



Aus der Klinik für Neurologie  
(Prof. Dr. med. M. Bähr)  
der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

**Toll-Like-Rezeptoren und das Chemokin  
CXCL13 zur Diagnose und  
Aktivitätsbeurteilung der Neuroborreliose  
und deren Bezug zu kognitiven Parametern**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizinischen Fakultät der  
Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von

**Tina Suse Jaintsch**

aus

Freital

Göttingen 2022

Dekan: Prof. Dr. Wolfgang Brück

Referent: Prof. Dr. Holger Schmidt

Ko-Referent/ in: Prof. Dr. Helmut Eiffert

Drittreferent/ in: Prof. Dr. Thomas Meyer

Datum der mündlichen Prüfung: 21.04.2022

Hiermit erkläre ich, die Dissertation mit dem Titel "Toll-Like-Rezeptoren und das Chemokin CXCL13 zur Diagnose und Aktivitätsbeurteilung der Neuroborreliose und deren Bezug zu kognitiven Parametern" eigenständig angefertigt und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet zu haben.

Göttingen, den 10.04.2022

.....

(Unterschrift)

# Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	III
Abbildungsverzeichnis	V
Tabellenverzeichnis	VI
<b>1 EINFÜHRUNG</b>	<b>1</b>
1.1 Hintergrund dieser Arbeit	1
1.2 Neuroborreliose	3
1.2.1 Epidemiologie	3
1.2.2 Symptomatik	4
1.2.3 Diagnostik	5
1.2.4 Therapie	7
1.3 Toll-Like-Rezeptoren	8
1.3.1 TLR2	10
1.3.2 TLR1	12
1.3.3 TLR8	12
1.3.4 TLR5	13
1.4 Das Chemokin CXCL13	13
1.5 Post-Treatment-Lyme-Disease-Syndrom	15
1.6 Fragestellung	18
<b>2 MATERIAL UND METHODEN</b>	<b>20</b>
2.1 Patientenkollektiv	20
2.2 Kontrollgruppe	22
2.3 Diagnostische Marker	23
2.3.1 CXCL13-ELISA	23
2.3.2 TLR-ELISA	24
2.4 Neuropsychologische Testung	25
2.5 Statistische Auswertung	27
<b>3 ERGEBNISSE</b>	<b>29</b>
3.1 Basis-Daten	29

3.2	Toll-Like-Rezeptoren bei Neuroborreliose	31
3.2.1	TLR1	31
3.2.2	TLR2	36
3.2.3	TLR5	37
3.2.4	TLR8	38
3.3	CXCL13 bei Neuroborreliose	40
3.4	Neuropsychologische Testung	47
3.5	Korrelationen	56
<b>4</b>	<b>DISKUSSION</b>	<b>58</b>
4.1	Zusammenfassung der Hauptergebnisse	58
4.2	Diskussion der Methoden	59
4.2.1	Patienten- und Kontrollgruppe	59
4.2.2	Material	60
4.3	Diskussion der Ergebnisse	64
4.3.1	Diagnostischer Nutzen von TLR-Untersuchungen bei Neuroborreliose	64
4.3.2	Diagnostischer Nutzen von CXCL13 bei Neuroborreliose	68
4.3.3	Körperliche und kognitive Einschränkungen bei akuter Neuroborreliose	70
4.4	Schlussfolgerung	72
<b>5</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>74</b>
<b>6</b>	<b>ANHANG</b>	<b>77</b>
6.1	Neuropsychologische Untersuchungen	77
6.2	Ergebnisse	82
<b>7</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b>	<b>92</b>

## Abkürzungsverzeichnis

AI	Antikörperindex
BDI	Beck-Depressionsinventar
BRB	Brief Repeatable Battery
CSF	<i>cerebrospinal fluid, Liquor cerebrospinalis, Liquor</i>
CXCL13	Chemokine (C-X-C motif) ligand 13
DNA	Desoxyribonukleinsäure
ELISA	<i>enzyme linked immunosorbent assay</i>
FIQ	Fibromyalgia Impact Questionnaire
FST	Faces-Symbol-Test
LP	Lumbalpunktion/ Liquorpunktion
IFN	Interferon
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
IL	Interleukin(e)
i. v.	intravenös
MRT	Magnetresonanztomografie
PCR	<i>polymerase chain reaction</i>
PLDS	Post-Treatment-Lyme-Disease-Syndrom
PSQI	Pittsburgher Schlafqualitäts-Index
RNA	Ribonukleinsäure
SCL-90-R	Symptomcheckliste von Derogatis
Serum	Blutserum
SF 36	Short-Form-36-Health-Survey
SPART	Spatial Recall Test aus der BRB
SPECT	<i>single photon emission computed tomography</i>
SRT	Selective Reminding Test aus der BRB
STAI	State-Trait Anxiety Inventory
TAP	Testbatterie zur Aufmerksamkeitsprüfung
TLR	Toll-Like-Rezeptor(en)
TNF	Tumornekrosefaktor
V. a.	Verdacht auf
WHOQOL-BREF	World Health Organization Quality of Life Group-Fragebogen
Z. n.	Zustand nach

ZNS	Zentrales Nervensystem
25er/75er Perz.	25. und 75. Perzentile



## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Formel für den Borrelien-spezifischen Antikörperindex (AI) für QIgG < QlimIgG und QIgG > QlimIgG bei polyspezifischer intrathekaler Gesamt-IgG-Synthese (nach Reiber 1994) .....	6
Abbildung 2: TLR1 im Liquor.....	31
Abbildung 3: Angepasste Formel zur Berechnung einer intrathekalen TLR-Synthese (TLR-Albumin-Quotient).....	33
Abbildung 4: TLR8 im Liquor.....	38
Abbildung 5: CXCL13 im Liquor .....	41
Abbildung 6: Angepasste Formel zur Berechnung einer intrathekalen CXCL13-Synthese (CXCL13-Albumin-Quotient) .....	43
Abbildung 7: CXCL13 im Liquor bei allen Gruppen je nach antibiotischer Vorbehandlung innerhalb eines Monats vor LP .....	45
Abbildung 8: CXCL13 im Liquor bei Verlaufsuntersuchungen .....	47
Abbildung 9: CXCL13 im Serum bei Verlaufsuntersuchungen.....	47
Abbildung 10: CXCL13-Albumin-Quotient bei Verlaufsuntersuchungen.....	47

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Kriterien für eine sichere Diagnose-Stellung bei Neuroborreliose nach den aktuellen Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Neurologie (Rauer et al. 2018)....	2
Tabelle 2: Zuordnung der diagnostischen Kriterien zum Grad der Wahrscheinlichkeit einer Neuroborreliose (nach Rauer et al. 2018).....	7
Tabelle 3: Toll-Like-Rezeptoren beim Menschen und ihre bisher bekannten wesentlichen Funktionen .....	9
Tabelle 4: Ein- und Ausschlusskriterien für das Patientenkollektiv.....	21
Tabelle 5: Patienten-Gruppen .....	22
Tabelle 6: Ein- und Ausschlusskriterien für die Kontrollgruppe.....	23
Tabelle 7: Reihenfolge der verwendeten Fragebögen und Tests .....	26
Tabelle 8: Basis-Daten der Gruppen.....	30
Tabelle 9: Kreuztabelle zur Verteilung der TLR1-Ergebnisse im Liquor .....	32
Tabelle 10: Übersicht über die Parameter bei den Verlaufsuntersuchungen zu TLR1 .....	35
Tabelle 11: Kreuztabelle zur Verteilung der TLR2-Ergebnisse im Liquor .....	36
Tabelle 12: Kreuztabelle zur Verteilung der TLR2-Ergebnisse im Serum .....	36
Tabelle 13: Kreuztabelle zur Verteilung der TLR5-Ergebnisse im Liquor .....	37
Tabelle 14: Kreuztabelle zur Verteilung der TLR5-Ergebnisse im Serum .....	37
Tabelle 15: Kreuztabelle zur Verteilung der TLR8-Ergebnisse im Liquor .....	39
Tabelle 16: Kreuztabelle zur Verteilung der TLR8-Ergebnisse im Liquor bei akuter Neuroborreliose mit und ohne antibiotische Vorbehandlung bis zu einem Monat vor LP.....	39
Tabelle 17: Kreuztabelle zur Verteilung der CXCL13-Ergebnisse im Liquor nach Einteilung in positive und negative Werte entsprechend der Nachweisgrenze des Herstellers .....	41
Tabelle 18: Kreuztabelle zur Verteilung der CXCL13-Albumin-Quotienten .....	43

Tabelle 19: Messwerttabelle zu CXCL13 im Liquor und dem CXCL13-Albumin- Quotienten bei Patienten mit akuter Neuroborreliose je nach antibiotischer Vorbehandlung innerhalb eines Monats vor Probenentnahme .....	45
Tabelle 20: Übersicht über die Parameter bei den Verlaufsuntersuchungen zu CXCL13 ..	46
Tabelle 21: Ergebnisse der Testbatterie zur Aufmerksamkeitsprüfung (TAP) mit den Tests „Alertness“, „geteilte Aufmerksamkeit“ und „Go/Nogo“ .....	48
Tabelle 22: Ergebnisse aus dem Brief Repeatable Battery (BRB) Wortlistentest ( <i>Selective Reminding Test</i> ) und dem räumlichen Merkfähigkeitstest ( <i>Spatial Recall Test</i> ) .....	49
Tabelle 23: Ergebnisse des Faces-Symbol-Tests .....	50
Tabelle 24: Ergebnisse der Domänen der neuropsychologischen Testung .....	50
Tabelle 25: Ergebnisse der Domäne Verbales Lernen.....	51
Tabelle 26: Ergebnisse der Domäne Gedächtnis .....	51
Tabelle 27: Ergebnisse des Short-Form-36-Health-Survey .....	52
Tabelle 28: Ergebnisse des Pittsburgher Schlafqualitäts-Index.....	53
Tabelle 29: Ergebnisse des <i>Fibromyalgia Impact Questionnaire</i> .....	53
Tabelle 30: Ergebnisse der Symptomcheckliste von Derogatis.....	54
Tabelle 31: Ergebnisse der World Health Organization Quality of Life Group–BREF.....	55
Tabelle 32: Ergebnisse des State-Trait Anxiety Inventory (STAI) I und II .....	56
Tabelle 33: Parametrische Ergebnisse des Beck-Depressionsinventars .....	56
Tabelle 34: Kreuztabelle zu den Ergebnissen des Beck-Depressionsinventars.....	56
Tabelle Anhang 1: Messwerte von TLR1 im Liquor.....	82
Tabelle Anhang 2: Kreuztabelle zur Verteilung von Patienten mit akuter Neuroborreliose nach TLR1-Ergebnissen im Liquor mit und ohne antibiotische Vorbehandlung innerhalb eines Monats vor LP .....	82
Tabelle Anhang 3: Messwerte von TLR1 im Liquor bei Patienten mit akuter Neuroborreliose je nach antibiotischer Vorbehandlung innerhalb eines Monats vor LP .....	82

Tabelle Anhang 4: Messwerte von TLR1 im Serum .....	83
Tabelle Anhang 5: Messwerte von TLR1 im Serum bei Patienten mit akuter Neuroborreliose je nach antibiotischer Vorbehandlung innerhalb eines Monats vor Probenentnahme.....	83
Tabelle Anhang 6: TLR1 im Liquor und Serum bei Patienten mit akuter Neuroborreliose und antibiotischer Vorbehandlung innerhalb eines Monats vor LP .....	84
Tabelle Anhang 7: Messwerte von TLR2 im Liquor.....	84
Tabelle Anhang 8: Messwerte von TLR2 im Serum .....	85
Tabelle Anhang 9: Messwerte von TLR5 im Liquor.....	85
Tabelle Anhang 10: Messwerte von TLR5 im Serum .....	85
Tabelle Anhang 11: Messwerte von TLR8 im Liquor.....	86
Tabelle Anhang 12: Messwerte von TLR8 im Liquor bei Patienten mit akuter Neuroborreliose je nach antibiotischer Vorbehandlung innerhalb eines Monats vor LP .....	86
Tabelle Anhang 13: TLR8 im Liquor und Serum bei Patienten mit akuter Neuroborreliose und antibiotischer Vorbehandlung innerhalb eines Monats vor LP .....	87
Tabelle Anhang 14: Messwerte von TLR8 im Serum .....	87
Tabelle Anhang 15: Übersicht über die Parameter bei den Verlaufsuntersuchungen zu TLR8.....	88
Tabelle Anhang 16: Messwerte von CXCL13 im Liquor.....	89
Tabelle Anhang 17: Messwerte von CXCL13 im Serum .....	89
Tabelle Anhang 18: Messwerte des CXCL13-Albumin-Quotienten.....	89
Tabelle Anhang 19: Antibiotische Vorbehandlung der Patienten mit akuter Neuroborreliose und antibiotischer Vorbehandlung innerhalb eines Monats vor Probenentnahme und verfügbaren CXCL13-Werten .....	90
Tabelle Anhang 20: Ergebnisse des Pittsburgher Schlaf-Qualitäts-Index.....	90
Tabelle Anhang 21: Korrelationen zwischen liquorchemischen und kognitiven Parametern bei akuter Neuroborreliose.....	91

# 1 Einführung

## 1.1 Hintergrund dieser Arbeit

Die Neuroborreliose ist eine in Europa und Nordamerika zunehmende bakterielle Infektions-Erkrankung. Die Datenlage zur Epidemiologie ist zwar noch mäßig, es konnte jedoch ein Anstieg der Erkrankungszahlen festgestellt werden. In den ostdeutschen Bundesländern beispielsweise wurde ein Anstieg der Inzidenz von *Erythema migrans* und Neuroborreliose zusammen von 17,8 Fällen pro 100.000 Einwohnern im Jahr 2002 auf 37,3 Fällen pro 100.000 Einwohner im Jahr 2006 verzeichnet (Fülöp und Poggensee 2008). In den USA wurde eine Zunahme der Borreliose-Fälle von 1992 bis 2006 berichtet (Bacon et al. 2008). Auch in Großbritannien und Schweden wurde ein solcher Anstieg vermerkt (Dubrey et al. 2014; Bennet et al. 2006).

Die Diagnose einer Neuroborreliose zu stellen ist nicht immer einfach, denn sie erfordert eine Liquordiagnostik, zudem ist die Symptomatik heterogen. Erfahrungsgemäß stellen sich immer wieder Patienten mit seit Wochen bestehenden Symptomen, z. T. nach umfangreich durchgeführter Differentialdiagnostik, zur Abklärung einer Neuroborreliose vor. Die Therapie dieser Infektionskrankheit besteht in einer antibiotischen Behandlung. Folgeschäden, wie z. B. residuelle Hirnnervenpareesen oder Sensibilitätsstörungen, kommen vor (Dersch et al. 2016). Darüber hinaus wurde in den letzten Jahren das so genannte Post-Borreliosis-Disease-Syndrom (PLDS) kontrovers diskutiert. Es beschreibt unspezifische Symptome nach einer durchgemachten Borreliose-Infektion, die länger als sechs Monate nach antibiotischer Therapie bestehen bleiben, oder Symptome im Zusammenhang mit einer positiven Borrelien-Serologie, obwohl keine akute Infektion vorliegt. Die Symptome umfassen Kopfschmerzen, Müdigkeit, depressive Verstimmung, Parästhesien, Schlafstörungen, kognitive Beeinträchtigungen, Gelenkschmerzen, Muskelschmerzen und Konzentrationsstörungen. Da die Symptome derart unspezifisch sind, ist oft unklar, ob zwischen den Symptomen und der Borreliose-Erkrankung ein Zusammenhang besteht. Die Datenlage zu diesem Thema ist uneinheitlich und kontrovers (s. Kapitel 1.5 Post-Treatment-Lyme-Disease-Syndrom, Seite 15).

Dementsprechend ist es schwer, die Bedeutung möglicher Folgeschäden oder Residuen durch die Neuroborreliose für die Gesellschaft, das Gesundheitssystem und den privaten Bereich einzuschätzen. Ziel sollte in jedem Fall eine rasche Diagnose-Stellung und Therapie sein.

Für die hier durchgeführten Untersuchungen wurden nach den aktuellen Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Neurologie die folgenden Kriterien für eine sichere Diagnose-Stellung angewandt (Kaiser et al. 2012), die sich auch in der aktuellen Fassung nicht geändert haben (Rauer et al. 2018).

**Tabelle 1: Kriterien für eine sichere Diagnose-Stellung bei Neuroborreliose nach den aktuellen Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Neurologie (Rauer et al. 2018)**

<b>Kriterien für eine sichere Diagnose-Stellung bei Neuroborreliose</b>
typische klinische Symptomatik für eine Neuroborreliose
positiver Borrelien-spezifischer Immunglobulin G(IgG)- und/oder Immunglobulin M(IgM)-Antikörper-Nachweis im Serum
entzündliches Liquor-Syndrom mit lymphozytärer Pleozytose, Blut-Liquor-Schrankenstörung und intrathekaler Immunglobulin-Synthese
intrathekale Synthese Borrelien-spezifischer Antikörper IgG und/oder IgM im Liquor oder positiver Nachweis durch Kultur oder Polymerase-Ketten-Reaktion ( <i>polymerase chain reaction</i> = PCR) im Liquor
Ausschluss anderer Ursachen für die Symptomatik

Dabei ergeben sich jedoch mehrere Schwierigkeiten. Erfolgt die Diagnostik sehr früh im Krankheitsprozess, kann es sein, dass die entzündlichen Liquor-Veränderungen und auch die Antikörperproduktion noch nicht so weit fortgeschritten sind, dass die Grenzen zum „positiven“ Befund überschritten werden (Hansen und Lebech 1991). In diesem Fall muss die Entscheidung zwischen möglichst frühem Therapie-Beginn und einer fälschlich indizierten Über-Therapie getroffen werden. In der klinischen Praxis wird meist eine antibiotische Therapie begonnen und nach einer Kontroll-Untersuchung die Diagnose bestätigt oder verworfen.

Die Borrelien-spezifischen Antikörper können noch Jahre nach einer ausgeheilten Neuroborreliose im Liquor nachweisbar sein und auch nach einer asymptomatischen Infektion vorkommen (Hammers-Berggren et al. 1993; Hansen et al. 1990; Cetin et al. 2006; Maiwald et al. 1998). Gerade im Zusammenhang mit anderen akuten Infektionen kann es in dieser Konstellation zu Fehlinterpretationen kommen.

Eine weitere Schwierigkeit liegt in der Heterogenität der zur serologischen Diagnostik verwendeten Antigene der humanpathogenen Borrelien-Stämme. Mittlerweile werden rekombinante Borrelien-Antigene verschiedener Stämme verwendet, um ein möglichst

breites Spektrum abzubilden. In einer Meta-Analyse von sieben Studien lagen Sensitivität und Spezifität für die Antikörper-Indizes bei Neuroborreliose bei 86 % und 94 % (Leefflang et al. 2016).

Aus diesen Gründen wird stetig nach einer Verbesserung der diagnostischen Möglichkeiten für die Neuroborreliose gesucht. Zudem stellt sich die Frage der Wirksamkeit der antibiotischen Therapie. Eine Besserung der Symptomatik tritt häufig erst im Verlauf oder nach beendeter Therapie ein. In diesem Zusammenhang wurde in den letzten Jahren der Chemokine (C-X-C motif) ligand 13 (CXCL13) als neuer diagnostischer Marker und guter Verlaufparameter beschrieben (s. Kapitel 1.4 Das Chemokin CXCL13, Seite 13).

Weitere Marker, die zur besseren und schnelleren Erkennung der Neuroborreliose beitragen könnten, werden stetig gesucht. Es gab bereits Untersuchungen, in denen eine Reaktion von Toll-Like-Rezeptoren (TLR) auf Borrelien nachgewiesen wurde (s. Kapitel 1.3 Toll-Like-Rezeptoren, Seite 8). Auch ein Zusammenhang zwischen der TLR2- und CXCL-13-Freisetzung wurde beschrieben (Rupprecht et al. 2007).

## 1.2 Neuroborreliose

### 1.2.1 Epidemiologie

Die Borreliose ist eine in der gemäßigten Klimazone auf der Nordhalbkugel vorkommende systemische, entzündliche Erkrankung, die durch die Spirochäten-Bakterien *Borrelia burgdorferi sensu lato* hervorgerufen wird. *Borrelia burgdorferi sensu lato* ist eine Gruppe von zwölf verschiedenen Borrelien-Arten, von denen heute fünf Arten als humanpathogen identifiziert sind: *Borrelia burgdorferi sensu stricto*, *Borrelia afzelii*, *Borrelia garinii*, *Borrelia bavariensis sp. nov.* und *Borrelia spielmanii* (Yanagihara und Mauzawa 1997; Ohlenbusch et al. 1996; Fingerle et al. 2008; Richter et al. 2006; Margos et al. 2009; Markowicz et al. 2015; Margos et al. 2013). Die Borrelien werden am häufigsten über einen Zeckenbiss von den Schildzecken der Gattung *Ixodes* auf den Menschen übertragen. In tierexperimentellen Studien konnte gezeigt werden, dass nach 48 bis 72 Stunden Dauer eines Zeckenbisses die Wahrscheinlichkeit einer Infektion mit *Borrelia burgdorferi* exponentiell ansteigt (Sood et al. 1997).

## 1.2.2 Symptomatik

Die Borreliose ist eine entzündliche Systemerkrankung, die fast alle Organsysteme befallen kann. Sie wird in drei Stadien eingeteilt, welche jedoch zeitlich stark variieren und übersprungen werden können. Deshalb hat die Stadieneinteilung für den Alltag eine geringere Bedeutung als z. B. bei der Diagnose einer Lues. Die klinischen Manifestationen können sowohl einzeln als auch in verschiedenen Kombinationen auftreten. So findet man sie vor allem an Haut, Gelenken, Herz und im Nervensystem.

Zu den frühen Manifestationen der Borreliose gehören das *Erythema migrans* und das Lymphozytom (Lymphadenosis cutis benigna) sowie unspezifische grippeartige Begleiterscheinungen wie Fieber, Myalgien, Arthralgien, Kopf- und Nackenschmerzen und Lymphknotenschwellungen (Müllegger 2004; Hofmann 2005; Yanagihara und Masuzuwa 1997). Aber auch Arthritiden, Myo- oder Perikarditiden kommen vor (Müllegger 2004). Die häufigste Manifestation der akuten Neuroborreliose ist das Garin-Bujadoux-Bannwarth-Syndrom, eine Meningopolyradikulitis spinaler Nerven. In unterschiedlichen Kombinationen oder auch allein können Paresen, Sensibilitätsstörung, Hirnnervenausfälle oder psychiatrische Krankheitsbilder im Rahmen von Myelitiden, Meningitiden, Enzephalitiden, selten Vaskulitiden und Myositiden auftreten (Hansen und Lebech 1992; Reik et al. 1986; Djukic et al. 2012; Oschmann et al. 1998; Hess et al. 1999; Wittwer et al. 2015; Reimers et al. 1993).

Dauern die Symptome unbehandelt bereits länger als sechs Monate an, spricht man vom späten Stadium oder „chronischer Borreliose“, was auf bis zu 6 % der Neuroborreliose-Erkrankungen zutrifft (Oschmann et al. 1998; Hansen und Lebech 1992). Da die Erkrankung in der Regel heutzutage eher erkannt und behandelt wird sind chronische Neuroborreliosen klinisch eine Rarität. Residualzustände einer durchgemachten Infektion sind hiervon abzugrenzen.

Je nach Vorkommen der verschiedenen Borrelien-Serovare finden sich regional unterschiedliche Manifestationsformen der Borreliose. Während in Europa und Asien vor allem *Borrelia afzelii*, *garii* und *bavariensis* und damit kutane und neurologische Manifestationen vorkommen, tritt in Nordamerika fast ausschließlich *Borrelia burgdorferi sensu stricto* mit einem Befall der Gelenke, kutanen und neurologischen Erkrankungen auf



(Yanagihara und Mauzawa 1997; Ohlenbusch et al. 1996; Fingerle et al. 2008; Richter et al. 2006; Margos et al. 2009; Markowicz et al. 2015; Margos et al. 2013; Cerar et al. 2016).

### 1.2.3 Diagnostik

Die Diagnostik der Neuroborreliose wird bei hinreichendem Verdacht aufgrund der klinischen Symptomatik und der Anamnese wie folgt durchgeführt:

Es erfolgt eine serologische und liquorchemische Untersuchung mittels enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) als Suchtest für Borrelien-Antikörper, wobei die Sensitivität je nach verwendeten Antigenen und Dauer der Infektion bei bis zu 100 % liegt (Wilske et al. 2007; Riesbeck und Hammas 2007; Skarpaas et al. 2007). Die Spezifität ist für eine klinisch akute Erkrankung aufgrund der in der Bevölkerung vorkommenden Seropositivität als niedrig einzuordnen (Skarpaas et al. 2007). Bei positivem oder grenzwertigem ELISA-Ergebnis erfolgt ein Immunoblot zur Bestätigung, da dieser eine hohe Spezifität aufweist (Wilske et al. 2007). Eine Schwierigkeit bei der serologischen Diagnostik stellt die Heterogenität der immunodominanten Antigene der Borrelien-Stämme dar. In den letzten Jahren wurde an der Verbesserung der Tests gearbeitet, sodass durch rekombinante Antigene eine möglichst breite Repräsentation der denkbaren Erreger-Stämme erreicht wird (Goettner et al. 2005). Ein positives serologisches Ergebnis ermöglicht allerdings keine Aussage über die Akuität der Infektion, da häufig asymptomatische Infektionen vorkommen und Antikörpertiter sowohl für IgM als auch IgG über Jahre nach einer Borrelien-Infektion positiv bleiben können (Maiwald et al. 1998; Cetin et al. 2006; Hammers-Berggren et al. 1993; Hilton et al. 1997).

Im *Liquor cerebrospinalis* (CSF) lassen sich bei einer Neuroborreliose eine lymphozytäre Pleozytose als Kriterium für die Aktivität des Entzündungsprozesses im zentralen Nervensystem (ZNS), eine Blut-Liquor-Schrankenstörung und oft Borrelien-spezifische intrathekal gebildete Antikörper feststellen (Djukic et al. 2012).

Die intrathekale Immunglobulin-Synthese wird mit dem IgG-Index über das Quotienten-Diagramm nach Reiber und Felgenhauer berechnet (gilt analog für IgM und IgA). Albumin dient aufgrund der ausschließlichen Synthese in der Leber als Marker-Substanz für die Durchlässigkeit der Blut-Liquor-Schranke, da es nur durch Diffusion in den Liquor gelangt. Bei zunehmender Blut-Liquor-Schranken-Störung steigt der Liquor-Serum-Quotient für Albumin an. Um eine intrathekale Immunglobulin-Synthese nachzuweisen, wird der

Albumin-Quotient ins Verhältnis zum Liquor-Serum-Quotienten für das jeweilige Immunglobulin gesetzt und in ein Normwert-Diagramm eingetragen (Reiber-Felgenhauer-Schema).

Zur Berechnung eines spezifischen Antikörperindex (AI), wie dem Borrelien-Antikörper-Index wird die u.g. Formel angewandt. Da verschiedene Erkrankungen zu einer polyspezifischen Antikörpersynthese und Blut-Liquor-Schrankenstörung führen können, wird der Limes-Quotient ( $Q_{IgGlim}$ ) notwendig, sobald eine Schrankenstörung vorliegt. Er repräsentiert die maximal mögliche Diffusion von Immunglobulinen aus dem Serum in den Liquor in Bezug zu einem gegebenen Albumin-Quotienten-Wert (Reiber 1994). Ein spezifischer Antikörper-Index-Wert von  $\geq 1,5$  gilt als positiv im Sinne einer spezifischen intrathekalen Immunglobulinsynthese (Reiber und Lange 1991; Kaiser und Lückring 1993). Jedoch beginnt die Antikörperproduktion langsam, sodass die Antikörperbestimmung häufig erst im Verlauf, etwa zwei Wochen nach Beginn der Symptome positiv ist (Hansen und Lebech 1991).

**Formel für den Borrelien-spezifischen Antikörperindex (AI):**

$$AI (IgG) = \frac{\left( \frac{\text{Borrelienspezifisches IgG im Liquor}}{\text{Borrelienspezifisches IgG im Serum}} \right)}{\left( \frac{\text{Gesamtes IgG im Liquor}}{\text{Gesamtes IgG im Serum}} \right)}$$

**Formel für den Borrelien-spezifischen Antikörperindex (AI) im Falle einer Schrankenstörung:**

$$AI (IgG) = \frac{\left( \frac{\text{Borrelienspezifisches IgG im Liquor}}{\text{Borrelienspezifisches IgG im Serum}} \right)}{Q_{IgG \text{ lim}} [Q_{Albumin}]}$$

**Abbildung 1: Formel für den Borrelien-spezifischen Antikörperindex (AI) für  $Q_{IgG} < Q_{limIgG}$  und  $Q_{IgG} > Q_{limIgG}$  bei polyspezifischer intrathekaler Gesamt-IgG-Synthese (nach Reiber 1994)**

Ein neuer diagnostischer Ansatz für die Neuroborreliose ist das Chemokin CXCL13 (s. Kapitel 1.4 Das Chemokin CXCL13, Seite 13).

In diagnostisch schwierigen Fällen kann der direkte Erregernachweis z. B. aus Liquor, Gelenkpunktat, Synovia oder Haut durch Kultur oder PCR versucht werden. Die Empfindlichkeit der Kultur und der PCR liegt bei bis zu 30 % im Liquor (Wilske et al. 2007).

Nach den aktuellen Leitlinien der *Deutschen Gesellschaft für Neurologie* wird je nach Vollständigkeit der diagnostischen Kriterien in eine mögliche, wahrscheinliche oder gesicherte Neuroborreliose unterschieden:

**Tabelle 2: Zuordnung der diagnostischen Kriterien zum Grad der Wahrscheinlichkeit einer Neuroborreliose (nach Rauer et al. 2018)**

<b>Mögliche Neuroborreliose</b>	<b>Wahrscheinliche Neuroborreliose</b>	<b>Gesicherte Neuroborreliose</b>
Typisches klinisches Bild, Borrelien-spezifische IgG- und/oder IgM-Antikörper im Serum	+ entzündliches Liquorsyndrom mit lymphozytärer Pleozytose, Blut-Liquor-Schrankenstörung und intrathekaler Immunglobulinsynthese  + Ausschluss anderer Ursachen für die vorliegende Symptomatik	+ intrathekale Synthese Borrelien-spezifischer Antikörper (IgG und/oder IgM) im Liquor <u>oder</u> positiver kultureller oder Nukleinsäurenachweis (PCR) im Liquor

### 1.2.4 Therapie

Je früher die Borreliose erkannt und die Therapie begonnen wird, umso besser ist das Behandlungsergebnis. Antibiotika verkürzen den Verlauf und verhindern Komplikationen oder seltene langwierige Verläufe. (Kaiser 2004; Karlsson et al. 1994).

Der Therapieeffekt wird anhand der klinischen Symptomatik und der Entzündungsparameter beurteilt, da die Serologie und der Antikörperindex durch eine Persistenz der Antikörper positiv bleiben können und damit ungeeignet als Verlaufsparemeter sind. Die Symptome klingen unter antibiotischer Therapie im Verlauf von Wochen, manchmal aber auch Monaten, ab. Residualsymptome, wie z. B. eine faziale Parese, Konzentrationsstörungen, Parästhesien und Neuropathien sind möglich (Kaiser 2004; Berglund et al. 2002).

Re-Infektionen nach einem erneuten Zeckenbiss sind durch die Antigen-Heterogenität der verschiedenen Borrelien-Arten möglich (Nadelman et al. 2012).

Die Wahl des Antibiotikums, die Applikationsart und die Applikationsdauer sind abhängig von der klinischen Manifestationsform, der Schwere der Beschwerden und dem Alter des Patienten. Als wirksam wurden z. B. Doxycyclin, Ceftriaxon, Cefotaxim und Penicillin G beschrieben (Dotevall und Hagberg 1999; Halperin et al. 2007; Pfister et al. 1991; Borg et al. 2005; Cadavid et al. 2016). Der Vorteil von Doxycyclin liegt in der oralen Gabe, Ceftriaxon verfügt hingegen über eine gute Liquorgängigkeit und zuverlässige Liquorspiegel (Wormser 1997).

### **1.3 Toll-Like-Rezeptoren**

Toll-Like-Rezeptoren (TLR) sind eine Klasse von Oberflächen-Rezeptoren der antigen-präsentierenden Zellen des angeborenen Immunsystems, welche Antigenmuster bestimmter Pathogene (pathogen associated molecular patterns, sog. PAMP) erkennen und dadurch über einen komplexen Signalweg zu einer Aktivierung des angeborenen Immunsystems führen. Dabei kommt es nach Antigen-Erkennung zu einer Homo- oder Heterodimer-Bildung der TLR und Konformationsänderung, wodurch intrazellulär Adapterproteine binden können (Muzio et al. 1997; Horng et al. 2001; Yamamoto et al. 2002; Fitzgerald et al. 2003; Couillault et al. 2004). Diese wiederum kooperieren mit bestimmten Kinasen (z. B. IL-1R associated kinases) sowie weiteren Faktoren, was letztlich in der Produktion von Transkriptions-Faktoren (wie Nukleärer Faktor  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) und activating protein-1) mündet, die die Transkription proinflammatorischer Zytokine wie Tumornekrosefaktor (TNF)- $\alpha$  und Interleukine (IL) induzieren (Chen 2005, Holtmann et al. 2001). Dadurch werden weitere Immunzellen rekrutiert und damit die Phagozytose und Antikörperbildung gegen die Borrelien eingeleitet (Norris und Manley 1992; Bulut et al. 2001; Salazar et al. 2009; Sadik et al. 2008). Bisher sind 13 verschiedene TLR bei Säugetieren und zehn beim Menschen (TLR1 bis 10) bekannt.

**Tabelle 3: Toll-Like-Rezeptoren beim Menschen und ihre bisher bekannten wesentlichen Funktionen**

<b>TLR</b>	<b>Funktion</b>	<b>Quellen</b>
TLR1	Oberflächenrezeptor auf antigenpräsentierenden Zellen, interagiert mit TLR2 und TLR10, erkennt bakterielle Antigene wie Lipoproteine und einige Lipopeptide	Wyllie et al. 2000 Ozinsky et al. 2000 Hasan et al. 2005 Takeuchi et al. 2002
TLR2	Oberflächenrezeptor auf antigenpräsentierenden Zellen, erkennt diverse grampositive und -negative bakterielle Antigene in Interaktion mit TLR1 oder TLR6 sowie TLR10, erkennt auch virale Antigene	Kirschning et al. 1998 Takeuchi et al. 1999 Schwandner et al. 1999 Hirschfeld et al. 1999 Lien et al. 1999 Bulut et al. 2001 Ozinsky et al. 2000 Hasan et al. 2005 Moniuszko-Malinowska et al. 2019
TLR3	Endosomaler Oberflächenrezeptor, erkennt virale Doppelstrang-Ribonukleinsäure (RNA)	Alexopoulou et al. 2001 Doyle et al. 2003 Matsumoto et al. 2003
TLR4	Oberflächenrezeptor auf antigenpräsentierenden Zellen, erkennt Lipopolysaccharide gramnegativer Bakterien, aber auch weitere Zellwand-Bestandteile von Bakterien, wirkt bei viraler Immunantwort mit	Takeuchi et al. 1999 Chow et al. 1999 Doyle et al. 2003
TLR5	Oberflächenrezeptor auf antigenpräsentierenden Zellen, erkennt bakterielles Flagellin (grampositiv und -negativ)	Hayashi et al. 2001 Cabral et al. 2006
TLR6	Oberflächenrezeptor auf antigenpräsentierenden Zellen, interagiert mit TLR2, wodurch Erkennung von grampositiven und -negativen Antigenen möglich wird	Bulut et al. 2001 Ozinsky et al. 2000
TLR7	Endosomaler Oberflächenrezeptor, erkennt virale RNA	Triantafیلou et al. 2005 Hemmi et al. 2002 Lund et al. 2004
TLR8	Endosomaler Oberflächenrezeptor, erkennt virale RNA und Borrelien-RNA	Cervantes et al. 2011 Cervantes et al. 2013 Triantafیلou et al. 2005 Engin et al. 2010
TLR9	Endosomaler Oberflächenrezeptor, erkennt bakterielle und virale Desoxyribonukleinsäure (DNA)-Muster	Chuang et al. 2002 Lund et al. 2003
TLR10	Oberflächenrezeptor auf antigenpräsentierenden Zellen, interagiert mit TLR1 und TLR2 zur Erkennung von verschiedenen sowohl grampositiven als auch gramnegativen Antigenen	Hasan et al. 2005 Lee et al. 2014 Guan et al. 2010

Es ist anzunehmen, dass die TLR sich in ihrer Funktion zwischen Menschen und Tieren unterscheiden, was bei der Interpretation von Studien berücksichtigt werden sollte.

### 1.3.1 TLR2

TLR2 ist ein Oberflächenrezeptor auf antigenpräsentierenden Zellen, der durch Heterodimer-Bildung mit TLR1, TLR6 oder TLR10 grampositive und -negative bakterielle Antigene erkennt (Takeuchi et al. 2002; Wyllie et al. 2000; Ozinsky et al. 2000; Hasan et al. 2005). Da durch die gebildeten Heterodimere letztlich die gleiche Signalkaskade ausgelöst wird, liegt der Sinn der Heterodimer-Bildung in der Spektrum-Erweiterung der Antigen-Erkennung (Farhat et al. 2008). Bisher gibt es wenige Studien zum Zusammenhang von Borreliose und TLR2. Diese Studien verfolgten vor allem die Aufklärung auf Zell- bzw. Molekülebene und waren methodisch unterschiedlich gelagert:

Es wurde festgestellt, dass TLR2 sowohl beim Menschen als auch bei Säugetieren durch die Erkennung von bakteriellen Lipoproteinen von *Borrelia burgdorferi* zu einer erhöhten Produktion von inflammatorischen Zytokinen führen (Hirschfeld et al. 1999; Lien et al. 1999), wobei lebende Borrelien in einem stärkeren Ausmaß zur Zytokin-Produktion führten als Borrelien-Lysate (Salazar et al. 2009; Cervantes et al. 2011).

Vor allem neutrophile Granulozyten zeigten bei Patienten mit Borreliose eine erhöhte TLR2-Expression (Jablonska und Marcinczyk 2006). Anhand von Microglia-Kulturen des Rhesus-Affen, welcher aufgrund einer ähnlichen Symptomentwicklung als Tier-Modell für die Neuroborreliose verwendet wird, wurde nach Phagozytose von *Borrelia burgdorferi* eine verstärkte Expression von TLR1, 2, 4 und 5 beobachtet (Bernardino et al. 2008).

Die Stimulation menschlicher Mikroglia-Zellen, glialer Stammzellen, Astrozyten und Monozyten des peripheren Blutes mit einem *Borrelia burgdorferi*-Lysat führte zu einer Zunahme von TLR1 und 2. Trotz der genetischen Ähnlichkeit von Monozyten und Mikroglia, kam es nur bei Mikroglia-Zellen zu einem starken Anstieg von HLA (Humane Leukozyten Antigene) und einer Co-Expression von Integrin  $\alpha$ -X (CD11-c), was normalerweise ein dendritischer Zell-Marker ist. Die HLA-Induktion in stimulierten Monozyten wurde unterdrückt, aber die Sekretion von IL-10 und TNF- $\alpha$  stark induziert. Die Autoren schlossen auf gegenläufige immunregulatorische Effekte bei den Immunzellen des Blutes und des Gehirns, was als mögliche Ursache für die unterschiedliche Anfälligkeit der Organe auf die Borrelien-Infektion gedeutet wurde (Cassiani-Ingoni et al. 2006; Cabral et al. 2006).

Durch Suppression des *TLR1*- oder *TLR2*-Gens in humanen T-Helferzellen kam es zu einer verminderten Produktion von TNF- $\alpha$ , IL-8 und IL-6 (Dennis et al. 2009).

In einer Studie mit TLR2-defizienten Mäusen wurden vielfach erhöhte Borrelien-Vorkommen über einen Zeitraum von mindestens 8 Wochen persistierend gemessen, wobei trotzdem eine suffiziente Immunantwort mit Nachweis von Zytokinen und IgG stattfand. Das Ausmaß der klinischen Symptome, in diesem Fall Gelenkschwellungen, war jedoch stärker als bei Mäusen mit Nachweis von suffizientem TLR2 (Wooten et al. 2002). Bei heterozygoten *TLR2*-Knockout-Mäusen kam es durch Dysfunktion des TLR1/2-Heterodimers zu einer starken Beeinträchtigung der inflammatorischen Reaktion. Interessanterweise funktionierte aber das TLR2/6-Heterodimer bei diesen *TLR2*-Knockout-Mäusen weiter (Schröder et al. 2005).

Durch in vivo Analyse von *Borrelia burgdorferi* in der Haut von Mäusen mit TLR1/2-Defizienz im Vergleich zum Wildtyp, wurde eine unterschiedliche Antigen-Expression von *Borrelia burgdorferi* in Abhängigkeit von dem Vorliegen von TLR1/2 gefunden. Das heißt, der Erreger scheint sich an das TLR-Vorkommen mit seiner Antigen-Struktur anpassen zu können, um möglichst nicht erkannt zu werden (Fikrig et al. 2009).

Zusätzlich wurde für die TLR-Rezeptoren ein genetischer Polymorphismus festgestellt. Bei Menschen mit heterozygotem TLR2-Arginin753-Glutamin-Polymorphismus wurde eine geringere TNF- $\alpha$ - und Interferon (IFN)-Gamma-Produktion nach Stimulation durch Borrelien im Vergleich zu Menschen mit anderen Polymorphismen gefunden. Bei Patienten mit sowohl akuter Borreliose als auch Borreliose im Spätstadium fand man diesen Polymorphismus signifikant weniger, sodass auf eine protektive Wirkung des Polymorphismus gegenüber Borrelien geschlossen wurde (Schröder et al. 2005).

TLR2 scheint außerdem eine wichtige Rolle bei der Freisetzung des Chemokin CXCL13 einzunehmen, welches bei Patienten mit Neuroborreliose erhöht ist (s. u.), da durch anti-TLR2-Antikörper die CXCL13-Freisetzung durch humane Monozyten gestoppt werden konnte (Rupprecht et al. 2007).

Zuletzt wurde eine Studie zur quantitativen Messung von TLR2 im Liquor und Serum bei Patienten mit akuter Neuroborreliose im Vergleich mit Patienten mit anderen durch Zecken übertragene Enzephalitiden und gesunden Kontrollen veröffentlicht. Hier ergaben sich höhere TLR2-Konzentrationen in beiden Patientengruppen als bei den gesunden Kontrollen.

Letztlich konnte festgestellt werden, dass TLR2 in die Entwicklung von inflammatorischen Prozessen bei verschiedenen entzündlichen Erkrankungen des ZNS involviert ist (Moniuszko-Malinowska et al. 2019).

### 1.3.2 TLR1

TLR1 bildet Heterodimere mit TLR2 und TLR10, wobei bei letzterer Verbindung noch keine genaueren Daten zur Funktion vorliegen (Hasan et al. 2005; Ozinsky et al. 2000). TLR1/2 erkennen zusammen Lipoproteine und einige Lipopeptide (siehe auch Kapitel 1.3.1 TLR2, Seite 10, Takeuchi et al. 2002; Wyllie et al. 2000).

Für menschliche mononukleare Zellen des peripheren Blutes konnte eine stark reduzierte Zytokin-Ausschüttung bei Blockade des TLR1-Rezeptors im Vergleich zum Wildtyp nach Borrelien-Exposition festgestellt werden (Oosting et al. 2011).

In einer Studie von 2002 wurde bei *TLR1* homozygot defizienten Mäusen, die die damalige OspA-Impfung gegen Borreliose erhalten hatten, eine geringere Antikörper-Produktion gegen OspA festgestellt als bei nicht TLR1-defizienten Mäusen (Alexopoulou et al. 2002).

Auch bei TLR1 gab es Untersuchungen bezüglich der Auswirkungen des Polymorphismus. *TLR1-1805GG* war vermehrt nachweisbar bei Patienten mit Arthritis, welche nicht auf Antibiotika angesprochen hatten im Vergleich zu Patienten mit antibiotikaresponsiver Arthritis und Patienten mit *Erythema migrans*. Patienten mit *Erythema migrans* und der *TLR1-1805GG*-Variante hatten höhere Zytokin-Konzentrationen und schwerere Verläufe als Patienten mit der *TLR1-1805TG/TT*-Variante (Strle et al. 2012).

Untersuchungen zur quantitativen Messung von TLR1 im Liquor oder Serum bei Patienten mit akuter Neuroborreliose im Hinblick auf einen potentiellen Marker zur Diagnosestellung wurden bisher nicht durchgeführt und sollen deshalb Teil der vorliegenden Arbeit sein.

### 1.3.3 TLR8

Nachdem zwischen 2004 und 2010 gezeigt wurde, dass TLR8 an virale und bakterielle Antigene bindet (Davila et al. 2008; Engin et al. 2010; Gantier et al. 2010; Heil et al. 2004), wurde auch die Reaktion von TLR8 auf Borrelien getestet.

Die Phagozytose von lebenden Borrelien durch menschliche Monozyten führte zu einer vermehrten Transkription von TLR2 und TLR8 und damit zu einer Zytokin-Induktion und



Transkription von IFN- $\beta$  (Cervantes et al. 2011). Borrelien-RNA stellte sich dabei als Antigen zur Aktivierung von TLR8 heraus (Cervantes et al. 2013).

Eine homozygote *TLR8*-Defizienz bei murinen dendritischen Zellen führte zu einer erhöhten Expression und Überempfindlichkeit von TLR7, welche auch schon bei geringer Stimulation mit einer stärkeren Immunantwort reagierten. Mäuse mit einer homozygoten *TLR8*-Defizienz entwickelten eine Splenomegalie, eine defekte Entwicklung der Marginalzone der Milz und der B-Zellen, erhöhte Serum-Konzentrationen von IgM und IgG, Autoantikörper gegen Ribonukleoproteine und Doppelstrang-DNA und Glomerulonephritis (Demaria et al. 2010).

### 1.3.4 TLR5

Die Flagellen von Borrelien führen als Antigene zu einer Immunantwort beim Menschen. Anhand von verschiedenen rekombinanten Flagellen-Antigenen von *Borrelia burgdorferi* konnte eine Antikörperproduktion gegen diese Antigene bei Patienten mit Borreliose festgestellt werden (Gilmore et al. 1999; Wallich et al. 1990).

Die Stimulation von humanen Monozyten mit Antigenen von *Borrelia-burgdorferi*-Flagellen führte zu einer vermehrten Expression von TLR5 (Cabral et al. 2006).

Bei Microglia und Astrozyten des Rhesus-Affen, welcher als einziges Tier-Modell Symptome einer Neuroborreliose entwickelt, wurde nach Phagozytose von *Borrelia burgdorferi* eine verstärkte Expression von TLR1, 2, 4 und 5 beobachtet (Bernardino et al. 2008).

Auch für TLR5 wurde ein Polymorphismus entdeckt. Die Variante *TLR5392STOP* führt zur Beeinträchtigung der Funktion zum Erkennen des Flagellen-Antigens von Bakterien. Dies könnte laut den Autoren auch ein Hinweis auf die unterschiedliche Anfälligkeit der Menschen für bakterielle Infektionen sein (Hawn et al. 2003).

## 1.4 Das Chemokin CXCL13

Das Chemokine (C-X-C motif) ligand 13 (CXCL13, auch BCL = B lymphocyte chemoattractant, auch BCA-1 = B cell attracting chemokine 1) gehört zu der CXC-Chemokin-Familie. Es wurde gezeigt, dass CXCL13 durch Stimulation mit Lymphotoxin und TNF- $\alpha$  von folliculären dendritischen Zellen innerhalb von B-Zell-Follikeln, in menschlichen mononukleären Zellen des peripheren Blutes und bei Rhesus-Affen in endothelialen Zellen, Mikroglia, Makrophagen und T-Zellen gebildet wird. Durch Bindung

von CXCL13 an den Chemokine (C-X-C motif) receptor 5 (CXCR5) von B-Zellen und CD4+-T-Helfer-Zellen wird die Migration dieser und damit eine spezifische Antikörper-Produktion initiiert. Dies erklärt, warum CXCL13 früher ansteigt als die Borrelien-spezifischen Antikörper-Indizes (Ansel et al. 2000; Ngo et al. 1999; Moser et al. 2002; Narayan et al. 2005; Ramesh et al. 2009). Bei Rhesus-Affen war CXCL13 im Liquor eine Woche nach provozierter Neuroborreliose-Infektion positiv, wohingegen Borrelien-spezifische Antikörper erstmals drei Wochen nach Infektion festgestellt werden konnten (Ramesh et al. 2009).

Bei humanen Neuroborreliose-Infektionen besteht eine signifikante Korrelation zwischen der Konzentration von CXCL13 im Liquor, der Pleozytose im Liquor und der intrathekalen Synthese von Borrelien-spezifischen Antikörpern (Pícha et al. 2016; Cerar et al. 2013).

Auch bei anderen Erkrankungen des Zentralnervensystems wurde eine Produktion von CXCL13 im Liquor nachgewiesen, z. B. bei Meningitis/Meningoenzephalitis, neurologisch asymptomatischer unbehandelter HIV-Infektion, Neurosyphilis, ZNS-Lymphom, Tuberkulose und paraneoplastischen Syndromen (Waiß et al. 2017; Rupprecht et al. 2014; Rupprecht et al. 2007; Markowicz et al. 2018; Bremell et al. 2013; Gelderblom et al. 2007). Es wurde diskutiert, ob eine bestimmte Konzentration von CXCL13 im Liquor für Neuroborreliose pathognomonisch ist. Allerdings fanden sich bei Patienten mit Meningitis/Meningoenzephalitis, Neurosyphilis und ZNS-Lymphom CXCL13-Konzentrationen im Liquor über dem in der jeweiligen Studie festgelegten „Neuroborreliose-Cutoff“ (Markowicz et al. 2018; Rupprecht et al. 2007; Rupprecht et al. 2014; Schmidt et al. 2011).

Die bei der Neurosyphilis ähnlich hohen CXCL13-Konzentrationen im Liquor wurden auf ein für Spirochäten typisches Lipid-Antigen-Muster (Pam(3)C) zurückgeführt. Es induziert die CXCL13-Produktion in humanen Monozyten und ist ein Signal-Antigen für den TLR2-Rezeptor. Der Versuch TLR2 durch einen Antikörper zu blockieren, führte auch zu einer Blockierung der CXCL13-Produktion nach Infektion mit *Borrelia garinii*. Es wurde vermutet, dass TLR2 ein wichtiger Mediator für die Borrelien-assoziierte Produktion von CXCL13 ist (Rupprecht et al. 2007).

In den verschiedenen Studien ergab sich für CXCL13 im Liquor bei Neuroborreliose des Menschen eine Sensitivität zwischen 67 und 100 % und eine Spezifität zwischen 63 und 100 % bei Cutoff-Konzentrationen von 18 bis 1229 pg/ml. Der negative prädiktive Wert lag bei 100 % (Lintner et al. 2020; Rupprecht et al. 2014; Barstad et al. 2017; Henningson et al. 2016; Markowicz et al. 2018; Henningson et al. 2018; Maric et al. 2018; Ljøstad und

Mygland 2008; Schmidt et al. 2011; Senel et al. 2010; Hytönen et al. 2014). In einer Meta-Analyse aus 18 Studien (bis Januar 2018) mit insgesamt 618 Fällen akuter Neuroborreliose und 2326 Vergleichs-Fällen mit anderen neurologischen Erkrankungen betrug die gepoolte Sensitivität und Spezifität für CXCL13 im Liquor 89 % und 96 % (Cutoff 162 pg/ml) (Rupprecht et al. 2018).

Patienten mit einer kurzen Krankheitsdauer von  $\leq 8$  Tagen zeigen signifikant höhere CXCL13-Liquor-Konzentrationen als Patienten mit einer Krankheitsdauer von  $> 8$  Tagen (Senel et al. 2010). Betrachtet man die CXCL13-Konzentrationen im Liquor von Patienten vor und unter antibiotischer Therapie, so kommt es zu einem raschen Abfall unter der antibiotischen Therapie, was diesen Marker zu einem guten Verlaufsparemeter macht. Innerhalb einer Woche der Behandlung konnte bei Senel et al. ein signifikanter Abfall von im Mittel 90 Prozent-Punkten vom Ausgangswert bei 25 Verlaufskontrollen verzeichnet werden. Bei Hytönen et al. fiel der Median von 16770 pg/ml CXCL13 im Liquor vor der Behandlung auf 109 pg/ml nach Behandlung ( $n = 24$ ) (Senel et al. 2010; Bremell et al. 2013; Keça et al. 2015; Hytönen et al. 2014). In einer weiteren Untersuchung an 37 Patienten mit gesicherter Neuroborreliose und zunächst bei allen Patienten stark erhöhter Konzentration von CXCL13 im Liquor (Mittel 3524 ng/g), normalisierten sich die Werte vier Monate nach Behandlung bei 82 % der Patienten. Im Vergleich dazu hatten 10 % der Patienten nach der vierwöchigen Therapie einen negativen Antikörperindex (Ljøstad und Mygland 2008).

Für CXCL13 im Serum konnte kein Zusammenhang zur Neuroborreliose festgestellt werden (Wutte et al. 2011).

## 1.5 Post-Treatment-Lyme-Disease-Syndrom

Immer wieder berichten Patienten im Zusammenhang mit einer durchgemachten adäquat antibiotisch behandelten oder vermuteten Borreliose-Infektion von anhaltenden oder wiederkehrenden unspezifischen Symptomen wie Müdigkeit, Arthralgien, Myalgien, Kopfschmerzen, Nackensteifigkeit, Parästhesien, Schlafstörungen, Reizbarkeit, Gedächtnisstörungen, Wortfindungsstörungen und Konzentrationsstörungen, ohne dass eine akute Infektion entsprechend der aktuellen diagnostischen Kriterien nachweisbar wäre (Ljøstad und Mygland 2012; Nowakowski et al. 2003; Wormser et al. 2003; Picha et al. 2006; Asch et al. 1994). Die Schwierigkeit besteht darin, diese Beschwerden von Residuen abzugrenzen. Sie werden als Post-Treatment-Lyme-Disease-Syndrom oder Post-Lyme-

Disease-Syndrom (PLDS) benannt, wobei es bisher keine eindeutige Definition oder diagnostische Kriterien gibt.

Da es sich bei dem PLDS um sehr unspezifische Symptome handelt, die auch vollkommen unabhängig oder im Rahmen von anderen Erkrankungen auftreten können, wurde versucht, einen möglichen Zusammenhang über die Anwendung von Fragebögen und neuropsychologischen Testungen zu objektivieren (Hickie et al. 2006; Picavet und Schouten 2003; Aggarwal et al. 2006; Morphy et al. 2007).

Die bisherige Datenlage ist sehr heterogen, sowohl in Bezug auf die verschiedenen Borreliose-Manifestationen (Neuroborreliose, *Erythema migrans*, Borreliose-Arthritis), als auch auf die angewendeten Testverfahren (Short Form-36 Health Assessment Questionnaire, Fatigue Severity Scale, Beck Depression Inventory, Body Pain Index, Center for Epidemiologic Studies Depression Scale, Montgomery-Asberg Depression Rating Scale, Starkstein Apathy Scale, Profile of Mood States, Mini-Mental State Examination, Trail Making Test, Stroop Test, Digit Symbol Test, California Verbal Learning Test, Symptom-Checklist-90®, Wechsler Memory Scale, Wechsler Adult Intelligence Scale, Rey-Osterrieth Complex Figure Test, Minnesota Multiphasic Personality Inventory, strukturierte psychiatrische Interviews, Positive and Negative Affect Schedule, Lyme Disease Symptom Checklist, Chalder Fatigue Scale und weitere). Auch die Zeiträume zwischen Infektion und der Untersuchung nach antibiotischer Therapie variierten um bis zu 20 Jahre.

Bezüglich der Ergebnisse gibt es Studien, in denen kein vermehrtes Vorkommen unspezifischer Symptome bei erwachsenen Patienten oder Kindern nach behandelter Neuroborreliose (Dersch et al. 2015; Kalish et al. 2001; Skogman et al. 2008; Skogman et al. 2012; Vazquez et al. 2003) und nach behandelten anderen Manifestationen der Borreliose (Seltzer et al. 2000; Kalish et al. 2001; Cerar et al. 2010; Kaplan et al. 2003) im Vergleich zu Kontrollpersonen gefunden wurde. In anderen Studien hingegen fand sich ein signifikant vermehrtes Vorkommen der genannten Beschwerden bei Kindern und Erwachsenen nach behandelter Neuroborreliose (Eikeland et al. 2012; Eikeland et al. 2011; Vrethem et al. 2002) und nach anderen behandelten Manifestationen der Borreliose (Aucott et al. 2013; Shadick et al. 1994; Shadick et al. 1999; Benke et al. 1995; Bujak et al. 1996; Fallon et al. 2008; Gaudino et al. 1997; Kaplan et al. 1992; Keilp et al. 2006; Krupp et al. 1991; Elkins et al. 1999; Asch et al. 1994; Shotland et al. 2003; Weitzner et al. 2015). Defizite wurden, auch im Vergleich mit anderen Erkrankungen wie Depression und Fibromyalgie, signifikant häufiger in den Bereichen Reaktionsgeschwindigkeit, geistige Flexibilität,

Sprachflüssigkeit, visuelles und verbales Gedächtnis, Aufmerksamkeit und Konzentration gefunden. Hinzu kommt ein häufigeres Auftreten von Fatigue, Schlafstörungen, negativer Stimmung und Stimmungsschwankungen sowie Schmerzen (Eikeland et al. 2012; Eikeland et al. 2011; Bujak et al. 1996; Fallon et al. 2008; Gaudino et al. 1997; Kaplan et al. 1992; Keilp et al. 2006; Krupp et al. 1991; Benke et al. 1995; Shadick et al. 1994; Shadick et al. 1999). Dabei korrelieren persistierende Symptome mit einer schweren Organbeteiligung während der akuten Infektion (Asch et al. 1994).

In einem systematischen Review mit 44 Studien (von 1986 bis 2014) fanden sich bei 28 % der Patienten residuelle Symptome für den jeweils zuletzt berichteten Untersuchungszeitpunkt nach durchgemachter antibiotisch behandelter Neuroborreliose (in 34 Studien, Kontroll-Zeit nach antibiotischer Behandlung sieben Tage bis 20 Jahre). Die Prävalenz der Symptome war in Studien mit dem Einschlusskriterium „wahrscheinliche/sichere“ Diagnose signifikant niedriger als bei Studien, in denen auch Patienten mit „möglicher“ Borreliose eingeschlossen wurden. Bei Studien mit „wahrscheinlicher/sicherer“ Borreliose fanden sich keine derart unspezifischen Symptome wie z. B. Fatigue, sodass es sich bei Studien mit „möglicher“ Borreliose durchaus auch um andere differentialdiagnostisch in Erwägung zu ziehende Erkrankungen handeln könnte. Es wurde geschlussfolgert, dass der Begriff PLDS durch unzureichende Diagnose-Kriterien in den Studien durch unspezifische Symptome überlagert sein könnte (Dersch et al. 2016). So fand sich beispielsweise in Deutschland bei 39 % von 122 Patienten, die mit Verdacht auf (V. a.) „chronische Borreliose“ in einem entsprechenden Zentrum vorgestellt wurden, eine andere behandelbare Erkrankung, bei 25 % bestand kein Hinweis auf eine Borreliose und bei 30 % gab es eine positive Borrelien-Serologie, aber ohne akute Infektion (Djukic et al. 2011). Auch in Frankreich ließ sich bei 301 vorgestellten Patienten mit V. a. chronische Borreliose lediglich bei 29 Patienten die Diagnose bestätigen, eine mögliche Borreliose lag bei neun Patienten vor. Bei den übrigen 243 Patienten wurden andere Erkrankungen diagnostiziert. Die Autoren gaben an, dass die Patienten mit anderen Erkrankungen im Vergleich mit den Borreliose-Patienten signifikant jünger waren, mehr Symptome, eine längere Dauer der Symptome, weniger klinische Hinweise und häufig keine positive Borrelien-Serologie hatten (Haddad et al. 2019). Weitere Studien bestätigen die Bedeutung der differentialdiagnostischen Abklärung (Ljøstad und Mygland 2012; Morgen et al. 2001; Seidel et al. 2007).

Vor diesem Hintergrund wurden 2006 von der *Infectious Diseases Society of America* (IDSA) folgende Diagnose-Kriterien für das PLDS überlegt, die aber in bisherigen Studien

noch nicht vollständig berücksichtigt wurden: eine vorausgegangene, nach allgemein gültigen Standards gesicherte Borreliose, die sich unter einer gängigen antibiotischen Therapie gebessert oder stabilisiert hat; ein Auftreten der Beschwerden innerhalb von sechs Monaten nach Diagnosestellung, unter Ausschluss einer anderen Ätiologie; ein Anhalten über mindestens sechs Monate nach Abschluss der Antibiotika-Therapie (Wormser et al. 2006).

Viele Studien haben gezeigt, dass die Borreliose durch antibiotische Therapie in den meisten Fällen geheilt wird. Patienten mit objektivierbarem Therapie-Versagen sind selten. Je länger die Symptomatik besteht, umso länger kann es dauern, bis die antibiotische Therapie wirkt, auch Residuen nach antibiotischer Therapie sind möglich (Borg et al. 2005; Smith et al. 2002; Nowakowski et al. 2003; Wormser et al. 2003; Dattwyler et al. 1988; Pfister et al. 1991). Eine verlängerte oder erneute antibiotische Therapie aufgrund möglicher Post-Borreliose-Beschwerden hat in den bisher veröffentlichten Studien keinen rechtfertigenden therapeutischen Nutzen im Hinblick auf eine Verbesserung des Gesundheitsstatus erbracht (Kaplan et al. 2003; Krupp et al. 2003; Fallon et al. 2008; Dattwyler et al. 2005; Oksi et al. 2007; Sjöwall et al. 2012; Wormser et al. 2003).

## **1.6 Fragestellung**

Haupt-Ziel der vorliegenden Arbeit war es, zu prüfen, ob bestimmte TLR, für die bisher ein Zusammenhang mit der Erkennung von Borrelien-Antigenen festgestellt werden konnte, bei der akuten Neuroborreliose im Liquor und Serum erhöht messbar sind und damit zu prüfen, ob sie zukünftig einen möglichen diagnostischen Nutzen haben könnten (s. Kapitel 1.3 Toll-Like-Rezeptoren, Seite 8).

Zusätzlich sollte der unspezifische, aber zuletzt als diagnostisch hilfreich eingestufte Marker CXCL13 hinsichtlich seiner diagnostischen Fähigkeiten und als Verlaufsparemeter überprüft werden (s. Kapitel 1.4 Das Chemokin CXCL13, Seite 13).

Das subjektive Erleben von kognitiven Defiziten und körperlichen Einschränkungen wie bei einem PLDS wird von den Patienten im Alltag als stark beeinträchtigend beschrieben. Auch während der akuten Infektion ist das Ausmaß der Beschwerden oft erheblich. Ziel war es deshalb, diese Beschwerden bei Patienten mit akuter Neuroborreliose und Z. n. Neuroborreliose im Vergleich mit gesunden Kontrollen zu objektivieren und zu prüfen, ob

ein Zusammenhang von der Aktivität der Infektion und der Konzentration der biochemischen Marker vorliegt.

## **2 Material und Methoden**

Die Untersuchungen zu der vorliegenden Studie wurden im Rahmen des Ethikantrages mit der Nummer 3/9/11 von der Ethikkommission der medizinischen Fakultät der Universität Göttingen genehmigt.

### **2.1 Patientenkollektiv**

Das Patientenkollektiv umfasste insgesamt 94 Patienten. Davon waren 44 Patienten von Januar 2010 bis Dezember 2011 im Rahmen ihrer Erkrankung in der Neuroborreliose-Ambulanz der Universitätsmedizin Göttingen vorstellig geworden oder stationär aufgenommen worden. Neben dem Patientenkollektiv wurden nach Durchsicht von Liquoranforderungsbögen weitere 20 Patienten aus diesem Zeitraum in die Studie eingeschlossen, die auswärts oder im Universitätsklinikum Göttingen behandelt worden waren. Weitere 30 Patienten mit Neuroborreliose wurden in der Elbe Klinik Stade im Zeitraum von 2012 bis 2017 stationär behandelt. Vor Ort wurden die Patienten über die Studie aufgeklärt und das Einverständnis für die Teilnahme an der Studie eingeholt.

Sofern Verlaufsuntersuchungen bezüglich einiger Parameter verfügbar waren, wurden diese ebenfalls in die Studie aufgenommen.



**Tabelle 4: Ein- und Ausschlusskriterien für das Patientenkollektiv**

<b>Einschlusskriterien</b>	<b>Ausschlusskriterien</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Erfüllung der Diagnose-Kriterien für „wahrscheinliche“ und „gesicherte“ Neuroborreliose der Deutschen Gesellschaft für Neurologie nach den aktuellen Leitlinien (Rauer et al. 2018, s. Kapitel 1.2.3 Diagnostik, Seite 5) oder Zustand nach antibiotischer Therapie einer „wahrscheinlichen“ oder „gesicherten“ Neuroborreliose</li> <li>• Mindestalter 18 Jahre zum Untersuchungszeitpunkt und Einwilligungsfähigkeit</li> <li>• Sehr gute Kenntnisse der deutschen Sprache</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• andere Erkrankungen, die Einfluss auf die Untersuchungen haben könnten</li> <li>• vorangegangene andere Erkrankung, die Einfluss auf die Untersuchungen haben könnten</li> <li>• Entzug der Zustimmung während der Untersuchungen</li> <li>• Unvollständige Diagnostik (z. B. Ablehnung der Lumbalpunktion (LP) oder einzelne Parameter im Labor nicht bestimmt)</li> <li>• Unzureichendes Probenmaterial</li> </ul>

Im Rahmen der Abklärung des Verdachtes auf Neuroborreliose wurden entsprechende Untersuchungen, wie Borrelien-Serologie und Liquor-Analyse sofort durchgeführt. Sofern danach noch Liquor und Serum zur Verfügung standen, wurden diese nach Aufbereitung im Labor für die Untersuchungen von CXCL13 und den TLR bei -20°C eingefroren. Für die Studie wurden keine Eingriffe an den Patienten durchgeführt, die nicht zur Abklärung der Erkrankung notwendig gewesen wären und es wurde auch quantitativ nicht mehr Material als üblich gewonnen. Die anamnestischen Daten wurden aus den Akten bzw. der Befragung der Patienten entnommen. Zusätzlich erfolgte eine neuropsychologische Testung, die entweder während des stationären Aufenthaltes oder an einem gesonderten Termin durchgeführt wurde.

Für alle Patienten wurden, soweit vorhanden und soweit die Patienten einverstanden waren, folgende Daten erhoben: Alter, Geschlecht, Familienstand, Grad der Ausbildung, Dauer der Symptome, Hauptsymptome bei Vorstellung, antibiotische Vorbehandlung innerhalb des letzten Monats vor der LP, Diagnosen, Ergebnisse von Borrelien-PCR, Borrelien-spezifische Antikörper im Serum, Liquor-Befunde und Neuropsychologische Testung (s.u.).

Aus den Befunden ergaben sich folgende Patienten-Gruppen:

**Tabelle 5: Patienten-Gruppen**

<b>Akute Neuroborreliose</b>	<b>Z. n. Neuroborreliose</b>
n = 77	n = 17
Liquor: Leukozytenzahl > 4/ $\mu$ l und Borrelien-spezifischer AI für IgG oder IgM $\geq$ 1,5	Liquor: Leukozytenzahl unauffällig und Borrelien-spezifischer AI für IgG oder IgM $\geq$ 1,5

## 2.2 Kontrollgruppe

Die Kontrollgruppe setzt sich zum einen aus 77 Personen zusammen, welche sich ambulant oder stationär in der Universitätsmedizin Göttingen oder dem Elbe Klinikum Stade vorstellten. Eine Neuroborreliose und andere Erkrankungen wurden durch eine umfangreiche Differentialdiagnostik ausgeschlossen. 37 weitere gesunde Probanden wurden durch Aushänge rekrutiert. Diese erklärten sich zu einer Blutabnahme im Rahmen der Studie bereit. Alle Kontroll-Personen erhielten keinerlei Vergütung o. ä. für ihre Teilnahme an dieser Studie, da diese aus intrinsischen Gründen erfolgen sollte, um Fehler bezüglich einer monetär getriebenen Motivation auszuschließen.

**Tabelle 6: Ein- und Ausschlusskriterien für die Kontrollgruppe**

<b>Einschlusskriterien</b>	<b>Ausschlusskriterien</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• keine Vorerkrankungen des Nervensystems oder der Psyche bzw. andere schwerwiegende körperliche oder seelische Erkrankungen, die die Lebensqualität und den Alltag der Probanden einschränken bzw. die Untersuchungen der Studie beeinflussen könnten</li> <li>• keine akute Borreliose oder Borreliose in der Vorgeschichte (Bestätigung durch Serologie)</li> <li>• Mindestalter 18 Jahre zum Untersuchungszeitpunkt und Einwilligungsfähigkeit</li> <li>• Alter, Geschlecht und Bildung auf Patientenkollektiv abgestimmt</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Vorerkrankungen des Nervensystems oder der Psyche bzw. andere schwerwiegende körperliche oder seelische Erkrankungen</li> <li>• Entzug der Zustimmung während der Untersuchungen</li> </ul>

## 2.3 Diagnostische Marker

Aufgrund der unterschiedlichen Zusammensetzungen der Patienten- und der Kontrollgruppe sowie unterschiedlicher Zustimmungen der Personen, wurden nicht alle Untersuchungen an allen Personen durchgeführt, sodass sich, je nach Untersuchung, unterschiedliche Gruppen-Zusammensetzungen für die Auswertungen ergaben.

### 2.3.1 CXCL13-ELISA

Der für die Studie verwendete *Quantikine® Human CXCL13/BLC/BCA-1 Immunoassay* stammt von der Firma *R&D Systems, Inc.* (Minneapolis, Minnesota, Vereinigte Staaten von Amerika). Er basiert auf einer quantitativen Sandwich-Enzym-Immunoassay-Technik. Dabei ist bereits ein monoklonaler Antikörper auf die 96 Kavitäten der Versuchsplatte aufgetragen, der für CXCL13 spezifisch ist. Die Standard-Verdünnungsreihe und die Patientenproben werden in die Vertiefungen pipettiert. Enthält die Probe CXCL13, wird dieses von den Antikörpern gebunden. Nach anschließendem Auswaschen der überflüssigen

Substanzen wird ein für CXCL13 spezifischer monoklonaler Antikörper hinzugegeben, an den ein Enzym gebunden ist. Nach einem weiteren Auswasch-Vorgang wird eine Substrat-Lösung in die Kavitäten pipettiert, welches zu einer quantitativ sichtbaren Färbung der einzelnen Kavitäten führt, je nach Menge des CXCL13, das in der jeweiligen Patientenprobe vorhanden war. Diese Reaktion wird durch eine Stopp-Lösung abgeschlossen, sodass die Intensität der Färbung mittels eines dafür vorgesehenen Photometers bei 450 nm (Korrekturwellenlänge 540 nm oder 570 nm) ausgemessen werden kann. Aus der zuvor auf der Platte angelegten Standard-Verdünnungsreihe und der optisch gemessenen Dichte (OD) kann die Konzentration berechnet werden. Dafür wurde die Software *GraphPad Prism* (*GraphPad Software, Inc., San Diego, Kalifornien, USA*) verwendet. Der Messbereich liegt laut Hersteller zwischen 7,8 und 500 pg/ml. Bei über dem Messbereich liegenden Konzentrationen wurden Verdünnungsreihen der Proben angelegt, um die Konzentration zu ermitteln.

## 2.3.2 TLR-ELISA

### 2.3.2.1 TLR1-ELISA

Für die ersten in Göttingen untersuchten Proben wurde das *GSI Human TLR1 ELISA Kit* von der Firma *Genorise* (Glenn Mills, Pennsylvania, Vereinigte Staaten von Amerika) verwendet. Es basiert auf dem gleichen Prinzip, wie es bereits beim CXCL13-ELISA beschrieben ist (s. Kapitel 2.3.1 CXCL13-ELISA, Seite 23). Der Bereich, den der TLR1-ELISA detektieren kann, liegt zwischen 0,001 und 8 ng/ml. Die niedrigste Empfindlichkeit des Assay liegt laut Hersteller bei 0,0006 ng/ml. Für die Proben in Stade wurde der *SEB988Hu Enzyme-linked Immunosorbent Assay For Toll Like Receptor 1* der Firma *Cloud-Clone-Corp.* (Katy, Texas, Vereinigte Staaten von Amerika, früher *Uscn Life Science Inc.*) bezogen, da der von Genorise nicht mehr verfügbar war. Er funktioniert nach demselben Test-Prinzip. Der empfohlene Detektionsbereich liegt zwischen 0,312 und 20 ng/ml, die geringste nachweisbare Konzentration liegt laut Hersteller bei weniger als 0,127 ng/ml.

### 2.3.2.2 TLR2-ELISA

Zur TLR2-Bestimmung wurde der *E90663Hu Enzyme-linked Immunosorbent Assay For Toll Like Receptor 2* der Firma *Uscn Life Science Inc.* (später umbenannt in *SEA663Hu Enzyme-linked Immunosorbent Assay For Toll Like Receptor 2*, Firma *Cloud-Clone Corp.*) verwendet. Auch dieser ELISA beruht auf der quantitativen Sandwich-Enzym-Immunoassay-Technik, wie bereits oben beschrieben (s. Kapitel 2.3.1 CXCL13-ELISA,

Seite 23). Der empfohlene Detektionsbereich liegt zwischen 0,312 und 20 ng/ml. Die minimal nachweisbare Menge von TLR2 liegt laut Hersteller bei weniger als 0,112 ng/ml.

#### 2.3.2.3 TLR5-ELISA

Die Messung von TLR5 erfolgte mit dem *SEB990Hu Enzyme-linked Immunosorbent Assay For Toll Like Receptor 5* der Firma *Cloud-Clone Corp.* in dem gleichen Test-Prinzip wie bei den bisher vorgestellten ELISA. Der empfohlene Detektionsbereich wird von der Firma zwischen 0,78 und 50 ng/ml angegeben, mit einer minimal detektierbaren Menge von unter 0,30 ng/ml.

#### 2.3.2.4 TLR8-ELISA

Für die TLR8-Messung wurde der *E91991Hu Enzyme-linked Immunosorbent Assay For Toll Like Receptor 8* von dem Hersteller *Uscn Life Science Inc.* (später *SEB991Hu Enzyme-linked Immunosorbent Assay For Toll Like Receptor 8*, Firma *Cloud-Clone Corp.*) genutzt. Es wurde die gleiche Technik verwendet wie bei den anderen ELISA. Der empfohlene Erfassungsbereich liegt laut Hersteller zwischen 0,312 und 20 ng/ml, die minimal detektierbare Menge von TLR8 bei unter 0,122 ng/ml.

## **2.4 Neuropsychologische Testung**

Zur Feststellung kognitiver Defizite und funktioneller Beeinträchtigungen im Alltag im Sinne von PLDS-Beschwerden wurden computerbasierte Testverfahren und Fragebögen verwendet. Die computerbasierten Tests fanden für alle Patienten und einen Großteil der gesunden Probanden in einem eigens dafür vorgesehenen, schallisolierten und fensterlosen Testraum des Universitätsklinikums Göttingen statt, um mögliche Störreize zu verringern. War es aus organisatorischen, zeitlichen oder finanziellen Gründen für die freiwilligen gesunden Probanden nicht möglich anzureisen, fand auf Wunsch ein Hausbesuch statt (n = 19). Dabei wurde versucht, möglichst alle Störfaktoren zu minimieren, indem ein Raum ohne akustische Reize oder weitere Personen ausgewählt wurde.

Die untersuchten Personen wurden gebeten, die Fragebögen möglichst gewissenhaft und vollständig auszufüllen und anschließend die computergestützten Tests durchzuführen.

Die Fragebögen und Tests wurden in der folgenden Reihenfolge durchgeführt (Beschreibungen der einzelnen Fragebögen und Tests s. Kapitel 6.1 Neuropsychologische Untersuchungen, Seite 77):

**Tabelle 7: Reihenfolge der verwendeten Fragebögen und Tests**

<b>Reihenfolge der verwendeten Fragebögen und Tests</b>
Short-Form-36-Health-Survey (SF 36): Fragebogen zum Allgemeinen Gesundheitszustand
Pittsburgher Schlafqualitäts-Index (PSQI): Schlafqualitätsfragebogen
Fibromyalgia Impact Questionnaire (FIQ): Erfassung von Fibromyalgie-Symptomen
Symptomcheckliste von Derogatis (SCL-90-R): Symptomatische Belastung
World Health Organization Quality of Life Group (WHOQOL)-BREF: Erfassung gesundheitsbezogener Lebensqualität
State-Trait Anxiety Inventory (STAI) I und II: Angsterfassung
Beck-Depressionsinventar (BDI): Erfassung von Depressions-Symptomen
Brief Repeatable Battery (BRB) Wortlistentest (Selective Reminding Test = SRT) mit sechs Lern- und Frühabfrage-Durchgängen und einem Spätabfrage-Durchgang: Verbales Lernen und Gedächtnis
Brief Repeatable Battery (BRB) räumlicher Merkfähigkeitstest (Spatial Recall Test = SPART) mit drei Lern- und Frühabfrage-Durchgängen und einem Spätabfrage-Durchgang: Non-verbales Lernen und Gedächtnis
Faces-Symbol-Test (FST): Aufmerksamkeit, Arbeitsgedächtnis und frontale Exekutivfunktionen
Testbatterie zur Aufmerksamkeitsprüfung (TAP), davon Test „Alertness“ und „geteilte Aufmerksamkeit“: Aufmerksamkeit
TAP, davon „Go/Nogo“: Aufmerksamkeit und frontale Exekutivfunktionen
BRB Selective Reminding – Long Term: Verbales Lernen und Gedächtnis
BRB Spatial Recall – Long Term: Non-verbales Lernen und Gedächtnis

## 2.5 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung wurde mit dem Statistik-Programm *PASW Statistics*® durchgeführt. Grafische Darstellungen wurden mit dem Programm *GraphPad Prism* erstellt.

Die Prüfung auf Normalverteilung der Stichproben erfolgte grafisch mit Histogrammen und Q-Q-Diagrammen und rechnerisch mit dem Shapiro-Wilk-Test.

Die Signifikanz wurde für den  $\alpha$ -Fehler mit einem p-Wert  $< 0,05$  definiert.

Für nichtparametrische Vergleiche zwischen den drei Gruppen wurden der Kruskal-Wallis-Test und die einfaktorielle ANOVA (one way analysis of variance, einfaktorielle Varianzanalyse, s. nachfolgender Absatz) verwendet. Im Anschluss an den Kruskal-Wallis-Test bzw. der einfaktoriellen ANOVA wurde zur Ermittlung der Unterschiede zwischen jeweils zwei der drei Gruppen bei Varianzhomogenität nach Levene ein T-Test mit Bonferroni-Korrektur und bei Varianzheterogenität nach Levene der Games-Howell-Test angewandt.

Für die Suche nach Unterschieden zwischen nur zwei der drei Gruppen bei nichtparametrischer Verteilung, wurde die Signifikanz mit dem Mann-Whitney-U-Test berechnet.

Die Effektstärke von signifikanten Ergebnissen wurde zum einen mit Cohen's d als Effektstärkemaß für den Vergleich von Mittelwerten angegeben ( $|d| < 0,5$  kleiner Effekt;  $|d| = 0,5$  bis  $0,8$  mittlerer Effekt;  $|d| > 0,8$  großer Effekt; kann auch Werte über/unter 1 annehmen, dann ausgesprochen großer Effekt), zum anderen mit r als Effektstärkemaß für den Vergleich von Medianen ( $r < 0,3$  kleiner Effekt;  $r = 0,3$  bis  $0,5$  mittlerer Effekt;  $r > 0,5$  starker Effekt; Werte immer zwischen  $\pm 1$  standardisiert).

Bei Normalverteilung und Mehr-Gruppen-Vergleich wurde mittels einfaktorieller ANOVA ausgewertet. Generell wird empfohlen, in ein nichtparametrisches Verfahren überzugehen, sobald eine Voraussetzung für die ANOVA verletzt wird. Zuletzt wurde aber gezeigt, dass die einfaktorielle ANOVA gegenüber Verletzungen robust ist, solange mindestens 15 Versuchspersonen pro Gruppe vorhanden sind (Blanca et al. 2017; Schmider et al. 2010), sodass die Empfehlung als überholt gilt. Deshalb wurden bei einigen Auswertungen sowohl der Kruskal-Wallis-Test als auch die einfaktorielle ANOVA aufgeführt.

Die Bestimmung von Sensitivität und Spezifität einzelner Test-Methoden erfolgte über eine ROC-Kurve (receiver operating characteristic). Dabei kann die Fläche unter der Kurve (AUC = area under the curve) Werte zwischen null und eins annehmen (0,5 entspricht dem Zufall; je höher die Werte, umso besser die Diskriminierungsfähigkeit des Tests).

Für dichotome Verteilungen wurde mittels Chi-Quadrat-Test und bei kleinen Stichproben mit Fisher's Exakt-Test untersucht. Die Stärke des Zusammenhanges wurde mit dem korrigierten Kontingenzkoeffizienten K dargestellt (Werte zwischen 0 und 1, wobei 0 kein Zusammenhang und 1 einen großen Zusammenhang zeigt).

Bei der Auswertung der computerbasierten neuropsychologischen Testung wurden die Rohwerte in z-Werte transformiert, um diese zu standardisieren. Dabei galt -1,5 als Grenzwert, eine Unterschreitung als pathologisch (Spreeen und Strauss 1998; Arnaiz et al. 2004). Zum Vergleich der Patienten-Werte wurden anhand des Kontrollkollektivs Normwerte erstellt, sofern in der Literatur keine vorlagen.

Zur Berechnung von Korrelationen wurde bei metrischen Daten der Korrelationskoeffizient nach Pearson verwendet. Bei ordinal skalierten Daten wurde die Korrelation nach Spearman berechnet.



### 3 Ergebnisse

Zur besseren Lesbarkeit werden die Gruppen („akute Neuroborreliose“, „Z. n. Neuroborreliose“ und „gesunde Kontrollen“) im Text nachfolgend in Anführungszeichen geschrieben.

#### 3.1 Basis-Daten

Die Vorstellung der Patienten erfolgte aufgrund sehr unterschiedlicher Symptome. Meist handelte es sich nicht nur um ein Symptom, sondern um Symptom-Komplexe mit verschiedenen Beschwerden. In der Gruppe der „Patienten mit akuter Neuroborreliose“ standen Schmerzen verschiedenster Art als Ausdruck radikulitischer Beschwerden im Vordergrund, zum Teil mit Paresen und/oder Sensibilitätsstörungen im Sinne eines Bannwarth-Syndroms. Der zweithäufigste Vorstellungsgrund bei den „akut kranken Patienten“ war eine periphere Fazialis-Parese.

Kognitive Beeinträchtigungen traten bei „den an akuter Neuroborreliose erkrankten Patienten“ deutlich seltener auf als erwartet. Sie überwogen gegenüber anderen Symptomen bei Patienten, die sich ebenfalls mit dem V. a. eine Neuroborreliose vorgestellt hatten, bei denen aber weder eine Neuroborreliose noch eine andere Erkrankung für die Symptome festgestellt werden konnten und die deshalb in die „Gruppe der Kontrollen“ aufgenommen worden waren (s. Kapitel 2.2 Kontrollgruppe, Seite 22).

Die Dauer der Symptome, der „Patienten mit akuter Neuroborreliose“, bis zur ärztlichen Vorstellung, schwankte zwischen einigen Stunden (periphere Fazialisparese) und sechs Monaten (verminderte Belastbarkeit, Kopfschmerzen, Konzentrationsstörung).

Die Fälle der Gruppe mit „stattgehabter Neuroborreliose“ waren Patienten, die zuvor mit akuter Neuroborreliose vor Ort behandelt worden waren und im Verlauf eine Kontroll-Untersuchung erhielten. Damit wurde versucht, andere Ursachen für die Ergebnisse sowohl aus den Labortests als auch den neuropsychologischen Untersuchungen zu minimieren.

Es wurde versucht, Alter, Geschlecht und Ausbildung der „Kontroll-Gruppe“ an die Gruppe der „Patienten mit akuter Neuroborreliose“ anzupassen, um den Vergleich möglichst aussagekräftig zu machen.

Da für die Untersuchungen nicht mehr Liquor und Serum als üblich von den Patienten gewonnen wurde und zudem nicht alle Probanden die neuropsychologischen Tests (vollständig) durchgeführt hatten, unterschied sich die Zusammensetzung des

Untersuchungskollektives bei den einzelnen Untersuchungen. In der nachfolgenden Tabelle sind alle verfügbaren Daten der Fälle aufgeführt, auch wenn für die Einzel-Untersuchungen nicht alle verwendet werden konnten.

Tabelle 8: Basis-Daten der Gruppen

Parameter	Gesunde Kontrollen (n = 114)	Akute Neuroborreliose (n = 77)	Z.n. Neuroborreliose (n = 17)
<b><u>Demografische Daten</u></b>			
Alter (in Jahren) $\bar{X} \pm SD$	49 $\pm$ 16	59 $\pm$ 16	65 $\pm$ 11
Geschlecht männlich (in %)	51 (44,7 %)	54 (70,1 %)	13 (76,5 %)
<b><u>Ausbildung</u></b>			
Hauptschule	29	11	3
Realschule	21	4	2
Abitur	29	6	2
<b><u>Dauer der Symptome</u></b>			
Unklar	6	17	6
Bis zu 7 Tage (1 Woche)	9	22	0
1 bis 4 Wochen (1 Monat)	6	23	2
1 bis 12 Monate	21	15	7
ab 1 Jahr	35	0	2
<b><u>Hauptsymptome bei Vorstellung</u></b>			
Unklar	0	7	4
Schmerzen (Muskel-, Gelenke-, Kopf-), Paresen (auch begleitet von Sensibilitätsstörungen)	36	25	3
Kognitive Beschwerden (Konzentrations-, Gedächtnis-, Affekt-Störungen, Fatigue, Schlafstörungen)	2	2	2
Periphere Fazialisparese	0	22	2
Isolierte Sensibilitätsstörungen	4	5	0
Isolierte Sehstörungen	0	1	1
Gangstörung	1	1	2
Kognitive und körperliche Beschwerden	29	6	2
Andere (z. B. Herzrhythmusstörungen)	5	6	1
Mehrere der oben genannten Bereiche betroffen	0	2	0
<b><u>Wichtige Laborparameter</u></b>			
Zellzahl/ $\mu$ l CSF $\bar{X}$ (Minimum/ Maximum)	1 (0/4) (n = 65)	205 (5/1850)	2 (0/4)
Borrelispezifischer Antikörperindex IgM $\bar{X}$ (Minimum/ Maximum)	0,0 (0,0/0,0) (n = 51)	4,0 (0,0/41,6) (n = 74)	0,4 (0,0/7,2)
Borrelispezifischer Antikörperindex IgG $\bar{X}$ (Minimum/ Maximum)	0,4 (0,0/1,2) (n = 51)	14,3 (0,0/157,3) (n = 74)	14,2 (0,8/49,3)

$\bar{X}$  = Mittelwert, SD = Standardabweichung

## 3.2 Toll-Like-Rezeptoren bei Neuroborreliose

### 3.2.1 TLR1

#### 3.2.1.1 TLR1 im Liquor

Viele Konzentrationen von TLR1 im Liquor lagen unter den in beiden ELISA verwendeten unteren Nachweisgrenzen von 0,001 ng/ml (1 pg/ml), bzw. 0,312 ng/ml (312 pg/ml), sodass diese als „0,0 ng/ml“ festgelegt wurden (Tabelle zu den Messwerten s. Kapitel 6.2 Ergebnisse, Seite 82).

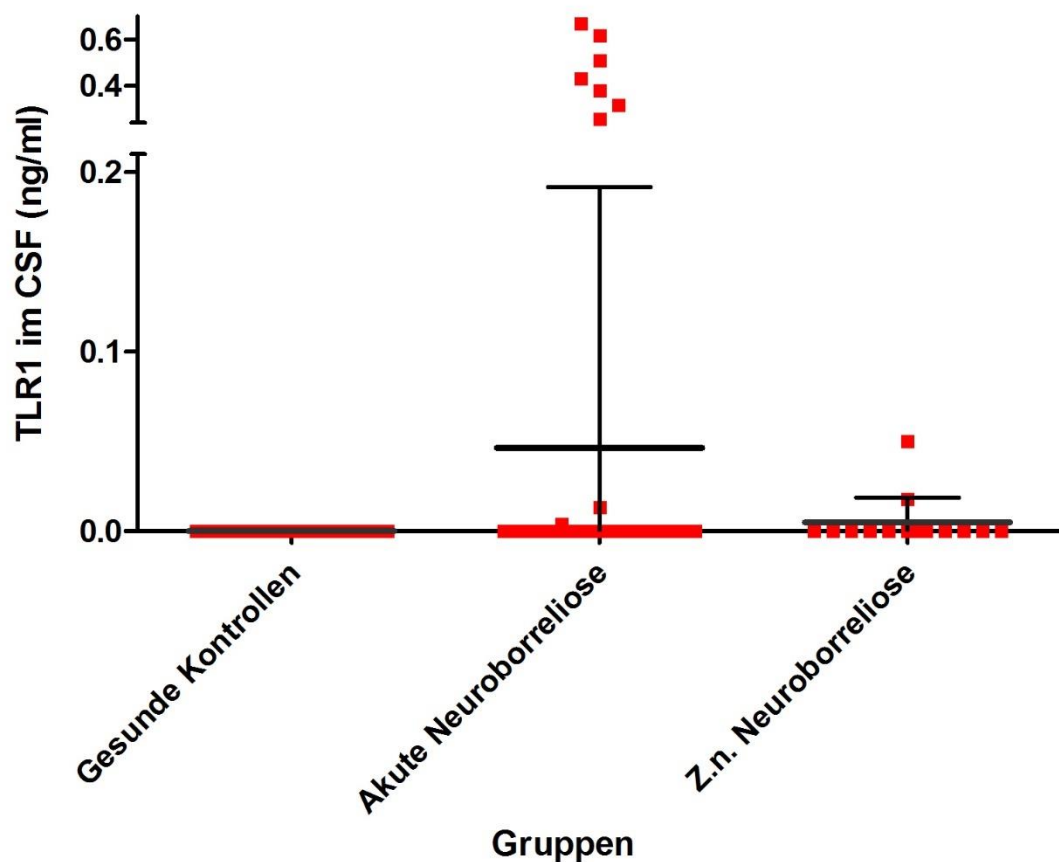


Abbildung 2: TLR1 im Liquor

Im Gruppenvergleich ergab sich ein signifikanter Unterschied für die Konzentration von TLR1 im Liquor zwischen den drei Gruppen „gesunde Kontrollen“ (n = 60), „akute Neuroborreliose“ (n = 69) und „Z. n. Neuroborreliose“ (n = 14) (Kruskal-Wallis-Test  $p = 0,014$ ; einfaktorielle ANOVA  $p = 0,030$ ). Dieser bezog sich auf den Vergleich der Gruppen „akute Neuroborreliose“ und „gesunde Kontrollen“ („akute Neuroborreliose“

$\bar{x}$  0,046 ng/ml  $\pm$  SD 0,145 ng/ml; „gesunde Kontrollen“  $\bar{x}$  0,0 ng/ml  $\pm$  SD 0,0 ng/ml; Post-Hoc-Test Games-Howell  $p = 0,027$ ; Effektstärke Cohen's  $d = -0,4$ ; Effektstärke  $r = -0,2$ ).

Wurden die TLR1-Konzentrationen im Liquor im Sinne von positiven Werten ( $> 0,001$  ng/ml; Spannbreite im Liquor 0,004 ng/ml bis 0,617 ng/ml) und negativen Werten ( $< 0,001$  ng/ml) definiert, ergab sich ebenfalls ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen „gesunde Kontrollen“ und „akute Neuroborreliose“ (Chi-Quadrat-Test nach Pearson  $p = 0,004$ ; Kontingenzkoeffizient  $K = 0,2$ ).

**Tabelle 9: Kreuztabelle zur Verteilung der TLR1-Ergebnisse im Liquor**

		<b>Gesund</b>	<b>Akute Neuroborreliose</b>	<b>Z.n. Neuroborreliose</b>	<b>Gesamt</b>
<b>TLR1 CSF</b>	<b>Negativ</b>	60	60	12	132
	<b>Positiv</b>	0	9	2	11
<b>Gesamt</b>		60	69	14	143

Die Sensitivität von TLR1 im Liquor bei „akuter Neuroborreliose“ (gegenüber „Gesunden“ und „Patienten mit Z. n. Neuroborreliose“) betrug 13,0 % bei einer Cut-off-Konzentration von 0,002 ng/ml. Die Spezifität lag bei 97,3 % (Fläche unter der ROC-Kurve 0,55, Signifikanz für die Fläche unter der ROC-Kurve  $p = 0,277$ ; Youden-Index 0,103).

Bei einigen Patienten hatte im Vorfeld eine antibiotische Behandlung stattgefunden. Der Zeitraum der Einflussnahme einer vorherigen antibiotischen Behandlung auf die Neuroborreliose wurde auf einen Monat festgelegt, da nach einem Monat, aufgrund der Halbwertszeiten der Antibiotika, keine Wirkung mehr im Körper zu erwarten war. Hinsichtlich der „akuten Neuroborreliose“ fand sich unter Betrachtung einer antibiotischen Behandlung innerhalb des letzten Monats kein signifikanter Unterschied für TLR1 im Liquor (unbehandelt  $n = 39$ ; vorbehandelt  $n = 23$ ; Mann-Whitney-U-Test  $p = 0,368$ ; s. Kapitel 6.2 Ergebnisse, Seite 82 und 84).

### 3.2.1.2 TLR1 im Serum

Für die Konzentrationen von TLR1 im Serum wurde kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen „gesunde Kontrollen“ ( $n = 16$ ), „akute Neuroborreliose“ ( $n = 31$ ) und „Z. n. Neuroborreliose“ ( $n = 2$ ) gefunden (Kruskal-Wallis-Test  $p = 0,515$ ; einfaktorische ANOVA  $p = 0,900$ ; Chi-Quadrat-Test bei „akuter Neuroborreliose“ und „gesunden Kontrollen“ bei Positiv-/Negativ-Zuordnung der Werte  $p = 0,615$ ). Die Spannbreite der

nachweisbaren Konzentrationen von TLR1 im Serum lag bei 0,328 ng/ml bis 8 ng/ml (17 bei Gruppe „akute Neuroborreliose“, 2 bei „Z. n. Neuroborreliose“, 10 bei den „gesunden Kontrollen“; Tabelle zu den Messwerten s. Kapitel 6.2 Ergebnisse, Seite 83).

Auch eine antibiotische Vorbehandlung innerhalb des letzten Monats hatte in der Gruppe der „Patienten mit akuter Neuroborreliose“ keinen Einfluss auf die Ergebnisse von TLR1 im Serum (unbehandelt n = 12; vorbehandelt n = 17; Mann-Whitney-U-Test p = 0,929; exakte Signifikanz nach Mann-Whitney-U für kleine Stichproben p = 0,983; s. Kapitel 6.2 Ergebnisse, Seite 83 und 84).

### 3.2.1.3 TLR1-Albumin-Quotient

In Anlehnung an den Immunglobulin-Quotienten zur Bestimmung einer intrathekalen Immunglobulin-Synthese wurde TLR1 nach dem gleichen Prinzip in das Verhältnis zum Albumin-Quotienten gesetzt, um einen etwaigen Übertritt von TLR1 aus dem Serum bei Schrankenstörung zu detektieren. Ein Reiber-Felgenhauer-Diagramm für TLR liegt nicht vor, sodass hier auf den IgG-Index zurückgegriffen wurde. Werte für die Berechnung eines  $Q_{lim}$  für TLR1 gibt es bisher nicht, sodass auch im Falle einer Blut-Liquor-Schrankenstörung die u.g. Formel angewendet wurde.

$$Quotient (TLR) = \frac{\left(\frac{TLR \text{ im Liquor}}{TLR \text{ im Serum}}\right)}{\left(\frac{Gesamtalbumin \text{ im Liquor}}{Gesamtalbumin \text{ im Serum}}\right)}$$

**Abbildung 3: Angepasste Formel zur Berechnung einer intrathekalen TLR-Synthese (TLR-Albumin-Quotient)**

In der Gruppe der „gesunden Kontrollen“ lag der TLR1-Albumin-Quotient bei allen verfügbaren Ergebnissen (n = 11) bei 0,0, sodass also auch keine intrathekale TLR-Produktion messbar war. In der Gruppe „akute Neuroborreliose“ (n = 17) fanden sich vier positive TLR1-Albumin-Quotienten, mit Werten zwischen 5,7 und 47,8, die übrigen waren negativ (n = 13, jeweils keine messbare lokale TLR-Produktion). Es lag kein signifikanter Unterschied zwischen den zwei Gruppen vor (exakter Mann-Whitney-U-Test für kleine Stichproben p = 0,306; Chi-Quadrat-Test p = 0,082; exakter Test nach Fisher p = 0,132). Für die Gruppe „Z. n. Neuroborreliose“ gab es zwei verfügbare Ergebnisse, die beide keine messbare intrathekale TLR-Produktion zeigten.

#### 3.2.1.4 TLR1 im Verlauf

Insgesamt wurden bei 14 „Patienten mit akuter Neuroborreliose“ Verlaufs-Liquor-Untersuchungen durchgeführt. Bei zwei Patienten war im Vorfeld innerhalb des letzten Monats vor LP eine antibiotische Behandlung durchgeführt worden. Person Nr. 3 hatte vor der ersten LP bereits 14 Tage lang Ceftriaxon 2g/d intravenös (i. v.) erhalten, sowie eine Antibiose (Wirkstoff unklar) aufgrund einer Divertikulitis 14 Tage zuvor. Person Nr. 5 war acht Tage lang vor der ersten LP mit Ceftriaxon 2g/d i. v. behandelt worden.

Bei den insgesamt drei Patienten (Patient Nr. 6, 9 und 13) mit initial erhöhten TLR1-Konzentrationen im Liquor fielen diese unter/ nach Behandlung auf eine nicht messbare Konzentration ab. Bei Patient Nr. 13 war TLR1 im Liquor bei der ersten LP noch nicht messbar. Erst drei Tage später, nachdem auch die Zellzahl im Liquor auf ihr Maximum angestiegen war, wurde TLR1 im Liquor positiv und fiel dann unter Behandlung weitere sieben Tage später wieder auf eine nicht messbare Konzentration.

Bei einer Person (Nr. 4) kam es erst im Verlauf (unter antibiotischer Behandlung) zu einem messbaren TLR1-Anstieg im Liquor, trotz initial bereits erhöhter Zellzahl.

In der nachfolgenden Tabelle zu den Verlaufsuntersuchungen von TLR1 sind die Personen mit Zahlen nummeriert, die Kleinbuchstaben geben die Verlaufsuntersuchungen an.

Tabelle 10: Übersicht über die Parameter bei den Verlaufsuntersuchungen zu TLR1

Nr.	Tage nach erster LP	TLR1 CSF (ng/ml)	TLR1 Serum (ng/ml)	Quotient*	Leukozyten/ µl CSF	AI IgM**	AI IgG***	Gruppe	Antibiose im letzten Monat vor LP
1a	0				530	2,1	4,8	Akute Neuroborreliose	nein
1b	164	0,000			7	14,6	3,2	Akute Neuroborreliose	ja
1c	407	0,000			1	0,0	29,3	Z.n. Neuroborreliose	ja
2a	0	0,000			84	7,1	6,4	Akute Neuroborreliose	nein
2b	66	0,000			13	6,2	9,6	Akute Neuroborreliose	ja
2c	133	0,000			3	0,0	17,0	Z.n. Neuroborreliose	ja
3a	0	0,000			5	0,0	10,2	Akute Neuroborreliose	ja
3b	105	0,000			4	0,0	6,0	Z.n. Neuroborreliose	ja
4a	0	0,000			79	0,5	1,6	Akute Neuroborreliose	nein
4b	8	0,257	0,328	47,8	68	1,3	10,8	Akute Neuroborreliose	ja
5a	0	0,000			258	0,0	0,9	Akute Neuroborreliose	ja
5b	6	0,000			98	0,0	18,5	Akute Neuroborreliose	ja
6a	0	0,004			36	8,8	26,3	Akute Neuroborreliose	nein
6b	4				50	5,5	13,9	Akute Neuroborreliose	ja
6c	16	0,000			34	8,2	21,4	Akute Neuroborreliose	ja
7a	0	0,000			1850	2,1	29,1	Akute Neuroborreliose	nein
7b	14	0,000			301	15,2	36,7	Akute Neuroborreliose	unklar
8a	0	0,000	0,000		9	0,0	0,0	Akute Neuroborreliose	nein
8b	6	0,000	0,560	0,0	26	0,0	0,0	Akute Neuroborreliose	ja
9a	0	0,510	0,752	27,1	136	0,0	0,0	Akute Neuroborreliose	nein
9b	7	0,000	0,000		87	0,0	0,0	Akute Neuroborreliose	ja
10a	0	0,000	0,523	0,0	357	16,0	1,3	Akute Neuroborreliose	nein
10b	11	0,000	0,409	0,0	199	0,0	2,0	Akute Neuroborreliose	ja
11a	0	0,000	1,117	0,0	166	0,0	6,8	Akute Neuroborreliose	nein
11b	11	0,000	1,596	0,0	1	0,0	8,0	Z.n. Neuroborreliose	ja
12a	0	0,000	0,000		166	0,0	4,9	Akute Neuroborreliose	nein
12b	7	0,000	0,000		98	0,0	21,0	Akute Neuroborreliose	ja
13a	0	0,000	0,332	0,0	407	1,8	22,0	Akute Neuroborreliose	nein
13b	3	0,432	0,000		1024	2,6	7,5	Akute Neuroborreliose	ja
13c	10	0,000	0,000		6	1,6	6,1	Akute Neuroborreliose	ja
14a	0	0,380	0,000		1640	0,0	3,6	Akute Neuroborreliose	nein
14b	4	0,000	0,452		9	0,0	1,8	Akute Neuroborreliose	ja
14c	12	0,000	0,369	0,0	22	0,0	0,8	Akute Neuroborreliose	ja

\* Quotient (TLR1 CSF/TLR1 Serum) / (Albumin CSF/Albumin Serum)

\*\* Borrelienspezifischer Antikörperindex für IgM

\*\*\* Borrelienspezifischer Antikörperindex für IgG

### 3.2.2 TLR2

#### 3.2.2.1 TLR2 im Liquor

Für die Konzentrationen von TLR2 im Liquor bei 59 „gesunden Personen“, 63 „Patienten mit akuter Neuroborreliose“ und 13 „Patienten mit Z. n. Neuroborreliose“ ergab sich kein signifikanter Unterschied (Kruskal-Wallis-Test  $p = 0,209$ ; einfaktorielle ANOVA  $p = 0,612$ ; Tabelle zu den Messwerten s. Kapitel 6.2 Ergebnisse, Seite 84). Auch bei einer Wert-Zuordnung in positive und negative Werte (analog zu TLR1) ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen „Patienten mit akuter Neuroborreliose“ und den „gesunden Kontrollen“ (Chi-Quadrat-Test  $p = 0,331$ ).

**Tabelle 11: Kreuztabelle zur Verteilung der TLR2-Ergebnisse im Liquor**

		Gesund	Akute Neuroborreliose	Z.n. Neuroborreliose	Gesamt
TLR2 CSF	Negativ	0	1	0	1
	Positiv	59	62	13	134
Gesamt		59	63	13	135

#### 3.2.2.2 TLR2 im Serum

Jedoch fand sich für TLR2 im Serum beim Gruppenvergleich zwischen 17 „gesunden Kontrollpersonen“, 31 „Patienten mit akuter Neuroborreliose“ und zwei „Patienten mit Z. n. Neuroborreliose“ ein deutlicher Unterschied (Kruskal-Wallis-Test  $p < 0,001$ ; exakte Signifikanz beim Kruskal-Wallis-Test für kleine Stichproben  $p < 0,001$ ; einfaktorielle ANOVA  $p < 0,001$ ). Im Post-Hoc-Vergleich der Gruppen „gesunde Kontrollen“ und „akute Neuroborreliose“ (Post-Hoc-Test Bonferroni  $p < 0,001$ ; Effektstärke Cohen's  $d = 1,8$ ; Effektstärke  $r = 0,7$ ) fanden sich die erhöhten TLR2-Konzentrationen jedoch bei den „gesunden Kontrollen“ und nicht bei den „akut kranken Patienten“ (Tabelle zu den Messwerten s. Kapitel 6.2 Ergebnisse, Seite 85).

**Tabelle 12: Kreuztabelle zur Verteilung der TLR2-Ergebnisse im Serum**

		Gesund	Akute Neuroborreliose	Z.n. Neuroborreliose	Gesamt
TLR2 Serum	Negativ	2	23	1	26
	Positiv	12	5	1	18
Gesamt		14	28	2	44



### 3.2.3 TLR5

#### 3.2.3.1 TLR5 im Liquor

Für TLR5 im Liquor fand sich kein signifikanter Unterschied zwischen den drei Gruppen (Kruskal-Wallis-Test  $p = 0,378$ ; exakte Signifikanz bei Kruskal-Wallis-Test für kleine Stichproben  $p = 0,225$ ; einfaktorielle ANOVA  $p = 0,227$ ; (Tabelle zu den Messwerten s. Kapitel 6.2 Ergebnisse, Seite 85). Auch bei Prüfung der Chi-Quadrat-Verteilung bei Positiv-/ Negativ-Zuordnung der Werte (analog zu TLR1) für die Gruppen „akute Neuroborreliose“ und „gesunde Kontrollen“ fand sich kein signifikanter Unterschied (Chi-Quadrat-Test  $p = 0,204$ ; exakter Test nach Fisher für kleine Stichproben  $p = 0,254$ ).

**Tabelle 13: Kreuztabelle zur Verteilung der TLR5-Ergebnisse im Liquor**

		Gesund	Akute Neuroborreliose	Z.n. Neuroborreliose	Gesamt
TLR5 CSF	Negativ	12	27	2	41
	Positiv	2	1	0	3
Gesamt		14	28	2	44

#### 3.2.3.2 TLR5 im Serum

Für TLR5 im Serum fand sich kein signifikanter Unterschied zwischen den drei Gruppen (Kruskal-Wallis-Test  $p = 0,471$ ; exakte Signifikanz im Kruskal-Wallis-Test für kleine Stichproben  $p = 0,545$ ; einfaktorielle ANOVA  $p = 0,895$ ; bei Positiv-/ Negativ-Zuordnung der Werte nach Nachweisgrenze des Herstellers für die Gruppen „akute Neuroborreliose“ und „gesunde Kontrollen“: Chi-Quadrat-Test nach Pearson  $p = 0,275$ ; exakter Test nach Fisher für kleine Stichproben  $p = 0,338$ ; (Tabelle zu den Messwerten s. Kapitel 6.2 Ergebnisse, Seite 85).

**Tabelle 14: Kreuztabelle zur Verteilung der TLR5-Ergebnisse im Serum**

		Gesund	Akute Neuroborreliose	Z.n. Neuroborreliose	Gesamt
TLR5 Serum	Negativ	5	15	1	21
	Positiv	9	13	1	23
Gesamt		14	28	2	44

### 3.2.4 TLR8

#### 3.2.4.1 TLR8 im Liquor

Bei TLR8 im Liquor ergab sich ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen (Kruskal-Walli-Test  $p = 0,008$ ; einfaktorielle ANOVA  $p = 0,012$ ) für den Vergleich von „gesunden Kontrollen“ und „akut kranken Neuroborreliose-Patienten“ (Post-hoc-Test Games-Howell-Test  $p = 0,019$ ) sowie „akut Kranken“ und „Patienten mit Z. n. Neuroborreliose“ (Post-hoc-Test Games-Howell-Test  $p < 0,001$ ; Tabelle zu den Messwerten s. Kapitel 6.2 Ergebnisse, Seite 86).

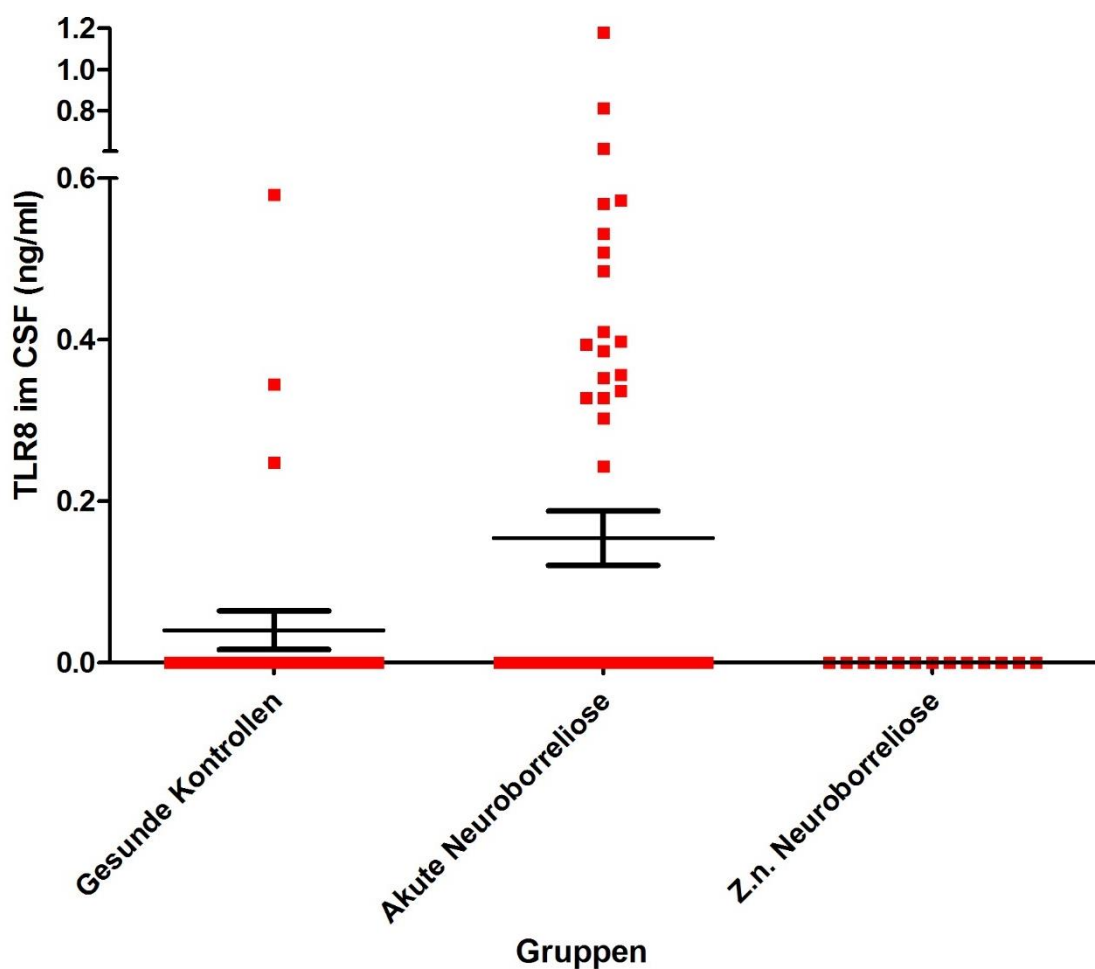


Abbildung 4: TLR8 im Liquor

Bei Zuordnung der Konzentrationen in positiv und negativ nach Nachweisgrenze des Herstellers (analog zu TLR1) ergab sich im Chi-Quadrat-Test nach Pearson beim Vergleich der „gesunden Kontrollen“ und der „Patienten mit akuter Neuroborreliose“ ein signifikanter Unterschied (Chi-Quadrat-Test nach Pearson  $p = 0,026$ ; exakter Test nach Fisher bei kleinen Stichproben  $p = 0,035$ ; Kontingenzkoeffizient  $K = 0,2$ ).

**Tabelle 15: Kreuztabelle zur Verteilung der TLR8-Ergebnisse im Liquor**

		Gesund	Akute Neuroborreliose	Z.n. Neuroborreliose	Gesamt
TLR8 CSF	Negativ	26	40	13	79
	Positiv	3	19	0	22
Gesamt		29	59	13	101

Für TLR8 im Liquor bestand eine Sensitivität von 30,5 % bei „Patienten mit akuter Neuroborreliose“ (gegenüber „gesunden Kontrollen“ und „Patienten mit Z. n. Neuroborreliose“). Die Spezifität lag bei 95,2 % für eine Cut-off-Konzentration von 0,276 ng/ml (Fläche unter der ROC-Kurve 0,63, Signifikanz für die Fläche unter der ROC-Kurve  $p = 0,029$ , Youden-Index 0,257).

Auch für die TLR8-Konzentration im Liquor wurde der mögliche Einfluss einer antibiotischen Vorbehandlung bis zu einem Monat vor der Probenentnahme bei den „Patienten mit akuter Neuroborreliose“ überlegt. Hier fand sich ein signifikanter Unterschied (vorbehandelt  $n = 21$ , unbehandelt  $n = 31$ , Mann-Whitney-U-Test  $p = 0,005$ ) mit einem Mittelwert von 0,183 ng/ml bei den unbehandelten und einem Mittelwert von 0,020 ng/ml bei den vorbehandelten Patienten (s. Kapitel 6.2 Ergebnisse, Seite 86 und 87).

**Tabelle 16: Kreuztabelle zur Verteilung der TLR8-Ergebnisse im Liquor bei akuter Neuroborreliose mit und ohne antibiotische Vorbehandlung bis zu einem Monat vor LP**

		Antibiotische Vorbehandlung innerhalb des letzten Monats vor LP		Gesamt
		Nein	Ja	
TLR8 CSF	Negativ	18	20	38
	Positiv	13	1	14
Gesamt		31	21	52

#### 3.2.4.2 TLR8 im Serum

TLR8 im Serum unterschied sich nicht signifikant zwischen den drei Gruppen „akute Neuroborreliose“, „Z. n. Neuroborreliose“ und „gesunde Kontrollen“ (Kruskal-Wallis-Test  $p = 0,484$ ; exakte Signifikanz beim Kruskal-Wallis-Test für kleine Stichproben  $p = 0,430$ ; einfaktorielle ANOVA  $p = 0,404$ ; Tabelle zu den Messwerten s. Kapitel 6.2 Ergebnisse, Seite 87). Auch bei Positiv-/ Negativ-Zuordnung der Konzentrationen nach Nachweisgrenze des Herstellers (analog zu TLR1) ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen den

Gruppen „akute Neuroborreliose“ und „gesunde Kontrollen“ (Chi-Quadrat-Test nach Pearson  $p = 0,578$ ; exakter Test nach Fisher für kleine Stichproben  $p = 0,697$ ).

#### 3.2.4.3 TLR8-Albumin-Quotient

Zur Bestimmung einer möglichen intrathekalen Synthese von TLR8 wurde die bereits unter dem Abschnitt 3.2.1 TLR1, Seite 31, erläuterte Formel auf die vorliegenden Ergebnisse übertragen. Bei allen verfügbaren Ergebnissen („gesunde Kontrollen“  $n = 2$ , „Patienten mit akuter Neuroborreliose“  $n = 6$ , „Patienten mit Z. n. Neuroborreliose“  $n = 1$ ) lag der ermittelte Wert des TLR8-Albumin-Quotienten bei null.

#### 3.2.4.4 TLR8 im Verlauf

Insgesamt wurden von zwölf „Patienten mit akuter Neuroborreliose“ Verlaufsuntersuchungen zu TLR8 gemacht. Hier ergab sich bei drei Patienten ein Abfall der initial erhöhten TLR8-Konzentration im Liquor auf eine nicht mehr messbare Konzentration 14 bis 66 Tage nach der ersten LP. Bei den übrigen neun Patienten war die Konzentration von TLR8 im Liquor initial nicht messbar und im Verlauf auch nicht (Tabelle zu den einzelnen Fällen s. Kapitel 6.2 Ergebnisse, Seite 88).

### **3.3 CXCL13 bei Neuroborreliose**

#### **3.3.1 CXCL13 im Liquor**

Insgesamt wurde der Liquor von 118 Personen auf CXCL13 im Liquor untersucht, wovon 45 „gesunde Kontrollen“, 59 „Patienten mit akuter Neuroborreliose“ und 14 „Patienten mit Z. n. Neuroborreliose“ waren. Von acht Personen waren Verlaufskontrollen von CXCL13 im Liquor verfügbar.

In den Liquores der „Patienten mit akuter Neuroborreliose“ fand sich eine signifikant höhere CXCL13-Konzentration als bei den „gesunden Kontrollen“ und den „Patienten mit Z. n. Neuroborreliose“ (Kruskal-Wallis-Test  $p < 0,001$ ; einfaktorielle ANOVA  $p < 0,001$ ; Post-Hoc-Test Games-Howell „gesunde Kontrollen“ und „akute Neuroborreliose“  $p < 0,001$ ; Effektstärke Cohen's  $d = -1,0$ ; Effektstärke  $r = -0,5$ ; Post-Hoc-Test Games-Howell „akute Neuroborreliose“ und „Z. n. Neuroborreliose“  $p < 0,001$ ; Effektstärke Cohen's  $d = -1,0$ ; Effektstärke  $r = -0,5$ ; Tabelle zu den Messwerten s. Kapitel 6.2 Ergebnisse, Seite 89).

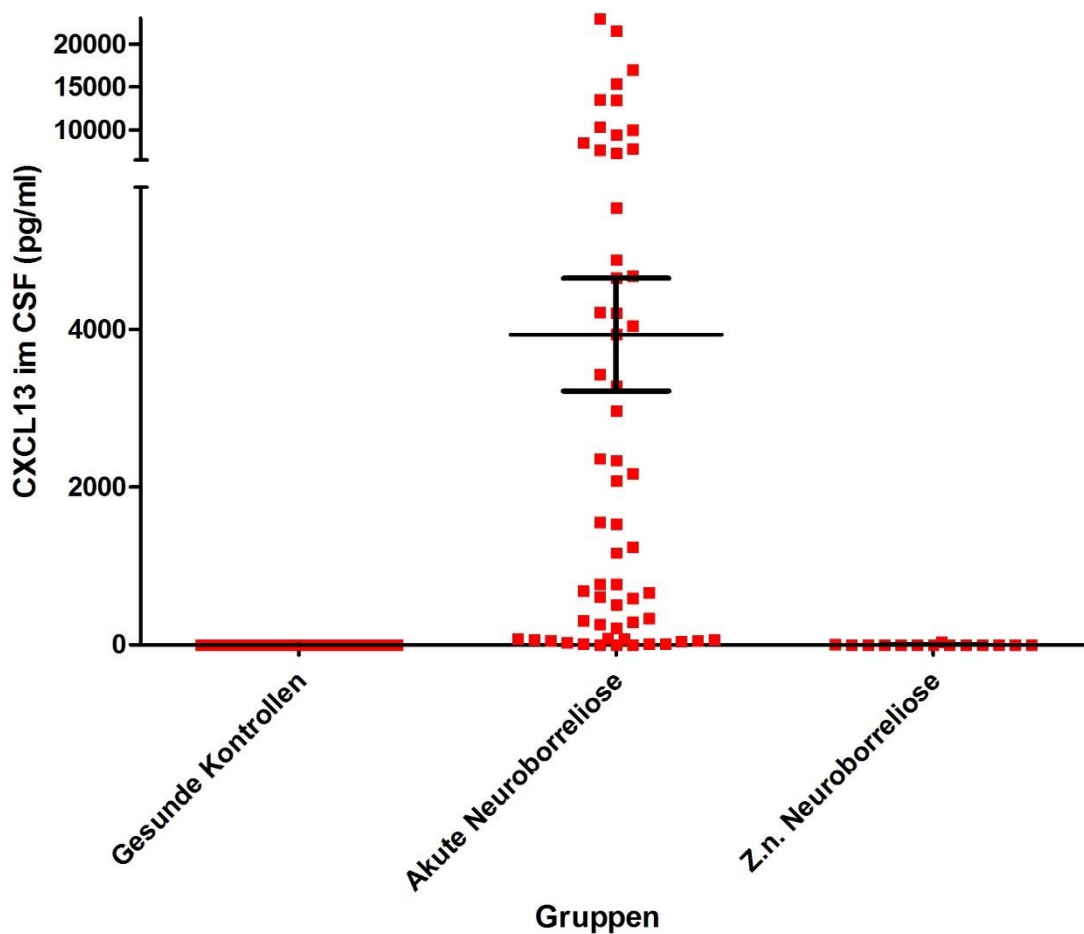


Abbildung 5: CXCL13 im Liquor

Tabelle 17: Kreuztabelle zur Verteilung der CXCL13-Ergebnisse im Liquor nach Einteilung in positive und negative Werte entsprechend der Nachweisgrenze des Herstellers

		Gesund	Akute Neuroborreliose	Z.n. Neuroborreliose	Gesamt
CXCL13 CSF	negativ	45	3	12	60
	positiv	0	56	2	58
Gesamt		45	59	14	118

Bei den drei „negativen“ CXCL13-Konzentrationen im Liquor bei „Patienten mit akuter Neuroborreliose“ handelte es sich bei einem um eine weiterhin bestehende oder neue Borreliose-Infektion, nachdem der Patient sechs Monate zuvor schon bei akuter Neuroborreliose über 21 Tage mit Ceftriaxon i. v. behandelt worden war. Damals war keine CXCL13-Messung im Liquor erfolgt. Bei anhaltenden Symptomen mit verminderter Belastbarkeit, Cephalgien und Konzentrationsschwierigkeiten war die erneute LP mit dem

Ergebnis einer akuten Neuroborreliose erfolgt. Nach erneuter 21-tägiger intravenöser Ceftriaxon-Gabe fiel eine Kontroll-Liquor-Untersuchung weitere neun Monate später trotz anhaltender Abgeschlagenheit und Konzentrationsstörung unauffällig aus.

Der zweite negative Befund von CXCL13 im Liquor bei „akuter Neuroborreliose“ trat bei einem Patienten mit seit sechs Tagen bestehender peripherer Fazialisparese rechts, Kopf- und Nackenschmerzen auf. Die Leukozytenzahl im Liquor lag hier bei 640/ $\mu$ l.

Der dritte Patient mit „akuter Neuroborreliose“ und negativem CXCL13-Befund im Liquor war zur Abklärung eines zwei Tage zuvor erstmaligen generalisierten epileptischen Anfalls ins Krankenhaus gekommen.

Einer der positiven Befunde von CXCL13 im Liquor bei der Gruppe „Z. n. Neuroborreliose“ war ein Patient, der aufgrund einer akuten Neuroborreliose mit peripherer Fazialisparese links und Hypästhesie in den Fingern über 14 Tage mit Ceftriaxon i. v. behandelt worden war. Initial war die CXCL13-Konzentration im Liquor 21527 pg/ml gewesen. In einer Liquor-Kontrolle etwa zwei Monate später war die CXCL13-Konzentration im Liquor auf 80 pg/ml gefallen. In der dritten Nachuntersuchung, weitere zwei Monate später, lag die CXCL13-Konzentration im Liquor bei 8 pg/ml und war damit noch nachweisbar, obwohl keine akute Infektion mehr vorlag (Leukozytenzahl im Liquor 3/ $\mu$ l).

Bei dem zweiten Patienten dieser Gruppe mit positivem CXCL13-Befund im Liquor lagen keine weiteren Daten vor.

Aus der ROC-Kurve ergab sich für CXCL13 im Liquor bei „Patienten mit akuter Neuroborreliose“ (gegenüber „Gesunden“ und „Patienten mit Z. n. Neuroborreliose“) eine Sensitivität von 94,9 % und Spezifität von 98,3 % bei einer Cut-off-Konzentration von 11 pg/ml. Die Fläche unter der ROC-Kurve betrug 0,97 (Signifikanz der Fläche unter der ROC-Kurve  $p < 0,001$ ), der Youden-Index 0,932.

### **3.3.2 CXCL13 im Serum**

Bei 105 Personen wurde CXCL13 auch im Serum untersucht, von denen 45 „gesunde Kontrollen“, 47 „Patienten mit akuter Neuroborreliose“ und 13 „Patienten mit Z. n. Neuroborreliose“ waren. Bei sieben Personen waren Verlaufsuntersuchungen von CXCL13 im Serum verfügbar.

Zwischen den Gruppen fand sich bezüglich der CXCL13-Konzentration im Serum kein signifikanter Unterschied (Kruskal-Wallis-Test  $p = 0,142$ ; einfaktorielle ANOVA  $p = 0,179$ ; Tabelle zu den Messwerten s. Kapitel 6.2 Ergebnisse, Seite 89).

### 3.3.3 CXCL13-Albumin-Quotient

Zur Bestimmung einer möglichen intrathekalen Synthese von CXCL13, wurde in Ermangelung eines Reiber-Felgenhauer-Diagramms die Formel zur Berechnung der intrathekalen Immunglobulinsynthese auf die vorhandenen CXCL13-Ergebnisse übertragen:

$$\text{Quotient (CXCL13)} = \frac{\left(\frac{\text{CXCL13 im Liquor}}{\text{CXCL13 im Serum}}\right)}{\left(\frac{\text{Gesamalbumin im Liquor}}{\text{Gesamalbumin im Serum}}\right)}$$

**Abbildung 6: Angepasste Formel zur Berechnung einer intrathekalen CXCL13-Synthese (CXCL13-Albumin-Quotient)**

Bei Aufteilung der so berechneten CXCL13-Albumin-Quotienten in „positiv“, im Sinne einer Ermittlung eines Wertes (wobei die Werte zwischen 7,3 und 26607,7 lagen), und „negativ“, wobei der Wert des CXCL13-Albumin-Quotienten bei null lag, ergab sich ein signifikanter Unterschied zwischen den drei Gruppen (exakter Test nach Fisher  $p < 0,001$ ; Kontingenzkoeffizient  $K = 0,681$ ).

**Tabelle 18: Kreuztabelle zur Verteilung der CXCL13-Albumin-Quotienten**

		Gesund	Akute Neuroborreliose	Z.n. Neuroborreliose	Gesamt
CXCL13-Albumin-Quotient*	negativ	45	3	11	59
	positiv	0	42	1	43
	Quotient nicht bestimmbar, da CXCL13 im Serum nicht messbar	0	1	1	2
	Gesamt	45	46	13	104

\* Quotient (CXCL13 CSF/CXCL13 Serum) / (Albumin CSF/Albumin Serum)

Auch bei Analyse der metrischen Daten, ergab sich zwischen den Gruppen, bei denen der CXCL13-Albumin-Quotient bestimmbar war, ein signifikanter Unterschied (Kruskal-Wallis-Test  $p < 0,001$ ; einfaktorielle ANOVA  $p < 0,001$ ; Post-Hoc-Test Games-Howell:

$p < 0,001$  beim Vergleich „gesunde Kontrollen“ und „akute Neuroborreliose“, Effektstärke Cohen´s  $d = -0,9$ ; Effektstärke  $r = -0,4$ ;  $p < 0,001$  beim Vergleich „akute Neuroborreliose“ und „Z. n. Neuroborreliose“, Effektstärke Cohen´s  $d = -0,9$ , Effektstärke  $r = -0,4$ ; Tabelle zu den Messwerten s. Kapitel 6.2 Ergebnisse, Seite 89).

Die eine Person, welche in der Gruppe „Z. n. Neuroborreliose“ beim CXCL13-Albumin-Quotienten ein positives Ergebnis hatte, war ein Patient, der initial aufgrund einer akuten Neuroborreliose mit seit ca. zwei Monaten bestehenden Missempfindungen und Schmerzen der Kopf- und Nackenregion sowie der Finger und einer seit zwei Wochen aufgetretenen peripheren Fazialisparese behandelt worden war. Sowohl der erste Liquor als auch die Kontrollpunktion nach 66 Tagen ergaben das Bild einer akuten Neuroborreliose. Erst in einer weiteren Kontrollpunktion 133 Tage nach Erst-Untersuchung bestand keine akute Neuroborreliose mehr, sodass diese Untersuchung zu der Gruppe „Z. n. Neuroborreliose“ gezählt wurde (genaue Daten zu diesem Patienten s. Person Nummer 2, Tabelle 20: Übersicht über die Parameter bei den Verlaufsuntersuchungen zu CXCL13, Seite 46).

### **3.3.4 CXCL13 im Verlauf**

In den bisherigen Untersuchungen (s. Kapitel 1.4 Das Chemokin CXCL13, Seite 13) wurde CXCL13 im Liquor ein schnelles Ansprechen im Sinne sinkender Konzentrationen unter erfolgreicher antibiotischer Therapie der akuten Neuroborreliose zugesprochen.

Von dem „Patienten-Kollektiv mit aktueller Neuroborreliose“ waren einige antibiotisch vorbehandelt worden, andere wiederum nicht, und bei einem Teil fehlte diese Information. Die Grenze eines Einflusses einer antibiotischen Behandlung auf eine Neuroborreliose wurde auf einen Monat festgesetzt, da aufgrund der Halbwertszeiten der Antibiotika nach einem Monat keine Wirkung mehr im Körper zu erwarten war.

Bei 37 „Patienten mit akuter Neuroborreliose“, welche innerhalb des letzten Monats nicht antibiotisch vorbehandelt worden waren, und 14 „Patienten mit akuter Neuroborreliose“ und antibiotischer Vorbehandlung innerhalb des letzten Monats fand sich ein signifikanter Unterschied bei CXCL13 im Liquor (Mann-Whitney-U-Test  $p = 0,027$ , Effektstärke Cohen´s  $d = 0,7$ ; Effektstärke  $r = 0,3$ ). Für den CXCL13-Albumin-Quotienten fand sich kein signifikanter Unterschied beim Vergleich der 28 unbehandelten und 10 antibiotisch vorbehandelten Patienten mit „akuter Neuroborreliose“ (Mann-Whitney-U-Test  $p = 0,085$ ;



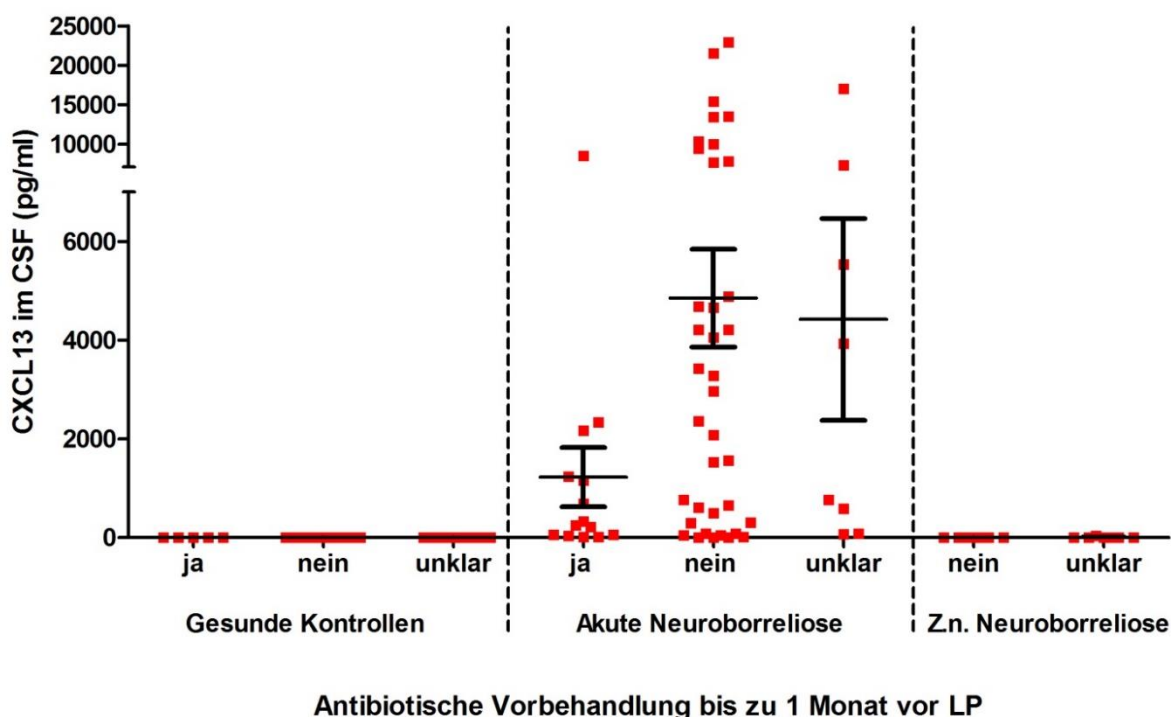
exakte Signifikanz im Mann-Whitney-U-Test für kleine Stichproben  $p = 0,088$ ) (Tabelle zur Vorbehandlung der Patienten s. Kapitel 6.2 Ergebnisse, Seite 90).

**Tabelle 19: Messwerttabelle zu CXCL13 im Liquor und dem CXCL13-Albumin-Quotienten bei Patienten mit akuter Neuroborreliose je nach antibiotischer Vorbehandlung innerhalb eines Monats vor Probenentnahme**

		Antibiotische Vorbehandlung innerhalb eines Monats vor LP		
		Nein	Ja	Unklar
CXCL13 CSF (pg/ml)	Gültige N	37	14	8
	$\bar{x} \pm SD$	4854 $\pm$ 6021	1446 $\pm$ 2566	4001 $\pm$ 6119
	Minimum/ Maximum	0/ 22960	0/ 8540	68/ 17015
	Median (25er/ 75er Perz.)	2968 (306/ 7728)	258 (57/ 1238)	769 (87/ 5541)
CXCL13- Albumin- Quotient*	Gültige N	28	10	7
	$\bar{x} \pm SD$	3709 $\pm$ 5729	936 $\pm$ 1480	5421 $\pm$ 6526
	Minimum/ Maximum	0/ 26608	1083/ 128,0	137/ 18698
	Median (25er/ 75er Perz.)	1392 (433/ 5113)	434 (133/ 722)	3738 (148/ 8378)

$\bar{x}$  = Mittelwert, SD = Standardabweichung, Perz. = Perzentile

\* Quotient (CXCL13 CSF/CXCL13 Serum) / (Albumin CSF/Albumin Serum)



**Abbildung 7: CXCL13 im Liquor bei allen Gruppen je nach antibiotischer Vorbehandlung innerhalb eines Monats vor LP**

Für CXCL13 im Serum fand sich hinsichtlich einer antibiotischen Vorbehandlung bei „Patienten mit akuter Neuroborreliose“ kein signifikanter Unterschied (unbehandelt  $n = 29$ ,

behandelt n = 11, Mann-Whitney-U-Test p = 0,396; exakte Signifikanz im Mann-Whitney-U-Test für kleine Stichproben p = 0,402).

Bei neun Personen gab es Verlaufspunktionen. In der hierunter aufgeführten Tabelle wurden die Verläufe jeweils mit Kleinbuchstaben markiert.

**Tabelle 20: Übersicht über die Parameter bei den Verlaufsuntersuchungen zu CXCL13**

Nr.	Tage nach erster LP	CXCL13 im CSF (pg/ml)	CXCL13 im Serum (pg/ml)	Quotient*	Leukozyten/ $\mu$ l CSF	AI IgM**	AI IgG***	Gruppe	Antibiose im letzten Monat vor LP
1a	0				530	2,1	4,8	Akute Neuroborreliose	nein
1b	164	0	89	0	7	14,6	3,2	Akute Neuroborreliose	nein
1c	407	0	50	0	1	0	29,3	Z.n. Neuroborreliose	nein
2a	0	21527	186	5010	84	7,1	6,4	Akute Neuroborreliose	nein
2b	66	80	98	109	13	6,2	9,6	Akute Neuroborreliose	nein
2c	133	8	53	23	3	0	17	Z.n. Neuroborreliose	nein
3a	0	16	215	7	5	0	10,2	Akute Neuroborreliose	ja
3b	105	0	134	0	4	0	6	Z.n. Neuroborreliose	unklar
4a	0	10345	218	1279	79	0,5	1,6	Akute Neuroborreliose	nein
4b	8	1166	142	501	68	1,3	10,8	Akute Neuroborreliose	ja
5a	0	258	25	722	258	0	0,9	Akute Neuroborreliose	ja
5b	6	34	42	133	98	0	18,5	Akute Neuroborreliose	ja
6a	0	2968	90	1459	129	0,8	1,5	Akute Neuroborreliose	nein
6b	10	68	45	148	31	0,8	5	Akute Neuroborreliose	unklar
7a	0	2362	36	1682	1850	2,1	29,1	Akute Neuroborreliose	nein
7b	14	87	48	137	301	15,2	36,7	Akute Neuroborreliose	unklar
8a	0	14			9	0	0	Akute Neuroborreliose	nein
8b	6	57			26	0	0	Akute Neuroborreliose	ja
9a	0	4885	53	5089	36	8,8	26,3	Akute Neuroborreliose	nein
9b	4	219	35	261	50	5,5	13,9	Akute Neuroborreliose	ja
9c	16	67	42	119	34	8,2	21,4	Akute Neuroborreliose	ja

\* Quotient (CXCL13 CSF/CXCL13 Serum) / (Albumin CSF/Albumin Serum)

\*\* Borrelienspezifischer Antikörperindex für IgM

\*\*\* Borrelienspezifischer Antikörperindex für IgG

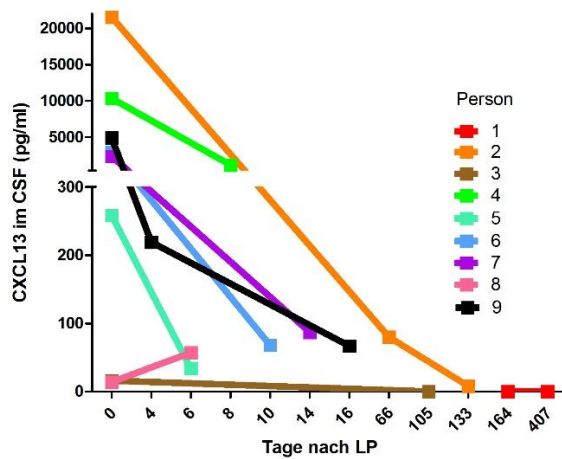


Abbildung 8: CXCL13 im Liquor bei Verlaufsuntersuchungen

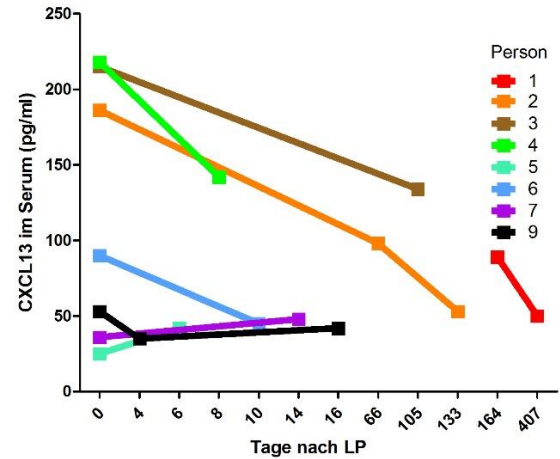


Abbildung 9: CXCL13 im Serum bei Verlaufsuntersuchungen

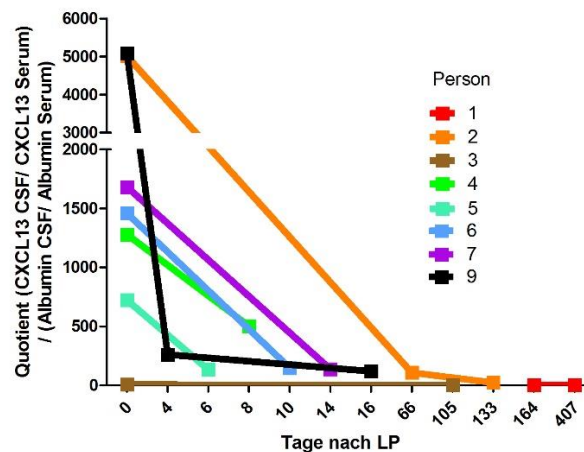


Abbildung 10: CXCL13-Albumin-Quotient bei Verlaufsuntersuchungen

## 3.4 Neuropsychologische Testung

### 3.4.1 Testbatterie zur Aufmerksamkeitsprüfung

Für die phasische Alertness im Test „Alertness“ ergab sich ein signifikanter Unterschied zwischen der Gruppe „akute Neuroborreliose“ und den „gesunden Kontrollen“, wobei die „Gesunden“ weniger aufmerksam waren als die „Patienten mit akuter Neuroborreliose“ (Post-Hoc-Test Bonferroni  $p = 0,003$ ; Effektstärke Cohen's  $d = -0,8$ ; Effektstärke  $r = -0,4$ ). Der Begriff phasische Alertness wird als erhöhte Reaktionsbereitschaft in Erwartung eines eintreffenden Ereignisses beschrieben, wohingegen die anderen Parameter (s. nachfolgende Tabelle, Seite 48) des Tests „Alertness“ die tonische Aufmerksamkeit im Sinne einer allgemeinen Wachheit widerspiegeln (Zimmermann und Fimm 2007).

**Tabelle 21: Ergebnisse der Testbatterie zur Aufmerksamkeitsprüfung (TAP) mit den Tests „Alertness“, „geteilte Aufmerksamkeit“ und „Go/Nogo“**

z-Werte	Gesund (n = 78)		Akute Neuroborreliose (n = 19)		Zn. Neuroborreliose (n = 7)		p-Wert Kruskal- Wallis-Test
	Mittelwert ± SD	Median (25er/75er Perz.)	Mittelwert ± SD	Median (25er/75er Perz.)	Mittelwert ± SD	Median (25er/75er Perz.)	
TAP Alertness ohne Warnton Median	0,08 ± 0,97	0,14 (-0,55/0,72)	-0,30 ± 1,07	-0,34 (-0,98/0,51)	-0,10 ± 1,13	-0,13 (-1,51/0,72)	0,380
TAP Alertness ohne Warnton SD	0,02 ± 0,98	0,12 (-0,62/0,54)	-0,13 ± 1,05	0,35 (-1,22/0,82)	0,16 ± 1,18	0,35 (-0,85/1,00)	0,871
TAP Alertness mit Warnton Median	0,00 ± 1,05	-0,07 (-0,88/0,75)	0,00 ± 0,88	0,20 (-0,47/0,61)	0,03 ± 0,86	-0,34 (-0,61/0,88)	0,931
TAP Alertness mit Warnton SD	-0,03 ± 1,02	-0,08 (-0,74/0,86)	0,09 ± 1,00	0,01 (-0,74/1,05)	0,05 ± 0,82	0,01 (-0,65/1,05)	0,885
TAP Alertness Phasische Alertness	-0,18 ± 0,88	-0,17 (-0,87/0,33)	0,64 ± 1,20	0,43 (-0,47/1,84)	0,29 ± 0,97	-0,07 (-0,47/0,94)	0,018
TAP Geteilte Aufmerksamkeit auditiv Median	-0,05 ± 0,97	-0,18 (-0,82/0,56)	0,21 ± 1,23	-0,03 (-0,91/1,15)	-0,04 ± 0,56	-0,13 (-0,32/0,37)	0,718
TAP Geteilte Aufmerksamkeit auditiv SD	-0,07 ± 0,92	-0,11 (-0,61/0,48)	0,43 ± 1,24	0,57 (-0,36/1,33)	-0,42 ± 0,90	-0,61 (-1,29/0,48)	0,122
TAP Geteilte Aufmerksamkeit visuell Median	0,12 ± 0,93	0,16 (-0,47/0,68)	-0,37 ± 1,15	-0,37 (-1,00/0,68)	-0,28 ± 1,22	0,26 (-1,73/0,79)	0,276
TAP Geteilte Aufmerksamkeit visuell SD	0,02 ± 1,01	0,00 (-0,64/0,72)	0,00 ± 1,08	-0,13 (-0,38/0,89)	-0,27 ± 0,70	-0,47 (-0,81/0,13)	0,602
TAP Geteilte Aufmerksamkeit Auslassungen	-0,04 ± 0,99	-0,13 (-0,68/0,54)	0,09 ± 0,96	0,09 (-0,57/0,65)	0,24 ± 1,29	0,65 (-1,02/1,53)	0,686
TAP Go/ Nogo Median	0,05 ± 0,99	-0,08 (-0,77/0,73)	-0,04 ± 0,93	0,04 (-0,54/0,61)	-0,39 ± 1,34	-0,54 (-1,23/0,50)	0,560
TAP Go/ Nogo SD	0,05 ± 0,99	0,03 (-0,85/0,80)	-0,26 ± 0,97	-0,26 (-0,94/0,51)	0,12 ± 1,19	-0,17 (-1,04/0,61)	0,535
TAP Go/ Nogo Fehlreaktionen	0,02 ± 1,04	0,72 (-0,82/0,86)	0,06 ± 0,86	-0,12 (-0,12/0,72)	-0,32 ± 0,98	-0,12 (-1,24/0,86)	0,706

Bei der Einzelwertbetrachtung wurde der pathologische Grenzwert von -1,5 in allen drei Gruppen in allen Test-Bereichen mehrfach unterschritten, außer bei der phasischen Alertness, wo es in der Gruppe „akute Neuroborreliose“ und „Z. n. Neuroborreliose“ keine pathologischen Ergebnisse gab. Es ergab sich aber in keinem Test-Bereich ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen für die Grenzwertüberschreitung, wenn die Werte im Sinne von positiv bei Grenzwert-Unterschreitung und negativ bei Normwertigkeit eingeteilt wurden und mit dem Chi-Quadrat-Test ausgewertet wurden.

### 3.4.2 Brief Repeatable Battery

Für den Wortlistentest (Selective Reminding Test = SRT) und den räumlichen Merkfähigkeitstest (Spatial Recall Test = SPART) aus der Brief Repeatable Battery (BRB) ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen bei dem Vergleich der Werte.

**Tabelle 22: Ergebnisse aus dem Brief Repeatable Battery (BRB) Wortlistentest (*Selective Reminding Test*) und dem räumlichen Merkfähigkeitstest (*Spatial Recall Test*)**

z-Werte	Gesund (n = 77)		Akute Neuroborreliose (n = 20)		Zn. Neuroborreliose (n = 7)		p-Wert Kruskal- Wallis-Test
	Mittelwert ± SD	Median (25er/75er Perz.)	Mittelwert ± SD	Median (25er/75er Perz.)	Mittelwert ± SD	Median (25er/75er Perz.)	
BRB Selective Reminding Test Langzeitgedächtnis	0,23 ± 1,25	0,46 (-0,35/1,04)	-0,16 ± 1,74	0,25 (-1,01/1,14)	0,39 ± 1,24	0,34 (-1,04/1,69)	0,788
BRB Selective Reminding Test Konsistenter Langzeitgedächtnisabruf	0,08 ± 1,26	0,08 (-0,62/0,94)	-0,26 ± 1,53	-0,39 (-1,71/1,28)	0,01 ± 1,37	0,29 (-1,28/1,36)	0,567
BRB Selective Reminding Test Spätabruf	-0,03 ± 1,21	0,13 (-0,51/0,86)	-0,98 ± 1,74	-0,72 (-2,36/0,44)	-0,11 ± 1,88	0,56 (-2,72/1,41)	0,080
BRB Spatial Recall Test Kurzzeitabruf	0,03 ± 1,09	0,00 (-0,59/0,70)	0,14 ± 0,90	-0,04 (-0,42/0,50)	0,11 ± 0,90	0,26 (-0,60/0,59)	0,993
BRB Spatial Recall Test Spätabruf	0,10 ± 1,05	0,18 (-0,66/0,90)	-0,10 ± 0,90	-0,15 (-0,48/0,34)	0,21 ± 0,55	0,18 (-0,29/0,66)	0,559

Beim Spatial Recall Test gab es weder beim Kurzzeitabruf noch beim Spätabruf pathologische Einzelwerte in den Gruppen „akute Neuroborreliose“ und „Z. n. Neuroborreliose“, wohingegen in der Gruppe der „Gesunden“ sieben pathologische Ergebnisse beim Kurzzeitabruf und sechs beim Spätabruf vorlagen.

Wurden die z-Einzelwerte der Untersuchten bei Unterschreitung des pathologischen Grenzwertes unter -1,5 in positiv und die übrigen Werte in negativ eingeordnet, ergab sich für den konsistenten Langzeitgedächtnisabruf im Selective Reminding Test ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen der „gesunden Probanden“ (9,1 % pathologische Werte, n = 7) und den „Patienten mit akuter Neuroborreliose“ (30,0 % pathologische Werte, n = 6) (Chi-Quadrat-Test p = 0,014; exakter Test nach Fisher p = 0,025; Kontingenzkoeffizient 0,24). Der konsistente Langzeitgedächtnisabruf beschreibt, dass ein Wort über mehr als zwei Abläufe hinweg rekapituliert werden kann, wohingegen der einfache Langzeitgedächtnisabruf das richtige Nennen eines Wortes in zwei hintereinander folgenden Abläufen beschreibt (Scherer et al. 2004).

### 3.4.3 Faces-Symbol-Test

Bei der Zuordnung von Gesichtern zu Symbolen werden Werte von < 3,0 Sekunden pro Zuordnung als unauffällig beschrieben, Werte darüber zeigen kognitive Auffälligkeiten an. In der Auswertung des Faces-Symbol-Tests fand sich bei den „Gesunden“ ein normwertiger Mittelwert und Median. In der Gruppe der „akuten Neuroborreliosen“ deuteten die Werte auf kognitive Einschränkungen hin. In der Gruppe mit „Z. n. Neuroborreliose“ lagen sie deutlich höher als in den beiden anderen Gruppen.

**Tabelle 23: Ergebnisse des Faces-Symbol-Tests**

Faces Symbol Test (FST)	Gesund (n = 72)		Akute Neuroborreliose (n = 16)		Zn. Neuroborreliose (n = 5)		p-Wert Kruskal- Wallis-Test
	Mittelwert ± SD	Median (25er/75er Perz.)	Mittelwert ± SD	Median (25er/75er Perz.)	Mittelwert ± SD	Median (25er/75er Perz.)	
Zeit/ Zuordnung (in sec) nach 90 sec Testzeit	3,0 ± 1,0	2,8 (2,4/3,3)	3,3 ± 1,4	2,9 (2,5/4,1)	4,8 ± 1,2	4,8 (3,7/5,8)	0,020
Zeit/ Zuordnung (in sec) nach gesamtem Test	3,1 ± 1,0	2,9 (2,5/3,4)	3,3 ± 1,3	3,1 (2,3/4,0)	4,2 ± 2,0	3,7 (3,2/4,6)	0,281

Im Faces-Symbol-Test ergab sich ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen für die Zuordnungsgeschwindigkeit pro Symbol nach 90 Sekunden Testdurchführung. Bei Anwendung des Bonferroni-Tests lag dieser Unterschied zwischen den „gesunden Probanden“ und den „Patienten mit Z. n. Neuroborreliose“, wobei die Gruppe der „Patienten mit Z. n. Neuroborreliose“ lediglich fünf Personen einschloss (Post-Hoc-Test Bonferroni  $p = 0,006$ ; Effektstärke Cohen's  $d = -1,6$ ; Effektstärke  $r = -0,6$ ).

### 3.4.4 Domänen

Die einzelnen Untersuchungsbereiche der drei vorangegangenen Untersuchungen, Testbatterie zur Aufmerksamkeitsprüfung, Brief Repeatable Battery und Faces-Symbol-Test, werden den höheren Hirnfunktionen zugeordnet, die wiederum in Domänen aufgeteilt werden (s. auch Kapitel 2.4 Neuropsychologische Testung, Seite 25). Entsprechend der Zuordnung der jeweiligen Testergebnisse oben, zu den zugehörigen Untertests, berechnen sich die Domänenwerte. Dazu wurden die z-Werte der zur jeweiligen Domäne gehörenden Werte gemittelt. Beim Vergleich der Domänen gab es keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen.

**Tabelle 24: Ergebnisse der Domänen der neuropsychologischen Testung**

Domänen z-Werte	Gesund (n = 77)	Akute Neuroborreliose (n = 21)	Zn. Neuroborreliose (n = 7)	p-Wert Kruskal- Wallis-Test
	Mittelwert ± SD	Mittelwert ± SD	Mittelwert ± SD	
Verbales Lernen	0,09 ± 1,09	-0,47 ± 1,52	0,10 ± 1,44	0,419
Gedächtnis	0,08 ± 0,76	-0,26 ± 0,97	0,12 ± 1,04	0,174
Non-verbales Lernen	0,07 ± 1,01	0,02 ± 0,81	0,16 ± 0,57	0,841
Aufmerksamkeit	-0,05 ± 0,40	0,08 ± 0,36	0,31 ± 0,22	0,150
Arbeitsgedächtnis	-0,10 ± 0,87	0,01 ± 0,92	1,24 ± 1,71	0,270
Frontale Exekutivfunktionen	-0,02 ± 0,45	-0,14 ± 0,48	0,37 ± 0,60	0,346

Der pathologische z-Wert von -1,5 wurde bei Betrachtung der Einzelfallwerte in den Domänen Verbales Lernen, Gedächtnis und Non-verbales Lernen unterschritten. Bei Zuordnung der Werte in „pathologisch“ und „normal“ ergab sich ein signifikanter Unterschied in den Domänen Verbales Lernen (Chi-Quadrat-Test nach Pearson  $p = 0,024$ ; exakter Test nach Fisher  $p = 0,018$ ; Kontingenzkoeffizient  $K = 0,3$ ) und Gedächtnis (exakter Test nach Fisher  $p = 0,044$ ; Chi-Quadrat-Test nach Pearson  $p = 0,074$ ; Kontingenzkoeffizient  $K = 0,2$ ). Die Anzahl der pathologischen Ergebnisse war im Verhältnis bei der Gruppe „Z. n. Neuroborreliose“ am höchsten, aber auch bei der Gruppe der „akuten Neuroborreliosen“ hoch im Vergleich zu den „Gesunden“.

Tabelle 25: Ergebnisse der Domäne Verbales Lernen

			Gesund	Akute Neuroborreliose	Z.n. Neuroborreliose
Domäne Verbales Lernen	normal	Anzahl	72	15	5
		in %	93,5%	75,0%	71,4%
	pathologisch	Anzahl	5	5	2
		in %	6,5%	25,0%	28,6%
Gesamt		Anzahl	77	20	7

Tabelle 26: Ergebnisse der Domäne Gedächtnis

			Gesund	Akute Neuroborreliose	Z.n. Neuroborreliose
Domäne Gedächtnis	normal	Anzahl	75	18	6
		in %	97,4%	85,7%	85,7%
	pathologisch	Anzahl	2	3	1
		in %	2,6%	14,3%	14,3%
Gesamt		Anzahl	77	21	7

### 3.4.5 Short-Form-36-Health-Survey

Durch die im Short-Form-36-Health-Survey beantworteten Fragen werden die in der folgenden Tabelle genannten Domänen errechnet und in einen Wertebereich zwischen null und 100 transformiert, wobei höhere Werte einem subjektiv besseren Gesundheitszustand entsprechen.

In der Auswertung ergab sich ein signifikanter Unterschied für die Domänen Schmerzen und körperliche Rollenfunktion (s. nachfolgende Tabelle, Seite 52). Für Schmerzen bestand sowohl ein Unterschied zwischen den „Gesunden“ und den „Patienten mit akuter

Neuroborreliose“ (Bonferroni-Test  $p = 0,022$ ; Effektstärke Cohen's  $d = 0,6$ ; Effektstärke  $r = 0,3$ ) als auch zwischen den „Patienten mit akuter Neuroborreliose“ und „Z. n. Neuroborreliose“ (Bonferroni-Test  $p = 0,007$ ; Effektstärke Cohen's  $d = 1,1$ ; Effektstärke  $r = 0,5$ ). In der Gruppe „akute Neuroborreliose“ fanden sich die niedrigsten Werte, was subjektiv größere Schmerzen als in den anderen beiden Gruppen bedeutet. Die „Patienten mit Z. n. Neuroborreliose“ hatten im Mittel die wenigsten Schmerzen. Bei der körperlichen Rollenfunktion bestand ein Unterschied zwischen den „Gesunden“ und den „Patienten mit akuter Neuroborreliose“ (Bonferroni-Test  $p = 0,046$ ; Effektstärke Cohen's  $d = 0,6$ ; Effektstärke  $r = 0,3$ ). In diesem Bereich fanden sich die niedrigsten Werte bei der Gruppe „akute Neuroborreliose“, die höchsten Werte bei den „Gesunden“. Die körperliche Rollenfunktion beschreibt, wie stark die körperlich-gesundheitlichen Beschwerden die Arbeit und andere tägliche Aktivitäten beeinträchtigen, z. B. „weniger schaffen als gewöhnlich“ (Hays et al. 1996).

**Tabelle 27: Ergebnisse des Short-Form-36-Health-Survey**

Short-Form-36-Health-Survey (SF 36)	Gesund (n = 78)		Akute Neuroborreliose (n = 24)		Z.n. Neuroborreliose (n = 9)		p-Wert Kruskal-Wallis-Test
	Mittelwert ± SD	Median (25er/75er Perz.)	Mittelwert ± SD	Median (25er/75er Perz.)	Mittelwert ± SD	Median (25er/75er Perz.)	
Körperliche Funktionsfähigkeit	65 ± 27	70 (45/90)	55 ± 30	45 (35/83)	58 ± 29	55 (35/85)	0,308
Schmerzen	44 ± 28	41 (22/62)	26 ± 28	22 (1/42)	61 ± 33	62 (32/84)	0,003
Allgemeine Gesundheitswahrnehmung	50 ± 22	49 (35/67)	55 ± 20	55 (41/72)	50 ± 24	52 (35/67)	0,506
Vitalität	42 ± 22	35 (25/60)	33 ± 22	33 (12/48)	48 ± 16	45 (35/65)	0,111
Soziale Rollenfunktion	59 ± 30	63 (38/88)	61 ± 33	69 (25/88)	82 ± 20	88 (75/100)	0,119
Emotionale Rollenfunktion	62 ± 44	100 (0/100)	41 ± 48	0 (0/100)	58 ± 50	83 (0/100)	0,194
Psychisches Wohlbefinden	58 ± 19	56 (48/72)	59 ± 22	62 (36/78)	75 ± 17	80 (60/88)	0,061
Körperliche Rollenfunktion	43 ± 42	25 (0/100)	19 ± 36	0 (0/25)	25 ± 38	0 (0/50)	0,020

### 3.4.6 Pittsburgher Schlafqualitäts-Index

Durch Verrechnung der einzelnen Fragen ergibt sich ein Gesamtscore mit Werten zwischen null und 21. Je höher der Wert, umso schlechter der Schlaf. Der Cutoff-Wert zwischen gutem und schlechtem Schlaf liegt bei fünf. Werte über fünf zeigen einen schlechten Schlaf an.

Zwischen den Gruppen ergab sich kein signifikanter Unterschied (Kruskal-Wallis-Test  $p = 0,068$ ; bei Einteilung in gute und schlechte Schläfer Chi-Quadrat-Test nach Pearson  $p = 0,156$ ; exakter Test nach Fisher  $p = 0,149$ ; einzelne Messwerte s. Kapitel 6.2 Ergebnisse, Seite 90).



Tabelle 28: Ergebnisse des Pittsburgher Schlafqualitäts-Index

Pittsburgher Schlafqualitäts-Index (PSQI)			Gesund (n = 67)	Akute Neuroborreliose (n = 19)	Z.n. Neuroborreliose (n = 6)
Gesamtscore PSQI	Guter Schlaf	Anzahl	22	2	2
		in %	32,8%	10,5%	33,3%
	Schlechter Schlaf	Anzahl	45	17	4
		in %	67,2%	89,5%	66,7%

### 3.4.7 Fibromyalgia Impact Questionnaire

Bei dem Fibromyalgia Impact Questionnaire können insgesamt maximal 100 Punkte erreicht werden. Menschen, die Fibromyalgie-Symptome aufweisen, haben im Mittel einen Punktwert von 50. Handelt es sich um eine schwere Form, wird von einem Punktwert von über 70 ausgegangen. Mit steigender Höhe der Punktwerte steigt auch der Einfluss der Fibromyalgie-Symptome auf den Alltag.

Ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen ergab sich sowohl bei Auswertung der numerischen Parameter als auch bei Zuordnung in positiv und negativ bei einem Wert von  $\geq$  oder  $<$  50 nicht (Kruskal-Wallis-Test  $p = 0,289$ ; Qui-Quadrat-Test nach Pearson  $p = 0,452$ ; exakte Signifikanz nach Fisher  $p = 0,527$ ). Einen Wert von  $\geq 50$  hatten in der Gruppe der „Gesunden“ 23 Personen (entspricht 29,9 %), bei den „Patienten mit akuter Neuroborreliose“ zehn (entspricht 41,7 %) und in der Gruppe der „Patienten mit Z. n. Neuroborreliose“ zwei (entspricht 22,2 %).

Tabelle 29: Ergebnisse des *Fibromyalgia Impact Questionnaire*

Fibromyalgia Impact Questionnaire (FIQ)	Gesund (n = 77)		Akute Neuroborreliose (n = 24)		Z.n. Neuroborreliose (n = 9)		p-Wert Kruskal- Wallis-Test
	Mittelwert $\pm$ SD	Median (25er/75er Perz.)	Mittelwert $\pm$ SD	Median (25er/75er Perz.)	Mittelwert $\pm$ SD	Median (25er/75er Perz.)	
Gesamtwert	36 $\pm$ 25	32 (13/56)	41 $\pm$ 26	40 (21/60)	26 $\pm$ 22	23 (11/31)	0,289

### 3.4.8 Symptomcheckliste von Derogatis

Bei der Symptomcheckliste von Derogatis werden aus den Fragen Werte für die in der nachfolgenden Tabelle genannten Domänen errechnet, welche anhand eines Norm-Kollektives in T-Werte umgerechnet werden. Dabei ist ein T-Wert von 50 der Mittelwert, die Standardabweichung beträgt 10. Je höher die Werte, umso stärker die subjektive Belastung in diesem Bereich. Werte von 60 bis 70 werden als deutlich messbare psychische

Belastung eingestuft, Werte von 70 bis 80 geben eine sehr hohe psychische Belastung wieder.

Bei Betrachtung der Daten fiel auf, dass bei der Gruppe „Z. n. Neuroborreliose“ die Mittelwerte und Mediane alle im normalen Bereich lagen. Bei den Gruppen „akute Neuroborreliose“ und „gesunde Personen“ gab es in den Domänen Somatisierung und Globaler Kennwert PSDI (misst die Intensität der Antworten) Mittelwerte und Mediane mit psychischer Belastung. Ein statistisch signifikanter Unterschied ergab sich bei der Domäne Somatisierung zwischen den Gruppen „Z. n. Neuroborreliose“ und den „Gesunden“ (Bonferroni-Test  $p = 0,006$ ; Effektstärke Cohen's  $d = -1,1$ ; Effektstärke  $r = -0,5$ ) und den Gruppen „Z. n. Neuroborreliose“ und „akuter Neuroborreliose“ (Bonferroni-Test  $p = 0,010$ ; Effektstärke Cohen's  $d = -1,2$ ; Effektstärke  $r = -0,5$ ). Die Domäne Somatisierung erfasst einfache körperliche Belastung bis hin zu funktionellen Störungen. Sie beschreibt Distress, der durch Wahrnehmungen körperlicher Dysfunktionen entsteht.

**Tabelle 30: Ergebnisse der Symptomcheckliste von Derogatis**

Symptomcheckliste von Derogatis (SCL-90-R)	Gesund (n = 77)		Akute Neuroborreliose (n = 24)		Zn. Neuroborreliose (n = 9)		p-Wert Kruskal-Wallis-Test
	Mittelwert ± SD	Median (25er/75er Perz.)	Mittelwert ± SD	Median (25er/75er Perz.)	Mittelwert ± SD	Median (25er/75er Perz.)	
Somatisierung	64 ± 12	64 (56/77)	65 ± 11	64 (61/73)	50 ± 13	56 (37/61)	0,014
Zwanghaftigkeit	58 ± 15	60 (48/70)	58 ± 12	57 (52/66)	50 ± 15	46 (42/64)	0,279
Unsicherheit im Sozialkontakt	51 ± 12	51 (42/58)	49 ± 12	47 (42/53)	43 ± 8	42 (35/47)	0,128
Depressivität	57 ± 13	58 (48/65)	58 ± 12	60 (50/66)	51 ± 13	50 (38/63)	0,434
Ängstlichkeit	55 ± 13	57 (46/66)	57 ± 12	56 (50/62)	49 ± 10	46 (43/57)	0,252
Aggressivität/ Feindseligkeit	51 ± 11	52 (43/58)	49 ± 11	49 (40/57)	45 ± 10	39 (39/49)	0,252
Phobische Angst	53 ± 11	52 (43/58)	54 ± 11	49 (43/63)	46 ± 5	43 (43/52)	0,138
Paranoides Denken	50 ± 10	49 (39/57)	46 ± 9	41 (39/51)	47 ± 8	51 (39/54)	0,356
Psychotizismus	54 ± 11	54 (48/61)	55 ± 11	55 (46/61)	48 ± 9	49 (41/54)	0,164
Globaler Kennwert GSI	58 ± 13	57 (49/68)	58 ± 12	59 (52/68)	50 ± 12	48 (39/51)	0,112
Globaler Kennwert PST	55 ± 13	55 (48/63)	55 ± 12	54 (49/62)	48 ± 11	48 (39/49)	0,164
Globaler Kennwert PSDI	60 ± 11	61 (53/68)	62 ± 12	63 (52/71)	55 ± 8	57 (50/60)	0,171

### 3.4.9 World Health Organization Quality of Life Group–BREF Fragebogen

Bei dem World Health Organization Quality of Life Group–BREF Fragebogen werden aus den Antworten die fünf in der nachfolgenden Tabelle aufgeführten Domänen berechnet und in T-Werte anhand eines Norm-Kollektivs umgeformt. Je höher der Wert, umso höher die Lebensqualität in diesem Bereich.

Bei der physischen Lebensqualität bestand ein deutlicher Unterschied zwischen den „gesunden Probanden“ und den „Patienten mit akuter Neuroborreliose“ (Bonferroni-Test  $p = 0,034$ ; Effektstärke Cohen's  $d = 0,6$ ; Effektstärke  $r = 0,3$ ) sowie den „Patienten mit akuter Neuroborreliose“ und „Z. n. Neuroborreliose“ (Bonferroni-Test  $p = 0,024$ ; Effektstärke Cohen's  $d = 0,9$ ; Effektstärke  $r = 0,4$ ). Bei der Gruppe der „Patienten mit akuter Neuroborreliose“ ergaben sich niedrigere Werte als bei der Gruppe der „Gesunden“ und der „Patienten mit Z. n. Neuroborreliose“.

**Tabelle 31: Ergebnisse der World Health Organization Quality of Life Group–BREF**

World Health Organization Quality of Life Group (WHOQOL) -BREF	Gesund (n = 77)		Akute Neuroborreliose (n = 24)		Z.n. Neuroborreliose (n = 9)		p-Wert Kruskal-Wallis-Test
	Mittelwert ± SD	Median (25er/75er Perz.)	Mittelwert ± SD	Median (25er/75er Perz.)	Mittelwert ± SD	Median (25er/75er Perz.)	
Physisch	60 ± 20	61 (46/75)	47 ± 24	43 (29/68)	69 ± 23	71 (57/93)	0,021
Psychisch	64 ± 17	65 (54/79)	66 ± 16	67 (57/79)	75 ± 12	75 (67/79)	0,194
Soziale Beziehungen	68 ± 18	67 (58/75)	73 ± 15	75 (67/83)	73 ± 24	83 (67/92)	0,280
Umwelt	75 ± 16	75 (63/88)	81 ± 13	78 (72/91)	76 ± 19	75 (75/84)	0,379
Global	52 ± 22	50 (38/63)	40 ± 23	38 (25/63)	54 ± 17	50 (38/63)	0,079

### 3.4.10 State-Trait Anxiety Inventory I und II

Der STAI I erfasst die Angst als vorübergehenden Zustand, wohingegen der STAI II die Angst als eine Eigenschaft der Person misst. Für beide Fragebögen können Werte zwischen 20 und 80 ermittelt werden. Je höher der Wert ist, umso größer die Angst. Ein Wert von 20 wird als Angstfreiheit angenommen. Ein Wert von 80 stellt einen Zustand höchster Angst dar.

Ein Unterschied ergab sich zwischen den Gruppen nicht.

Tabelle 32: Ergebnisse des State-Trait Anxiety Inventory (STAI) I und II

State-Trait Anxiety Inventory	Gesund (n = 72)		Akute Neuroborreliose (n = 24)		Z.n. Neuroborreliose (n = 8)		p-Wert Kruskal-Wallis-Test
	Mittelwert ± SD	Median (25er/75er Perz.)	Mittelwert ± SD	Median (25er/75er Perz.)	Mittelwert ± SD	Median (25er/75er Perz.)	
STAI I Angst als vorübergehender Zustand	41 ± 11	39 (32/51)	39 ± 13	37 (29/51)	39 ± 12	40 (29/47)	0,890
STAI II Angst als Eigenschaft	40 ± 12	38 (32/48)	37 ± 10	38 (28/47)	38 ± 12	39 (28/47)	0,737

### 3.4.11 Beck-Depressionsinventar

Das Beck-Depressionsinventar erfasst depressive Symptome. Je höher die erreichte Punktzahl ist, umso depressiver ist der Proband. Ein Wert zwischen zehn und 18 Punkten spricht für eine milde bis mäßige Depression, 19 bis 29 Punkte weisen auf eine mäßige bis schwere Depression hin. Ab 30 Punkten ist von einer schweren Depression auszugehen. Die maximal erreichbare Punktzahl ist 63.

In der Auswertung ergab sich kein Unterschied zwischen den Gruppen (Chi-Quadrat-Test  $p = 0,844$ ; exakter Test nach Fisher  $p = 0,91$ ).

Tabelle 33: Parametrische Ergebnisse des Beck-Depressionsinventars

	Gesund (n = 72)		Akute Neuroborreliose (n = 24)		Z.n. Neuroborreliose (n = 8)		p-Wert Kruskal-Wallis-Test
	Mittelwert ± SD	Median (25er/75er Perz.)	Mittelwert ± SD	Median (25er/75er Perz.)	Mittelwert ± SD	Median (25er/75er Perz.)	
Beck-Depressionsinventar (BDI)	10 ± 7	7 (4/14)	8 ± 6	7 (2/12)	6 ± 5	6 (2/9)	0,315

Tabelle 34: Kreuztabelle zu den Ergebnissen des Beck-Depressionsinventars

Beck-Depressionsinventar (BDI)		Gesund (n = 72)	Akute Neuroborreliose (n = 24)	Z.n. Neuroborreliose (n = 8)
Keine Depression	Anzahl (%)	43 (59,7 %)	15 (62,5 %)	6 (75,0 %)
Milde bis mäßige Depression	Anzahl (%)	20 (27,8 %)	8 (33,3 %)	2 (25,0%)
Mäßige bis schwere Depression	Anzahl (%)	8 (11,1 %)	1 (4,2 %)	0 (0 %)
Schwere Depression	Anzahl (%)	1 (1,4 %)	0 (0 %)	0 (0 %)

## 3.5 Korrelationen

Die in der neuropsychologischen Testung bei „Patienten mit akuter Neuroborreliose“ auffälligen Kennwerte (konsistenter Langzeitgedächtnisabruf im Selective Reminding Test

des BRB; Kurzzeit- und Gesamtzeitzuordnung im FST; Domäne verbales Lernen; Domänen Schmerzen und körperliche Rollenfunktion des SF 36; Domäne Somatisierung des SCL-90-R; Domäne Physische Lebensqualität des WHOQOL-BREF) wurden auf eine Korrelation mit den liquorchemischen Parametern Zellzahl, CXCL13, TLR1 und TLR8 überprüft (s. Kapitel 6.2 Ergebnisse, Seite 91).

Signifikante Korrelationen ergaben sich für die Domäne Schmerzen des SF 36 im Zusammenhang mit der Zellzahl ( $n = 78$ , Spearman  $r = -0,314$ ,  $p = 0,005$ ) und CXCL13 ( $n = 75$ , Spearman  $r = -0,346$ ,  $p = 0,002$ ) im Liquor. Dies würde bedeuten je höher Zellzahl und CXCL13 im Liquor, umso stärkere Schmerzen bei den „Patienten mit akuter Neuroborreliose“.

Auch für die Domäne körperliche Rollenfunktion des SF 36 bestand eine signifikante Korrelation mit der Zellzahl im Liquor ( $n = 77$ , Spearman  $r = -0,248$ ,  $p = 0,030$ ), wobei mit steigender Zellzahl im Liquor größere Beschwerden bei der körperlichen Rollenfunktion auftraten.

Bei der Domäne physische Lebensqualität des WHOQOL-BREF bestand ebenfalls eine signifikante Korrelation mit der Zellzahl im Liquor, im Sinne einer zunehmenden verminderten physischen Lebensqualität mit steigender Zellzahl im Liquor ( $n = 75$ , Spearman  $r = -0,257$ ,  $p = 0,026$ ).

Für die übrigen o. g. Parameter konnten keine signifikanten Korrelationen bei den „Patienten mit akuter Neuroborreliose“ festgestellt werden (s. Kapitel 6.2 Ergebnisse, Seite 91).

## 4 Diskussion

### 4.1 Zusammenfassung der Hauptergebnisse

Die vorliegende Studie hatte das Ziel Möglichkeiten zur Verbesserung der Diagnostik bei Neuroborreliose zu finden. Dafür wurde bei „Patienten mit akuter Neuroborreliose“ im Vergleich mit „gesunden Kontrollen“ und „Patienten mit Z. n. Neuroborreliose“ eine quantitative Messung von TLR im Liquor und Serum durchgeführt, für die sich in vorherigen Studien ein Zusammenhang mit dem Infektionsvorgang bei Borreliose ergeben hatte (s. Kapitel 1.3 Toll-Like-Rezeptoren, Seite 8). Insgesamt lagen aus dieser Untersuchung nun Daten für 143 Individuen zu TLR1 und für 101 Individuen zu TLR8 im Liquor vor, welche sich als mögliche potentielle zusätzliche Marker für die Diagnose-Stellung und Verlaufskontrolle der akuten Neuroborreliose herausstellten.

Gegenüber dem bereits in vorausgegangenen Studien analysierten CXCL13 im Liquor standen TLR1 und TLR8 im Liquor als diagnostische Marker deutlich zurück. CXCL13 im Liquor stellt einen hoch sensitiven (94,9 %) und hoch spezifischen (98,3 %) Marker für die „akute Neuroborreliose“ (gegenüber „Gesunden“ und „Patienten mit Z. n. Neuroborreliose“) dar. Eine intrathekale Synthese von CXCL13 bei „akuter Neuroborreliose“ wurde, durch Bestimmung des CXCL13-Quotienten aus Liquor und Serum im Verhältnis zu Albumin im Liquor und Serum in Anlehnung an den Immunglobulin-Quotienten zur Bestimmung einer intrathekalen Immunglobulin-Synthese, bestätigt. Auch als Verlaufsparemeter für die Behandlung der Neuroborreliose, mit sinkenden Konzentrationen unter antibiotischer Behandlung, ist CXCL13 im Liquor geeignet. Jedoch zeigten antibiotische Vorbehandlungen einen Einfluss auf das CXCL13 im Liquor, sodass bei negativ oder niedrig ausfallender Konzentration nach antibiotischer Vorbehandlung eine akute Neuroborreliose nicht ausgeschlossen werden kann.

Bezüglich PLDS-Beschwerden ergaben sich in der neuropsychologischen Testung bei den „Patienten mit akuter Neuroborreliose“ im Vergleich zu „gesunden Kontrollen“ Einschränkungen der Gedächtnisleistungen, vor allem für das Langzeitgedächtnis (konsistenter Langzeitgedächtnisabruf im Selective Reminding Test der BRB), bei der Reaktionsgeschwindigkeit in Zusammenhang mit Aufmerksamkeit, insbesondere zu Beginn einer Aufgabe (Faces-Symbol-Test) und beim verbalen Lernen (Domäne).

In den Auswertungen der Fragebögen waren bei den „Patienten mit akuter Neuroborreliose“ mehr körperliche Beeinträchtigungen im Sinne von Schmerzen und Einschränkungen in den täglichen Aktivitäten von Bedeutung als bei „Gesunden“ (Short-Form-36-Health-Survey, World Health Organization Quality of Life Group-BREF).

Die „Patienten mit Z. n. Neuroborreliose“ (Wochen bis Jahre nach Neuroborreliose) hatten Schwierigkeiten beim Verbalen Lernen (Domäne, stärker als bei „akuter Neuroborreliose“) und mit dem Gedächtnis (Domäne).

Korrelationen hinsichtlich liquorchemischer und kognitiver/ körperlicher Parameter ergaben sich bei „Patienten mit akuter Neuroborreliose“ für den Bereich Schmerzen (Short-Form-36-Health-Survey), körperliche Rollenfunktion (Short-Form-36-Health-Survey) und physische Lebensqualität (World Health Organization Quality of Life Group–BREF), wobei mit steigender Zellzahl im Liquor eine größere Beeinträchtigung in den jeweiligen Bereichen vorlag, während sich für die TLR1- und TLR8-Konzentrationen im Liquor diesbezüglich kein Zusammenhang ermitteln ließ.

## **4.2 Diskussion der Methoden**

### **4.2.1 Patienten- und Kontrollgruppe**

Die Rekrutierung der Patienten und Kontrollen erfolgte in verschiedenen Zeiträumen an zwei Standorten, von 2010 bis 2011 in der Universitätsmedizin Göttingen, von 2012 bis 2017 im Elbe Klinikum Stade. Es ist nicht auszuschließen, dass lokale und zeitliche Begebenheiten einen Einfluss auf die Ergebnisse hatten.

Die Teilnahme-Bedingungen für „Patienten“ und „Kontrollen“ waren genau definiert. Haupt-Einschlusskriterium waren die gültigen Diagnose-Kriterien für „wahrscheinliche“ und „gesicherte“ Neuroborreliose der Deutschen Gesellschaft für Neurologie, welche sich auch in der aktuellen Fassung nicht geändert haben (Rauer et al. 2018, s. Kapitel 1.2.3 Diagnostik, Seite 5). Lediglich drei Patienten, die der Gruppe „akute Neuroborreliose“ aufgrund der Symptomatik und der übrigen Diagnostik zugeordnet wurden, hatten eine „wahrscheinliche“ Neuroborreliose, da die Antikörper-Indizes nicht bestimmt worden waren. Bei den anderen 74 Patienten war die akute Neuroborreliose gesichert. Bei allen „Patienten mit Z. n. Neuroborreliose“ war die Diagnose entsprechend den o. g. Kriterien im Vorfeld gesichert worden.

Teilweise waren Informationen (wie z. B. ob innerhalb des letzten Monats vor Probenentnahme eine antibiotische Behandlung stattgefunden hatte) von den „Patienten“ und „Kontrollen“ nicht in Erfahrung zu bringen, da die Patienten selbst dazu nichts berichten konnten und weitere Informationen nicht vorlagen. Die fehlenden Informationen erschwerten einige Auswertungen.

Zur „Kontrollgruppe“ muss kritisch angemerkt werden, dass 77 Personen primär als Patienten mit verschiedenen Symptomen vorstellig wurden (s. Kapitel 3.1 Basis-Daten, Seite 30), für die schließlich, nach der Durchführung umfangreicher Differentialdiagnostik, kein morphologisches oder neurochemisches Korrelat gefunden wurde. Da für die Untersuchungen dieser Studie möglichst nicht-pathologische Liquor-Proben notwendig waren, und es unethisch gewesen wäre gesunde Freiwillige einer LP zu unterziehen, wurden diese Patienten ohne Nachweis einer Neuroborreliose oder anderer Erkrankungen, insbesondere des ZNS, mit ihrem Einverständnis in die „Kontrollgruppe“ aufgenommen. Letztlich erfolgte die Vorstellung dieser „gesunden“ Patienten aber aufgrund verschiedenartiger Beschwerden. Diese können sowohl einen Einfluss auf die neuropsychologische Testung als auch auf die laborchemischen Parameter gehabt haben. Auch die Möglichkeit, dass Erkrankungen (noch) nicht erkannt wurden, muss in Betracht gezogen werden. In einigen Fällen wären sicherlich klinische Verlaufsuntersuchungen zur Einschätzung, ob eine andere Erkrankung vorliegen könnte, sinnvoll gewesen.

Es wurde versucht, das „Kontroll-Kollektiv“ entsprechend der „Patientengruppe“ geschlechts-, alters- und bildungsangepasst zusammenzustellen. Dies war, aufgrund der begrenzten Möglichkeiten gesunde Freiwillige zu rekrutieren, nur eingeschränkt möglich, aber nicht anders zu erreichen.

## **4.2.2 Material**

### 4.2.2.1 ELISA-Tests

Für die Untersuchung wurden TLR ausgewählt, bei denen in vorangegangenen Studien ein Zusammenhang mit der Neuroborreliose festgestellt worden war. Auf verschiedenen Immunzellen des Blutes und des Gehirns sowohl des Menschen als auch bei Säugetieren waren nach Stimulation mit *Borrelia burgdorferi* erhöhte TLR2-Expressionen nachgewiesen worden (Jablonska und Marcinczyk 2006; Bernardino et al. 2008; Cassiani-Ingoni et al.



2006; Cabral et al. 2006). TLR2 hatte nach Stimulation mit *Borrelia burgdorferi* zu einer erhöhten Zytokin-Ausschüttung geführt (Hirschfeld et al. 1999; Lien et al. 1999; Salazar et al. 2009; Cervantes et al. 2011). Ein TLR2-Knockout führte bei Versuchen mit Mäusen zu einer Borrelien-Persistenz, stärkeren Symptomen und verminderter inflammatorischer Reaktion (Schröder et al. 2005; Wooten et al. 2002; Dennis et al. 2009). Kürzlich konnte eine erhöhte TLR2-Konzentration bei Patienten mit entzündlichen ZNS-Erkrankungen, unter anderem der Neuroborreliose, gegenüber gesunden Kontrollen anhand von ELISA-Tests im Liquor gemessen werden (Moniuszko-Malinowska et al. 2019). Auch für TLR1 konnte, nach Stimulation mit Borrelien, bei Blockade bzw. Defizienz des Rezeptors eine verminderte Zytokin-Ausschüttung und verminderte Antikörper-Produktion nachgewiesen werden (Oosting et al. 2011; Alexopoulou et al. 2002). Die Phagozytose von lebenden Borrelien durch humane Monozyten hatte zu einer vermehrten Transkription von TLR8 und TLR2 und damit zu einer Zytokin-Induktion und –Transkription geführt. Borrelien-RNA war als Antigen zur Aktivierung von TLR8 herausgefiltert worden (Cervantes et al. 2011; 2013). Eine TLR8-Defizienz führte bei Mäusen zu einer Überexpression von TLR7 und zu Immundefekten mit Splenomegalie, einer defekten Entwicklung der Marginalzone der Milz und der B-Zellen, erhöhten Serum-Konzentrationen von IgM und IgG, Autoantikörpern gegen Ribonukleoproteine und dsDNA und Glomerulonephritis (Demaria et al. 2010). Bei Stimulation von humanen Monozyten, Microglia und Astrozyten des Rhesus-Affen mit *Borrelia burgdorferi* wurde eine vermehrte Expression von TLR5 festgestellt (Cabral et al. 2006; Bernardino et al. 2008). Somit erfolgte die Auswahl der TLR1, 2, 5 und 8 für die Suche als einem potentiellen zusätzlichen Marker für Neuroborreliose. Auch eine verstärkte Expression von TLR4 war nach Phagozytose von *Borrelia burgdorferi* einmalig beschrieben worden (Bernardino et al. 2008). Jedoch war dies der einzige derartige Hinweis für einen Zusammenhang von TLR4 mit Borreliose, sodass dieser TLR nicht in die Studie mit einbezogen wurde.

Für die quantitative Messung von TLR1, 2, 5 und 8 sowie CXCL13 aus dem Liquor und Serum der Probanden wurden verschiedene ELISA Test-Kits verwendet (s. Kapitel 2.3 Diagnostische Marker, Seite 23). Durch die Mehrzeitigkeit der Durchführung der Tests stand das zuerst verwendete TLR1-ELISA-Kit von der Firma *Genorise* zu späterem Zeitpunkt nicht mehr zur Verfügung und wurde durch ein TLR1-ELISA-Kit der Firma *Cloud-Clone-Corp.* ersetzt. Die Detektionsbereiche dieser zwei ELISA-Kits unterschieden sich stark. Der Detektionsbereich des ersten Tests lag zwischen 0,001 und 8 ng/ml, der des zweiten Tests

zwischen 0,312 und 20 ng/ml. Als niedrigste nachweisbare Konzentration wurden bei dem ersten Test 0,0006 ng/ml, bei dem zweiten 0,127 ng/ml angegeben. In der vorliegenden Untersuchung lag die niedrigste noch messbare Konzentration von TLR1 bei 0,004 ng/ml (Liquor) und die höchste Konzentration bei 8 ng/ml (Serum). Angesichts der vom Hersteller angegebenen Untergrenze der Nachweisbarkeit ist für den zweiten ELISA-Kit zur TLR1-Messung anzunehmen, dass er niedrigere Konzentrationen nicht erfasst hat, die aber durch den ersten ELISA-Kit hätten erfasst werden können. Mit dem ersten Test wurden vier Konzentrationen unter der untersten Nachweisgrenze des zweiten Tests erfasst (bei zwei Liquores von Patienten mit akuter Neuroborreliose und zwei Patienten mit Z. n. Neuroborreliose; insgesamt 104 Messungen Liquor und Serum mit dem ersten ELISA-Test für TLR1; 88 Messungen mit dem zweiten ELISA-Test für TLR1). Somit scheinen sehr niedrige Konzentrationen mit dem zweiten ELISA nicht erfasst zu werden.

Es ist anzunehmen, dass ebenso bei den anderen TLR-ELISA-Kits der Firma *Cloud-Clone-Corp.* aufgrund des Detektionsbereiches (s. Kapitel 2.3 Diagnostische Marker, Seite 23) sehr niedrige Konzentrationen der TLR nicht messbar sind. Letztlich wurde aber in den Test-Beschreibungen explizit darauf hingewiesen, dass diese nicht für den klinischen Routine-Einsatz geeignet sind. Da bisher keine validen Daten zu Konzentrationen bei Neuroborreliose verfügbar sind, bleibt auch unklar, welcher Detektionsbereich bei den TLR-ELISA-Tests überhaupt sinnvoll wäre.

#### 4.2.2.2 Liquor- und Serum-Proben

Für die Untersuchungen der TLR und CXCL13 wurden Liquores und Seren von den Probanden verwendet, die nach den Untersuchungen im Rahmen der notwendigen klinischen Abklärung noch übrig waren. Es wurde nicht mehr Material gewonnen als dies üblicherweise für die Untersuchungen der Fall ist, um Nachteile durch die Studie für die Probanden zu vermeiden.

Dadurch stand für die verschiedenen Untersuchungen von TLR1, 2, 5 und 8 und CXCL13 unterschiedlich viel Material zur Verfügung, was zu unterschiedlichen Gruppengrößen und Gruppenzusammensetzungen führte. Zum Teil war der Stichprobenumfang pro Gruppe sehr klein, sodass die Aussagekraft der Ergebnisse dadurch beeinträchtigt sein kann.

Um sichere Aussagen zur Sinnhaftigkeit des Einsatzes der Tests, vor allem der in dieser Studie positiv hervorgetretenen TLR1 und 8 im Liquor, im klinischen Alltag zu gewinnen,

sind Studien mit größeren Stichproben notwendig. Dies wird sehr wahrscheinlich aber nur multizentrisch möglich sein.

#### 4.2.2.3 Neuropsychologische Testung

Für die neuropsychologische Testung wurden etablierte, sowohl computergestützte Tests als auch Fragebögen verwendet. Die Zusammenstellung erfolgte anhand der erfahrungsgemäß von den Patienten genannten Beschwerden und den bisher in Studien zum PLDS gefundenen Beschwerden.

Schwachstelle sowohl der Tests als auch der Fragebögen ist der aktuelle subjektive Gesundheitszustand der Person, die daran teilnimmt. Durch subjektive Beeinträchtigungen werden sowohl kognitive Fähigkeiten wie Aufmerksamkeit, Reaktionsbereitschaft usw. als auch die Beurteilungen der Fragen beeinflusst. Der subjektive Gesundheitszustand kann schwanken und durch weitere Ereignisse, z. B. Schlafmangel, erheblich beeinflusst werden, selbst wenn die Versuchsperson sich bemüht ihr Optimum auszuschöpfen.

In den bisherigen zahlreichen Studien zu kognitiven und körperlichen Beeinträchtigungen bei bzw. nach Neuroborreliose gab es widersprüchliche Ergebnisse (s. Kapitel 1.5 Post-Treatment-Lyme-Disease-Syndrom, Seite 15). Schwierigkeiten lagen sowohl in einer Vereinheitlichung der Definition von „post-(Neuro-)Borreliose“-Beschwerden als auch in der Verschiedenartigkeit der Untersuchungsmethoden. Zeiträume der Untersuchungen schwankten zwischen Tagen bis Jahren nach stattgehabter Neuroborreliose, untersucht wurde mit mannigfaltigen Fragebögen und Tests, die nur eingeschränkt miteinander vergleichbar sind. Bei einigen Studien war auch die Diagnose der Borreliose selbst nicht gesichert oder wahrscheinlich, sondern nur möglich (Dersch et al. 2016).

Von der *Infectious Diseases Society of America* (IDSA) waren aus diesem Grund schon 2006 Diagnose-Kriterien für das PLDS überlegt worden, die aber in bisherigen Studien noch nicht vollständig berücksichtigt worden sind. Voraussetzungen sollten u.a. eine vorausgegangene, nach allgemein gültigen Standards gesicherte Borreliose, die sich unter einer gängigen antibiotischen Therapie gebessert oder stabilisiert hat, ein Auftreten der Beschwerden innerhalb von sechs Monaten nach Diagnosestellung und unter Ausschluss einer anderen Ätiologie ein Anhalten über mindestens sechs Monate nach Abschluss der Antibiotika-Therapie sein (Wormser et al. 2006).

In der vorliegenden Studie wurde die Voraussetzung einer vorausgegangenen, nach allgemein gültigen Standards gesicherten Borreliose, die sich unter einer gängigen antibiotischen Therapie gebessert oder stabilisiert hat, für die Gruppe der „Patienten“ erfüllt. Auch andere Ätiologien für die Symptome wurden ausgeschlossen. Jedoch zielte die vorliegende Studie nicht primär auf Patienten mit V. a. PLDS ab, sondern auf die Erfassung der Beschwerden der „akut kranken Patienten“ und die Erfassung von Beschwerden im Verlauf.

## **4.3 Diskussion der Ergebnisse**

### **4.3.1 Diagnostischer Nutzen von TLR-Untersuchungen bei Neuroborreliose**

#### 4.3.1.1 TLR1

Insgesamt ergaben sich bei den „Patienten mit akuter Neuroborreliose“ signifikant höhere Konzentrationen für TLR1 im Liquor als bei den „gesunden Kontrollen“, dies jedoch bei kleiner Effektstärke, was somit anhand der vorliegenden Daten nicht für einen zusätzlichen Nutzen in der Diagnostik der akuten Neuroborreliose (gegenüber gesunden Kontrollen) spricht. Ein Grund dafür bestand darin, dass auch in der Gruppe der „Patienten mit akuter Neuroborreliose“ viele Konzentrationen unter der Nachweisgrenze der verwendeten ELISA lagen. Diese Werte unterhalb der Nachweisgrenze der zwei verwendeten ELISA wurden als null festgelegt. Die tatsächlichen Konzentrationen sind aber aufgrund der begrenzten methodischen Möglichkeiten unklar. Bisher gab es keine Untersuchungen zu quantitativen Messungen von TLR1 im Liquor bei Neuroborreliose, deshalb sind auch keine anderen Referenzwerte verfügbar.

Anhand der vorliegenden Daten kann geschlussfolgert werden, dass der Nachweis von TLR1 im Liquor ein Hinweis auf eine akute oder stattgehabte Neuroborreliose sein kann, da bei den „Gesunden“ alle Werte unterhalb der Nachweisgrenze lagen. Weitere Studien mit größeren Patienten- und Kontrollgruppen wären sinnvoll, um zu testen, ob TLR1 als Marker zur Diagnostik der Neuroborreliose in Frage kommt. Jedoch ist noch unklar, wie schnell TLR1 bei einer akuten Infektion nachweisbar wird und wie der Verlauf mit und ohne antibiotische Behandlung ist. Da die TLR durch Antigen-Erkennung an der Initiierung der Immunreaktion beteiligt sind, ist davon auszugehen, dass sie sehr früh im Krankheitsverlauf

positiv sind, dann aber auch schnell wieder abfallen, wenn die Immunreaktion initiiert wurde. In den vorliegenden Verlaufsuntersuchungen anhand von 14 „Patienten mit akuter Neuroborreliose“ gab es eine Tendenz zum Abfall von TLR1 im Liquor (bei drei Personen), was jedoch aufgrund der geringen Fallzahl nicht ausreichend aussagekräftig ist. Bei einigen „Patienten mit akuter Neuroborreliose“ hatte innerhalb des letzten Monats eine antibiotische Behandlung stattgefunden (n = 23). Diesbezüglich ergab sich zumindest kein Einfluss auf die TLR1-Konzentrationen im Liquor gegenüber Patienten mit akuter Neuroborreliose ohne antibiotische Vorbehandlung (n = 39).

Für TLR1 im Serum ergab sich kein Unterschied zwischen den Gruppen, sodass hier kein diagnostischer Nutzen zur Diagnosestellung der Neuroborreliose vorliegt. Angesichts dessen musste nach einer intrathekalen Synthese von TLR1 bei Neuroborreliose gesucht werden. Deshalb wurde in Anlehnung an die Formel zur Bestimmung einer intrathekalen Immunglobulin-Synthese nach einer intrathekalen TLR1-Synthese gesucht. In Ermangelung eines großen Normkollektivs war die Berechnung einer Reiber-Felgenhauer-Quotienten-Analyse nicht möglich. In der Gruppe der „Patienten mit akuter Neuroborreliose“ waren vier TLR1-Albumin-Quotienten positiv (n = 17), wohingegen alle TLR1-Albumin-Quotienten-Werte bei den „Gesunden“ und den „Patienten mit Z. n. Neuroborreliose“ (zusammen n = 13) bei null lagen. Ein signifikanter Unterschied lag nicht vor. Werte für eine intrathekale TLR-Synthese gibt es bisher in der Literatur nicht, sodass auch die Bedeutung dieser Werte, welche zwischen 5,7 und 47,8 rangierten, nicht sicher eingeordnet werden kann. Wie groß die maximal mögliche Diffusion von TLR aus dem Serum über die Blut-Liquor-Schranke in den Liquor ist, ist unklar. Die Bestimmung eines Index, wie z. B. bei Antikörper-Indizes, kann deshalb aktuell nicht erfolgen. Da TLR aber im Gegensatz zu Antikörpern nicht spezifisch für eine bestimmte Erkrankung sind, sind Einflüsse auf die quantitative Messung durch andere Erkrankungen anzunehmen.

#### 4.3.1.2 TLR2

Ein Zusammenhang von Neuroborreliose und TLR2 im Liquor bzw. Serum konnte in diesen Untersuchungen nicht festgestellt werden.

In vorangegangenen Untersuchungen war sowohl für Immunzellen des Blutes als auch ortsständige Immunzellen des zentralen Nervensystems von Menschen und Säugetieren unter Borrelien-Exposition ein Anstieg der TLR2-Expression vermerkt worden (Jablonska

und Marcinczyk 2006; Bernardino et al. 2008; Cassiani-Ingoni et al. 2006; Cabral et al. 2006). Unter TLR2-Defizienz bzw. Suppression hingegen hatte eine verminderte bzw. veränderte, längere symptomatische Immunreaktion stattgefunden (Dennis et al. 2009; Wooten et al. 2002; Schröder et al. 2005). In der vorliegenden Studie war es im Gegenteil so, dass die „gesunden Kontrollpatienten“ deutlich höhere TLR2-Konzentrationen im Serum hatten als die „akut Neuroborreliose-Kranken“. Dies könnte aber auch ein Nebeneffekt der Zusammenstellung der Kontrollgruppe sein, da andere Erkrankungen einen Einfluss haben könnten (s. Kapitel 4.2.1 Patienten- und Kontrollgruppe, Seite 59).

Der von Rupprecht et al. 2007 berichtete Zusammenhang zwischen TLR2-Expression und CXCL13-Freisetzung sowie die von Moniuszko-Malinowska et al. 2019 dargelegte erhöhte TLR2-Konzentration im Liquor unter akuter Neuroborreliose können aus Sicht der vorliegenden Studie nicht bestätigt werden (Rupprecht et al. 2007; Moniuszko-Malinowska et al. 2019). Sowohl im Serum als auch im Liquor konnte bei „akuter Neuroborreliose“ keine verstärkte TLR2-Produktion im Vergleich zu „gesunden Kontrollen“ festgestellt werden. CXCL13 hingegen war im Liquor bei „akuter Neuroborreliose“ eindeutig erhöht. Im Serum wurde bei „akuter Neuroborreliose“ keine erhöhte CXCL13-Konzentration gefunden.

#### 4.3.1.3 TLR5

Zusammenfassend wurden die TLR5-Konzentrationen in Liquor und Serum durch eine Neuroborreliose nicht beeinflusst.

Bei den Untersuchungen zu TLR5 im Liquor und Serum bestand das kleinste Patienten- („akute Neuroborreliose“ n = 28) und Kontrollkollektiv („gesunden Kontrollen“ n = 14) von allen TLR-Untersuchungen, da das meiste Proben-Material für die vorangegangenen Untersuchungen verwendet worden war. Allerdings bestand auch keine Tendenz in den Werten, die einen Effekt der Neuroborreliose auf TLR5 hätte vermuten lassen. In den Studien, in denen unter Stimulation mit *Borrelia burgdorferi* eine vermehrte TLR5-Expression zustande gekommen war, war TLR5 unter Labor-Bedingungen an isolierten humanen Monozyten bzw. an Mikroglia-Zellen und Astrozyten von Rhesus-Affen untersucht worden (Cabral et al. 2006; Bernardino et al. 2008). Es ist anzunehmen, dass TLR5 im Menschen nicht dieselbe Rolle wie beim Rhesus-Affen während einer Neuroborreliose einnimmt.

#### 4.3.1.4 TLR8

TLR8 im Liquor scheint bei der Immunreaktion auf Neuroborreliose eine Rolle zu spielen. Es ergaben sich statistisch signifikant höhere Konzentrationen bei den „Patienten mit akuter Neuroborreliose“ im Vergleich sowohl mit den „Gesunden“ als auch mit den „Patienten mit Z. n. Neuroborreliose“. Bei immerhin 19 von 59 „Patienten mit akuter Neuroborreliose“ war TLR8 im Liquor nachweisbar. Im Verlauf fielen die Konzentrationen auf nicht messbare Werte ab. Im Gegensatz dazu waren bei nur drei von 29 „gesunden Kontrollen“ und bei keinem der 13 „Patienten mit Z. n. Neuroborreliose“ messbare TLR8-Konzentration im Liquor vorhanden. Ein Übertritt über die Blut-Liquor-Schranke bei den „akut kranken Patienten“ ist prinzipiell denkbar. Im Serum waren die Konzentrationen von TLR8 bei allen drei Gruppen ähnlich verteilt, ein Anstieg von TLR8 im Serum durch die Neuroborreliose ist nicht anzunehmen. Die bisherigen Untersuchungen zu TLR8 bei Neuroborreliose wurden an isolierten Zellen vorgenommen, sodass keine vergleichbaren klinischen Untersuchungsdaten zur Diskussion vorlagen (Cervantes et al. 2011; 2013).

#### 4.3.1.5 Generelle Diskussion der TLR-Ergebnisse

Es ist anzunehmen, dass TLR im Rahmen ihrer Aufgaben als antigenerkennende Moleküle sehr früh in der Krankheitsphase vermehrt produziert werden. Da die Produktion von CXCL13 durch die TLR-Kaskade ausgelöst wird, müssten die TLR sogar noch vor CXCL13 positiv sein.

Bei den hier durchgeführten Untersuchungen erfolgte die Diagnostik mit LP bei den „Patienten mit akuter Neuroborreliose“ bei 28,5 % innerhalb einer Woche nach den ersten Symptomen, bei 29,9 % im Zeitraum von einer Woche bis einem Monat nach den ersten Symptomen, bei 19,5 % nach einem Monat nach den ersten Symptomen und bei den übrigen 22,1 % war der Zeitraum der Symptomatik unklar. Angesichts dessen ist die Wahrscheinlichkeit hoch, dass zu den Zeitpunkten der Liquor-Untersuchungen die TLR-Expression bereits wieder rückläufig war.

Für zukünftige Untersuchungen ist die genaue Dokumentation der Dauer der Symptome deshalb notwendig. Für die klinische Diagnostik wären diese Daten wesentlich. Die Untersuchungen der TLR ergeben vor diesem Hintergrund nur sehr früh in der Krankheitsphase Sinn.

### 4.3.2 Diagnostischer Nutzen von CXCL13 bei Neuroborreliose

Die vorliegenden Ergebnisse bestätigen die bisherigen Untersuchungen mit großem Nutzen für CXCL13 im Liquor als sehr sensitiven und spezifischen Marker für die Neuroborreliose (Barstad et al. 2017; Markowicz et al. 2018; Henningsson et al. 2018; Maric et al. 2018; Henningsson et al. 2016; Rupprecht et al. 2014; Hytönen et al. 2014; Schmidt et al. 2011; Senel et al. 2010; Ljøstad und Mygland 2008).

Auffällig ist, dass der in der vorliegenden Studie festgestellte Cut-off-Wert von 11 pg/ml zur Differenzierung von „akuter Neuroborreliose“ gegenüber „Gesunden“ und „Patienten mit Z. n. Neuroborreliose“ nah an der unteren Nachweisgrenze des ELISA (Messbereich 7,8 pg/ml bis 500 pg/ml) liegt. Kritisch muss hier angemerkt werden, dass es bei der klinischen Fragestellung häufig nicht nur um die Bestätigung der Neuroborreliose-Infektion geht, sondern auch um die Abgrenzung gegenüber anderen Erkrankungen des zentralen Nervensystems. In den bisherigen o. g. Studien waren Patienten mit akuter Neuroborreliose sowohl gegenüber Gesunden, als auch gegenüber Patienten mit anderen Erkrankungen des zentralen Nervensystems, sowie gegenüber beiden Gruppen gemischt getestet worden. Nur zwei Studien hatten Patienten mit akuter Neuroborreliose und Gesunde, ähnlich der vorliegenden Untersuchung, verglichen. In der einen war CXCL13 im Liquor von Kindern (definitive Neuroborreliose n = 44, mögliche Neuroborreliose n = 22, gesunde Kontrollen n = 102) mit dem *recomBead assay* von *Mikrogen Diagnostik Germany* bestimmt und ein Cut-off-Wert von 160 pg/ml festgelegt worden (Henningsson et al. 2018). In der anderen war die CXCL13-Konzentration im Liquor von Erwachsenen (definitive Neuroborreliose vor antibiotischer Behandlung n = 35, mögliche Neuroborreliose vor antibiotischer Behandlung n = 14, Gesunde n = 83) sowohl mit dem *Quantikine ELISA* von *R&D Systems* als auch mit dem *recomBead assay* von *Mikrogen Diagnostik Germany* gemessen worden. Bei dem *Quantikine ELISA* von *R&D Systems* hatte sich ein Cut-off-Wert von 56 pg/ml ergeben, für den *recomBead assay* von *Mikrogen Diagnostik Germany* lag der Cut-off-Wert bei 158 pg/ml (Henningsson et al. 2016). Neben den geringer ausfallenden Cut-off-Werten für CXCL13 im Liquor beim Vergleich von Patienten mit akuter Neuroborreliose und Gesunden gegenüber höheren Cut-off-Werten für CXCL13 im Liquor beim Vergleich von Patienten mit akuter Neuroborreliose und Patienten mit anderen Erkrankungen des zentralen Nervensystems scheinen auch die verwendeten ELISA zu unterschiedlichen Mess-Ergebnissen zu kommen, was bei der Anwendung berücksichtigt werden sollte. CXCL13 im Serum hingegen hat keinen diagnostischen Nutzen, was ebenfalls den bisherigen Untersuchungs-Ergebnissen entspricht (Wutte et al. 2011).



Bei 94,9 % der hier getesteten „Patienten mit akuter Neuroborreliose“ waren messbare CXCL13-Konzentrationen im Liquor vorhanden. In Anbetracht der zuvor genannten Zeiträume der Liquor-Diagnostik nach initialer Symptomatik (bis zu einem Jahr nach initialer Symptomatik, s. Kapitel 3.1 Basis-Daten, Seite 30) ist dieser Wert erstaunlich, da festgestellt wurde, dass die Konzentration von CXCL13 im Liquor im zeitlichen Verlauf der Erkrankung (auch ohne antibiotische Behandlung) abnimmt (Senel et al. 2010). Die Konzentrationen von CXCL13 bei „akuter Neuroborreliose“ lagen in der vorliegenden Studie zwischen 14 und 22960 pg/ml. Aber auch negative Befunde kamen bei „akuter Neuroborreliose“ vor, ebenso wie positive Befunde bei „Z. n. Neuroborreliose“, sodass zur Beurteilung der Akuität nach wie vor die übrigen Diagnostik-Parameter entsprechend der Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Neurologie notwendig sind (s. Kapitel 1.2.3 Diagnostik, Seite 5; s. Kapitel 3.3 CXCL13 bei Neuroborreliose, Seite 40).

Da CXCL13 im Liquor bei den „Patienten mit akuter Neuroborreliose“ deutlich häufiger nachgewiesen wurde als im Serum und die Konzentrationen höher waren als im Serum, wurde eine intrathekale Synthese von CXCL13 angenommen. Der CXCL13-Albumin-Quotient in Anlehnung an den Immunglobulin-Quotienten zur Bestimmung einer intrathekalen Synthese spricht für diese Vermutung. Bei allen Patienten mit positivem CXCL13 im Liquor, bei denen ein Serum-Wert verfügbar war, war der CXCL13-Albumin-Quotient ebenfalls positiv mit Werten zwischen 7 und 26607. Diese Werte liegen deutlich höher als übliche Werte bei Kontrollen.

Die Verlaufsuntersuchungen der einzelnen Fälle bestätigten die bisherigen Studien zu CXCL13 im Liquor als gutem Verlaufsparemeter zur Beurteilung des Therapie-Erfolges der antibiotischen Behandlung bei „akuter Neuroborreliose“ (Senel et al. 2010; Bremell et al. 2013; Kępa et al. 2015; Hytönen et al. 2014; Ljøstad und Mygland 2008). Auch der CXCL13-Albumin-Quotient fiel im Verlauf unter antibiotischer Behandlung bei diesen einzelnen Fällen ab. Jedoch waren in der vorliegenden Studie nur von wenigen Patienten Verlaufsuntersuchungen vorhanden (n = 9).

Aufgrund des schnellen Absinkens der CXCL13-Konzentrationen im Liquor unter antibiotischer Therapie wurde ebenso ein Einfluss vorangegangener antibiotischer Behandlungen aufgrund anderer Erkrankungen in Erwägung gezogen. Der Einfluss

antibiotischer Vorbehandlungen auf CXCL13 im Liquor und den CXCL13-Albumin-Quotienten wurde anhand der „Patienten mit akuter Neuroborreliose“ geprüft. Der Zeitraum der Einflussnahme wurde auf einen Monat vor CXCL13-Messung festgelegt, da aufgrund der Halbwertszeiten der Antibiotika nach diesem Zeitraum keine Wirkung mehr im Körper zu erwarten war. Die Konzentrationen von CXCL13 im Liquor unterschieden sich signifikant, nicht jedoch die CXCL13-Albumin-Quotienten. Bei den antibiotisch anbehandelten „Patienten mit akuter Neuroborreliose“ variierte der Zeitraum der antibiotischen Vorbehandlung vor CXCL13-Messung zwischen einigen Stunden und 14 Tagen, da bei einem Teil der Patienten bei V. a. Neuroborreliose vor der Vorstellung eine Antibiose begonnen worden war. Bei dem überwiegenden Teil der Antibiosen handelte es sich um Ceftriaxon i. v. (13 von 14 antibiotisch anbehandelten Patienten mit „akuter Neuroborreliose“), bei einem Fall um Doxycyclin und ein Patient hatte neben Ceftriaxon perioperativ eine weitere Antibiose erhalten, wobei der Wirkstoff nicht mehr herausgefunden werden konnte. Der Einfluss anderer antibiotischer Vorbehandlungen auf die CXCL13-Konzentration im Liquor im Rahmen anderer, auch nicht zentralnervöser Vorerkrankungen, konnte anhand der vorliegenden Daten nicht beurteilt werden. Letztlich spricht die im Gegensatz zu den unbehandelten Patienten niedrigere CXCL13-Konzentration im Liquor bei den überwiegend mit Ceftriaxon antibiotisch anbehandelten Patienten für das schnelle Absinken der CXCL13-Konzentration im Liquor unter adäquater antibiotischer Therapie.

### **4.3.3 Körperliche und kognitive Einschränkungen bei akuter Neuroborreliose**

Das PLDS ist eine in der Vergangenheit viel und kontrovers diskutierte Entität nach stattgehabter und adäquat behandelter (Neuro-)Borreliose, bestehend aus unspezifischen körperlichen Symptomen und kognitiven Beeinträchtigungen (s. Kapitel 1.5 Post-Treatment-Lyme-Disease-Syndrom, Seite 15), welche von eindeutigen Residuen der Erkrankung abzugrenzen sind. Bisher wurden aber nicht die Beeinträchtigungen während der Erkrankung mit Neuroborreliose und im Zusammenhang mit den liquorchemischen Parametern untersucht.

Trotz des kleinen Patienten-Kollektivs ergaben sich im Vergleich zu den „gesunden Kontroll-Probanden“ bei den „Patienten mit akuter Neuroborreliose“ Auffälligkeiten beim Langzeitgedächtnis (konsistenter Langzeitgedächtnisabruf, Selective Reminding Test, Brief

Repeatable Battery; Domäne Gedächtnis, zusammengesetzt aus Selective Reminding und Spatial Recall Test der Brief Repeatable Battery), bei der Reaktionsgeschwindigkeit (90-Sekunden-Wert, Faces-Symbol-Test), beim verbalen Lernen (Domäne verbales Lernen, bestehend aus mehreren Parametern des Selective Reminding Test der Brief Repeatable Battery), bei Schmerzen (Short-Form-36-Health-Survey), körperlichen Alltagsaktivitäten (körperliche Rollenfunktion, Short-Form-36-Health-Survey; physische Lebensqualität, World Health Organization Quality of Life Group-BREF) und Distress durch Wahrnehmung körperlicher Dysfunktionen (Somatisierung, Symptomcheckliste von Derogatis). In allen diesen Bereichen waren die „Patienten mit akuter Neuroborreliose“ stärker beeinträchtigt als die *Gesunden*. Auch wenn keine statistischen Schlüsse gezogen werden konnten, wurden zum Vergleich auch die Werte der wenigen „Patienten mit Z. n. Neuroborreliose“, die untersucht wurden, mit angegeben. Bei der Reaktionsgeschwindigkeit im Faces-Symbol-Test, der Domäne verbales Lernen und der physischen Lebensqualität im World Health Organization Quality of Life-BREF schienen die „Patienten nach stattgehabter Neuroborreliose“ noch mehr beeinträchtigt als die „Patienten mit akuter Neuroborreliose“, wobei die Stichprobengröße ( $n = 5$  bis  $9$ ) natürlich nicht repräsentativ ist.

Bei „Patienten mit akuter Neuroborreliose“ legen die signifikanten Korrelationen zwischen der Zellzahl im Liquor und den Bereichen Schmerzen (Short-Form-36-Health-Survey), körperliche Rollenfunktion (Short-Form-36-Health-Survey) und physische Lebensqualität (World Health Organization Quality of Life Group-BREF), sowie zwischen CXCL13 und dem Bereich Schmerzen (Short-Form-36-Health-Survey), einen Zusammenhang zwischen der Schwere der Infektion und der Symptom-Schwere nahe. Je höher jeweils die Zellzahl und die CXCL13-Konzentration im Liquor waren, desto größere Beeinträchtigungen wurden in den genannten Bereichen von den Patienten angegeben.

Überraschend war das Ergebnis, dass die „Gesunden“ in dem Test Alertness der Testatterie zur Aufmerksamkeitsprüfung bei der „Physischen Alertness“ signifikant weniger Aufmerksamkeit zeigten als die „Kranken“. Der Begriff beschreibt die erhöhte Reaktionsbereitschaft in Erwartung eines zukünftig eintreffenden Ereignisses. Denkbar ist eine Über-Kompensation der „Kranken“ aufgrund der anzunehmenden höheren Motivation, da es in der Untersuchung um ihr eigenes Krankheitsbild ging. Zumindest differierten die Standardabweichungen in den Alertness-Tests von „Gesunden“ statistisch nicht von jenen der „Kranken“, sodass von einem vergleichbaren Konzentrations- und

Aufmerksamkeitsniveau und damit gleichbleibender Motivation und Einsatzbereitschaft bei den „gesunden Testpersonen“ ausgegangen werden kann. Da dieser Befund jedoch nur einen einzigen errechneten Wert (die Phasische Alertness) eines Tests (Alertness) aus einer ganzen Testbatterie betrifft, sollte er nicht überbewertet werden, da nach vielen statistischen Vergleichen auch falsch positive Unterschiede zu erwarten sind.

Insgesamt gaben „akut kranke Patienten mit Neuroborreliose“ körperliche und kognitive Beeinträchtigungen an, deren Objektivierbarkeit mittels körperlicher und instrumenteller Untersuchung versucht wurde, aber schwierig war. Neben eindeutigen Residuen (wie z. B. einer fazialen Parese), gibt es schwer fassbare Symptome bei den Patienten, welche langfristig zu Einschränkungen führen, die sie selbst mutmaßlich erst nach einiger Zeit der Rekonvaleszenz und Reintegration in den Alltag wahrnehmen. Ob es sich also bei dem beschriebenen PLDS tatsächlich um eine „neue“ Entität handelt, die nach Ausheilung der eigentlichen Infektion auftritt, oder um Residuen von Symptomen, die einfach nur schwer fassbar sind, ist letztlich nicht klar. Hier würden Untersuchungen helfen, die feststellen könnten, inwiefern durch die Borrelien tatsächlich auf Molekül- oder Zell-Ebene irreversible Langzeit-Schäden entstehen und ob diese Schäden über die eigentliche Infektion hinaus, z. B. durch toxische oder immunologische Vorgänge, fortschreiten. In bisherigen Studien konnten zumindest ein verminderter Metabolismus in den Frontallappen bei Patienten mit Neuroborreliose im Vergleich mit Gesunden in MRT-Untersuchungen (1H-magnetic resonance spectroscopy) und eine signifikant verminderte zerebrale Perfusion frontal kortikal und subkortikal in SPECT-Untersuchungen (single photon emission computed tomography) bei Patienten mit Neuroborreliose im Vergleich zu Gesunden, welche sich unter antibiotischer Behandlung wieder verbesserten, festgestellt werden (Garkowski et al. 2019; Logigian et al. 1997).

#### **4.4 Schlussfolgerung**

In dieser Untersuchung wurden die Parameter TLR1, 2, 5 und 8 sowie CXCL13 jeweils im Liquor und Serum im Hinblick auf ihren möglichen diagnostischen Nutzen bei Patienten mit Neuroborreliose untersucht. Ein Einfluss der Neuroborreliose auf die Konzentrationen von TLR1, TLR8 und CXCL13 im Liquor konnte gefunden werden.

Um die Entität des PLDS besser verstehen zu können, wurde versucht die unspezifischen körperlichen und kognitiven Symptome, die auch schon Patienten im akuten

Kranheitsstadium beklagen, durch neuropsychologische Testungen zu objektivieren. Letztlich fanden sich auch bei den „akut kranken Patienten mit Neuroborreliose“ derartige Beschwerden. Ob es sich hier allerdings um Residuen durch Zellschädigungen handelt kann anhand der in dieser Studie erhobenen Daten nicht beantwortet werden.

## 5 Zusammenfassung

Hintergrund: Die Neuroborreliose ist eine an Häufigkeit zunehmende Erkrankung. Die Diagnose-Stellung ist nach wie vor nicht immer einfach. Im Anfangsstadium der Erkrankung können die diagnostischen Marker wie die Pleozytose (selten) und die Borrelien-spezifischen Antikörperindizes häufig noch negativ sein. Ein Direktnachweis der Bakterien oder deren Genoms gelingt nur sehr selten. Nach adäquater Therapie der Erkrankung können die Borrelien-spezifischen Antikörperindizes dann über Jahre hinweg positiv bleiben und zu Fehlinterpretation führen. Auch durch die Seropositivität in der Bevölkerung kann es gerade bei unspezifischer Symptomatik zu Fehl-Diagnosen und Übertherapie kommen. Deshalb wird stetig nach neuen diagnostischen Möglichkeiten für die Neuroborreliose gesucht.

Haupt-Zielsetzung dieser Arbeit war also die Suche nach möglichen diagnostischen Markern. Geprüft wurden Parameter, für welche in der Literatur ein Zusammenhang zur Pathogenese der Neuroborreliose vermutet wurde (Toll-Like-Rezeptor 1, 2, 5, 8 und das Chemokin CXCL13). Zum anderen sollten körperliche und kognitive Beeinträchtigungen bei akuter Neuroborreliose erfasst werden, die in der Anamnese und der körperlichen Routine-Untersuchung schwer fassbar sind. Die teilweisen sehr unspezifischen Symptome bei akuter Neuroborreliose führen immer wieder dazu, dass die Diagnose erst im Krankheitsverlauf gestellt wird. Für das Post-Lyme-Disease-Syndrom wurden bereits viele Studien zur Objektivierung dieser Beschwerden durch neuropsychologische Testungen veröffentlicht. Für solche Beschwerden bei Patienten mit akuter Neuroborreliose gab es bisher nur wenige Daten.

Material und Methoden: Insgesamt wurden 77 „Patienten mit akuter Neuroborreliose“, 114 „gesunde Kontroll-Personen“ und 17 „Patienten mit Z. n. Neuroborreliose“ untersucht. Aus Liquor- und Serum-Proben wurden quantitative Messungen von Toll-Like-Rezeptor 1, 2, 5 und 8 sowie von CXCL13 mittels ELISA vorgenommen. Durch neuropsychologische Untersuchungen anhand von computergestützten Tests und Fragebögen wurde eine Erfassung der Symptome versucht. Die Gruppen-Größen für die jeweiligen Untersuchungen divergierten aufgrund von Teilnahme-Bereitschaft und verfügbarem Material.

Ergebnisse: Bei neun von 69 „Patienten mit akuter Neuroborreliose“ (13 %) konnte eine signifikante Erhöhung von Toll-Like-Rezeptor 1 im Liquor gegenüber „gesunden Kontrollen“ (n = 60, alle unterhalb der niedrigsten nachweisbaren Konzentration, somit

nicht messbar, gleichgesetzt mit null) mit Konzentrationen zwischen 0,004 und 0,617 ng/ml festgestellt werden. Toll-Like-Rezeptor 1 im Serum unterschied sich zwischen den Gruppen nicht signifikant voneinander, sodass eine intrathekale Synthese von Toll-Like-Rezeptor 1 im Rahmen einer Neuroborreliose angenommen werden konnte. Nach der Formel zur Bestimmung einer möglichen intrathekalen Synthese von Immunglobulinen wurde auch der Toll-Like-Rezeptor-1-Albumin-Quotient (Quotient von Toll-Like-Rezeptor 1 im Liquor und Serum/ Quotient von Albumin im Liquor und Serum) bestimmt. Bei vier von 17 „Patienten mit akuter Neuroborreliose“ (24 %) fanden sich positive Toll-Like-Rezeptor-1-Albumin-Quotienten mit Werten zwischen 5,7 und 47,8.

Bei 19 von 59 „Patienten mit akuter Neuroborreliose“ (32 %) konnten Toll-Like-Rezeptor-8-Konzentrationen im Liquor zwischen 0,243 und 1,179 ng/ml gemessen werden mit statistisch deutlichem Unterschied gegenüber „Gesunden“ und „Patienten nach stattgehabter Neuroborreliose“. Aber auch bei drei von 26 „Gesunden“ (12 %) war Toll-Like-Rezeptor 8 im Liquor nachweisbar. Für Toll-Like-Rezeptor 8 im Serum gab es keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen, der Toll-Like-Rezeptor-8-Albumin-Quotient (analog zur Toll-Like-Rezeptor 1) zur Bestimmung einer intrathekalen Synthese war bei allen verfügbaren Ergebnissen bei Patienten mit akuter Neuroborreliose nicht maßgeblich erhöht (n = 6).

Für Toll-Like-Rezeptor 2 und 5 im Liquor und Serum konnte in der vorliegenden Untersuchung keine Erhöhung der Konzentrationen durch die Neuroborreliose festgestellt werden.

Das Chemokin CXCL13 im Liquor konnte als sehr sensitiver (Sensitivität 94,9 %) und spezifischer (Spezifität 98,3 %) Marker für „akute Neuroborreliose“ (gegenüber „Gesunden“ und „Patienten mit Z. n. Neuroborreliose“) bestätigt werden (Cutoff 11 pg/ml). Bei 56 von 59 „Patienten mit akuter Neuroborreliose“ (95 %, Konzentrationen von 14 bis 22960 pg/ml) und bei zwei von 14 „Patienten mit Z. n. Neuroborreliose“ (14 %, Konzentrationen von 8 und 37 pg/ml) waren messbare CXCL13-Konzentrationen im Liquor vorhanden. Bei den 45 „gesunden Kontrollen“ war CXCL13 im Liquor nicht nachweisbar. Für CXCL13 im Serum ergaben sich keine Unterschiede zwischen den Gruppen. Der CXCL13-Albumin-Quotient zur Bestimmung der intrathekalen Synthese von CXCL13 (in Anlehnung an die Formel zur Bestimmung einer intrathekalen Immunglobulin-Synthese)

war bei 42 von 45 „Patienten mit akuter Neuroborreliose“ (93 %, Werte zwischen 7,3 und 26607,7) und bei einem von zwölf „Patienten mit Z. n. Neuroborreliose“ (Wert 23,2) messbar. Unter antibiotischer Therapie fielen die Konzentrationen von CXCL13 im Liquor ab.

Bei den neuropsychologischen Untersuchungen fanden sich für die „Patienten mit akuter Neuroborreliose“ Beeinträchtigungen des Gedächtnisses, der Reaktionsgeschwindigkeit, des verbalen Lernens, der körperlichen Alltagsaktivitäten und körperliche Schmerzen. Für die Beeinträchtigungen der körperlichen Alltagsaktivitäten und der körperlichen Schmerzen ergab sich ein Zusammenhang mit der Schwere der Entzündung, gemessen an der Leukozytenzahl im Liquor. In den Bereichen Aufmerksamkeit, räumliche Merkfähigkeit, Non-verbales Lernen, Arbeitsgedächtnis, Frontale Exekutivfunktionen, psychisches Wohlbefinden, Schlaf, Angst und Depression bestanden keine Beeinträchtigungen.

Schlussfolgerung: Die Ergebnisse der Toll-Like-Rezeptor-Untersuchungen zeigen einen Anstieg von Toll-Like-Rezeptor 1 und 8 im Liquor im Rahmen einer Neuroborreliose. Die hier erhobenen Daten sind aber aufgrund der geringen Gruppengröße noch nicht ausreichend, um diese Proteine als potentielle zusätzliche diagnostische Marker der Neuroborreliose zu etablieren. Die Studie schafft aber eine Grundlage für eine prospektive Studie. Eine solche Untersuchung sollte auf die frühe Neuroborreliose fokussiert werden, da hier die diagnostischen Herausforderungen liegen.

Die Patienten berichteten bisweilen Beschwerden wie Gedächtnisstörungen und Einschränkungen in den Alltagsaktivitäten. Dafür fanden sich in der Auswertung der Fragebögen und der computergestützten Testung bereits in der Akutphase Korrelate. Insofern sind kognitive Schäden denkbar, die langfristig zu subtilen kognitiven Einschränkungen führen können und sich vielleicht im Post-Treatment-Lyme-Disease-Syndrom widerspiegeln.



## **6 Anhang**

### **6.1 Neuropsychologische Untersuchungen**

#### **6.1.1 Brief Repeatable Battery (BRB)**

##### 6.1.1.1 Wortlistentest (Selective Reminding Test = SRT)

Der BRB Wortlistentest umfasst zwölf Wörter, die der Testperson in einsekündigem Abstand nacheinander vorgelesen werden. Diese soll die Testperson danach wiedergeben. Die Wörter, die der Testperson nicht mehr einfallen, werden erneut vorgelesen, und die Testperson soll wiederum alle zwölf Wörter nennen. Nach diesem Schema werden sechs Durchgänge absolviert. Im Fall, dass alle zwölf Wörter korrekt wiedergegeben werden, muss dies zwei Mal erfolgen und alle nachfolgenden Durchgänge entfallen. Nach einem Zeitraum von ca. 15 Minuten soll die Testperson noch einmal alle zwölf Wörter aus dem Gedächtnis wiedergeben, ohne sie vorher noch einmal vorgelesen bekommen zu haben (Scherer et al. 2004).

##### 6.1.1.2 Räumlicher Merkfähigkeitstest (Spatial Recall Test = SPART)

Bei dem BRB räumlichen Merkfähigkeitstest wird der Testperson ein 6 x 6 Felder beinhaltendes Quadrat auf einem Computerbildschirm präsentiert. Dem Probanden wird für zehn Sekunden ein aus zehn schwarzen Punkten bestehendes Muster pseudorandomisiert in den Feldern angezeigt. Während dieser Zeit soll der Proband sich das Muster einprägen und es anschließend in die Felder eines leeren Quadrates eintragen. Nach diesem Schema werden noch zwei Durchgänge durchgeführt. Das Muster bleibt dabei in allen drei Durchgängen gleich. Nach einem Zeitraum von ca. 15 Minuten wird das leere Quadrat dem Probanden noch einmal vorgelegt und er soll die zehn Punkte erneut so eintragen, wie er das Muster in Erinnerung hat, ohne dass er es vorher noch einmal sieht (Scherer et al. 2004).

#### **6.1.2 Faces-Symbol-Test**

Bei dem Faces-Symbol-Test gibt es neun verschiedene Gesichter, denen jeweils ein anderes Symbol zugeordnet ist. Die Aufgabe der Testperson besteht darin, jene Symbole entsprechend den neun Gesichtern zuzuordnen, die sich 67 Mal in verschiedener Reihenfolge wiederholen. Dabei wird die Zeit gemessen. Nach 90 Sekunden wird

festgehalten wie viele Symbole korrekt zugeordnet wurden und der Mittelwert daraus gebildet. Wenn alle Symbole zugeordnet wurden, wird ebenfalls die Zeit notiert und die korrekten Zuordnungen werden ausgezählt und gemittelt. Ein Wert von <3,0 Sekunden pro richtige Zuordnung besagt, dass die Testperson kognitiv unauffällig ist. Ab 3,0 Sekunden pro Zuordnung besteht wahrscheinlich eine kognitive Beeinträchtigung und es werden weitere Testungen empfohlen. Die 90-Sekunden-Mittelwerte sollten den Gesamttest-Mittelwerten ähnlich sein. Bei deutlich höheren 90-Sekunden-Mittelwerten zeigt die Testperson Anfangsschwierigkeiten, bei deutlich kleineren weist dies auf eine Ermüdung im Testverlauf hin (Scherer 2002).

### **6.1.3 Testbatterie zur Aufmerksamkeitsprüfung (TAP)**

#### 6.1.3.1 Test „Alertness“

Der Testperson wird auf einem Computerbildschirm ein schwarzer Hintergrund gezeigt. Auf diesem erscheint in unregelmäßigen Abständen ein Kreuz. Immer wenn das Kreuz erscheint, soll die Testperson eine speziell für diesen Test vorhandene Taste drücken, die ihr zuvor in die Hand gegeben worden ist. Durch die Taste kann die Reaktionszeit zwischen Erscheinen des Kreuzes und dem Tastendruck in Millisekunden genau gemessen werden. Ein Durchgang beinhaltet etwa 20 Kreuze. Es gibt vier Durchgänge, wobei beim zweiten und dritten Durchgang vor jedem Kreuz ein akustisches Warnsignal ertönt, das allerdings in den Zeitabständen zum Erscheinen des Kreuzes variiert (Zimmermann und Fimm 2007).

#### 6.1.3.2 Test „geteilte Aufmerksamkeit“

Bei diesem Test muss die Testperson gleichzeitig auf den Bildschirm und auf akustische Signale achten. Auf dem schwarzen Bildschirm werden 4 x 4 weiße Punkte in Form eines Quadrates präsentiert. Einige der Punkte werden durch Kreuze ersetzt, wobei die Position der Kreuze jede Sekunde auf den Punkten wandert. Immer wenn vier Kreuze aneinandergrenzend die Form eines kleinen Quadrates bilden, soll die Testperson eine dafür vorgesehene Taste drücken, die die Reaktionsgeschwindigkeit übermittelt. Gleichzeitig werden abwechselnd jede Sekunde ein hoher und ein tiefer Ton über Lautsprecher wiedergegeben. Sobald derselbe Ton zwei Mal hintereinander ertönt, soll die Testperson ebenfalls die Taste drücken (Zimmermann und Fimm 2007).

### 6.1.3.3 Test „Go/Nogo“

Der Test zeigt auf einem schwarzen Bildschirmhintergrund einen weißen Punkt in der Mitte. Jede Sekunde formt sich der Punkt entweder zu einem X-Zeichen oder zu einem „Plus-Zeichen“. Dies geschieht in zufälliger Reihenfolge, sodass auch mehrfach das gleiche Zeichen auftauchen kann. Der Proband soll immer nur die vorgesehene Taste drücken, wenn das X-Zeichen erscheint. Über den Tastendruck wird die Reaktionsgeschwindigkeit gemessen (Zimmermann und Fimm 2007).

### **6.1.4 Short-Form-36-Health-Survey (SF 36)**

Der Short-Form-36-Health-Survey-Fragebogen besteht aus 36 Fragen zum subjektiven Gesundheitszustand bzw. der gesundheitsbezogenen Lebensqualität. Diese lassen sich in acht Dimensionen einordnen: Körperliche Funktionsfähigkeit, Körperliche Rollenfunktion, Körperliche Schmerzen, Allgemeine Gesundheit, Vitalität, Soziale Funktionsfähigkeit, Emotionale Rollenfunktion, Psychisches Wohlbefinden (Morfeld et al. 2005). Die Probanden können bei den einzelnen Fragen zwischen zwei bis sechs Antwortmöglichkeiten entscheiden. Aus den entsprechenden Zahlenwerten der Antworten werden dann die Dimensionen errechnet. Um eine bessere Vergleichbarkeit zu erzielen werden die Werte der Dimensionen auf einen Wertebereich von null bis 100 umgeformt. Dabei entsprechen höhere Werte einem besseren subjektiven Gesundheitszustand (Hays et al. 1996).

### **6.1.5 Pittsburgher Schlafqualitäts-Index (PSQI)**

Der Fragebogen dient zur Erfassung der Schlafqualität der letzten vier Wochen, die anhand der subjektiven Häufigkeit von schlafstörenden Ereignissen und Schlafzeiten ermittelt wird. Die Items werden zu einem Gesamtscore verrechnet, der eine Aussage darüber macht, wie gut oder schlecht der Schlaf des Probanden ist. Je höher der Wert des Gesamtscores ist, desto schlechter der Schlaf. Der Maximalwert des Gesamtscores ist 21. Der Grenzwert zwischen gutem und schlechtem Schlaf liegt bei fünf Punkten (Buysse et al. 1989).

### **6.1.6 Fibromyalgia Impact Questionnaire (FIQ)**

Durch den Fibromyalgia Impact Questionnaire werden Symptome der Fibromyalgie mit Hilfe von 14 Fragen erfasst. Diese lassen sich zu zehn Items zusammenfassen, die angeben, wie stark die Schmerzen im Bewegungsapparat und die dadurch entstandenen

Einschränkungen im Alltag der letzten sieben Tage waren. Bei jedem Item kann ein Punktwert von zehn erreicht werden, sodass insgesamt maximal 100 Punkte erreicht werden können. Menschen, die Fibromyalgie-Symptome aufweisen, haben im Mittel eine Punktwert von 50. Handelt es sich um eine schwere Form, wird von einem Punktwert von über 70 ausgegangen. Somit steigt mit Höhe der Punktwerte auch der Einfluss der Fibromyalgie-Symptome auf den Alltag (Bennett 2005).

### **6.1.7 Symptomcheckliste von Derogatis (SCL-90-R)**

Die Symptomcheckliste von Derogatis ist ein Fragebogen mit 90 Fragen, der subjektive körperliche und psychische Symptome einer Person im Zeitfenster der letzten sieben Tagen messen soll. Durch die vorgegebenen Fragen wird es den Probanden erleichtert Auskunft über ihre Beschwerden zu geben, indem sie zwischen fünf Stärkekategorien, von „überhaupt nicht“ bis „sehr stark“ wählen können. Die einzelnen Fragen der SCL-90-R werden mehrdimensional ausgewertet. Die Fragen werden neun Skalen zugeordnet: Somatisierung, Zwanghaftigkeit, Unsicherheit im Sozialkontakt, Depressivität, Ängstlichkeit, Aggressivität/Feindseligkeit, Phobische Angst, Paranoides Denken und Psychotizismus. Daneben gibt es Zusatzfragen, die keiner der Skalen zugeordnet werden können. Allen Kategorien kann, nach Berechnung mit Hilfe eines Schemas, ein T-Wert zugeordnet werden, wonach die symptomatische Belastung des Probanden im Vergleich zu einer Normalgruppe abgeschätzt werden kann. Daneben werden die globalen Kennwerte GSI (Global Severity Index), der die grundsätzliche psychische Belastung darlegt, und PST (Positive Symptom total), der die Anzahl der Symptome angibt, bei denen eine Belastung vorliegt, gemessen (Franke 1995).

### **6.1.8 World Health Organization Quality of Life Group (WHOQOL)-BREF**

Der World Health Organization Quality of Life Group-BREF ist ein Fragebogen für die Gesamtbeurteilung der Lebensqualität anhand von verschiedenen Domänen: Soziale Beziehungen, Global, Physisch, Umwelt und Psychische Domäne. Anhand von 26 Fragen mit jeweils fünf Antwortmöglichkeiten zwischen „sehr schlecht“ und „sehr gut“ werden Punktwerte für die einzelnen Fragen vergeben und daraus die Domänenwerte errechnet. Durch Umformung der Domänenwerte in einen Wertebereich zwischen null und 100 werden

die Domänenwerte vergleichbar. Je höher dabei die Domänenwerte ausfallen, desto besser ist die Lebensqualität (Angermeyer et al. 2000).

### **6.1.9 State-Trait Anxiety Inventory (STAI) I und II**

Der STAI I erfasst die Angst als vorübergehenden Zustand, wohingegen der STAI II die Angst als eine Eigenschaft der Person misst. Beide bestehen aus 20 Fragen, die jeweils durch vier Antwortmöglichkeiten von „überhaupt nicht“ bis „sehr“ erwidert werden können. Durch Addition der einzelnen Antwortwerte können für jeden Fragebogen Werte zwischen 20 und 80 ermittelt werden. Je höher der Wert in dem jeweiligen Fragebogen ist, umso größer die Angst. Ein Wert von 20 wird als Angstfreiheit angenommen. Ein Wert von 80 stellt einen Zustand höchster Angst dar (Spielberger et al. 1970).

### **6.1.10 Beck-Depressionsinventar (BDI)**

Im Beck-Depressionsinventar (Deutsche Ausgabe 1993 bei Verlag Hans Huber, Bern) beantworten die Probanden anhand von vier Antwortmöglichkeiten 21 Fragen darüber, wie sie sich in der letzten Woche gefühlt haben. Die Themen der Fragen umfassen depressive Symptomatiken (wie z. B. persönliches Versagen, Unzufriedenheit, Schuldgefühle) und werden mittels Addition der für die Antworten vergebenen Punkte ausgewertet. Je höher die erreichte Punktzahl ist, umso depressiver ist der Proband. Ein Wert zwischen zehn und 18 Punkten spricht für eine milde bis mäßige Depression, 19 bis 29 Punkte weisen auf eine mäßige bis schwere Depression hin. Ab 30 Punkten ist von einer schweren Depression auszugehen. Die maximal erreichbare Punktzahl ist 63 (Beck et al. 1988).

## 6.2 Ergebnisse

Tabelle Anhang 1: Messwerte von TLR1 im Liquor

		Gesund	Akute Neuroborreliose	Z.n. Neuroborreliose
TLR1 CSF (ng/ml)	Gültige N	60	69	14
	Mittelwert	0,000	0,046	0,005
	Standardabweichung	0,000	0,145	0,014
	Minimum	0,000	0,000	0,000
	Maximum	0,000	0,668	0,050
	Median	0,000	0,000	0,000
	Perzentil 25	0,000	0,000	0,000
	Perzentil 75	0,000	0,000	0,000

Tabelle Anhang 2: Kreuztabelle zur Verteilung von Patienten mit akuter Neuroborreliose nach TLR1-Ergebnissen im Liquor mit und ohne antibiotische Vorbehandlung innerhalb eines Monats vor LP

		Antibiotische Vorbehandlung innerhalb eines Monats vor LP		Gesamt
		Nein	Ja	
TLR1 CSF	Negativ	35	19	54
	Positiv	4	4	8
Gesamt		39	23	62

Tabelle Anhang 3: Messwerte von TLR1 im Liquor bei Patienten mit akuter Neuroborreliose je nach antibiotischer Vorbehandlung innerhalb eines Monats vor LP

		Antibiotische Vorbehandlung innerhalb eines Monats vor LP		
		Nein	Ja	Unklar
TLR1 CSF (ng/ml)	Gültige N	39	23	7
	Mittelwert	0,031	0,086	0,002
	Standardabweichung	0,111	0,203	0,005
	Minimum	0,000	0,000	0,000
	Maximum	0,510	0,668	0,013
	Median	0,000	0,000	0,000
	Perzentil 25	0,000	0,000	0,000
	Perzentil 75	0,000	0,000	0,000

Tabelle Anhang 4: Messwerte von TLR1 im Serum

		Gesund	Akute Neuroborreliose	Z.n. Neuroborreliose
<b>TLR1 Serum (ng/ml)</b>	<b>Gültige N</b>	16	31	2
	<b>Mittelwert</b>	0,548	0,653	0,984
	<b>Standardabweichung</b>	1,049	1,458	0,866
	<b>Minimum</b>	0,000	0,000	0,371
	<b>Maximum</b>	4,344	8,000	1,596
	<b>Median</b>	0,351	0,332	0,984
	<b>Perzentil 25</b>	0,000	0,000	0,371
	<b>Perzentil 75</b>	0,548	0,732	1,596

Tabelle Anhang 5: Messwerte von TLR1 im Serum bei Patienten mit akuter Neuroborreliose je nach antibiotischer Vorbehandlung innerhalb eines Monats vor Probenentnahme

		Antibiotische Vorbehandlung innerhalb eines Monats vor LP		
		Nein	Ja	Unklar
<b>TLR1 Serum (ng/ml)</b>	<b>Gültige N</b>	12	17	2
	<b>Mittelwert</b>	0,436	0,794	0,749
	<b>Standardabweichung</b>	0,573	1,906	1,059
	<b>Minimum</b>	0,000	0,000	0,000
	<b>Maximum</b>	1,778	8,000	1,497
	<b>Median</b>	0,166	0,369	0,749
	<b>Perzentil 25</b>	0,000	0,000	0,000
	<b>Perzentil 75</b>	0,742	0,511	1,497

**Tabelle Anhang 6: TLR1 im Liquor und Serum bei Patienten mit akuter Neuroborreliose und antibiotischer Vorbehandlung innerhalb eines Monats vor LP**

Fall	TLR1 im CSF (ng/ml)	TLR1 im Serum (ng/ml)	Antibiotikum	Leukozyten / $\mu$ l CSF
1	0,000	.	Ceftriaxon 2g/d i.v. seit 8 d	62
2	0,000	.	Ceftriaxon 2g/d i.v. seit 14 d	5
3	0,257	0,328	Ceftriaxon 2g/d i.v. seit 9 d	68
4	0,000	.	Cephalosporin seit 8 d	258
5	0,000	.	Cephalosporin seit 14 d	98
6	0,000	.	Ampicillin und Ceftriaxon i.v. seit einigen Stunden	127
7	0,617	8,000	Doxycyclin 200 mg/d seit 7 d	167
8	0,000	.	Ceftriaxon 2g/d i.v. seit 14 d	34
9	0,000	0,560	Ceftriaxon i.v. seit 7 d	26
10	0,000	0,000	Ceftriaxon und Ampicillin seit 7 d	87
11	0,000	0,409	Ceftriaxon seit 10 d	199
12	0,000	0,000	Ceftriaxon 2g/d seit 10 d	16
13	0,000	0,511	Ceftriaxon und Ampicillin seit 8 d	376
14	0,000	0,381	Ceftriaxon 4g/d seit 11 d	57
15	0,000	0,000	Ceftriaxon seit 7 d	98
16	0,000	0,000	Ceftriaxon und Ampicillin seit 7 d	139
17	0,000	0,000	Ceftriaxon und Ampicillin seit 7 d	135
18	0,432	0,000	Ceftriaxon und Ampicillin seit 3 d	1024
19	0,000	0,000	Ceftriaxon und Ampicillin seit 10 d	6
20	0,000	0,452	Ceftriaxon und Ampicillin seit 4 d	9
21	0,000	0,369	Ceftriaxon und Ampicillin seit 12 d	22
22	0,668	0,813	Ceftriaxon und Ampicillin seit 8 d	69
23	0,000	1,683	Ceftriaxon seit 6 d	26

**Tabelle Anhang 7: Messwerte von TLR2 im Liquor**

		Gesund	Akute Neuroborreliose	Z.n. Neuroborreliose
<b>TLR2 CSF (ng/ml)</b>	<b>Gültige N</b>	59	63	13
	<b>Mittelwert</b>	7,874	10,337	8,415
	<b>Standardabweichung</b>	5,389	19,523	4,250
	<b>Minimum</b>	0,444	0,000	0,524
	<b>Maximum</b>	20,394	111,670	14,195
	<b>Median</b>	7,873	3,949	8,384
	<b>Perzentil 25</b>	4,291	0,606	7,120
	<b>Perzentil 75</b>	10,579	11,790	11,201



Tabelle Anhang 8: Messwerte von TLR2 im Serum

		Gesund	Akute Neuroborreliose	Z.n. Neuroborreliose
TLR2 Serum (ng/ml)	Gültige N	17	31	2
	Mittelwert	7,552	0,653	0,984
	Standardabweichung	28,896	1,458	0,866
	Minimum	0,000	0,000	0,371
	Maximum	119,614	8,000	1,596
	Median	0,369	0,332	0,984
	Perzentil 25	0,000	0,000	0,371
	Perzentil 75	0,548	0,732	1,596

Tabelle Anhang 9: Messwerte von TLR5 im Liquor

		Gesund	Akute Neuroborreliose	Z.n. Neuroborreliose
TLR5 CSF (ng/ml)	Gültige N	14	28	2
	Mittelwert	0,228	0,031	0,000
	Standardabweichung	0,581	0,163	0,000
	Minimum	0,000	0,000	0,000
	Maximum	1,670	0,860	0,000
	Median	0,000	0,000	0,000
	Perzentil 25	0,000	0,000	0,000
	Perzentil 75	0,000	0,000	0,000

Tabelle Anhang 10: Messwerte von TLR5 im Serum

		Gesund	Akute Neuroborreliose	Z.n. Neuroborreliose
TLR5 Serum (ng/ml)	Gültige N	14	28	2
	Mittelwert	1,034	1,028	0,434
	Standardabweichung	0,974	2,042	0,614
	Minimum	0,000	0,000	0,000
	Maximum	2,773	10,311	0,869
	Median	0,945	0,000	0,434
	Perzentil 25	0,000	0,000	0,000
	Perzentil 75	2,037	1,211	0,869

Tabelle Anhang 11: Messwerte von TLR8 im Liquor

		Gesund	Akute Neuroborreliose	Z.n. Neuroborreliose
TLR8 CSF (ng/ml)	Gültige N	29	59	13
	Mittelwert	0,040	0,154	0,000
	Standardabweichung	0,129	0,256	0,000
	Minimum	0,000	0,000	0,000
	Maximum	0,580	1,179	0,000
	Median	0,000	0,000	0,000
	Perzentil 25	0,000	0,000	0,000
	Perzentil 75	0,000	0,337	0,000

Tabelle Anhang 12: Messwerte von TLR8 im Liquor bei Patienten mit akuter Neuroborreliose je nach antibiotischer Vorbehandlung innerhalb eines Monats vor LP

		Antibiotische Vorbehandlung innerhalb eines Monats vor LP		
		Nein	Ja	Unklar
TLR8 CSF (ng/ml)	Gültige N	31	21	7
	Mittelwert	0,183	0,020	0,430
	Standardabweichung	0,266	0,089	0,311
	Minimum	0,000	0,000	0,000
	Maximum	1,179	0,410	0,812
	Median	0,000	0,000	0,531
	Perzentil 25	0,000	0,000	0,000
	Perzentil 75	0,353	0,000	0,614

**Tabelle Anhang 13: TLR8 im Liquor und Serum bei Patienten mit akuter Neuroborreliose und antibiotischer Vorbehandlung innerhalb eines Monats vor LP**

Fall	TLR8 im CSF (ng/ml)	TLR8 im Serum (ng/ml)	Antibiotikum	Leukozyten/ $\mu$ l CSF
1	0,000	.	Ceftriaxon 2g/d i.v. seit 8 d	62
2	0,000	.	Ceftriaxon 2g/d i.v. seit 14 d	5
3	0,000	.	Ceftriaxon 2g/d i.v. seit 9 d	68
4	0,000	.	Cephalosporin seit 14 d	98
5	0,410	.	Ampicillin und Ceftriaxon i.v. seit einigen Stunden	127
6	0,000	.	Ceftriaxon 2g/d i.v. seit 14 d	34
7	0,000	1,179	Ceftriaxon i.v. seit 7 d	26
8	0,000	0,000	Ceftriaxon und Ampicillin seit 7 d	87
9	0,000	0,000	Ceftriaxon seit 10 d	199
10	0,000	0,000	Ceftriaxon 2g/d seit 10 d	16
11	0,000	0,000	Ceftriaxon und Ampicillin seit 8 d	376
12	0,000	0,000	Ceftriaxon 4g/d seit 11 d	57
13	0,000	0,000	Ceftriaxon seit 7 d	98
14	0,000	0,297	Ceftriaxon und Ampicillin seit 7 d	139
15	0,000	0,000	Ceftriaxon und Ampicillin seit 7 d	135
16	0,000	0,000	Ceftriaxon und Ampicillin seit 3 d	1024
17	0,000	0,000	Ceftriaxon und Ampicillin seit 10 d	6
18	0,000	0,000	Ceftriaxon und Ampicillin seit 4 d	9
19	0,000	0,000	Ceftriaxon und Ampicillin seit 12 d	22
20	0,000	0,000	Ceftriaxon und Ampicillin seit 8 d	69
21	0,000	0,000	Ceftriaxon seit 6 d	26

**Tabelle Anhang 14: Messwerte von TLR8 im Serum**

		Gesund	Akute Neuroborreliose	Z.n. Neuroborreliose
TLR8 Serum (ng/ml)	<b>Gültige N</b>	14	28	2
	<b>Mittelwert</b>	0,248	0,259	0,925
	<b>Standardabweichung</b>	0,763	0,598	1,308
	<b>Minimum</b>	0,000	0,000	0,000
	<b>Maximum</b>	2,830	2,067	1,850
	<b>Median</b>	0,000	0,000	0,925
	<b>Perzentil 25</b>	0,000	0,000	0,000
	<b>Perzentil 75</b>	0,000	0,000	1,850

**Tabelle Anhang 15: Übersicht über die Parameter bei den Verlaufsuntersuchungen zu TLR8**

Nr.	Tage nach erster LP	TLR8 im CSF (ng/ml)	TLR8 im Serum (ng/ml)	Quotient*	Leukozyten/ µl CSF	AI IgM**	AI IgG***	Gruppe	Antibiose innerhalb des letzten Monats
1a	164	0,000			7	14,6	3,2	Akute Neuroborreliose	nein
1b	407	0,000			1	0,0	29,3	Z.n. Neuroborreliose	nein
2a	0	0,337			84	7,1	6,4	Akute Neuroborreliose	nein
2b	66	0,000			13	6,2	9,6	Akute Neuroborreliose	nein
2c	133	0,000			3	0,0	17,0	Z.n. Neuroborreliose	nein
3a	0	0,000			5	0,0	10,2	Akute Neuroborreliose	ja
3b	105	0,000			4	0,0	6,0	Z.n. Neuroborreliose	unklar
4a	0	0,303			36	8,8	26,3	Akute Neuroborreliose	nein
4b	16	0,000			34	8,2	21,4	Akute Neuroborreliose	ja
5a	0	0,573			1850	2,1	29,1	Akute Neuroborreliose	nein
5b	14	0,000			301	15,2	36,7	Akute Neuroborreliose	unklar
6a	0	0,000	0,000		9	0,0	0,0	Akute Neuroborreliose	nein
6b	6	0,000	1,179	0,000	26	0,0	0,0	Akute Neuroborreliose	ja
7a	0	0,000	0,379	0,000	136	0,0	0,0	Akute Neuroborreliose	nein
7b	7	0,000	0,000		87	0,0	0,0	Akute Neuroborreliose	ja
8a	0	0,000	0,000		357	16,0	1,3	Akute Neuroborreliose	nein
8b	11	0,000	0,000		199	0,0	2,0	Akute Neuroborreliose	ja
9a	0	0,000	1,894	0,000	116	0,0	6,8	Akute Neuroborreliose	nein
9b	11	0,000	1,850	0,000	1	0,0	8,0	Z.n. Neuroborreliose	ja
10a	0	0,000	0,000		166	0,0	4,9	Akute Neuroborreliose	nein
10b	7	0,000	0,000		98	0,0	21,0	Akute Neuroborreliose	ja
11a	0	0,000	0,000		407	1,8	22,0	Akute Neuroborreliose	nein
11b	3	0,000	0,000		1024	2,6	7,5	Akute Neuroborreliose	ja
11c	10	0,000	0,000		6	1,6	6,1	Akute Neuroborreliose	ja
12a	0	0,000	0,000		1640	0,0	3,6	Akute Neuroborreliose	nein
12b	4	0,000	0,000		9	0,0	1,8	Akute Neuroborreliose	ja
12c	12	0,000	0,000		22	0,0	0,8	Akute Neuroborreliose	ja

\* Quotient (TLR8 CSF/TLR8 Serum) / (Albumin CSF/Albumin Serum)

\*\* Borrelienspezifischer Antikörperindex für IgM

\*\*\* Borrelienspezifischer Antikörperindex für IgG

Tabelle Anhang 16: Messwerte von CXCL13 im Liquor

		Gesund	Akute Neuroborreliose	Z.n. Neuroborreliose
CXCL13 CSF (pg/ml)	Gültige N	45	59	14
	Mittelwert	0,0	3933,7	3,2
	Standardabweichung	0,0	5479,2	10,0
	Minimum	0,0	0,0	0,0
	Maximum	0,0	22960,0	37,4
	Median	0,0	1533,0	0,0
	Perzentil 25	0,0	86,7	0,0
	Perzentil 75	0,0	4885,5	0,0

Tabelle Anhang 17: Messwerte von CXCL13 im Serum

		Gesund	Akute Neuroborreliose	Z.n. Neuroborreliose
CXCL13 Serum (pg/ml)	Gültige N	45	47	13
	Mittelwert	65,4	70,7	41,4
	Standardabweichung	44,4	58,3	33,6
	Minimum	24,7	0,0	0,0
	Maximum	213,5	225,0	134,0
	Median	49,0	53,0	36,0
	Perzentil 25	35,0	29,0	26,0
	Perzentil 75	77,0	93,0	50,0

Tabelle Anhang 18: Messwerte des CXCL13-Albumin-Quotienten

		Gesund	Akute Neuroborreliose	Z.n. Neuroborreliose
CXCL13-Albumin-Quotient*	Gültige N	45	45	12
	Mittelwert	0,0	3359,2	1,9
	Standardabweichung	0,0	5337,2	6,7
	Minimum	0,0	0,0	0,0
	Maximum	0,0	26607,7	23,2
	Median	0,0	1279,1	0,0
	Perzentil 25	0,0	279,2	0,0
	Perzentil 75	0,0	4865,0	0,0

\* Quotient (CXCL13 CSF/CXCL13 Serum) / (Albumin CSF/Albumin Serum)

**Tabelle Anhang 19: Antibiotische Vorbehandlung der Patienten mit akuter Neuroborreliose und antibiotischer Vorbehandlung innerhalb eines Monats vor Probenentnahme und verfügbaren CXCL13-Werten**

Fall	CXCL13 im CSF (pg/ml)	Quotient*	Antibiotikum	Leukozyten/ µl CSF
1	336	434	Ceftriaxon 2g/d i.v. seit 8 Tagen	62
2	16	7	Ceftriaxon 2g/d i.v. seit 14 Tagen + weitere Antibiose (Wirkstoff unbekannt) wegen Divertikulitis	5
3	1166	501	Ceftriaxon 2g/d i.v. seit 9 Tagen	68
4	258	722	Ceftriaxon 2g/d i.v. seit 8 Tagen	258
5	34	133	Ceftriaxon 2g/d i.v. seit 14 Tagen	98
6	1238	433	Ceftriaxon 2g/d i.v. + Ampicillin seit einigen Stunden	127
7	2338	1882	Doxycyclin 200mg/d p.o. seit 7 Tagen	167
8	219	261	Ceftriaxon 2g/d i.v. seit 3 Tagen	50
9	67	119	Ceftriaxon 2g/d i.v. seit 14 Tagen	34
10	57		Ceftriaxon 2g/d i.v. seit 7 Tagen	26
11	2170		Ceftriaxon 2x2g/d i.v. seit 11 Tagen	57
12	687		Ceftriaxon 2g/d i.v. + Ampicillin seit 7 Tagen	135
13	8540	4865	Ceftriaxon 2g/d i.v. + Ampicillin seit 8 Tagen	69
14	18		Ceftriaxon 2g/d i.v. seit 6 Tagen	26

\* Quotient (CXCL13 CSF/CXCL13 Serum) / (Albumin CSF/Albumin Serum)

**Tabelle Anhang 20: Ergebnisse des Pittsburgher Schlaf-Qualitäts-Index**

		Gesund	Akute Neuroborreliose	Z.n. Neuroborreliose
Gesamtscore PSQI	<b>Gültige N</b>	67	19	6
	<b>Mittelwert</b>	8	11	8
	<b>Standardabweichung</b>	5	5	4
	<b>Minimum</b>	0	5	3
	<b>Maximum</b>	19	20	12
	<b>Median</b>	8	10	8
	<b>Perzentil 25</b>	4	7	4
	<b>Perzentil 75</b>	11	15	10

**Tabelle Anhang 21: Korrelationen zwischen liquorchemischen und kognitiven Parametern bei akuter Neuroborreliose**

Korrelationen		Zellzahl/ $\mu$ l im CSF	CXCL13 im CSF (pg/ml)	TLR1 im CSF (ng/ml)	TLR8 im CSF (ng/ml)
BRB Selective Reminding Test Konsistenter Langzeitgedächtnisabruf	Pearson r	-0,021	-0,033	0,186	0,076
	p-Wert	0,858	0,788	0,128	0,680
	Anzahl	73	69	68	32
FST Zeit/ Zuordnung (in sec) nach 90 sec Testzeit	Pearson r	-0,099	-0,061	-0,192	-0,085
	p-Wert	0,443	0,644	0,149	0,693
	Anzahl	62	60	58	24
FST Zeit/ Zuordnung (in sec) bei gesamten Test	Pearson r	-0,030	0,003	-0,213	0,277
	p-Wert	0,817	0,979	0,109	0,179
	Anzahl	62	60	58	25
Domäne Verbales Lernen	Spearman r	-0,066	-0,110	0,238	-0,054
	p-Wert	0,577	0,369	0,051	0,768
	Anzahl	73	69	68	32
SF 36 Schmerzen	Spearman r	-0,314	-0,346	-0,101	-0,237
	p-Wert	0,005	0,002	0,392	0,170
	Anzahl	78	75	74	35
SF 36 Körperliche Rollenfunktion	Spearman r	-0,248	-0,171	-0,039	0,177
	p-Wert	0,030	0,146	0,745	0,318
	Anzahl	77	74	73	34
SCL-90-R Somatisierung	Spearman r	0,073	0,028	0,080	-0,089
	p-Wert	0,524	0,811	0,499	0,613
	Anzahl	78	75	74	35
WHOQOL-BREF Physische Lebensqualität	Spearman r	-0,257	-0,198	-0,118	0,040
	p-Wert	0,026	0,095	0,328	0,823
	Anzahl	75	72	71	33

## 7 Literaturverzeichnis

Aggarwal VR, McBeth J, Zakrzewska JM, Lunt M, Macfarlane GJ (2006): The epidemiology of chronic syndromes that are frequently unexplained: do they have common associated factors? *Int J Epidemiol* 35, 468-76

Alexopoulou L, Holt AC, Medzhitov R, Flavell RA (2001): Recognition of double-stranded RNA and activation of NF-kappaB by Toll-like receptor 3. *Nature* 413, 732-8

Alexopoulou L, Thomas V, Schnare M, Lobet Y, Anguita J, Schoen RT, Medzhitov R, Fikrig E, Flavell RA (2002): Hyporesponsiveness to vaccination with *Borrelia burgdorferi* OspA in humans and in TLR1- and TLR2-deficient mice. *Nat Med* 8, 878-84

Angermeyer MC, Kilian R, Matschinger H: WHOQOL-100 und WHOQOL-BREF - Handbuch für die deutschsprachige Version der WHO Instrumente zur Erfassung von Lebensqualität. Hogrefe-Verlag, Göttingen 2000

Ansel KM, Ngo VN, Hyman PL, Luther SA, Förster R, Sedgwick JD, Browning JL, Lipp M, Cyster JG (2000): A chemokine-driven positive feedback loop organizes lymphoid follicles. *Nature* 406, 309-14

Arnáiz E, Almkvist O, Ivnik RJ, Tangalos EG, Wahlund LO, Winblad B, Petersen RC (2004): Mild Cognitive Impairment: A Cross-National Comparison. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 75, 1275-80

Asch ES, Bujak DI, Weiss M, Peterson MG, Weinstein A (1994): Lyme disease: an infectious and postinfectious syndrome. *J Rheumatol* 21, 454-61

Aucott JN, Rebman AW, Crowder LA, Kortte KB (2013): Post-treatment Lyme disease syndrome symptomatology and the impact on life functioning: is there something here? *Qual Life Res* 22, 75-84

Bacon RM, Kugeler KJ, Mead PS (2008): Surveillance for Lyme disease--United States, 1992-2006. *MMWR Surveill Summ* 57, 1-9

Barstad B, Tveitnes D, Noraas S, Selvik Ask I, Saeed M, Bosse F, Vigemyr G, Huber I, Øymar K (2017): Cerebrospinal fluid B-lymphocyte chemoattractant CXCL13 in the diagnosis of acute Lyme neuroborreliosis in children. *Pediatr Infect Dis J* 36, e286-e292

Beck AT, Steer RA, Garbin MG (1988): Psychometric properties of the Beck Depression Inventory: Twenty-five years of evaluation. *Clinical Psychology Review* 8, 77-100

Benke T, Gasse T, Hittmair-Delazer M, Schmutzhard E (1995): Lyme encephalopathy: long-term neuropsychological deficits years after acute neuroborreliosis. *Acta Neurol Scand* 91, 353-7

Bennet L, Halling A, Berglund J (2006): Increased incidence of Lyme borreliosis in southern Sweden following mild winters and during warm, humid summers. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 25, 426-32



- Bennett R (2005): The Fibromyalgia Impact Questionnaire (FIQ): a review of its development, current version, operating characteristics and uses. *Clin Exp Rheumatol* 23,154-62
- Berglund J, Stjernberg L, Ornstein K, Tykesson-Joelsson K, Walter H (2002): 5-y Follow-up study of patients with neuroborreliosis. *Scand J Infect Dis* 34, 421-5
- Bernardino AL, Myers TA, Alvarez X, Hasegawa A, Philipp MT (2008): Toll-like receptors: insights into their possible role in the pathogenesis of lyme neuroborreliosis. *Infect Immun* 76, 4385-95
- Blanca MJ, Alarcón R, Arnau J, Bono R, Bendayan R (2017): Non-normal data: Is ANOVA still a valid option? *Psicothema* 29, 552-7
- Borg R, Dotevall L, Hagberg L, Maraspin V, Lotric-Furlan S, Cimperman J, Strle F (2005): Intravenous ceftriaxone compared with oral doxycycline for the treatment of Lyme neuroborreliosis. *Scand J Infect Dis* 37, 449-54
- Bremell D, Mattsson N, Edsbagge M, Blennow K, Andreasson U, Wikkelsö C, Zetterberg H, Hagberg L (2013): Cerebrospinal fluid CXCL13 in Lyme neuroborreliosis and asymptomatic HIV infection. *BMC Neurol* 13, 2
- Bujak DI, Weinstein A, Dornbush RL (1996): Clinical and neurocognitive features of the post Lyme syndrome. *J Rheumatol* 23, 1392-7
- Bulut Y, Faure E, Thomas L, Equils O, Arditi M (2001): Cooperation of Toll-like receptor 2 and 6 for cellular activation by soluble tuberculosis factor and *Borrelia burgdorferi* outer surface protein A lipoprotein: role of Toll-interacting protein and IL-1 receptor signaling molecules in Toll-like receptor 2 signaling. *J Immunol* 167, 987-94
- Buysse DJ, Reynolds CF 3rd, Monk TH, Berman SR, Kupfer DJ (1989): The Pittsburgh Sleep Quality Index: a new instrument for psychiatric practice and research. *Psychiatry Res* 28, 193-213
- Cabral ES, Gelderblom H, Hornung RL, Munson PJ, Martin R, Marques AR (2006): *Borrelia burgdorferi* lipoprotein-mediated TLR2 stimulation causes the down-regulation of TLR5 in human monocytes. *J Infect Dis* 193, 849-59
- Cadavid D, Auwaerter PG, Rumbaugh J, Gelderblom H (2016): Antibiotics for the neurological complications of Lyme disease. *Cochrane Database Syst Rev* 12, CD006978
- Cassiani-Ingoni R, Cabral ES, Lünemann JD, Garza Z, Magnus T, Gelderblom H, Munson PJ, Marques A, Martin R (2006): *Borrelia burgdorferi* Induces TLR1 and TLR2 in human microglia and peripheral blood monocytes but differentially regulates HLA-class II expression. *J Neuropathol Exp Neurol* 65, 540-8
- Cerar D, Cerar T, Ruzić-Sabljić E, Wormser GP, Strle F (2010): Subjective symptoms after treatment of early Lyme disease. *Am J Med* 123, 79-86

- Cerar T, Ogrinc K, Lotric-Furlan S, Kobal J, Levicnik-Stežinar S, Strle F, Ruzić-Sabljić E (2013): Diagnostic value of cytokines and chemokines in Lyme neuroborreliosis. *Clin Vaccine Immunol* 20, 1578-84
- Cerar T, Strle F, Stupica D, Ruzić-Sabljić E, McHugh G, Steere AC, Strle K (2016): Differences in genotype, clinical features, and inflammatory potential of *Borrelia burgdorferi* sensu stricto strains from Europe and the United States. *Emerg Infect Dis* 22, 818-27
- Cervantes JL, Dunham-Ems SM, La Vake CJ, Petzke MM, Sahay B, Sellati TJ, Radolf JD, Salazar JC (2011): Phagosomal signaling by *Borrelia burgdorferi* in human monocytes involves Toll-like receptor (TLR) 2 and TLR8 cooperativity and TLR8-mediated induction of IFN-beta. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108, 3683-8
- Cervantes JL, La Vake CJ, Weinerman B, Luu S, O'Connell C, Verardi PH, Salazar JC (2013): Human TLR8 is activated upon recognition of *Borrelia burgdorferi* RNA in the phagosome of human monocytes. *J Leukoc Biol* 94, 1231-41
- Cetin E, Sotoudeh M, Auer H, Stanek G (2006): Paradigm Burgenland: risk of *Borrelia burgdorferi* sensu lato infection indicated by variable seroprevalence rates in hunters. *Wien Klin Wochenschr* 118, 677-81
- Chen ZJ (2005): Ubiquitin signalling in the NF-kappaB pathway. *Nat Cell Biol* 7, 758-65
- Chow JC, Young DW, Golenbock DT, Christ WJ, Gusovsky F (1999): Toll-like receptor-4 mediates lipopolysaccharide-induced signal transduction. *J Biol Chem* 274, 10689-92
- Chuang TH, Lee J, Kline L, Mathison JC, Ulevitch RJ (2002): Toll-like receptor 9 mediates CpG-DNA signaling. *J Leukoc Biol* 71, 538-44
- Couillault C, Pujol N, Reboul J, Sabatier L, Guichou JF, Kohara Y, Ewbank JJ (2004): TLR-independent control of innate immunity in *Caenorhabditis elegans* by the TIR domain adaptor protein TIR-1, an ortholog of human SARM. *Nat Immunol* 5, 488-94
- Dattwyler RJ, Halperin JJ, Volkman DJ, Luft BJ (1988): Treatment of late Lyme borreliosis - randomised comparison of ceftriaxone and penicillin. *Lancet* 1, 1191-4
- Dattwyler RJ, Wormser GP, Rush TJ, Finkel MF, Schoen RT, Grunwaldt E, Franklin M, Hilton E, Bryant GL, Agger WA et al. (2005): A comparison of two treatment regimens of ceftriaxone in late Lyme disease. *Wien Klin Wochenschr* 117, 393-7
- Davila S, Hibberd ML, Hari Dass R, Wong HE, Sahiratmadja E, Bonnard C, Alisjahbana B, Szeszko JS, Balabanova Y, Drobniewski F et al. (2008): Genetic association and expression studies indicate a role of toll-like receptor 8 in pulmonary tuberculosis. *PLoS Genet* 4, e1000218
- Demaria O, Pagni PP, Traub S, de Gassart A, Branzk N, Murphy AJ, Valenzuela DM, Yancopoulos GD, Flavell RA, Alexopoulou L (2010): TLR8 deficiency leads to autoimmunity in mice. *J Clin Invest* 120, 3651-62

- Dennis VA, Dixit S, O'Brien SM, Alvarez X, Pahar B, Philipp MT (2009): Live *Borrelia burgdorferi* spirochetes elicit inflammatory mediators from human monocytes via the Toll-Like receptor signaling pathway. *Infect Immun* 77, 1238-45
- Dersch R, Sarnes AA, Maul M, Hottenrott T, Baumgartner A, Rauer S, Stich O (2015): Quality of life, fatigue, depression and cognitive impairment in Lyme neuroborreliosis. *J Neurol* 262, 2572-7
- Dersch R, Sommer H, Rauer S, Meerpohl JJ (2016): Prevalence and spectrum of residual symptoms in Lyme neuroborreliosis after pharmacological treatment: a systematic review. *J Neurol* 263, 17-24
- Djukic M, Schmidt-Samoa C, Nau R, von Steinbüchel N, Eiffert H, Schmidt H (2011): The diagnostic spectrum in patients with suspected chronic Lyme neuroborreliosis--the experience from one year of a university hospital's Lyme neuroborreliosis outpatients clinic. *Eur J Neurol* 18, 547-55
- Djukic M, Schmidt-Samoa C, Lange P, Spreer A, Neubieser K, Eiffert H, Nau R, Schmidt H (2012): Cerebrospinal fluid findings in adults with acute Lyme neuroborreliosis. *J Neurol* 259, 630-6
- Dotevall L, Hagberg L (1999): Successful oral doxycycline treatment of Lyme disease-associated facial palsy and meningitis. *Clin Infect Dis* 28, 569-74
- Doyle SE, O'Connell R, Vaidya SA, Chow EK, Yee K, Cheng G (2003): Toll-like receptor 3 mediates a more potent antiviral response than Toll-like receptor 4. *J Immunol* 170, 3565-71
- Dubrey SW, Bhatia A, Woodham S, Rakowicz W (2014): Lyme disease in the United Kingdom. *Postgrad Med J* 90, 33-42
- Eikeland R, Mygland A, Herlofson K, Ljøstad U (2011): European neuroborreliosis: quality of life 30 months after treatment. *Acta Neurol Scand* 124, 349-54
- Eikeland R, Ljøstad U, Mygland A, Herlofson K, Løhaugen GC (2012): European neuroborreliosis: neuropsychological findings 30 months post-treatment. *Eur J Neurol* 19, 480-7
- Elkins LE, Pollina DA, Scheffer SR, Krupp LB (1999): Psychological states and neuropsychological performances in chronic Lyme disease. *Appl Neuropsychol* 6, 19-26
- Engin A, Arslan S, Kizildag S, Oztürk H, Elaldi N, Dökmetas I, Bakir M (2010): Toll-like receptor 8 and 9 polymorphisms in Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Microbes Infect* 12, 1071-8
- Fallon BA, Keilp JG, Corbera KM, Petkova E, Britton CB, Dwyer E, Slavov I, Cheng J, Dobkin J, Nelson DR et al. (2008): A randomized, placebo-controlled trial of repeated IV antibiotic therapy for Lyme encephalopathy. *Neurology* 70, 992-1003

- Farhat K, Riekenberg S, Heine H, Debarry J, Lang R, Mages J, Buwitt-Beckmann U, Röschmann K, Jung G, Wiesmüller KH et al. (2008): Heterodimerization of TLR2 with TLR1 or TLR6 expands the ligand spectrum but does not lead to differential signaling. *J Leukoc Biol* 83, 692-701
- Fikrig E, Narasimhan S, Neelakanta G, Pal U, Chen M, Flavell R (2009): Toll-like receptors 1 and 2 heterodimers alter *Borrelia burgdorferi* gene expression in mice and ticks. *J Infect Dis* 200, 1331-40
- Fingerle V, Schulte-Spechtel UC, Ruzic-Sabljić E, Leonhard S, Hofmann H, Weber K, Pfister K, Strle F, Wilske B (2008): Epidemiological aspects and molecular characterization of *Borrelia burgdorferi* s.l. from southern Germany with special respect to the new species *Borrelia spielmanii* sp. nov. *Int J Med Microbiol* 298, 279-90
- Fitzgerald KA, Rowe DC, Barnes BJ, Caffrey DR, Visintin A, Latz E, Monks B, Pitha PM, Golenbock DT (2003): LPS-TLR4 signaling to IRF-3/7 and NF-kappaB involves the toll adapters TRAM and TRIF. *J Exp Med* 198, 1043-55
- Franke G: SCL-90-R - Die Symptom-Checkliste von Derogatis – Deutsche Version – Manual. Beltz Test GmbH, Göttingen 1995
- Fülöp B, Poggensee G (2008): Epidemiological situation of Lyme borreliosis in Germany: surveillance data from six Eastern German States, 2002 to 2006. *Parasitol Res* 103 Suppl 1, S117-20
- Gantier MP, Irving AT, Kaparakis-Liaskos M, Xu D, Evans VA, Cameron PU, Bourne JA, Ferrero RL, John M, Behlke MA et al. (2010): Genetic modulation of TLR8 response following bacterial phagocytosis. *Hum Mutat* 31, 1069-79
- Garkowski A, Kubas B, Hładuński M, Zajkowska J, Zajkowska O, Jurgilewicz D, Zawadzki R, Garkowska E, Pancewicz S, Łebkowska U (2019): Neuronal loss or dysfunction in patients with early Lyme neuroborreliosis: a proton magnetic resonance spectroscopy study of the brain. *J Neurol* 266, 1937-1943
- Gaudino EA, Coyle PK, Krupp LB (1997): Post-Lyme syndrome and chronic fatigue syndrome. Neuropsychiatric similarities and differences. *Arch Neurol* 54, 1372-6
- Gelderblom H, Londoño D, Bai Y, Cabral ES, Quandt J, Hornung R, Martin R, Marques A, Cadavid D (2007): High production of CXCL13 in blood and brain during persistent infection with the relapsing fever spirochete *Borrelia turicatae*. *J Neuropathol Exp Neurol* 66, 208-17
- Gilmore RD Jr, Murphree RL, James AM, Sullivan SA, Johnson BJ (1999): The *Borrelia burgdorferi* 37-kilodalton immunoblot band (P37) used in serodiagnosis of early Lyme disease is the flaA gene product. *J Clin Microbiol* 37, 548-52
- Goettner G, Schulte-Spechtel U, Hillermann R, Liegl G, Wilske B, Fingerle V (2005): Improvement of Lyme borreliosis serodiagnosis by a newly developed recombinant immunoglobulin G (IgG) and IgM line immunoblot assay and addition of VlsE and DbpA homologues. *J Clin Microbiol* 43, 3602-9

- Guan Y, Ranao DR, Jiang S, Mutha SK, Li X, Baudry J, Tapping RI (2010): Human TLRs 10 and 1 share common mechanisms of innate immune sensing but not signaling. *J Immunol* 184, 5094-103
- Haddad E, Chabane K, Jaureguiberry S, Monsel G, Pourcher V, Caumes E (2019): Holistic approach in patients with presumed Lyme borreliosis leads to less than 10% of confirmation and more than 80% of antibiotics failure. *Clin Infect Dis* 68, 2060-6
- Halperin JJ, Shapiro ED, Logigian E, Belman AL, Dotevall L, Wormser GP, Krupp L, Gronseth G, Bever CT (2007): Practice parameter: treatment of nervous system Lyme disease (an evidence-based review): report of the quality standards subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology* 69, 91-102
- Hammers-Berggren S, Hansen K, Lebech AM, Karlsson M (1993): *Borrelia burgdorferi*-specific intrathecal antibody production in neuroborreliosis: a follow-up study. *Neurology* 43, 169-75
- Hansen K, Cruz M, Link H (1990): Oligoclonal *Borrelia burgdorferi*-specific IgG antibodies in cerebrospinal fluid in Lyme neuroborreliosis. *J Infect Dis* 161, 1194-202
- Hansen K, Lebech AM (1991): Lyme neuroborreliosis: a new sensitive diagnostic assay for intrathecal synthesis of *Borrelia burgdorferi*--specific immunoglobulin G, A, and M. *Ann Neurol* 30, 197-205
- Hansen K, Lebech AM (1992): The clinical and epidemiological profile of Lyme neuroborreliosis in Denmark 1985-1990. A prospective study of 187 patients with *Borrelia burgdorferi* specific intrathecal antibody production. *Brain* 115, 399-423
- Hasan U, Chaffois C, Gaillard C, Saulnier V, Merck E, Tancredi S, Guiet C, Brière F, Vlach J, Lebecque S et al. (2005): Human TLR10 is a functional receptor, expressed by B cells and plasmacytoid dendritic cells, which activates gene transcription through MyD88. *J Immunol* 174, 2942-50
- Hawn TR, Verbon A, Lettinga KD, Zhao LP, Li SS, Laws RJ, Skerrett SJ, Beutler B, Schroeder L, Nachman A et al. (2003): A common dominant TLR5 stop codon polymorphism abolishes flagellin signaling and is associated with susceptibility to legionnaires' disease. *J Exp Med* 198, 1563-72
- Hayashi F, Smith KD, Ozinsky A, Hawn TR, Yi EC, Goodlett DR, Eng JK, Akira S, Underhill DM, Aderem A (2001): The innate immune response to bacterial flagellin is mediated by Toll-like receptor 5. *Nature* 410, 1099-103
- Hays RD, Sherbourne CD, Spritzer KL, Dixon WJ (1996): A microcomputer program (sf36.exe) that generates SAS code for scoring the SF-36 Health Survey. Rand Corporation DRU-1437-PI, 44
- Heil F, Hemmi H, Hochrein H, Ampenberger F, Kirschning C, Akira S, Lipford G, Wagner H, Bauer S (2004): Species-specific recognition of single-stranded RNA via toll-like receptor 7 and 8. *Science* 303, 1526-9

- Hemmi H, Kaisho T, Takeuchi O, Sato S, Sanjo H, Hoshino K, Horiuchi T, Tomizawa H, Takeda K, Akira S (2002): Small anti-viral compounds activate immune cells via the TLR7 MyD88-dependent signaling pathway. *Nat Immunol* 3, 196-200
- Henningsson AJ, Gyllemark P, Lager M, Skogman BH, Tjernberg I (2016): Evaluation of two assays for CXCL13 analysis in cerebrospinal fluid for laboratory diagnosis of Lyme neuroborreliosis. *APMIS* 124, 985-90
- Henningsson AJ, Lager M, Brännström R, Tjernberg I, Skogman BH (2018): The chemokine CXCL13 in cerebrospinal fluid in children with Lyme neuroborreliosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 37, 1983-91
- Hess A, Buchmann J, Zetl UK, Henschel S, Schlaefke D, Grau G, Benecke R (1999): *Borrelia burgdorferi* central nervous system infection presenting as an organic schizophrenialike disorder. *Biol Psychiatry* 45, 795
- Hickie I, Davenport T, Wakefield D, Vollmer-Conna U, Cameron B, Vernon SD, Reeves WC, Lloyd A (2006): Post-infective and chronic fatigue syndromes precipitated by viral and non-viral pathogens: prospective cohort study. *BMJ* 333, 575
- Hilton E, Tramontano A, DeVoti J, Sood SK (1997): Temporal study of immunoglobulin M seroreactivity to *Borrelia burgdorferi* in patients treated for Lyme borreliosis. *J Clin Microbiol* 35, 774-6
- Hirschfeld M, Kirschning CJ, Schwandner R, Wesche H, Weis JH, Wooten RM, Weis JJ (1999): Cutting edge: inflammatory signaling by *Borrelia burgdorferi* lipoproteins is mediated by toll-like receptor 2. *J Immunol* 163, 2382-6
- Hofmann H (2005): Lyme-Borreliose: Kutane Manifestationen. *Hautarzt* 56, 783-95
- Holtmann H, Enninga J, Kalble S, Thiefes A, Dorrie A, Broemer M, Winzen R, Wilhelm A, Ninomiya-Tsuji J, Matsumoto K et al. (2001): The MAPK kinase kinase TAK1 plays a central role in coupling the interleukin-1 receptor to both transcriptional and RNA-targeted mechanisms of gene regulation. *J Biol Chem* 276, 3508-16
- Hornig T, Barton GM, Medzhitov R (2001): TIRAP: an adapter molecule in the Toll signaling pathway. *Nat Immunol* 2, 835-41
- Hytönen J, Kortela E, Waris M, Puustinen J, Salo J, Oksi J (2014): CXCL13 and neopterin concentrations in cerebrospinal fluid of patients with Lyme neuroborreliosis and other diseases that cause neuroinflammation. *J Neuroinflammation* 11, 103
- Jablonska E, Marcinczyk M (2006): TLR2 expression in relation to IL-6 and IL-1beta and their natural regulators production by PMN and PBMC in patients with Lyme disease. *Mediators Inflamm* 2006, 32071
- Kaiser R (2004): Clinical courses of acute and chronic neuroborreliosis following treatment with ceftriaxone. *Nervenarzt* 75, 553-7

- Kaiser R, Lücking CH (1993): Intrathecal synthesis of specific antibodies in neuroborreliosis. Comparison of different ELISA techniques and calculation methods. *J Neurol Sci* 118, 64-72
- Kaiser R, Kölmel HW, Pfister HW, Rauer S, Schmutzhard E, Sturzenegger M, Wilske B: Neuroborreliose. In: Kommission "Leitlinien" der Deutschen Gesellschaft für Neurologie unter Mitarbeit von u.a. Diener HC, Weimar C, Berlit P, Deuschl G, Elger C, Gold R, Hacke W, Hufschmidt A, Mattle H, Meier U et al. (Hrsg.): Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie. 5. Auflage; Georg Thieme Verlag, Stuttgart 2012, 513-22
- Kalish RA, Kaplan RF, Taylor E, Jones-Woodward L, Workman K, Steere AC (2001): Evaluation of study patients with Lyme disease, 10-20-year follow-up. *J Infect Dis* 183, 453-60
- Kaplan RF, Meadows ME, Vincent LC, Logigian EL, Steere AC (1992): Memory impairment and depression in patients with Lyme encephalopathy: comparison with fibromyalgia and nonpsychotically depressed patients. *Neurology* 42, 1263-7
- Kaplan RF, Trevino RP, Johnson GM, Levy L, Dornbush R, Hu LT, Evans J, Weinstein A, Schmid CH, Klempner MS (2003): Cognitive function in post-treatment Lyme disease: do additional antibiotics help? *Neurology* 60, 1916-22
- Karlsson M, Hammers-Berggren S, Lindquist L, Stiernstedt G, Svenungsson B (1994): Comparison of intravenous penicillin G and oral doxycycline for treatment of Lyme neuroborreliosis. *Neurology* 44, 1203-7
- Keilp JG, Corbera K, Slavov I, Taylor MJ, Sackeim HA, Fallon BA (2006): WAIS-III and WMS-III performance in chronic Lyme disease. *J Int Neuropsychol Soc* 12, 119-29
- Kępa L, Oczko-Grzesik B, Sobala-Szczygieł B, Boroń-Kaczmarek A (2015): Chemokine CXCL13 concentration in cerebrospinal fluid in patients with neuroborreliosis--own observations. *Przegl Epidemiol* 69, 705-10
- Kirschning CJ, Wesche H, Merrill Ayres T, Rothe M (1998): Human toll-like receptor 2 confers responsiveness to bacterial lipopolysaccharide. *J Exp Med* 188, 2091-7
- Krupp LB, Masur D, Schwartz J, Coyle PK, Langenbach LJ, Fernquist SK, Jandorf L, Halperin JJ (1991): Cognitive functioning in late Lyme borreliosis. *Arch Neurol* 48, 1125-9
- Krupp LB, Hyman LG, Grimson R, Coyle PK, Melville P, Ahn S, Dattwyler R, Chandler B (2003): Study and treatment of post Lyme disease (STOP-LD): a randomized double masked clinical trial. *Neurology* 60, 1923-30
- Lee SM, Kok KH, Jaume M, Cheung TK, Yip TF, Lai JC, Guan Y, Webster RG, Jin DY, Peiris JS (2014): Toll-like receptor 10 is involved in induction of innate immune responses to influenza virus infection. *Proc Natl Acad Sci USA* 111, 3793-8
- Leeflang MM, Ang CW, Berkhout J, Bijlmer HA, Van Bortel W, Brandenburg AH, Van Burgel ND, Van Dam AP, Dessau RB, Fingerle V et al. (2016): The diagnostic accuracy of serological tests for Lyme borreliosis in Europe: a systematic review and meta-analysis. *BMC Infect Dis* 16, 140

- Lien E, Sellati TJ, Yoshimura A, Flo TH, Rawadi G, Finberg RW, Carroll JD, Espevik T, Ingalls RR, Radolf JD et al. (1999): Toll-like receptor 2 functions as a pattern recognition receptor for diverse bacterial products. *J Biol Chem* 274, 33419-25
- Lintner H, Hochgatterer-Rechberger P, Pischinger B, Seier J, Vollmann P, Haushofer A, Rittner H, Sommer C, Topakian R (2020): Sensitivity and specificity of cerebrospinal fluid CXCL13 for diagnosing Lyme neuroborreliosis - a study on 1410 patients and review of the literature. *J Neurol Sci* 414, 116843
- Ljøstad U, Mygland A (2008): CSF B - lymphocyte chemoattractant (CXCL13) in the early diagnosis of acute Lyme neuroborreliosis. *J Neurol* 255, 732-7
- Ljøstad U, Mygland Å (2012): The phenomenon of 'chronic Lyme'; an observational study. *Eur J Neurol* 19, 1128-35
- Logigian EL, Johnson KA, Kijewski MF, Kaplan RF, Becker JA, Jones KJ, Garada BM, Holman BL, Steere AC (1997): Reversible cerebral hypoperfusion in Lyme encephalopathy. *Neurology* 49, 1661-70
- Lund JM, Alexopoulou L, Sato A, Karow M, Adams NC, Gale NW, Iwasaki A, Flavell RA (2004): Recognition of single-stranded RNA viruses by Toll-like receptor 7. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101, 5598-603
- Lund J, Sato A, Akira S, Medzhitov R, Iwasaki A (2003): Toll-like receptor 9-mediated recognition of Herpes simplex virus-2 by plasmacytoid dendritic cells. *J Exp Med* 198, 513-20
- Maiwald M, Oehme R, March O, Petney TN, Kimmig P, Naser K, Zappe HA, Hassler D, von Knebel Doeberitz M (1998): Transmission risk of *Borrelia burgdorferi sensu lato* from *Ixodes ricinus* ticks to humans in southwest Germany. *Epidemiol Infect* 121, 103-8
- Margos G, Vollmer SA, Cornet M, Garnier M, Fingerle V, Wilske B, Bormane A, Vitorino L, Collares-Pereira M, Drancourt M et al. (2009): A new *Borrelia* species defined by multilocus sequence analysis of housekeeping genes. *Appl Environ Microbiol* 75, 5410-6
- Margos G, Wilske B, Sing A, Hizo-Teufel C, Cao WC, Chu C, Scholz H, Straubinger RK, Fingerle V (2013): *Borrelia bavariensis* sp. nov. is widely distributed in Europe and Asia. *Int J Syst Evol Microbiol* 63, 4284-8
- Maric LS, Lepej SZ, Gorenc L, Grgic I, Trkulja V, Rode OD, Roglic S, Grmoja T, Barisic N, Tesovic G (2018): Chemokines CXCL10, CXCL11, and CXCL13 in acute disseminated encephalomyelitis, non-polio enterovirus aseptic meningitis, and neuroborreliosis: CXCL10 as initial discriminator in diagnostic algorithm? *Neurol Sci* 39, 471-9
- Markowicz M, Ladstatter S, Schotta AM, Reiter M, Pomberger G, Stanek G (2015): Oligoarthritis caused by *Borrelia bavariensis*, Austria, 2014. *Emerg Infect Dis* 21, 1052-4
- Markowicz M, Schötta AM, Kundi M, Bogovič P, Ogrinc K, Strle F, Stanek G (2018): CXCL13 concentrations in cerebrospinal fluid of patients with Lyme neuroborreliosis and other neurological disorders determined by Luminex and ELISA. *Ticks Tick Borne Dis* 9, 1137-42



- Matsumoto M, Funami K, Tanabe M, Oshiumi H, Shingai M, Seto Y, Yamamoto A, Seya T (2003): Subcellular localization of Toll-like receptor 3 in human dendritic cells. *J Immunol* 171, 3154-62
- Moniuszko-Malinowska A, Penza P, Czupryna P, Zajkowska O, Pancewicz S, Krol M, Swierzbinska R, Dunaj J, Zajkowska J (2019): Assessment of TLR-2 concentration in tick-borne encephalitis and neuroborreliosis. *Scand J Clin Lab Invest* 79, 502-6
- Morgen K, Martin R, Stone RD, Grafman J, Kadom N, McFarland HF, Marques A (2001): FLAIR and magnetization transfer imaging of patients with post-treatment Lyme disease syndrome. *Neurology* 57, 1980-5
- Morphy H, Dunn KM, Lewis M, Boardman HF, Croft PR (2007): Epidemiology of insomnia: a longitudinal study in a UK population. *Sleep* 30, 274-80
- Moser B, Schaerli P, Loetscher P (2002): CXCR5(+) T cells: follicular homing takes center stage in T-helper-cell responses. *Trends Immunol* 23, 250-4
- Muzio M, Ni J, Feng P, Dixit VM (1997): IRAK (Pelle) family member IRAK-2 and MyD88 as proximal mediators of IL-1 signaling. *Science* 278, 1612-5
- Müllegger RR (2004): Dermatological manifestations of Lyme borreliosis. *Eur J Dermatol* 14, 296-309
- Nadelman RB, Hanincová K, Mukherjee P, Liveris D, Nowakowski J, McKenna D, Brisson D, Cooper D, Bittker S, Madison G et al. (2012): Differentiation of reinfection from relapse in recurrent Lyme disease. *N Engl J Med* 367, 1883-90
- Narayan K, Dail D, Li L, Cadavid D, Amrute S, Fitzgerald-Bocarsly P, Pachner AR (2005): The nervous system as ectopic germinal center: CXCL13 and IgG in lyme neuroborreliosis. *Ann Neurol* 57, 813-23
- Ngo VN, Korner H, Gunn MD, Schmidt KN, Riminton DS, Cooper MD, Browning JL, Sedgwick JD, Cyster JG (1999): Lymphotoxin alpha/beta and tumor necrosis factor are required for stromal cell expression of homing chemokines in B and T cell areas of the spleen. *J Exp Med* 189, 403-12
- Norris JL, Manley JL (1992): Selective nuclear transport of the Drosophila morphogen dorsal can be established by a signaling pathway involving the transmembrane protein Toll and protein kinase A. *Genes Dev* 6, 1654-67
- Nowakowski J, Nadelman RB, Sell R, McKenna D, Cavaliere LF, Holmgren D, Gaidici A, Wormser GP (2003): Long-term follow-up of patients with culture-confirmed Lyme disease. *Am J Med* 115, 91-6
- Ohlenbusch A, Matuschka FR, Richter D, Christen HJ, Thomssen R, Spielman A, Eiffert H (1996): Etiology of the acrodermatitis chronica atrophicans lesion in Lyme disease. *J Infect Dis* 174, 421-3

- Oksi J, Nikoskelainen J, Hiekkänen H, Lauhio A, Peltomaa M, Pitkäranta A, Nyman D, Granlund H, Carlsson SA, Seppälä I et al. (2007): Duration of antibiotic treatment in disseminated Lyme borreliosis: a double-blind, randomized, placebo-controlled, multicenter clinical study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 26, 571-81
- Oosting M, Ter Hofstede H, Sturm P, Adema GJ, Kullberg BJ, van der Meer JW, Netea MG, Joosten LA (2011): TLR1/TLR2 heterodimers play an important role in the recognition of *Borrelia spirochetes*. *PLOS ONE* 6, e25998
- Oschmann P, Dorndorf W, Hornig C, Schäfer C, Wellensiek HJ, Pflughaupt KW (1998): Stages and syndromes of neuroborreliosis. *J Neurol* 245, 262-72
- Ozinsky A, Underhill DM, Fontenot JD, Hajjar AM, Smith KD, Wilson CB, Schroeder L, Aderem A (2000): The repertoire for pattern recognition of pathogens by the innate immune system is defined by cooperation between toll-like receptors. *Proc Natl Acad Sci USA* 97, 13766-71
- Pfister HW, Preac-Mursic V, Wilske B, Schielke E, Sörgel F, Einhäupl KM (1991): Randomized comparison of ceftriaxone and cefotaxime in Lyme neuroborreliosis. *J Infect Dis* 163, 311-8
- Picavet HS, Schouten JS (2003): Musculoskeletal pain in the Netherlands: prevalences, consequences and risk groups, the DMC(3)-study. *Pain* 102, 167-78
- Pícha D, Moravcova L, Lasikova S, Holeckova D, Maresova V (2006): Symptoms of post-Lyme syndrome in long-term outcome of patients with neuroborreliosis. *Scand J Infect Dis* 38, 747-8
- Pícha D, Moravcová L, Smíšková D (2016): Prospective study on the chemokine CXCL13 in neuroborreliosis and other aseptic neuroinfections. *J Neurol Sci* 368, 214-20
- Ramesh G, Borda JT, Gill A, Ribka EP, Morici LA, Mottram P, Martin DS, Jacobs MB, Didier PJ, Philipp MT (2009): Possible role of glial cells in the onset and progression of Lyme neuroborreliosis. *J Neuroinflammation* 6, 23
- Rauer S, Kastenbauer S et al.: Neuroborreliose, S3-Leitlinie, 2018. In: Deutsche Gesellschaft für Neurologie (Hrsg.): Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie. Online: [www.dgn.org/leitlinien](http://www.dgn.org/leitlinien), abgerufen am 25.10.2020
- Reiber H (1994): Flow rate of cerebrospinal fluid (CSF) - a concept common to normal blood-CSF barrier function and to dysfunction in neurological diseases. *J Neurol Sci* 122, 189-203
- Reiber H, Lange P (1991): Quantification of virus-specific antibodies in cerebrospinal fluid and serum: sensitive and specific detection of antibody synthesis in brain. *Clin Chem* 37, 1153-60
- Reik L Jr, Burgdorfer W, Donaldson JO (1986): Neurologic abnormalities in Lyme disease without erythema chronicum migrans. *Am J Med* 81, 73-8

- Reimers CD, de Koning J, Neubert U, Preac-Mursic V, Koster JG, Müller-Felber W, Pongratz DE, Duray PH (1993): *Borrelia burgdorferi* myositis: report of eight patients. *J Neurol* 240, 278-83
- Richter D, Postic D, Sertour N, Livey I, Matuschka FR, Baranton G (2006): Delineation of *Borrelia burgdorferi* sensu lato species by multilocus sequence analysis and confirmation of the delineation of *Borrelia spielmanii* sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 56, 873-81
- Riesbeck K, Hammas B (2007): Comparison of an automated *Borrelia* indirect chemiluminescent immunoassay (CLIA) with a VlsE/C6 ELISA and Immunoblot. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 26, 517-9
- Rupprecht TA, Kirschning CJ, Popp B, Kastenbauer S, Fingerle V, Pfister HW, Koedel U (2007): *Borrelia garinii* induces CXCL13 production in human monocytes through Toll-like receptor 2. *Infect Immun* 75, 4351-6
- Rupprecht TA, Lechner C, Tumani H, Fingerle V (2014): CXCL13 als Biomarker der akuten Neuroborreliose. *Nervenarzt* 85, 459-64
- Rupprecht TA, Manz KM, Fingerle V, Lechner C, Klein M, Pfirrmann M, Koedel U (2018): Diagnostic value of cerebrospinal fluid CXCL13 for acute Lyme neuroborreliosis. A systematic review and meta-analysis. *Clin Microbiol Infect* 24, 1234-40
- Sadik CD, Hunfeld KP, Bachmann M, Kraiczy P, Eberhardt W, Brade V, Pfeilschifter J, Mühl H (2008): Systematic analysis highlights the key role of TLR2/NF-kappaB/MAP kinase signaling for IL-8 induction by macrophage-like THP-1 cells under influence of *Borrelia burgdorferi* lysates. *Int J Biochem Cell Biol* 40, 2508-21
- Salazar JC, Duhnam-Ems S, La Vake C, Cruz AR, Moore MW, Caimano MJ, Velez-Climent L, Shupe J, Krueger W, Radolf JD (2009): Activation of human monocytes by live *Borrelia burgdorferi* generates TLR2-dependent and -independent responses which include induction of IFN-beta. *PLoS Pathog* 5, e1000444
- Scherer: Faces Symbol Test Copyright Scherer 2002. Bayer Health Care. Bayer Vital 2002
- Scherer P, Baum K, Bauer H, Göhler H, Miltenburger C (2004): Normierung der Brief Repeatable Battery of Neuropsychological Tests (BRB-N) für den deutschsprachigen Raum. *Nervenarzt* 75, 984-90
- Schmider E, Ziegler M, Danay E, Beyer L, Bühner M (2010): Is it really robust? *Methodology* 6, 147-51
- Schmidt C, Plate A, Angele B, Pfister HW, Wick M, Koedel U, Rupprecht TA (2011): A prospective study on the role of CXCL13 in Lyme neuroborreliosis. *Neurology* 76, 1051-8
- Schröder NW, Diterich I, Zinke A, Eckert J, Draing C, von Baehr V, Hassler D, Priem S, Hahn K, Michelsen KS et al. (2005): Heterozygous Arg753Gln polymorphism of human TLR-2 impairs immune activation by *Borrelia burgdorferi* and protects from late stage Lyme disease. *J Immunol* 175, 2534-40

- Schwandner R, Dziarski R, Wesche H, Rothe M, Kirschning CJ (1999): Peptidoglycan- and lipoteichoic acid-induced cell activation is mediated by toll-like receptor 2. *J Biol Chem* 274, 17406-9
- Seidel MF, Domene AB, Vetter H (2007): Differential diagnoses of suspected Lyme borreliosis or post-Lyme-disease syndrome. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 26, 611-7
- Seltzer EG, Gerber MA, Cartter ML, Freudigman K, Shapiro ED (2000): Long-term outcomes of persons with Lyme disease. *JAMA* 283, 609-16
- Senel M, Rupprecht TA, Tumani H, Pfister HW, Ludolph AC, Brettschneider J (2010): The chemokine CXCL13 in acute neuroborreliosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 81, 929-33
- Shadick NA, Phillips CB, Logigian EL, Steere AC, Kaplan RF, Berardi VP, Duray PH, Larson MG, Wright EA, Ginsburg KS et al. (1994): The long-term clinical outcomes of Lyme disease. A population-based retrospective cohort study. *Ann Intern Med* 121, 560-7
- Shadick NA, Phillips CB, Sangha O, Logigian EL, Kaplan RF, Wright EA, Fossel AH, Fossel K, Berardi V, Lew RA, Liang MH (1999): Musculoskeletal and neurologic outcomes in patients with previously treated Lyme disease. *Ann Intern Med* 131, 919-26
- Shotland LI, Mastroianni MA, Choo DL, Szymko-Bennett YM, Dally LG, Pikus AT, Sledjeski K, Marques A (2003): Audiologic manifestations of patients with post-treatment Lyme disease syndrome. *Ear Hear* 24, 508-17
- Sjöwall J, Ledel A, Ernerudh J, Ekerfelt C, Forsberg P (2012): Doxycycline-mediated effects on persistent symptoms and systemic cytokine responses post-neuroborreliosis: a randomized, prospective, cross-over study. *BMC Infect Dis* 12, 186
- Skarpaas T, Ljøstad U, Søybye M, Mygland A (2007): Sensitivity and specificity of a commercial C6 peptide enzyme immuno assay in diagnosis of acute Lyme neuroborreliosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 26, 675-7
- Skogman BH, Croner S, Nordwall M, Eknefelt M, Ernerudh J, Forsberg P (2008): Lyme neuroborreliosis in children: a prospective study of clinical features, prognosis, and outcome. *Pediatr Infect Dis J* 27, 1089-94
- Skogman BH, Glimåker K, Nordwall M, Vrethem M, Ödkvist L, Forsberg P (2012): Long-term clinical outcome after Lyme neuroborreliosis in childhood. *Pediatrics* 130, 262-9
- Smith RP, Schoen RT, Rahn DW, Sikand VK, Nowakowski J, Parenti DL, Holman MS, Persing DH, Steere AC (2002): Clinical characteristics and treatment outcome of early Lyme disease in patients with microbiologically confirmed erythema migrans. *Ann Intern Med* 136, 421-8
- Sood SK, Salzman MB, Johnson BJ, Happ CM, Feig K, Carmody L, Rubin LG, Hilton E, Piesman J (1997): Duration of tick attachment as a predictor of the risk of Lyme disease in an area in which Lyme disease is endemic. *J Infect Dis* 175, 996-9
- Spielberger CD, Gorsuch RL, Lushene RE: STAI Manual for the STATE-TRAIT ANXIETY INVENTORY („Self-Evaluation Questionnaire“). Consulting Psychologists Press, Inc., Palo Alto 1970

- Spreen O, Strauss E: A compendium of neuropsychological tests. 2nd ed. Oxford University Press, New York 1998
- Strle K, Shin JJ, Glickstein LJ, Steere AC (2012): Association of a Toll-like receptor 1 polymorphism with heightened Th1 inflammatory responses and antibiotic-refractory Lyme arthritis. *Arthritis Rheum* 64, 1497-507
- Takeuchi O, Hoshino K, Kawai T, Sanjo H, Takada H, Ogawa T, Takeda K, Akira S (1999): Differential roles of TLR2 and TLR4 in recognition of gram-negative and gram-positive bacterial cell wall components. *Immunity* 11, 443-51
- Takeuchi O, Sato S, Horiuchi T, Hoshino K, Takeda K, Dong Z, Modlin RL, Akira S (2002): Cutting edge: role of Toll-like receptor 1 in mediating immune response to microbial lipoproteins. *J Immunol* 169, 10-4
- Triantafilou K, Orthopoulos G, Vakakis E, Ahmed MA, Golenbock DT, Lepper PM, Triantafilou M (2005): Human cardiac inflammatory responses triggered by Coxsackie B viruses are mainly Toll-like receptor (TLR) 8-dependent. *Cell Microbiol* 7, 1117-26
- Vázquez M, Sparrow SS, Shapiro ED (2003): Long-term neuropsychologic and health outcomes of children with facial nerve palsy attributable to Lyme disease. *Pediatrics* 112, e93-7
- Vrethem M, Hellblom L, Widlund M, Ahl M, Danielsson O, Ernerudh J, Forsberg P (2002): Chronic symptoms are common in patients with neuroborreliosis - a questionnaire follow-up study. *Acta Neurol Scand* 106, 205-8
- Waiß C, Kindler W, Ströbele B, Aspöck C, Oberndorfer S (2017): CXCL-13 als Biomarker in der Diagnostik der Neuroborreliose. *Nervenarzt* 88, 635-41
- Wallich R, Moter SE, Simon MM, Ebnet K, Heiberger A, Kramer MD (1990): The *Borrelia burgdorferi* flagellum-associated 41-kilodalton antigen (flagellin): molecular cloning, expression, and amplification of the gene. *Infect Immun* 58, 1711-9
- Weitzner E, McKenna D, Nowakowski J, Scavarda C, Dornbush R, Bittker S, Cooper D, Nadelman RB, Visintainer P, Schwartz I et al. (2015): Long-term assessment of post-treatment symptoms in patients with culture-confirmed early Lyme disease. *Clin Infect Dis* 61, 1800-6
- Wilske B, Fingerle V, Schulte-Spechtel U (2007): Microbiological and serological diagnosis of Lyme borreliosis. *FEMS Immunol Med Microbiol* 49, 13-21
- Wittwer B, Pelletier S, Ducrocq X, Maillard L, Mione G, Richard S (2015): Cerebrovascular events in Lyme neuroborreliosis. *J Stroke Cerebrovasc Dis* 24, 1671-8
- Wooten RM, Ma Y, Yoder RA, Brown JP, Weis JH, Zachary JF, Kirschning CJ, Weis JJ (2002): Toll-like receptor 2 is required for innate, but not acquired, host defense to *Borrelia burgdorferi*. *J Immunol* 168, 348-55
- Wormser GP (1997): Treatment and prevention of Lyme disease, with emphasis on antimicrobial therapy for neuroborreliosis and vaccination. *Semin Neurol* 17, 45-52

Wormser GP, Ramanathan R, Nowakowski J, McKenna D, Holmgren D, Visintainer P, Dornbush R, Singh B, Nadelman RB (2003): Duration of antibiotic therapy for early Lyme disease. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Intern Med* 138, 697-704

Wormser GP, Dattwyler RJ, Shapiro ED, Halperin JJ, Steere AC, Klemperer MS, Krause PJ, Bakken JS, Strle F, Stanek G et al. (2006): The clinical assessment, treatment, and prevention of Lyme disease, human granulocytic anaplasmosis, and babesiosis: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 43, 1089-134

Wutte N, Berghold A, Löffler S, Zenz W, Daghofer E, Krainberger I, Kleinert G, Aberer E (2011): CXCL13 chemokine in pediatric and adult neuroborreliosis. *Acta Neurol Scand* 124, 321-8

Wyllie DH, Kiss-Toth E, Visintin A, Smith SC, Boussouf S, Segal DM, Duff GW, Dower SK (2000): Evidence for an accessory protein function for Toll-like receptor 1 in anti-bacterial responses. *J Immunol* 165, 7125-32

Yamamoto M, Sato S, Mori K, Hoshino K, Takeuchi O, Takeda K, Akira S (2002): Cutting edge: a novel Toll/IL-1 receptor domain-containing adapter that preferentially activates the IFN-beta promoter in the Toll-like receptor signaling. *J Immunol* 169, 6668-72

Yanagihara Y, Masuzawa T (1997): Lyme disease (Lyme borreliosis). *FEMS Immunol Med Microbiol* 18, 249-61

Zimmermann P, Fimm B: TAP – Testatterie zur Aufmerksamkeitsprüfung. Version 2.1; Psytest, Herzogenrath 200

## **Danksagung**

Mit diesen Zeilen möchte ich meinen Dank gegenüber meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. Holger Schmidt ausdrücken, der mich herzlich in seine Arbeitsgruppe aufgenommen, mir bei der Themenfindung und bei so manchen emotionalen und inhaltlichen Hürden während des Entstehungsprozesses der Dissertation geholfen hat.

Herrn Dr. med. Joachim Blocher danke ich vor allem für die Einführung in statistische Berechnungen und die Unterstützung bei der Datensammlung. Auch Jasmin Wiefek danke ich für die Unterstützung bei der Datensammlung im Rahmen ihrer Tätigkeit als studentische Hilfskraft.

Für die Einarbeitung in den Umgang mit ELISA und deren Auswertung mittels Photometer sowie die übrigen Probenanalysen danke ich Herrn Peter Lange vom neurochemischen Labor der Universitätsmedizin Göttingen und Herrn Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Helmut Eiffert vom Institut für Medizinische Mikrobiologie der Universitätsmedizin Göttingen. Stephanie Balk danke ich für ihre Unterstützung mit Rat und Tat bei der Durchführung der Untersuchungen im Elbe Klinikum Stade.