauf bei fast allen Patienten. Bei A-B sind negative Werte (Titer kleiner als Einstiegsverdünnung 1:1 als 0.1 angegeben). Aufgetragen wurden alle vorliegenden Liquoruntersuchungen von Patienten mit mehr als zwei Zeitpunkten. Zeitpunkt 0 ist der erste Nachweis des IgA/M NMDA-Rezeptor-Antikörpers im Liquor.

Abschließend wurde geprüft, ob die Titerhöhen der IgA anti-NMDA-Rezeptor-Antikörper mit den Titerhöhen der IgG NMDA-Rezeptor-Antikörper korrelieren, und ob dies auch für IgM Isotypen zutrifft. Eine deutliche Korrelation bestand zwischen den IgG NMDA-Rezeptor-Antikörpern und den IgA NMDA-Rezeptor-Antikörpern im Liquor (n=64;  $R^2=0,32$ ; Abbildung 12 A), weniger deutlich auch mit den IgM NMDA-Rezeptor-Antikörpern (n=41;  $R^2=0,004$ ; Abbildung 12 B). Dies ließ sich im Serum ebenfalls nicht nachweisen (nicht dargestellt).

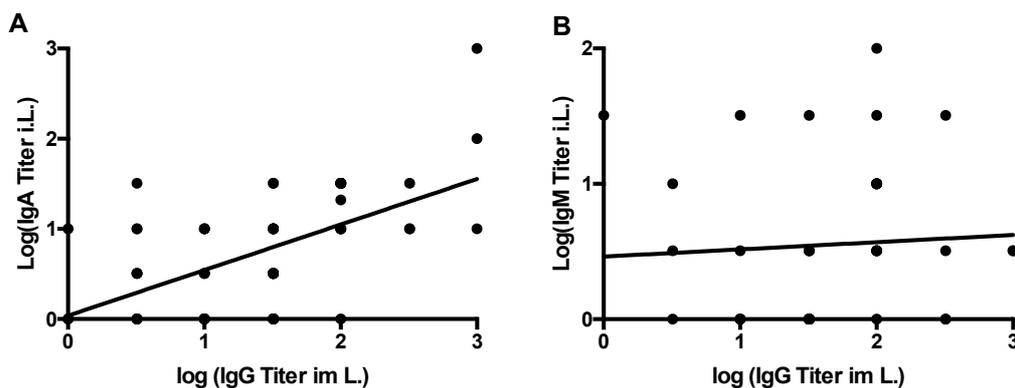


Abbildung 12: Lineare Korrelation der Anti-NMDA-Rezeptor-Antikörpertiter IgA (A, n=64) oder IgM (B, n=41) im Liquor mit dem IgG NMDA-Rezeptor-Antikörpertiter im Liquor (x-Achse). Alle Titerstufen wurden logarithmiert. Es wurden alle vorliegenden Liquoruntersuchungen von Patienten mit einem IgA/M und IgG NMDA-Rezeptor-Antikörpertiter  $\geq 1:1$  eingeschlossen.

Zusammenfassend konnte bewiesen werden, dass IgA und IgM NMDA-Rezeptor-Antikörper im Liquor, aber nicht im Serum, ähnlich wie die IgG NMDA-Rezeptor-Antikörper, über die Zeit abfallen. Gleichzeitig korrelieren die Titerhöhen der IgA und IgM NMDA-Rezeptor-Antikörper mit den IgG Antikörpern im Liquor. Diese Korrelation besteht nicht für das Medium Serum.

### 3.9.4 Vortherapie und Krankheitsschwere zum Zeitpunkt der Lumbalpunktion

In diesem Schritt wurde untersucht, ob der IgA oder IgM NMDA-Rezeptor-Antikörpertiter in Liquor/Serumpärchen, der während der akuten Krankheitsphase ( $\leq 90$  Tage) gewonnen wurde, mit der Erkrankungsschwere zum Zeitpunkt der Lumbalpunktion und/oder den zu diesem Zeitpunkt bereits durchgeführten Vortherapien korrelierte. Die Erkrankungsschwere wurde dichotomisiert in  $mRS \geq 4$  (schwer bzw. schwerst betroffen) und  $mRS \leq 3$  (mäßig bis leicht betroffen) betrachtet. Bei den Vortherapien wurde differenziert zwischen einer durchgeführten First-Line Therapie oder einer Eskalationstherapie (s.o.).

Die Höhe der IgG NMDA-Rezeptor-Antikörpertiter im Liquor und Serum korrelierte signifikant mit der Erkrankungsschwere. Schwer betroffene Patienten ( $mRS \geq 4$ ) wiesen im Median einen IgG NMDA-Rezeptor-Antikörpertiter im Liquor von 1:100 (IQR 68;  $n=62$ ) auf und leichter betroffene Patienten einen Antikörpertiter im Liquor von im Median 1:32 (IQR 90;  $n=48$ ;  $p=0,008$ ; Mann-Whitney-U-Test; Serumdaten nicht gezeigt). Auch der IgM NMDA-Rezeptor-Antikörpertiter im Liquor korrelierte mit dem Schweregrad ( $mRS \geq 4$   $n=12$ ; Median 10 IQR 27,1;  $mRS \leq 3$   $n=12$ ; Median 3,2 IQR 2,2;  $p=0,003$ ; Mann Whitney-U-Test). Ebenso ließ sich dieser Befund bei IgA NMDA-Rezeptor-Antikörpern im Liquor nachweisen ( $mRS \geq 4$   $n=12$ ; Median 10 IQR 27,1;  $mRS \leq 3$   $n=12$ ; Median 3,2 IQR 2,2;  $p=0,003$ ; Mann Whitney-U-Test).

Letztlich konnte kein Zusammenhang zwischen IgM oder IgA NMDA-Rezeptor-Antikörpertitern im Serum und dem Schweregrad der Erkrankung nachgewiesen werden.

Als nächstes wurde untersucht, ob auch ein Zusammenhang der IgA/M NMDA-Rezeptor-Antikörper mit der Vortherapie bestand. Hierfür wurden alle Datensätze analysiert, bei denen Informationen zu den zu diesem Zeitpunkt durchgeführten Vortherapien vorlagen. Bereits behandelte Patienten hatten im Median einen IgG NMDA-Rezeptor-Antikörpertiter im Liquor von 1:10 (IQR 37,8;  $n=205$ ) und nicht behandelte Patienten einen entsprechenden Antikörpertiter im Liquor im Median von 1:32 (IQR 90;  $n=68$ ;  $p=0,005$ ; Mann-Whitney-U-Test). Die Zeit bis zur Lumbalpunktion bei Liquorproben von Patienten mit nicht behandelten Enzephalitisyndromen war jedoch deutlich geringer (Median nicht-behandelt 24,5 Tage vs. behandelt 205 Tage;  $p=0,001$ ). Daher wurde dieser Zusammenhang erneut mit einer Two-Way-ANOVA mit dem logarithmierten Liquor-IgG NMDA-Rezeptor-Antikörpertiter als abhängige Variable und Vorbehandlung sowie die logarithmierte Zeit bis zur Lumbalpunktion als unabhängige Parameter beleuchtet. Hier bestätigte sich, dass die Vorbehandlung ( $P=0,05$ ;  $F=7,908$ ) und die Zeit bis zur Lumbalpunktion ( $P=0,0001$ ;  $F=2,693$ ) beide mit dem Liquor IgG-Titer korrelierten, jedoch auch signifikant interagierten ( $P=0,0001$ ;  $F=4,228$ ). Daher lassen sich die Vorbehandlungen und die Zeit seit Beginn der Symptomatik in diesem Datensatz nicht unabhängig voneinander betrachten. Aus diesem Grund wurde auf eine weitere Analyse dieses Faktors verzichtet.

Zusammenfassend konnte dargestellt werden, dass, im Vergleich zu leicht oder mäßig betroffenen Patienten, schwer betroffene Patienten signifikant höhere IgG, IgM und IgA anti-NMDA-Rezeptor-Antikörper im Liquor und IgG NMDA-Rezeptor-Antikörper im Serum

aufwiesen. Auch Patienten ohne Vortherapie verfügten über höhere IgG NMDA-Rezeptor Antikörper-Titer im Liquor als Patienten mit Vortherapie. Allerdings sind beide Parameter nicht unabhängig von der Dauer bis zur Lumbalpunktion. Daher lassen sich die relativen Anteile der Zeit, Erkrankungsschwere und Vortherapie in Korrelation zu den IgG, IgA und IgM NMDA-Rezeptor-Antikörpern mit diesem Datensatz nicht voneinander trennen.

## **4 Diskussion**

### **4.1 Ziele**

In dieser Dissertationsarbeit wurde eine deutsche Kohorte von 100 Patienten mit einer anti-NMDA-Rezeptor-Antikörper-Enzephalitis untersucht. Insgesamt konnten für diese Kohorte 551 Liquoruntersuchungen ausgewertet werden. Ziele waren hierbei (1) der Vergleich der deutschen Patienten mit den internationalen Kohorten und (2) die Analyse, ob dem Nachweis von nicht-IgG Isotyp NMDA-Rezeptor-Antikörpern im Serum und/oder Liquor eine klinische Bedeutung zukommt.

### **4.2 Vergleich mit internationalen Kohorten**

Die 100 deutschen Patienten wiesen ein ähnliches Altersspektrum und eine ähnliche Geschlechtsverteilung auf, wie internationale Vergleichskohorten (Titulaer et al., 2013). Auch bezüglich klinischer Manifestation, MRT und Liquorbefunden zeigten sich keine relevanten Unterschiede. Deutlich unterschiedlich war der Anteil paraneoplastischer anti-NMDA-Rezeptor-Enzephalitiden, welcher bei 22% lag (Frauen zwischen 12 und 45 Jahren 25%) im Vergleich zu 50% in den Vorpublikationen (Titulaer et al., Irani et al., 2010). Mögliche Gründe hierfür könnten ein weniger intensives Tumorscreening oder regionale Besonderheiten bei möglicher HLA-Assoziation der nicht-paraneoplastischen Autoimmunenzephalitiden sein. Gegen möglicherweise unerkannte Tumoren spricht der gute therapeutische Effekt der B-Zell-depletierenden Therapie mit Rituximab. Denn auch therapeutisch sind die deutschen Patienten anders behandelt worden: Die Behandlung umfasste eine sehr frühe Basistherapie (Steroide, Plasmapherese, Tumorentfernung) innerhalb von meist 14-30 Tagen und einer Eskalationstherapie bei 46% der Patienten meist innerhalb von 65 Tagen, d.h. innerhalb von einem Monat nach der Basistherapie. In der Mehrzahl der Fälle wurde mit einer Rituximab-basierten Immuntherapie behandelt (82% der Eskalationstherapien), meist mit einer Rituximab-Monotherapie (81%). Dies ist relevant häufiger als bei anderen großen internationalen Fallserien (ca. 25% Eskalationstherapien; Titulaer et al., 2013).

Eine Erklärung ist die beschriebene höhere Häufigkeit von nicht-paraneoplastischen Autoimmunenzephalitiden, die daher immunmodulierenden behandelt werden müssen. Alternativ wäre eine mögliche Erklärung, dass viele Patienten „unnötig“ eine Eskalationsbehandlung bekommen, da klinisch bisher nicht vorhergesagt werden kann, wer eine solche zwingend benötigt und wer einen prognostisch günstigen Verlauf auch schon nach Basistherapie erwarten kann.

Wie bereits vorbekannt, ist trotz eines schwer betroffenen Patientenguts mit 43% Intensivpflichtigkeit und 28% Beatmungspflichtigkeit mit medianem Krankenhausaufenthalt von 60 Tagen die Erholung erstaunlich gut. Beim letzten Arztkontakt nach im Median 22 Monaten waren rund 80% der Patienten selbständig lebensfähig, 60% der Patienten hatten keine relevanten Symptome mehr und 25% der Patienten waren symptomfrei; 71% der eingeschlossenen Patienten waren wieder arbeitsfähig. Diese Daten sind vergleichbar mit der großen internationalen Registerstudie, in der nach zwei Jahren 80% der Patienten selbständig lebensfähig waren. 65% der Patienten wiesen keine relevanten Symptome mehr auf und 45% der Patienten waren symptomfrei.

Es ist denkbar, dass Patienten mit initial positiv verlaufender Genesung nicht dauerhaft nachverfolgt und damit späte Residuen nicht mehr berücksichtigt werden.

Auch in dieser Studie waren lediglich 39% der untersuchten Patienten nach zwei Jahren noch in der Verlaufsbeobachtung; allerdings sind 95% dieser Patienten selbständig lebensfähig (75% der Patienten zeigten keine relevanten Symptome; 31% der Patienten waren symptomfrei).

In der betrachteten Kohorte kam es zu keinen signifikanten Unterschieden im Verlauf nach sechs, zwölf oder 24 Monaten zwischen Patienten, bei denen eine Eskalations-Immuntherapie (meist mit Rituximab) durchgeführt wurde und bei solchen, bei denen diese Therapie nicht erfolgte. Möglicherweise ist auch die nur sehr kurze Zeit bis zur Initiierung der Basistherapie zwischen 14 und 30 Tagen ab den ersten Symptomen ein Faktor, der die Prognose positiv beeinflusst hat. Trotzdem kann die Zeit bis zur Therapieeinleitung noch verbessert werden. Der größte Zeitverlust entsteht durch die Dauer bis zur Diagnosestellung (Median 25 Tage). Hier werden in zukünftigen Kohorten-Analysen voraussichtlich die mittlerweile sehr kurze Analysezeit und umfangreiche Antikörpertestungen bei verdächtigen Erkrankungen die Zeit bis zur Diagnosestellung und damit bis zur Behandlung weiter reduzieren.

Bei der Untersuchung der Prognosefaktoren mittels logistischer Regressionsanalysen zeigte sich wie vorbeschrieben (Titulaer et al., 2013) insbesondere eine Intensivpflicht als Ausdruck einer starken Erkrankungsausprägung mit autonomer Beteiligung als negativer Prognosefaktor. Alter und Geschlecht waren ebenfalls bekannte negative Prognosefaktoren. Dies konnte durch diese Forschungsarbeit bestätigt werden (männliches Geschlecht etwas schwerer erkrankt). Im Gegensatz dazu konnten die Faktoren „Eskalationstherapie“ und „Zeit bis zur Einleitung einer Basistherapie“ nicht als Prognosefaktoren bestätigt werden, beides vermutlich aufgrund der frühen Behandlung und insgesamt gutem Verlauf der Gesamtkohorte.

Die Rezidivrate ist in dem untersuchten Kollektiv ebenfalls vergleichbar mit den publizierten Fallserien. Die Rezidivrate lag bei 26%. Rezidive traten insbesondere bei nicht-paraneoplastischen Varianten auf (29% vs. 15% Rezidive bei Ovarial-Teratom-assoziierten anti-NMDA-Rezeptor-Enzephalitiden). Die Rückfälle verliefen meist weniger schwer (medianer mRS-Score =3) und traten im Median näherungsweise zwei Jahre nach der Ersterkrankung auf (Median 1 Jahr; 75% innerhalb von 1,6 Jahren).

### **4.3 Klinische Relevanz der Coexistenz von NMDA-Rezeptor-Antikörpern vom Isotyp IgA und IgM neben dem krankheitsdeterminierenden Isotyp IgG**

Eines der Hauptziele der Analyse der deutschen Patienten mit anti-NMDA-Rezeptor-Enzephalitis bestand in der Überprüfung, ob ein Zusammenhang zwischen dem klinischen Verlauf und dem Nachweis von IgA / IgM Anti-NMDA-Rezeptor-Antikörpern besteht. Bei vielen Patienten mit einer anti-NMDA-Rezeptor-Enzephalitis lassen sich diese Isotypen neben dem krankheitsdefinierenden IgG-Isotyp nachweisen.

Gleichzeitig wurden in mehreren großen, unabhängigen Kohorten meist im Serum positive Testergebnisse für IgA und IgM NMDA-Rezeptor-Antikörper mit hohen Prävalenzraten (IgA/M:10-25% Vorkommen; IgG: <1% Vorkommen), bei psychiatrischen Erkrankungen jedoch auch bei gesunden Patienten und Blutspendern, beobachtet (Dahm et al., 2014; Prüss et al., 2010). In der Tat haben einzelne psychiatrische Zentren eine Bedeutung des Nachweises dieser IgA oder IgM NMDA-Rezeptor-Antikörper bei psychiatrischen Erkrankungen postuliert (Lennox et al., 2017; Castillo-Gomez 2016; Dahm et al., 2014). In vitro sind die spezifischen Effekte des IgG NMDA-Rezeptor-Antikörpers auf sein Zielantigen allgemein akzeptiert und bestehen in einer vermehrten Internalisierung (Hughes et al., 2010; Mikasova et al., 2012). Auch im Tiermodell konnten diese Effekte nachgewiesen werden (Planagumà et al., 2015; Lennox et al., 2017).

Der Effekt von IgA und IgM NMDA-Rezeptor-Antikörpern hingegen ist umstritten. Während einzelne Gruppen Effekte auf die NMDA-Rezeptordichte auch in vitro nachweisen konnten (Prüss et al., 2010), fanden andere Gruppen keinen pathogenen Effekt in vitro auf die Rezeptordichte (Hara et al., 2018).

Zusätzlich muss auch berücksichtigt werden, dass die Testung auf anti-NMDA-Rezeptor-Antikörper insbesondere im Serum methodisch fehleranfällig ist. Die meist verwendeten mit

GluN1 und GluN2b transfizierten und fixierten HEK293 Zellen können insbesondere im niedrig-titrigen Bereich (im Serum bis 1:40) falsch positiv sein. Dies kann zwar mit einer Darstellung eines speziellen Färbemusters mittels speziell fixierten Rattenhirn-Immunhistochemien verifiziert werden (Hara et al., 2018), jedoch ist dieser Test nicht routinemäßig verfügbar und wird daher wissenschaftlich oft nicht verwendet. Allerdings zeigt eine Vorpublikation (Gresa-Arribas et al., 2014), dass die üblicherweise verwendeten zellbasierten Testsysteme mit Liquor eine sehr hohe Spezifität und Sensitivität haben und die Schwierigkeiten in der Auswertung daher meist nur bei isolierter Serumtestung auftreten.

#### **4.4 Schlussfolgerungen**

Unter Berücksichtigung dieser wissenschaftlichen Diskussion hatte diese Arbeit als Untersuchungsziel, ob und ggf. welche klinische Bedeutung der Nachweis von IgA/M NMDA-Rezeptor-Antikörpern speziell im Liquor in einer repräsentativ großen Kohorte hat. Es konnte dargelegt werden, dass die stärkste Assoziation mit der Erkrankungsschwere, Lumbalpunktion im frühen Krankheitsverlauf und insbesondere der Titerhöhe der intrathekalen IgG NMDA-Rezeptor-Antikörper, besteht. Haben Patienten hohe oder sehr hohe IgG anti-NMDA-Rezeptor-Antikörpertiter im Liquor (>1:100), verfügen sie meist auch über IgA und IgM anti-NMDA-Rezeptor-Antikörper in Coexistenz und seltener auch nur über IgA oder nur IgM anti-NMDA-Rezeptor-Antikörper im Liquor. Im weiteren Verlauf sinken die IgG anti-NMDA-Rezeptor-Antikörpertiter im Liquor, aber auch die IgA und IgM NMDA-Rezeptor-Antikörpertiter im gleichen Medium, während sie im Serum oft persistieren. In der vorliegenden Kohorte war es nicht möglich zu bestimmen, ob neben der frühen Lumbalpunktion auch die Behandlungseinleitung und die Krankheitsschwere teilweise unabhängige Assoziationen mit dem IgA/M anti-NMDA-Rezeptor-Antikörpernachweis im Liquor darstellen. Da die Erkrankung meist monophasisch verläuft, sind diese Faktoren nicht unabhängig zu betrachten: Je früher lumbalpunktiert wird, desto ausgeprägter ist die Symptomatik und desto höher ist die Wahrscheinlichkeit unbehandelt zum Punktionszeitpunkt zu sein. Insbesondere konnte keine robuste Assoziation zwischen dem Nachweis von IgA oder IgM NMDA-Rezeptor-Antikörpern mit dem Krankheitsverlauf, der Rezidivwahrscheinlichkeit, Liquorparametern (Ausmaß der Entzündung), MRT-Parametern oder klinischen Parametern verifiziert werden.

Insgesamt scheint damit zwar der Nachweis von IgA oder IgM NMDA-Rezeptor-Antikörpern mit der Krankheitsaktivität zu korrelieren, jedoch ist der Titer der IgG NMDA-Rezeptor-

Antikörper vermutlich der bessere Parameter für intraindividuelle Verläufe. Passend dazu konnte bei den Patienten mit klinisch dokumentierten Rückfällen in der untersuchten Kohorte bei einzelnen Patienten beobachtet werden, dass neben einem Anstieg der IgG NMDA-Rezeptor-Antikörper auch ein erneuter, sekundärer Anstieg der IgA/M Isotypen auftrat. Allerdings war der IgG Titeranstieg deutlicher und bei mehr Patienten in der Rezidiv-Kohorte nachweisbar.

Damit besteht insgesamt keine Rationale für die Bestimmung von IgA oder IgM NMDA-Rezeptor-Antikörpern in der klinischen Routine außerhalb von wissenschaftlichen Studien.

Die Ergebnisse dieser Arbeit erweitern und bestätigen die Resultate einer erst kürzlich publizierten, methodisch, bezüglich der Antikörpertestung, umfassenderen Studie aus Barcelona. Auch hier zeigten sich ähnliche Häufigkeiten von IgA/M NMDA-Rezeptor-Antikörpern bei Patienten mit einer IgG-definierten anti-NMDA-Rezeptor-Enzephalitis (Hara et al., 2018). Die klinischen Assoziationen der IgA/M Antikörperbefunde standen bei der spanischen Arbeit jedoch deutlich weniger im Fokus, sodass diese Arbeit eine Ergänzung darstellt.

#### **4.5 Kritik**

Diese Studie hat einige Limitationen. Da es sich um eine retrospektive multizentrische Studie handelt, fehlen bei vielen Parametern, insbesondere bei der Liquordiagnostik und bei den Antikörpernachweisen, Daten. Weiterhin liegt ein systemimmanenter Fehler bei diesen retrospektiven Daten darin, dass Patienten mit positiven Verläufen häufiger nicht systematisch untersucht und nachverfolgt wurden. Auch die Anzahl von Liquoruntersuchungen ist vermutlich kleiner als bei schwerer betroffenen Patienten. Dieser Umstand sollte dadurch ausgeglichen werden, dass die Auswertung möglichst auf einer „patientenbezogenen“ Basis und nicht bezogen auf die Liquoruntersuchungen durchgeführt wurde. Die Patienten sind auch nicht systematisch verlaufsbeobachtet worden, sodass keine fixierten Zeitpunkte für die Auswertung zur Verfügung standen.

Die hier untersuchten Antikörper-Testungen sind ausschließlich mit dem kommerziell verfügbaren zellbasierten Testkit durchgeführt und nicht mit einem gewebebasierten Testsystem überprüft worden (Hara et al., 2018). Zur Gewährleistung einer bestmöglichen Vergleichbarkeit der retrospektiv aus den Befunden dokumentierten Antikörpertiter mit den nachträglich durchgeführten Antikörpertestungen wurde die Testung in dem gleichen Labor

durchgeführt. Dieses entspricht dem Vorgehen der meisten veröffentlichten retrospektiven Analysen. Nur so können die Antikörpertiter verglichen werden. Eine der Konsequenzen ist, dass die Liquortestung aus methodischer Sicht in dieser Studie die bessere Spezifität hat. Daher wurde in vielen Fällen die Liquortestung fokussiert und die Serumbefunde weniger umfassend dargestellt.

#### **4.6 Ausblick**

Um noch verbleibende Restunsicherheiten bezüglich der Bedeutung der IgA/M NMDA-Rezeptor-Antikörpern zu beseitigen, sollten diese Antikörper in einem prospektiven, formalisierten Testansatz – optimalerweise in einer verblindeten Studie - parallel zu weiteren Biomarkern der Krankheitsaktivität bei der anti-NMDA-Rezeptor-Enzephalitis untersucht werden. Mittlerweile sind jedoch andere Marker mehr in den Fokus gerückt, beispielsweise Cytokine (Leypoldt et al., 2014) oder Neurofilament light (NFL) (Körtvelyessy et al., 2018). Ähnliches gilt auch für die Untersuchung von nicht IgG Autoantikörpern bei anderen Antikörper-assoziierten Erkrankungen, beispielsweise der MOG-assoziierten demyelinisierenden Erkrankung des ZNS oder der LGI1 oder CASPR2-Antikörper assoziierten autoimmunen Enzephalitis.

## 5 Zusammenfassung

**Hintergrund:** Die N-Methyl-D-Aspartat-(NMDA)-Rezeptor-Enzephalitis ist die häufigste autoimmune, antikörperassoziierte Enzephalitis. Sie kann in jedem Alter auftreten, betrifft jedoch bevorzugt Kinder und junge Erwachsene und lässt sich mittels Immuntherapie oft gut behandeln (Granerod et al., 2013). Der Krankheitsbeginn äußert sich durch Verhaltensauffälligkeiten, epileptische Anfälle oder Bewegungsstörungen. Im Krankheitsverlauf treten dann autonome Störungen und Bewusstseinsminderungen hinzu. Die Erkrankung verläuft in der Regel monophasisch, in 5-15% der Fälle kann es zu Rückfällen kommen. Bei Frauen zwischen 12 und 45 Lebensjahren liegt in internationalen Fallserien in 40-50% der Fälle ein Teratom zugrunde (Dalmau et al., 2011; Titulaer et al., 2013). Bei der anti-NMDA-Rezeptor-Enzephalitis lassen sich funktionell antagonistisch wirkende IgG Antikörper gegen den NMDA-Rezeptor im Liquor (und meist auch im Serum) nachweisen (Graus et al., 2016). Häufig werden jedoch zusätzlich IgM und IgA NMDA-Rezeptor-Antikörper nachgewiesen. Die klinische Bedeutung dieser Beobachtung ist unklar.

**Ziele:** Ziele dieser Studie sind die Beschreibung deutscher Patienten mit anti-NMDA-Rezeptor-Enzephalitis und der Bedeutung von IgA/M NMDA-Rezeptor-Antikörpern.

**Fragestellungen:** (1) Wie unterscheidet sich die deutsche Kohorte von publizierten internationalen Kohorten? (2) Korreliert der Nachweis von IgM/A NMDA-Rezeptor-Antikörpern mit dem Verlauf der Erkrankung, Tumornachweis oder weiteren Faktoren?

**Methoden:** Es erfolgte eine retrospektive Identifikation von Patienten im deutschlandweiten GENERATE-Netzwerk mit Nachweis von NMDA-Rezeptor-Antikörpern, erfasst zwischen 01.03.2015 und 31.12.2015. Eingeschlossen wurden Patienten, welche die Diagnosekriterien einer anti-NMDA-Rezeptor-Enzephalitis erfüllten (Graus et al., 2016). Es wurden demographische, klinische und liquoranalytische Daten, Verlaufsdauer und -parameter sowie IgG, IgA und IgM NMDA-Rezeptor-Antikörpertiter erfasst und statistisch ausgewertet. Bei Fällen ohne bekannten IgA/M Antikörperstatus wurde dieser im Serum und Liquor mittels kommerziellem Antikörper-Assay (Labor Prof. Stöcker, Lübeck) nachbestimmt.

**Ergebnisse:** Von 292 Patienten im GENERATE-Netzwerk wurden bei 112 Patienten (38%) NMDA-Rezeptor-Antikörper im Serum oder im Liquor nachgewiesen, 100/112 (89%) der Patienten erfüllten die Diagnosekriterien einer anti-NMDA-Rezeptor-Enzephalitis (Graus et al., 2016). Diese waren im Mittel 28,8 Jahre alt (n=97; SD 13,4) und zu 75% weiblich. Tumore wurden bei 22% (21/96) aller Patienten nachgewiesen, bei Frauen zwischen zwölf und 45

Lebensjahren fanden sich in 25% der Fälle Ovarialteratome (16/64). Nahezu alle Patienten erhielten einen Methylprednisolon-Steroidstoß (96%; [95/98]). Jeweils die Hälfte der Patienten bekam zusätzlich iv-Immunglobuline (50%; [48/97]) und/oder Plasmaaustauschverfahren (60%; [58/97]). Ebenfalls die Hälfte der Patienten wurde zusätzlich mit Rituximab und/oder Cyclophosphamid behandelt (sog. Second-Line Therapie; 46%; [45/99]). Vierundvierzig Prozent (44/99) der Patienten benötigten eine Behandlung auf der Intensivstation. Bei der letzten Verlaufsuntersuchung (Median 22 Monate nach Erkrankungsbeginn; IQR 9-44) hatten 50% der Patienten keine oder nicht einschränkende Restsymptome (medianer modifizierter Rankin-Skalen-Wert 1; n=95; IQR 0-2). Im weiteren Verlauf erlitten 26% (23/90) der Patienten ein Rezidiv.

Bei 50% (44/89) der Patienten wurden neben dem IgG anti-NMDA-Rezeptor-Antikörper auch IgA oder IgM anti-NMDA-Rezeptor-Antikörper im Serum oder Liquor (nur im Serum [7/76], nur im Liquor [21/76], Serum und Liquor [14/76]) nachgewiesen. Meist fanden sich IgA und IgM Antikörper (61,1%) gemeinsam. Der Nachweis von IgA/M Antikörpern im Liquor korreliert stark mit der Intensivpflichtigkeit der Patienten (Odds Ratio 10,85; [95% CI 2,5-47,01]; p=0,001) und mit der Höhe des IgG NMDA-Rezeptor-Antikörpertiters (IgA vs. IgG NMDA-Rezeptor Antikörpertiter;  $R^2=0,32$ ). Auch zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem IgG (p=0,008) aber auch IgA (p=0,003) oder IgM-Nachweis (p=0,003) im Liquor und der Erkrankungsschwere. Allerdings fand sich keine signifikante Korrelation zwischen ihrem Nachweis und der Prognose der Erkrankung, dem Auftreten von Rückfällen, der Vortherapie oder mit anderen erhobenen Parametern.

**Schlussfolgerungen:** Die anti-NMDA-Rezeptor-Enzephalitis in Deutschland ist seltener paraneoplastisch (22% der Fälle), wird früher behandelt und verläuft gutartiger als in anderen, internationalen Fallserien (Dalmau et al., 2011; Titulaer et al., 2013). Bei der Hälfte aller Patienten in Deutschland wird eine Eskalationstherapie mit Rituximab/Cyclophosphamid durchgeführt. Insgesamt scheint der Nachweis von IgA oder IgM NMDA-Rezeptor-Antikörpern mit der „Krankheitsaktivität“ bzw. Krankheitsschwere zu korrelieren. Allerdings korrelieren der IgA/M Titer in Liquor und Serum eng mit dem prognostisch bereits beschriebenen IgG NMDA-Rezeptor-Antikörpertiter im Liquor und weniger auch im Serum. Daher scheinen IgA/M NMDA-Rezeptor-Antikörper kein unabhängiger Prädiktor für Prognose, Rezidive oder Tumorassoziation zu sein. Damit besteht insgesamt keine Rationale für die Bestimmung von IgA oder IgM NMDA-Rezeptor-Antikörpern in der klinischen Routine außerhalb von wissenschaftlichen Studien.

## 6 Literaturverzeichnis

- Dahm, L., Ott, C., Steiner, J., Stepniak, B., Teegen, B., Saschenbrecker, S., Hammer, C., Borowski, K., Begemann, M., Lemke, S., Rentzsch, K., Probst, C., Martens, H., Wienands, J., Spalletta, G., Weissenborn, K., Stöcker, W., Ehrenreich, H., 2014. Seroprevalence of autoantibodies against brain antigens in health and disease: Brain-Targeting Autoantibodies. *Annals of Neurology* 76, 82–94. <https://doi.org/10.1002/ana.24189>
- Dalmau, J., Gleichman, A.J., Hughes, E.G., Rossi, J.E., Peng, X., Lai, M., Dessain, S.K., Rosenfeld, M.R., Balice-Gordon, R., Lynch, D.R., 2008. Anti-NMDA-receptor encephalitis: case series and analysis of the effects of antibodies. *Lancet Neurol* 7, 1091–1098. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(08\)70224-2](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(08)70224-2)
- Finke, C., Kopp, U.A., Pajkert, A., Behrens, J.R., Leyboldt, F., Wuerfel, J.T., Ploner, C.J., Prüss, H., Paul, F., 2015. Structural Hippocampal Damage Following Anti-N-Methyl-D-Aspartate Receptor Encephalitis. *Biol. Psychiatry*. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2015.02.024>
- Foff, E.P., Taplinger, D., Suski, J., Lopes, M.B.S., Quigg, M., 2016. EEG Findings May Serve as a Potential Biomarker for Anti-NMDA Receptor Encephalitis. *Clin EEG Neurosci*. <https://doi.org/10.1177/1550059416642660>
- Gable, M.S., Sheriff, H., Dalmau, J., Tilley, D.H., Glaser, C.A., 2012. The Frequency of Autoimmune N-Methyl-D-Aspartate Receptor Encephalitis Surpasses That of Individual Viral Etiologies in Young Individuals Enrolled in the California Encephalitis Project. *Clin Infect Dis*. 54, 899–904. <https://doi.org/10.1093/cid/cir1038>
- Gövert, F., Witt, K., Erro, R., Hellriegel, H., Paschen, S., Martinez-Hernandez, E., Wandinger, K.-P., Deuschl, G., Dalmau, J., Leyboldt, F., 2016. Orthostatic myoclonus associated with Caspr2 antibodies. *Neurology* 86, 1353–1355. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000002547>
- Granerod, J., Ambrose, H.E., Davies, N.W., Clewley, J.P., Walsh, A.L., Morgan, D., Cunningham, R., Zuckerman, M., Mutton, K.J., Solomon, T., Ward, K.N., Lunn, M.P., Irani, S.R., Vincent, A., Brown, D.W., Crowcroft, N.S., 2010. Causes of encephalitis and differences in their clinical presentations in England: a multicentre, population-based prospective study. *The Lancet Infectious Diseases* 10, 835–844. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(10\)70222-X](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(10)70222-X)
- Granerod, J., Cousens, S., Davies, N.W.S., Crowcroft, N.S., Thomas, S.L., 2013. New Estimates of Incidence of Encephalitis in England. *Emerg Infect Dis* 19, 1455–1462. <https://doi.org/10.3201/eid1909.130064>
- Graus, F., Titulaer, M.J., Balu, R., Benseler, S., Bien, C.G., Cellucci, T., Cortese, I., Dale, R.C., Gelfand, J.M., Geschwind, M., Glaser, C.A., Honnorat, J., Höftberger, R., Iizuka, T., Irani, S.R., Lancaster, E., Leyboldt, F., Prüss, H., Rae-Grant, A., Reindl, M., Rosenfeld, M.R., Rostásy, K., Saiz, A., Venkatesan, A., Vincent, A., Wandinger, K.-P., Waters, P., Dalmau, J., 2016. A clinical approach to diagnosis of autoimmune encephalitis. *The Lancet Neurology* 15, 391–404. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(15\)00401-9](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(15)00401-9)

- Gresa-Arribas, N., Titulaer, M.J., Torrents, A., Aguilar, E., McCracken, L., Leypoldt, F., Gleichman, A.J., Balice-Gordon, R., Rosenfeld, M.R., Lynch, D., Graus, F., Dalmau, J., 2014a. Antibody titres at diagnosis and during follow-up of anti-NMDA receptor encephalitis: a retrospective study. *Lancet Neurol* 13, 167–177. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(13\)70282-5](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(13)70282-5)
- Gresa-Arribas, N., Titulaer, M.J., Torrents, A., Aguilar, E., McCracken, L., Leypoldt, F., Gleichman, A.J., Balice-Gordon, R., Rosenfeld, M.R., Lynch, D., Graus, F., Dalmau, J., 2014b. Diagnosis and significance of antibody titers in anti-NMDA receptor encephalitis, a retrospective study. *Lancet Neurol* 13, 167–177.
- M., Martinez-Hernandez, E., Ariño, H., Armangué, T., Spatola, M., Petit-Pedrol, M., Saiz, A., Rosenfeld, M.R., Graus, F., Dalmau, J., 2018. Clinical and pathogenic significance of IgG, IgA, and IgM antibodies against the NMDA receptor. *Neurology* 90, e1386–e1394. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000005329>
- Hughes, E.G., Peng, X., Gleichman, A.J., Lai, M., Zhou, L., Tsou, R., Parsons, T.D., Lynch, D.R., Dalmau, J., Balice-Gordon, R.J., 2010. Cellular and synaptic mechanisms of anti-NMDA receptor encephalitis. *J Neurosci* 30, 5866–5875. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0167-10.2010>
- Irani, S.R., Bera, K., Waters, P., Zuliani, L., Maxwell, S., Zandi, M.S., Friese, M.A., Galea, I., Kullmann, D.M., Beeson, D., Lang, B., Bien, C.G., Vincent, A., 2010. N-methyl-d-aspartate antibody encephalitis: temporal progression of clinical and paraclinical observations in a predominantly non-paraneoplastic disorder of both sexes. *Brain* 133, 1655–1667. <https://doi.org/10.1093/brain/awq113>
- Ishiura, H., Matsuda, S., Higashihara, M., Hasegawa, M., Hida, A., Hanajima, R., Yamamoto, T., Shimizu, J., Dalmau, J., Tsuji, S., 2008. Response of anti-NMDA receptor encephalitis without tumor to immunotherapy including rituximab. *Neurology* 71, 1921–1923. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000336648.43562.59>
- Körtvelyessy, P., Prüss, H., Thurner, L., Maetzler, W., Vittore-Welliong, D., Schultze-Amberger, J., Heinze, H.-J., Reinhold, D., Leypoldt, F., Schreiber, S., Bittner, D., 2018. Biomarkers of Neurodegeneration in Autoimmune-Mediated Encephalitis. *Frontiers in Neurology* 9. <https://doi.org/10.3389/fneur.2018.00668>
- Lancaster, E., Martinez-Hernandez, E., Dalmau, J., 2011. Encephalitis and antibodies to synaptic and neuronal cell surface proteins. *Neurology* 77, 179–189. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e318224afde>
- Lennox, B.R., Palmer-Cooper, E.C., Pollak, T., Hainsworth, J., Marks, J., Jacobson, L., Lang, B., Fox, H., Ferry, B., Scoriels, L., Crowley, H., Jones, P.B., Harrison, P.J., Vincent, A., 2017. Prevalence and clinical characteristics of serum neuronal cell surface antibodies in first-episode psychosis: a case-control study. *The Lancet Psychiatry* 4, 42–48. [https://doi.org/10.1016/S2215-0366\(16\)30375-3](https://doi.org/10.1016/S2215-0366(16)30375-3)
- Leypoldt, F., Armangué, T., Dalmau, J., 2015a. Autoimmune encephalopathies. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1338, 94–114. <https://doi.org/10.1111/nyas.12553>

- Leyboldt, F., Armangue, T., Dalmau, J., 2015b. Autoimmune encephalopathies: Autoimmune encephalopathies. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1338, 94–114. <https://doi.org/10.1111/nyas.12553>
- Leyboldt, F., Höftberger, R., Titulaer, M.J., Armangue, T., Gresa-Arribas, N., Jahn, H., Rostásy, K., Schlumberger, W., Meyer, T., Wandinger, K.-P., Rosenfeld, M.R., Graus, F., Dalmau, J., 2015c. Investigations on CXCL13 in anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis: a potential biomarker of treatment response. *JAMA Neurol* 72, 180–186. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2014.2956>
- Mikasova, L., De Rossi, P., Bouchet, D., Georges, F., Rogemond, V., Didelot, A., Meissirel, C., Honnorat, J., Groc, L., 2012. Disrupted surface cross-talk between NMDA and Ephrin-B2 receptors in anti-NMDA encephalitis. *Brain* 135, 1606–1621. <https://doi.org/10.1093/brain/aws092>
- Moscato, E.H., Jain, A., Peng, X., Hughes, E.G., Dalmau, J., Balice-Gordon, R.J., 2010. Mechanisms underlying autoimmune synaptic encephalitis leading to disorders of memory, behavior and cognition: insights from molecular, cellular and synaptic studies. *Eur J Neurosci* 32, 298–309. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2010.07349.x>
- Oliveira, B., 2018. Genetic and autoimmune modulators of brain function in neuropsychiatric illness and health (PhD Thesis). Clinical neuroscience, Max Planck Institute of Experimental Medicine
- Planagumà, J., Leyboldt, F., Mannara, F., Gutiérrez-Cuesta, J., Martín-García, E., Aguilar, E., Titulaer, M.J., Petit-Pedrol, M., Jain, A., Balice-Gordon, R., Lakadamyali, M., Graus, F., Maldonado, R., Dalmau, J., 2015. Human N-methyl D-aspartate receptor antibodies alter memory and behaviour in mice. *Brain* 138, 94–109. <https://doi.org/10.1093/brain/awu310>
- Prüss, H., Dalmau, J., Arolt, V., Wandinger, K.-P., 2010. [Anti-NMDA-receptor encephalitis. An interdisciplinary clinical picture]. *Nervenarzt* 81, 396, 398, 400, passim. <https://doi.org/10.1007/s00115-009-2908-9>
- Tabata, E., Masuda, M., Eriguchi, M., Yokoyama, M., Takahashi, Y., Tanaka, K., Yukitake, M., Horikawa, E., Hara, H., 2014. Immunopathological significance of ovarian teratoma in patients with anti-N-methyl-d-aspartate receptor encephalitis. *Eur. Neurol.* 71, 42–48. <https://doi.org/10.1159/000353982>
- Titulaer, M.J., McCracken, L., Gabilondo, I., Armangué, T., Glaser, C., Iizuka, T., Honig, L.S., Benseler, S.M., Kawachi, I., Martinez-Hernandez, E., Aguilar, E., Gresa-Arribas, N., Ryan-Flourance, N., Torrents, A., Saiz, A., Rosenfeld, M.R., Balice-Gordon, R., Graus, F., Dalmau, J., 2013. Treatment and prognostic factors for long-term outcome in patients with anti-NMDA receptor encephalitis: an observational cohort study. *The Lancet Neurology* 12, 157–165. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(12\)70310-1](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(12)70310-1)
- Vitaliani, R., Mason, W., Ances, B., Zwerdling, T., Jiang, Z., Dalmau, J., 2005. Paraneoplastic encephalitis, psychiatric symptoms, and hypoventilation in ovarian teratoma. *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society* 58, 594–604.

Vora, N.M., Holman, R.C., Mehal, J.M., Steiner, C.A., Blanton, J., Sejvar, J., 2014. Burden of encephalitis-associated hospitalizations in the United States, 1998–2010. *Neurology* 82, 443–451. <https://doi.org/10.1212/WNL.000000000000086>

## 7 Anhang

### Abkürzungsverzeichnis

ADEM	Akute disseminierte Enzephalomyelitis
AK	Antikörper
CD	Cluster of differentiation (Oberflächenmerkmal eines Antikörpers)
EEG	Elektroenzephalogramm
ETP	Epilepsietypisches Potential
Glu-1	Glutamat-1-Untereinheit an einem Rezeptor
GluN1	N1-Untereinheit des Glutamatrezeptors
GluN2b	N2b-Untereinheit des Glutamatrezeptors
HEK-Zellen	Human Embryonic Kidney Zellen
Ig	Immunglobulin
IQR	Interquartil Range
Iv	Intravenös
mRS	Modified Rankin Scale
MRT	Magnetresonanztomographie
NFL	Neurofilament light
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
NMDA-R-E	N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptorenzephalitis
OKB	Oligoklonale Banden
SD	Standardabweichung
VGKC	Voltage-gated potassium (Kalium) channel
Vs	Versus

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1	Klassifikation und Kausalität einzelner Enzephalitis-Subformen in Südwestengland zwischen 2005 und 2008 nach Granerod et al., 2010.
Abbildung 2	Reaktion von Patientenantikörpern mit Hippocampus und Vorderhirn und Kolo-kalisation mit der NR2B-Untereinheit des N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptors (NMDAR). übernommen aus Dalmau et al., 2007
Abbildung 3	Schematische Darstellung des stadienhaften Krankheitsverlaufes der anti-NMDA-Rezeptor-Enzephalitis basierend auf Dalmau et al., 2011.
Abbildung 4	Schematische Darstellung der anti-NMDA-Rezeptor-Antikörper an der GLuN1-Untereinheit des NMDA-Rezeptors. Modifiziert nach Gleichman et al. 2012.
Abbildung 5	Bindungsstelle der anti-NMDA-Rezeptor-Antikörpers vom IgG Typ an der Synapse in Anlehnung an Leypoldt et al. 2014.
Abbildung 6	Initialsymptome bei verschiedenen Altersgruppen. Dargestellt sind die Initialsymptome bei Kindern und Jugendlichen (unten) sowie bei Erwachsenen (oben) in Prozent. Der Bereich „kombiniert“ umfasst unterschiedlichste Kombinationen der Initialsymptome.
Abbildung 7	Tumorhäufigkeit abhängig vom Erkrankungsalter
Abbildung 8	mRS Score zu verschiedenen Untersuchungszeitpunkten
Abbildung 9	Schnittmengendiagramm zur IgA- und IgM Anti-NMDA-Rezeptorantikörperdiagnostik im Liquor und Serum
Abbildung 10	Liquorzellzahl bzw. anti-NMDA-Rezeptor-Antikörpertiter im Liquor für IgG, IgA und IgM Isotypen aufgetragen über die Zeit seit Beginn der Symptomatik in Tagen.
Abbildung 11	Individuelle Anti-NMDA-Rezeptor-Antikörpertiter im Liquor für IgA und IgM
Abbildung 12	Lineare Korrelation der anti-NMDA-Rezeptor-Antikörpertiter IgA oder IgM im Liquor mit dem IgG NMDA-Rezeptor-Antikörpertiter im Liquor.

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1	Diagnosekriterien der anti-NMDA-Rezeptor-Enzephalitis nach Graus et al., Lancet Neurology 2016
Tabelle 2	Auflistung der aktiv einschließenden GENERATE-Zentren für die untersuchte Patientenkohorte
Tabelle 3	Bedeutung des mRS-Scores in Hinblick auf die Lebensbeeinträchtigung
Tabelle 4	Auflistung der nacherhobenen Parameter außerhalb des GENERATE-Standards
Tabelle 5	Parameter für die deskriptive statistische Analyse
Tabelle 6	Statistische Verwendung/Zuordnung der untersuchten Parameter
Tabelle 7	Überblick der demographischen und klinischen Parameter der untersuchten Kohorte.
Tabelle 8	Binäre, univariate logistische Regressionsanalyse mit dem Nachweis von IgA/M NMDA Rezeptor Antikörper im Liquor oder im Serum und klinischen Parametern zum Erkrankungsbeginn.
Tabelle 9	Binäre, univariate logistische Regressionsanalyse der Prognose mit klinischen Parametern und dem IgA/M Nachweis im Liquor oder im Serum und klinischen Parametern
Tabelle 10	Binäre, univariate logistische Regressionsanalyse der Rezidivwahrscheinlichkeit mit klinischen Parametern und dem IgA/M Nachweis im Liquor oder im Serum und klinischen Parametern.

# Übersicht über Datenerhebung innerhalb des GENERATE Registers

## A – Behandelnder Arzt

1. Name des ärztlichen Ansprechpartners : Freitext
2. Email des behandelnden Arztes : Freitext
3. Datum des Erstkontaktes : Numerische Angabe  
Prospektiver Patient (Einschluss innerhalb von 3 Monaten seit Symptombeginn oder retrospektiver  
Einschluss : prospektiv, retrospektiv)

## B – Demographie

1. Geschlecht : Männlich oder weiblich
2. Alter in Jahren bei Erstkontakt : xx Jahre und xx Monate
3. Herkunft : Nordeuropäisch, südeuropäisch/türkisch, afrikanisch, indisch, asiatisch, russisch, latinoamerikanisch, nordamerikanisch, andere : mit Freitext.
4. Begleiterkrankungen inkl. Diagnosezeitpunkt : Freitext

## C – Symptome

1. Prodromale Symptome : Ja, Nein, Unbekannt  
Wenn Ja : Beginn der prodromalen Symptome (Tage vor Beginn der  
neurologischen Symptomatik : Angabe in Tagen)  
Art der prodromalen Symptome : Freitext
2. Klinisches Syndrom :  
Enzephalomyelitis, Enzephalitis (generalisiert ohne klaren Schwerpunkt), Limbische Enzephalitis  
(Anfälle, Amnesie, psychiatrische Symptome, fakultativ autonome Störungen), Zerebellitis,  
Hirnstammenzephalitis, Myelitis, Optikusneuritis/Neuritis anderer Hirnnerven, Enzephalitis mit  
basalganglionärem Schwerpunkt, sonstige fokale Enzephalitiden, Radikulitis/Plexusneuritis, Rasmussen-  
Enzephalitis, Morvan-Syndrom, Stiff-Person-Syndrom, Myasthenia gravis, Lambert-Eaton-Syndrom,  
Anderes (Freitext), Unbekannt.
3. Symptomatik der neurologischen Erkrankung : Freitext
4. Beginn der neurologischen Erkrankung : Datumsangabe
5. Aufnahme datum Krankenhaus : Datumsangabe
6. Bewusstseinsstörung : Ja, Nein, Unbekannt  
Wenn ja: Weitere Beschreibung der Bewusstseinsstörung : Freitext
7. Gedächtnisstörung: Ja, Nein, Unbekannt  
Wenn Ja: Weitere Beschreibung der Gedächtnisstörung : Freitext
8. Weitere Störungen höherer kognitiver Funktionen, z.B. Exekutive, Aufmerksamkeit, Konzentration,  
Apraxie, etc.  
Wenn Ja : Weitere Beschreibung der Störung höherer kognitiver Funktionen :  
Freitext.
9. Bewegungsstörungen : Ja, Nein, Unbekannt  
Wenn Ja: Weitere Beschreibung Bewegungsstörungen : Freitext
10. Autonome Störungen : Ja, Nein, Unbekannt  
Wenn Ja : Weitere Beschreibung Bewegungsstörungen
11. Intensivmedizinische Behandlungspflichtigkeit : Ja, Nein, Unbekannt  
Wenn Ja : Weitere Beschreibung Intensivmedizin : Freitext  
Beatmungspflichtigkeit: Ja, Nein  
Wenn Ja: Weitere Beschreibung Beatmungspflichtigkeit : Freitext
12. Epileptische Anfälle : Ja, Nein, Unbekannt  
Wenn ja : Tonisch-klonisch, Absencen, Myoklonisch, Klonisch, Tonisch, Atonisch, Fokale Anfälle –  
motorisch – ohne Einschränkungen des Bewusstseins oder der Aufmerksamkeit, Fokale Anfälle –  
sensibel – ohne Einschränkungen des Bewusstseins oder der Aufmerksamkeit, Fokale Anfälle mit  
Einschränkungen des Bewusstseins oder der Aufmerksamkeit, Fokaler Anfall mit Entwicklung eines  
sekundär generalisierten tonisch-klonischen Anfalles, Serie tonisch-klonischer Anfälle, Status  
epilepticus, Epilepsia partialis continua, Unbekannt
13. Weitere Beschreibung epileptischer Anfälle : Freitext
14. Status epilepticus : Ja, Nein, Unbekannt  
Wenn Ja : Weitere Beschreibung Status epilepticus : Freitext
15. Paresen : Ja, Nein, Unbekannt

- Wenn Ja : Weitere Beschreibung Paresen : Freitext
16. Cerebelläres Syndrom/Ataxie : Ja, Nein, Unbekannt  
 Wenn ja: Weitere Beschreibung cerebellärer Syndrome, z.B. Gangataxie, cerebelläre Dysarthrie, Nystagmus : Freitext
17. Hirnstammsymptome, z.B. Vertigo, Dysarthrie, Okulomotorikstörungen etc. : Ja, Nein, Unbekannt  
 Wenn Ja : Weitere Beschreibung Hirnstammsymptome : Freitext
18. Sensible Störungen : Ja, Nein, Unbekannt  
 Wenn ja : Weitere Beschreibung sensible Defizite
19. Schlafstörungen/Störung der circadianen Rhythmik : Ja, Nein, Unbekannt  
 Wenn ja : Weitere Beschreibung Schlafstörungen/Störung der circadianen Rhythmik : Freitext
20. MRS im Erkrankungsmaximum : 0 – Kein Symptome, 1 – Keine relevanten Beeinträchtigung, 2 – leichte Beeinträchtigung, 3 – Mittelschwere Beeinträchtigung, 4 – Höhergradige Beeinträchtigung, 5 – Schwere Behinderung, 6 – Tod

## D – Befunde

1. Liquoruntersuchung durchgeführt : Ja, Nein, Unbekannt  
 Wenn ja: Datum : Datumsangabe der Untersuchung  
 Pathologischer Befund : Ja, Nein, Unbekannt  
 Zellzahl : Numerische Angabe (in Zellen/ $\mu$ ml)  
 Gesamteiweiß : Numerische Angabe (in mg/l)  
 Oligoklonale Banden : isolierte OKB (oligoklonale Banden) Liquor  
 Identische OKB Liquor/Serum, keine OKB, Unbekannt
2. Q (Quotient) alb („“ Als Dezimaltrennzeichen) : Numerische Angabe ( $\times 10^{-3}$ )
3. Q IgG („“ Als Dezimaltrennzeichen) : Numerische Angabe ( $\times 10^{-3}$ )
4. Q IgA („“ Als Dezimaltrennzeichen) : Numerische Angabe ( $\times 10^{-3}$ )
5. Q IgM („“ Als Dezimaltrennzeichen) : Numerische Angabe ( $\times 10^{-3}$ )
6. Glucose : Numerische Angabe (mg/dl)
7. Laktat : Numerische Angabe (mmol/l)
8. Weitere Relevante Liquorbefunde : Freitext
9. MRT durchgeführt : Ja, Nein, Unbekannt  
 Wenn ja : MRT pathologisch : Ja, Nein, Unbekannt  
 Wenn ja : Befund, Befunde und Zeit seit Symptombeginn : Freitext
10. EEG durchgeführt : Ja, Nein, Unbekannt  
 Wenn ja : EEG pathologisch : Ja, Nein, Unbekannt  
 Wenn ja: EEG Freitext : Freitext
11. Neuropsychologische Untersuchung durchgeführt : Ja, Nein, Unbekannt  
 Wenn ja : Ergebnis neuropsychologische Untersuchung : Freitext
12. Tumorsuche durchgeführt : Ja, Nein, Unbekannt  
 Wenn ja : Tumor nachgewiesen ? : Ja, Nein, Unbekannt  
 Wenn ja : Tumorsuche Freitext, Technik/Befunde : Freitext
13. Andere Autoimmunerkrankungen : Freitext
14. Andere Befunde : Freitext

## E – Autoantikörper

1. Autoantikörper untersucht? : Ja, Nein, Unbekannt  
 Wenn ja : Untersuchtes Material : Serum, Liquor, Unbekannt  
 Autoantikörper nachgewiesen? : Ja, Nein, Unbekannt  
 Wenn ja : NMDAR, LG1, CASPR2, AMPAR, GABA(B), GABA(A),  
 DPPX, GLYR, D2R, mGluR5, Hu (ANNA-1), Yo  
 (PCD-1), CRMP5 (CV2), RI (ANNA-2), Tr (DNER),  
 Amphiphysin, GAD65, Andere
2. Nachweis des Antikörpers im Serum und/oder Liquor : Liquor, Serum, Unbekannt
3. Titer Liquor : Numerische Angabe im Verhältnis ohne Einheit
4. Titer Serum : Numerische Angabe im Verhältnis ohne Einheit
5. Freitext Autoantikörper: Nachweis in Serum od. Liquor, weitere Details : Freitext
6. Welches Labor : Freitext
7. Wann nach Symptombeginn wurde das Material gewonnen? Datum oder Zeit in Tagen/Monaten/Jahren : Freitext

## F – Therapie

1. Immuntherapie begonnen? : Ja, Nein, Unbekannt  
Wenn ja : Methylprednisolon iv (3-5x1000-2000mg) : Ja, Nein, Unbekannt  
Wenn ja : Datum Beginn ivMP : Datumsangabe  
Datum Ende ivMP : Datumsangabe
2. Ansprechen auf ivMP innerhalb von 4 Wochen : Ja, Nein, Nicht beurteilbar wegen Polytherapie, Unbekannt
3. Kommentare zu ivMP (z.B. Wiederholung, Dosissteigerung, Gründe für Absetzen, NW (Nebenwirkungen), Komplikationen etc.) : Freitext
4. IvIG (intravenöse Immunglobuline) (2g/kgKG) gegeben : Ja, Nein, Unbekannt  
Wenn ja : Datum Beginn ivIG Erstgabe : Datumsangabe  
Datum Ende ivIG Erstgabe : Datumsangabe
5. Menge der ivIG Zyklen bisher : Numerische Angabe
6. Abstand der ivIG Zyklen bisher : Numerische Angabe
7. Ansprechen auf ivIG innerhalb von 4 Wochen nach Erstgabe : Ja, Nein, Nicht beurteilbar wegen Polytherapie, Unbekannt.
8. Kommentare zu ivIG (z.B. Wiederholungen, Dosisreduktion, Gründe für die Wahl der Therapie versus Plasmapherese, Gründe fürs Absetzen, NW, Komplikationen, etc. : Freitext
9. Plasmapherese/Immunadsorption erfolgt : Ja, Nein, Unbekannt  
Wenn ja : Verfahren : Plasmapherese, Immunadsorption, Unbekannt  
Beginn Plasmapherese/Immunadsorption : Datumsangabe  
Ende Plasmapherese : Datumsangabe
10. Ansprechen auf Plasmapherese/Immunadsorption innerhalb von 4 Wochen : Ja, Nein, Nicht beurteilbar wegen Polytherapie, Unbekannt.
11. Kommentare zu Plasmapherese/Immunadsorption (z.B. Wiederholungen, Dosisreduktion, Gründe für die Wahl der Therapie versus ivIG, Gründe fürs Absetzen, NW, Komplikationen etc.) : Freitext
12. Cyclophosphamid Stoßtherapie 750-1000mg/m<sup>2</sup> monatlich : Ja, Nein, Unbekannt  
Wenn ja : Beginn Cyclophosphamid Erstgabe : Datumsangabe
13. Menge der bisherigen Cyclophosphamidstöße : Numerische Angabe
14. Ansprechen auf Cyclophosphamid innerhalb von 4 Wochen : Ja, Nein, Nicht beurteilbar wegen Polytherapie, Unbekannt
15. Kommentare zu Cyclophosphamid (z.B. Wiederholungen, Dosisreduktion, Gründe für die Wahl der Therapie, abweichende Dosierung/Intervall, Gründe fürs Absetzen, NW, Komplikationen etc.) : Freitext
16. Rituximab erfolgt? : Ja, Nein, Unbekannt  
Wenn ja : Dosierung : 2x 1000mg q14 Tage, 4x 375mg/m<sup>2</sup> q7 Tage,  
Unbekannt
17. Beginn Rituximab (Erstgabe) : Datumsangabe
18. Ansprechen auf Rituximab innerhalb von 4 Wochen : Ja, Nein, Nicht beurteilbar wegen Polytherapie, Unbekannt
19. Andere Immuntherapie erfolgt? Ja, Nein, Unbekannt  
Wenn ja : Wirkstoff, Dosis, Beginn, Ende, Gründe für Wahl/Absetzen : Freitext
20. Tumorthherapie : Ja, Nein trotz Tumornachweis, kein Tumor, Unbekannt
21. Andere Therapien? Antikonvulsiva Antipsychotika? : Ja, Nein, Unbekannt  
Wenn ja : CBZ (Carbamazepin), OXC (Oxcarbazepin), ESL (Escitalopram),  
VPA (Valproat), PHT (Phenytoin), PB/PRM (Phenobarbital,  
Primidon), GBP (Gabapentin), LTG (Lamotrigin), TPM (Topiramat),  
LEV (Levetiracetam), PGB (Progabid), ZON (Zonisamid), Benzos (  
Benzodiazepine), LCM (Lacosamid), RUF (Rufinamid), TGB  
(Tiagabin), VGB (Vigabatrin), FBM (Felbamat), BR (Bromid)  
(Kalium-), E/MSM (Ethosuximid/Mesuximid), STM (Sultiam),  
bisher keine antikonvulsive Therapie erfolgt, Unbekannt
22. Sonstige : Ja, Nein, Unbekannt  
Wenn ja: Sonstige Antikonvulsiva : Freitext
23. Antipsychotika : Levomepromazin, Promethazin, Haloperidol, Clozapin, Olanzapin,  
Pipamperon, Melperon, Quetiapin, Risperidon, Bisher keine Anti-  
Psychotikatherapie erfolgt, Unbekannt
24. Sonstige : Ja, Nein, Unbekannt  
Wenn ja : Sonstige Antipsychotika : Freitext

## G – Krankenhausentlassung

1. Dauer der Intensivbehandlung bis jetzt : Numerische Angabe
2. Intensivpflichtigkeit fortbestehend? : Ja, Nein, Unbekannt
3. Entlassung aus dem Akutkrankenhaus : Ja, Nein, Unbekannt  
Wenn ja : Entlassdatum : Datumsangabe
4. MRS bei Entlassung : 0 - Keine Symptome, 1 - Keine relevante Beeinträchtigung  
2 - Leichte Beeinträchtigung, 3 – Mittelschwere Beeinträchtigung, 4 – Höhergradige  
Beeinträchtigung, 5 - Schwere Behinderung, 6 – Tod
5. Freitext Verlauf : Freitext

## H – Biomaterial

1. Liquor vorhanden : Ja, Nein, Unbekannt
2. Serum vorhanden : Ja, Nein, Unbekannt
3. Gewebe vorhanden : Ja, Nein, Unbekannt  
Wenn ja : Hirnbiopsie, Hirn-Autopsie, Tumorgewebe, Unbekannt
4. PBMCs (Peripheral Blood Mononuclear Cell) vorhanden ( Ja, Nein, Unbekannt)
5. Liquorzellen vorhanden : Ja, Nein, Unbekannt
6. Wo ist das Material? Für Wissenschaftliche Fragen verfügbar? : Freitext

## Follow-Up

1. Ärztlicher Ansprechpartner : Freitext
2. Emailadresse : Freitext
3. Alter bei Follow-up : Altersangabe in Jahren und Monaten
4. Aktuelle Symptomatik : Freitext
5. Verlauf seit letztem Kontakt : Gebessert, Verschlechtert, Unverändert, Rückfall nach initialer Besserung,  
Unbekannt
6. MRS aktuell : 0 - Keine Symptome, 1 - Keine relevante Beeinträchtigung  
2 - Leichte Beeinträchtigung, 3 - Mittelschwere Beeinträchtigung,  
4 - Höhergradige Beeinträchtigung, 5 - Schwere Behinderung,  
6 - Tod
7. Neuer Liquorbefund : Ja, Nein, Unbekannt  
Wenn ja: Liquorbefunde (Zellzahl, Banden, OKB, Qalb, QIgG, QIgM, QIgA,  
Glucose, Laktat) : Freitext
8. Neuer MRT-Befund : Ja, Nein, Unbekannt  
Wenn ja : MRT Befund und Datum Freitext : Freitext
9. Neues EEG? : Ja, Nein, Unbekannt  
Wenn ja : EEG Freitext : Freitext
10. Neue Tumorsuche : Ja, Nein, Unbekannt  
Wenn ja : Tumorsuche Freitext, Technik/Befunde : Freitext
11. Erneute Antikörperdiagnostik : Ja, Nein, Unbekannt  
Wenn Ja : Antikörper nachgewiesen? : Ja, Nein, Unbekannt  
Wenn ja: NMDAR, LG1, CASPR2, AMPAR, GABA(B), GABA(A),  
DPPX, GLYR, D2R, mGluR5, Hu (ANNA-1), Yo (PCD-1),  
CRMP5 (CV2), RI (ANNA-2), Tr (DNER), Amphiphysin,  
GAD65, Andere
12. Titer CSF : Numerische Angabe  
Titer Serum : Numerische Angabe
13. Autoantikörper Freitext, Datum, Labor : Freitext
14. Neue oder geänderte Immunsuppressive Therapie seit letztem Visit : Ja, Nein, Unbekannt  
Wenn ja: Gründe für neue oder geänderte immunsuppressive Therapie:  
Fehlende Wirksamkeit, Unverträglichkeit, Rückfall/Relapse,  
Andere (siehe Freitext), Unbekannt
15. Andere Gründe für Therapieänderung : Freitext
16. Gabe von Methylprednisolon iv (3-5x 1000mg – 2000mg) seit letztem Visit : Ja, Nein, Unbekannt  
Wenn ja : Beginn Methylprednisolon iv : Datumsangabe  
Ende Methylprednisolon iv : Datumsangabe  
Ansprechen auf Methylprednisolon : Ja, Nein, Nicht beurteilbar  
wegen Polytherapie, Unbekannt

17. Kommentare zu ivMP (z.B. Wiederholung, Dosissteigerung, Gründe für Absetzen, NW (Nebenwirkungen), Komplikationen etc.) : Freitext
18. Gabe von ivIG seit letzten Visit : Ja, Nein, Unbekannt  
Wenn ja : I Beginn ivIG 2g/kgKG :
19. Menge der ivIG Zyklen seit letztem Visit : Numerische Angabe
20. Abstand der ivIG Zyklen seit letztem Visit : Numerische Angabe
21. Ansprechen auf ivIG : Ja, Nein, Nicht beurteilbar wegen Polytherapie, Unbekannt.
22. Kommentare zu ivIG (z.B. Wiederholungen, Dosisreduktion, Gründe für die Wahl der Therapie versus Plasmapherese, Gründe fürs Absetzen, NW, Komplikationen, etc. : Freitext
23. Plasmapherese/Immunadsorption erfolgt : Ja, Nein, Unbekannt  
Wenn ja : Verfahren : Plasmapherese, Immunadsorption, Unbekannt  
Beginn Plasmapherese/Immunadsorption : Datumsangabe  
Ende Plasmapherese : Datumsangabe
24. Ansprechen auf Plasmapherese/Immunadsorption innerhalb von 4 Wochen : Ja, Nein, Nicht beurteilbar wegen Polytherapie, Unbekannt.
25. Kommentare zu Plasmapherese/Immunadsorption (z.B. Wiederholungen, Dosisreduktion, Gründe für die Wahl der Therapie versus ivIG, Gründe fürs Absetzen, NW, Komplikationen etc.) : Freitext
26. Cyclophosphamid Stoßtherapie 750-1000mg/m<sup>2</sup> monatlich : Ja, Nein, Unbekannt  
Wenn ja : Beginn Cyclophosphamid Erstgabe : Datumsangabe
27. Menge der bisherigen Cyclophosphamidstöße seit letztem Visit : Numerische Angabe
28. Ansprechen auf Cyclophosphamid innerhalb von 4 Wochen : Ja, Nein, Nicht beurteilbar wegen Polytherapie, Unbekannt
29. Kommentare zu Cyclophosphamid (z.B. Wiederholungen, Dosisreduktion, Gründe für die Wahl der Therapie, abweichende Dosierung/Intervall, Gründe fürs Absetzen, NW, Komplikationen etc.) : Freitext
30. Rituximab seit letztem Visit erfolgt? : Ja, Nein, Unbekannt  
Wenn ja : Dosierung : 2x 1000mg q14 Tage, 4x 375mg/m<sup>2</sup> q7 Tage,  
Unbekannt
31. Beginn Rituximab (Erstgabe) : Datumsangabe
32. Ansprechen auf Rituximab innerhalb von 4 Wochen : Ja, Nein, Nicht beurteilbar wegen Polytherapie, Unbekannt
33. Andere Immuntherapie erfolgt? Ja, Nein, Unbekannt  
Wenn ja : Wirkstoff, Dosis, Beginn, Ende, Gründe für Wahl/Absetzen : Freitext
34. Ansprechen auf andere Therapie : Ja, Nein, Nicht beurteilbar wegen Polytherapie, Unbekannt
35. Zusätzliche Biomaterialien für wissenschaftliche Projekte verfügbar : Liquor, Serum, Gewebe, Unbekannt

## **8 Danksagung**

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater, Herrn PD Dr. Leyboldt, für seine herausragende Unterstützung bei der Erstellung dieser Dissertation. Er stand mir stets mit Rat und Tat zur Seite und unterstützte mich nach allen Kräften.

Ebenso danke ich dem Zweitkorrektor Herrn Prof. Dr. Wandinger für seine Unterstützung bei dieser Arbeit.

Des Weiteren möchte ich dem Institut für klinische Chemie des UKSH Campus Kiel und Lübeck, geleitet von Prof. Dr. Junker danken, dessen Infrastruktur ich campusübergreifend für die Erstellung dieser Arbeit nutzen durfte.

Ich danke dem Labor Professor Winfried Stöcker und Euroimmun, insbesondere Bianca Teegen, für ihre analytische Kooperation, die enorm wichtig für mein Projekt waren.

Mein weiterer Dank gilt meiner Arbeitsgruppe, voran Frau Kim Falk, die mir ebenfalls immer mit Rat und Tat sowie konstruktiven Gesprächen zur Seite stand und mir u.a. bei der Einarbeitung in das Literaturverwaltungsprogramm behilflich war.

Thomas Schneiderei danke ich für fruchtbare fachliche Diskussionen über inhaltliche und formale Aspekte, die ich konstruktiv genutzt habe.

Herr Tomasz Wirkus unterstützte mich bei der formalen Korrektur dieser Dissertation. Von seinen Erfahrungen bei der Erstellung vergleichbarer Arbeiten profitierte ich sehr.

Ich bedanke mich bei allen GENERATE-Kooperationspartnern für die wissenschaftliche Unterstützung in Form von Datenaustausch und Komplettierung.

Mein allergrößter Dank gilt jedoch meiner Familie. Meine Eltern haben mich von Geburt an bei allem unterstützt mit einer wunderbaren Selbstverständlichkeit, die ich stets geschätzt habe und auch noch immer schätze.

Ohne die Unterstützung meiner wundervollen Frau Marieke und meiner Kinder Nika Marie und Jesse Lio wäre die Fertigstellung dieser Dissertation nicht möglich gewesen. Sie haben häufig auf mich verzichten müssen, ich bin Ihnen für ihr Verständnis sehr dankbar

## Erklärung

Ich versichere hiermit an Eides Statt, dass meine Dissertation, abgesehen von Ratschlägen meines Doktorvaters und meiner sonstigen akademischen Lehrer, nach Form und Inhalt meine eigene Arbeit ist, dass ich außer den in der Arbeit aufgeführten keine weiteren Hilfsmittel benutzt habe, und dass meine Arbeit bisher, weder ganz, noch in Teilen, keiner anderen akademischen Stelle als Dissertation vorgelegen hat.

Kiel, den 11.11.2020

Gunnar Nissen