

Aus der Klinik für Neurologie  
Geschäftsführender Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Lars Timmermann  
des Fachbereichs Medizin der Philipps-Universität Marburg

**Veränderungen von Leukozytenadhäsionsfaktoren und Toll-like  
Rezeptoren bei Patienten mit Epilepsie**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Humanmedizin  
dem Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg  
vorgelegt von

Marina Natalie Reccius, geb. Oster  
aus Stuttgart

Marburg 2024

Angenommen vom Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg

am:

10.09.2024

Gedruckt mit der Genehmigung des Fachbereichs Medizin

**Dekanin:** Frau Prof. Dr. Denise Hilfiker-Kleiner

**Referent:** Herr Prof. Dr. Felix Rosenow

**1. Korreferent:** Herr Prof. Dr. Ulrich Steinhoff

Für meine Familie



# Inhaltsverzeichnis

I	Abkürzungsverzeichnis .....	7
II	Abbildungsverzeichnis .....	10
III	Tabellenverzeichnis .....	12
1	Einleitung.....	13
1.1	Epilepsie .....	13
1.1.1	Definitionen .....	13
1.1.2	Epidemiologie .....	14
1.1.3	Ätiologie.....	15
1.1.4	Anfallsklassifikation.....	17
1.1.5	Diagnostik.....	18
1.1.6	Therapie .....	19
1.2	Immunsystem.....	20
1.2.1	Allgemeines .....	20
1.2.2	Lymphozyten .....	20
1.2.3	Monozyten/Makrophagen .....	22
1.2.4	Leukozytenadhäsionsmolekül ICAM-1 .....	23
1.2.5	Toll-like Rezeptor-4.....	24
1.3	Zusammenhänge von Immunsystem und Epilepsien.....	25
1.4	Fragestellung .....	28
2	Patienten, Material und Methoden .....	30
2.1	Patienten.....	30
2.2	Material und Methoden.....	31
2.2.1	Material.....	31
2.2.2	Methoden .....	32
2.3	Statistik .....	33
3	Ergebnisse.....	35
3.1	Patientenmerkmale .....	35
3.2	Analyse der gesamten Patientengruppe.....	36
3.3	Subgruppenanalysen .....	46
3.3.1	Fokale Anfälle mit eingeschränktem Bewusstsein vs. fokal nach bilateral tonisch-klonische Anfälle .....	46
3.3.2	Hippocampusklerose vs. andere Ätiologie .....	55
3.3.3	Anfallsursprung links temporal vs. rechts temporal .....	63
3.4	Interiktale Patienten vs. Kontrollen .....	69
4	Diskussion .....	71
4.1	Zusammenfassung der Ergebnisse .....	71
4.2	Limitationen.....	72

4.3	Interpretation und klinische Relevanz.....	74
4.3.1	Stress als möglicher Auslöser von gemessenen Veränderungen.....	74
4.3.2	Fokale vs. bilaterale Anfälle .....	77
4.3.3	Ätiologie.....	78
4.3.4	Zerebrale Lateralisation .....	78
4.4	Ausblick.....	79
5	Zusammenfassung .....	81
5.1	Deutsche Zusammenfassung.....	81
5.2	Englische Zusammenfassung - Summary .....	83
6	Literaturverzeichnis.....	85
7	Anhang .....	94
7.1	Verzeichnis der akademischen LehrerInnen.....	94
7.2	Danksagung .....	95

## I Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ADCC	Antibody-dependent cellular cytotoxicity
APC	Allophycocyanin
Aqua dest.	Aqua destillata
bds.	beidseits
BE	Blutentnahme
BHS	Blut-Hirn-Schranke
bzw.	beziehungsweise
CBZ	Carbamazepin
CCT	Craniales Computertomogramm
CD	Cluster of differentiation
CRH	Corticotropin-releasing Hormon
DAMPs	Damage-associated molecular patterns
DNET	Dysembryoplastischer neuroepithelialer Tumor
EEG	Elektroenzephalographie
FACS	Fluorescence activated cell sorting
fbTKA	von fokal nach bilateral tonisch-klonischer Anfall
Fc	Fragment crystallisable
FITC	Fluorescein-Isothiocyanat
FLE	Frontallappenepilepsie
FSC	Forward Scatter
GABA	Gamma-Aminobuttersäure
GLUT-1	Glukosetransporter Typ 1
GM-CSF	Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor
HIV	Humanes Immundefizienz Virus
HLA	Humane Leukozytenantigene
HMGB1	High mobility group box 1
HPA	Hypothalamo-pituitary-adrenal
HS	Hippocampusklerose
ICAM-1	Intercellular adhesion molecule-1
ICE-Hemmer	Interleukin-converting enzyme-Hemmer
IFN- $\gamma$	Interferon-gamma
Ig (G)	Immunglobulin (G)
IL	Interleukin
IL-1RA	Interleukin-1 Rezeptor Antagonist

ILAE	International League Against Epilepsy
KI	Konfidenzintervall
LAC	Lacosamid
LEV	Levetiracetam
LFA-1	Lymphocyte function associated antigen-1
LPS	Lipopolysaccharid
LTG	Lamotrigin
Mac-1	Makrophagen-1 Antigen
MAMPs	Microbe-associated molecular patterns
MALT	Mucosa-associated lymphoid tissue
M-CSF	Macrophage colony-stimulating factor
MFE	Multifokale Epilepsie
MHC	Major Histocompatibility Complex
MPS	Mononukleär-phagozytäres System
MRT	Magnetresonanztomographie
MyD88	Myeloischer Differenzierungsfaktor 88
nbFA	nicht bewusst erlebter fokaler Anfall
NCAM	Neural cell adhesion molecule
NCR	Natural cytotoxicity Receptor
NF- $\kappa$ B	Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B-cells
NK-Zellen	Natürliche Killerzellen
NKT-Zellen	Natürliche Killer-T-Zellen
NMDA Rezeptor	N-methyl-D-Aspartat Rezeptor
NR2B	NMDA Rezeptor-2B
OXC	Oxcarbazepin
PAMPs	Pathogen-associated molecular patterns
PBS	Phosphate buffered saline
PDS	Paroxysmaler Depolarisationsshift
PE	Phycoerythrin
PerCP	Peridinin-Chlorophyll-Protein
RHE	Rechts-hemisphärische Epilepsie
SSC	Side Scatter
SCN1A	Sodium Voltage-gated channel alpha subunit 1
SD	Standard deviation
sICAM-1	Soluble Intercellular adhesion molecule-1
Tc	T cytotoxic cell type

TCR	T-cell receptor
Th1-Zellen	T-Helfer 1 Zellen
Th2-Zellen	T-Helfer 2 Zellen
Th17-Zellen	T-Helfer 17 Zellen
TLE	Temporallappenepilepsie
TLR	Toll-like Rezeptor
TLR-4	Toll-like Rezeptor-4
TNF- $\alpha$	Tumor-Nekrose-Faktor-alpha
TPM	Topiramate
TRAIL	Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand
Treg	Regulatorische T-Zellen
u.ä.	und Ähnliches
VPA	Valproat
vs.	versus
z.B.	zum Beispiel
ZNS	Zentrales Nervensystem

## II Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Einteilung epileptische Anfälle/Epilepsie .....	18
Abb. 2: Exemplarische Darstellung aller peripheren Blutleukozyten als Dot plot .....	33
Abb. 3: Dot-Plot Darstellung der CD54+/CD56+ positiven NK-Zellen im peripheren Blut.....	37
Abb. 4: Postiktaler Verlauf der CD54+/CD56+ positiven Killerzellen im peripheren Blut.....	37
Abb. 5: Dot-Plot Darstellung der CD54+/CD8+ positiven zytotoxischen T-Zellen im peripheren Blut .....	39
Abb. 6: Postiktaler Verlauf der CD54+/CD8+ positiven T-Zellen im peripheren Blut....	39
Abb. 7: Dot-Plot Darstellung der CD54+/CD4+ positiven T-Helferzellen im peripheren Blut .....	41
Abb. 8: Postiktaler Verlauf der CD54+/CD4+ positiven T-Zellen im peripheren Blut....	41
Abb. 9: Dot-Plot Darstellung der CD284+/CD14+ positiven Monozyten im peripheren Blut .....	43
Abb. 10: Postiktaler Verlauf der CD284+/CD14+ positiven Monozyten im peripheren Blut .....	43
Abb. 11: Postiktaler Verlauf der CD54+/CD56+ positiven Killerzellen in Abhängigkeit der Anfallsart (nbFA vs. fbTKA). .....	47
Abb. 12: Postiktaler Verlauf der CD54+/CD8+ positiven T-Zellen in Abhängigkeit der Anfallsart (nbFA vs. fbTKA). .....	48
Abb. 13: Postiktaler Verlauf der CD54+/CD4+ positiven T-Zellen in Abhängigkeit der Anfallsart (nbFA vs. fbTKA). .....	49
Abb. 14: Postiktaler Verlauf der CD284+/CD14+ positiven Monozyten in Abhängigkeit der Anfallsart (nbFA vs. fbTKA). .....	50
Abb. 15: Postiktale Werte der CD284+/CD56+ positiven Killerzellen bei Patienten mit nbFA (n= 12) und Patienten mit fbTKA (n=7). .....	51
Abb. 16: Postiktaler Verlauf der CD54+/CD14+ positiven Monozyten in Abhängigkeit der Anfallsart (nbFA vs. fbTKA). .....	52

---

Abb. 17: Postiktaler Verlauf der CD54+/CD4+ positiven T-Zellen in Abhängigkeit der Ätiologie (HS vs. andere Ätiologie). .....	55
Abb. 18: Postiktaler Verlauf der CD54+/CD3+ positiven T-Zellen bei Patienten mit HS.....	56
Abb. 19: Postiktaler Verlauf der CD54+/CD56+ positiven Killerzellen in Abhängigkeit der Ätiologie (HS vs. andere Ätiologie). .....	59
Abb. 20: Postiktaler Verlauf der CD54+/CD8+ positiven T-Zellen in Abhängigkeit der Ätiologie (HS vs. andere Ätiologie). .....	59
Abb. 21: Postiktaler Verlauf der CD284+/CD14+ positiven Monozyten in Abhängigkeit der Ätiologie (HS vs. andere Ätiologie). .....	60
Abb. 22: Postiktaler Verlauf der CD54+/CD56+ positiven Killerzellen in Abhängigkeit des Anfallsursprungs (rechts vs. links). .....	63
Abb. 23: Postiktaler Verlauf der CD54+/CD8+ positiven T-Zellen in Abhängigkeit des Anfallsursprungs (rechts vs. links).....	64
Abb. 24: Postiktaler Verlauf der CD54+/CD4+ positiven T-Zellen in Abhängigkeit des Anfallsursprungs (rechts vs. links).....	65
Abb. 25: Postiktaler Verlauf der CD284+/CD14+ positiven Monozyten in Abhängigkeit des Anfallsursprungs (rechts vs. links). .....	66
Abb. 26: Vergleich der interiktalen Werte der CD54+/CD8+ positiven T-Zellen mit gesunden Kontrollen.....	69

### III Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Patientencharakteristika .....	35
Tabelle 2: Veränderungen der einzelnen Zellpopulationen in der Gesamtpatientengruppe .....	45
Tabelle 3: Veränderungen der einzelnen Zellpopulationen bei Patienten mit fokalen Anfällen mit eingeschränktem Bewusstsein .....	53
Tabelle 4: Veränderungen der einzelnen Zellpopulationen bei Patienten mit von fokal nach bilateral tonisch-klonischen Anfällen .....	54
Tabelle 5: Veränderungen der einzelnen Zellpopulationen bei Patienten mit Hippocampussklerose .....	61
Tabelle 6: Veränderungen der einzelnen Zellpopulationen bei Patienten ohne Hippocampussklerose .....	62
Tabelle 7: Veränderungen der einzelnen Zellpopulationen bei Patienten mit Anfallsursprung links lateral .....	67
Tabelle 8: Veränderungen der einzelnen Zellpopulationen bei Patienten mit Anfallsursprung rechts lateral .....	68
Tabelle 9: Interiktale Patienten vs. Kontrollen .....	70

# 1 Einleitung

## 1.1 Epilepsie

### 1.1.1 Definitionen

In den letzten Jahren wurden die Definitionen der Epilepsie und der epileptischen Anfälle mehrmals überarbeitet. Die Internationale Liga gegen Epilepsie (ILAE) stellte 2014 nach Empfehlung ihrer Kommission eine angepasste Definition der Epilepsie vor (Fisher et al., 2014). Demnach ist Epilepsie eine Erkrankung (vorher Störung) des Gehirns, welches eine pathologische, anhaltende Tendenz zeigt wiederkehrende Anfälle zu erleiden. Zur Diagnose erforderlich ist einer der folgenden Zustände:

- mindestens 2 nicht provozierte Anfälle (oder Reflexanfälle) zwischen denen mindestens 24 Stunden liegen
- ein nicht provozierter Anfall (oder Reflexanfall) der mit einer Wahrscheinlichkeit einhergeht innerhalb der nächsten 10 Jahre weitere Anfälle zu erleiden, die ähnlich ist dem allgemeinen Wiederholungsrisiko nach 2 nicht provozierten Anfällen (mindestens 60%)
- Diagnose eines Epilepsie-Syndroms

Ein Wiederholungsrisiko von 60% für einen zweiten Anfall kann bedingt sein, durch einen strukturellen Befund in der cranialen Bildgebung der ein epileptogenes Potential in sich birgt, oder durch das Vorhandensein von epilepsietypischen Potentialen im Elektroenzephalogramm (EEG) (Falco-Walter, 2020).

Als Reflexanfälle gelten beispielsweise photosensitive Anfälle, die zwar durch einen Stimulus (z.B. Licht) „provoziert“ werden, aber die Tendenz haben wiederholt auf diesen Stimulus zu folgen. Im Gegensatz dazu treten provozierte/akut-symptomatische Anfälle durch einen vorübergehenden Stimulus auf. Diese sind z.B. Fieber, Alkoholentzug, metabolische Entgleisung und akute zerebrale Schädigungen (Beghi et al., 2010; Fisher et al., 2014; Holtkamp, May et al., 2023).

Auch ein mögliches Überwinden der Epilepsie wird in der aktuellen Definition berücksichtigt. Zum einen gilt dies für Patienten mit altersabhängigem Epilepsie-Syndrom, die dem entsprechenden Alter entwachsen sind. Zum anderen haben Patienten die Epilepsie überwunden, welche über 10 Jahre anfallsfrei und davon die letzten 5 Jahre frei von anfallssupprimierender Medikation sind (Fisher et al., 2014).

Epileptische Anfälle sind definiert als exzessive oder synchrone neuronale Aktivität im Gehirn, die ein vorübergehendes Auftreten von Symptomen hervorruft (Fisher et al., 2005). Dies kann einen Bereich oder das gesamte Gehirn betreffen.

Den abnormen neuronalen Entladungen liegt eine Dysbalance zwischen inhibitorischen und exzitatorischen Mechanismen zugrunde. Ursachen dafür sind struktureller, metabolischer oder immunologischer Art (Falco-Walter, 2020). Pathophysiologische Mechanismen sind hierbei Störungen der spannungsabhängigen Ionenkanäle und der Transmittersysteme. So wurden beispielsweise reduzierte GABA- und Glutamat-Decarboxylase-Konzentrationen in chirurgisch resezierten epileptogenen Zonen gefunden. Während sich bei der Temporallappenepilepsie (TLE) im Hippocampus vermehrt ionotrope Glutamatrezeptoren zeigen, sind bei der Benigen familiären Neugeborenenepilepsie Mutationen in den spannungsabhängigen Kaliumkanälen nachweisbar (Engelborghs et al., 2000).

Bei fokalen Anfällen beginnt die Hyperexzitation in einem umschriebenen Hirnareal. Es kommt zu einem paroxysmalen Depolarisationsshift (PDS) (H. Matsumoto & Marsan, 1964). Dabei handelt es sich um starke Depolarisationen die zu einer Salve an Aktionspotentialen führen. Der PDS, der unter anderem glutamatabhängig ist, wird mit einem großen exzitatorischen postsynaptischen Potential verglichen (Jefferys, 2015). Im EEG ist der PDS als interiktaler „spike“ zu sehen. Zu diesem Zeitpunkt zeigen sich noch keine Symptome. Oft sind diese „spikes“ der Hirnregion zuzuordnen, in welcher der Anfall seinen Ursprung hat (McNamara, 1994). Der Depolarisation folgt zur Beendigung eine Hyperpolarisation. Fällt diese vermindert oder komplett aus, kommt es zu einer iktalen Aktivität.

Als Epileptogenese wird der Prozess bezeichnet, der normales Hirngewebe in epileptogene Zonen umwandelt. Dies kann auf einer genetischen, infektiösen oder strukturellen Grundlage geschehen (Richard et al., 2018). Das sogenannte „kindling model of epileptogenesis“ beschreibt, dass regelmäßige elektrische Stimulation einer umschriebenen Hirnregion zu einer fortschreitenden und anhaltenden Herabsenkung der Anfallsschwelle führt. Außerdem haben fokale Anfälle die Tendenz sich in andere Hirnregionen auszubreiten (Goddard et al., 1969; Jefferys, 2010).

Generalisierte Anfälle entstehen im thalamokortikalen System. Im EEG präsentieren sich generalisierte Anfälle mit bilateralen, synchronen, symmetrischen und generalisierten „spike-wave“ Komplexen (Seneviratne et al., 2017).

### **1.1.2 Epidemiologie**

Epilepsie ist mit einer Inzidenzrate von 50,4 – 81,7/100 000/Jahr eine der häufigsten neurologischen Erkrankungen (Beghi et al., 2019). Die Prävalenz liegt bei 0,5 – 0,8% und weist mehrere Altersgipfel auf: bei Kindern im ersten Lebensjahr und im Alter zwischen 5 – 9 Jahren, und bei Erwachsenen ab 80 Jahren. Zudem variiert die Prävalenz stark zwischen den Industrieländern und den Entwicklungsländern (Beghi, 2020; Beghi

et al., 2019). 2016 gab es in Deutschland 429 396 Betroffene (Beghi et al., 2019). Das Lebenszeitrisko einen einzelnen epileptischen Anfall zu erleiden, liegt bei 10% (Falco-Walter, 2020).

### 1.1.3 Ätiologie

Die Ursachen können in 6 Kategorien eingeteilt werden:

- strukturell
- infektiös
- metabolisch
- genetisch
- immunvermittelt
- unbekannt

Die Grenzen sind teilweise unscharf. So können genetische Ursachen sowohl Störungen des Stoffwechsels, strukturelle Besonderheiten als auch Störungen der Ionenkanäle bedingen. Ebenso sind Menschen mit positiver Familienanamnese hinsichtlich epileptischer Anfälle gefährdeter eine Epilepsie nach einem Schädel-Hirn-Trauma zu entwickeln (Balestrini et al., 2021). Epilepsien im Rahmen von neurodegenerativen Erkrankungen werden von der ILAE den anderen Kategorien untergeordnet. Die Wirkzusammenhänge für diese Epilepsien sind noch nicht abschließend geklärt. Entweder sie sind eine Folge der Pathophysiologie, die den neurodegenerativen Prozessen zugrunde liegt, oder eine Folge des neuronalen Zellverlusts, bzw. der Hirnatrophie. Denkbar ist auch eine Kombination beider Effekte.

Mögliche Confounder sind außerdem die erhöhte Rate an Schädel-Hirn-Traumata und cerebrovaskulären Störungen in dieser Alterskategorie (Balestrini et al., 2021).

Im Hinblick auf die Häufigkeiten gibt es global betrachtet große Unterschiede. In ressourcenreichen europäischen Ländern liegen der Mehrzahl der Fälle strukturelle und unklare Ursachen zugrunde. In ressourcenarmen Ländern gibt es mehr infektiöse Zusammenhänge (Balestrini et al., 2021).

Zu den strukturellen Ursachen zählen:

- Hippocampussklerose (HS),
- Hirntumore,
- kortikale sowie vaskuläre Malformationen,
- Glianarben nach Trauma,
- Glianarben nach ischämischem/haemorrhagischem Insult
- und inflammatorische/infektiöse Prozesse.

Zerebrale Infektionen können durch verschiedene Mechanismen zu einer Anfallsbereitschaft führen (Balestrini et al., 2021; Marchi et al., 2010a):

- direkte Läsionen bzw. strukturelle Veränderungen
- Schäden der Blut-Hirn-Schranke (BHS)
- Toxine
- weitere inflammatorische Reaktionen

Systemische Infektionen können durch:

- metabolische Veränderungen,
- Freisetzung von Zytokinen,
- Fieber
- und Auslösen von autoimmunen Reaktionen

an der Iktogenese beteiligt sein (Balestrini et al., 2021).

Auch ohne eine akute Infektion kann das Immunsystem zu einer erhöhten Anfallsbereitschaft führen. Die beteiligten Prozesse beinhalten (Balestrini et al., 2021):

- die Freisetzung von Zytokinen,
- Bildung von Autoantikörpern,
- Vaskulitiden im Rahmen von Autoimmunerkrankungen
- und eine abnormale T- Zell Funktion.

Für weiterführende Details siehe Abschnitt 1.3.

Metabolische Ursachen können angeboren, oder erworben sein. Zu Letzteren gehören beispielsweise metabolische Entgleisungen im Rahmen eines Diabetes mellitus, Ernährungsdefizite, Organversagen und Einnahme von exogenen Noxen.

Epilepsien durch angeborene Ursachen sind selten. Diese zeigen sich oft in der frühen Kindheit, können aber auch erst im Erwachsenenalter auftreten. Hierbei sind Störungen im Pyridoxin (Vitamin B6) und Biotin Stoffwechsel, GLUT-1 Defizit-Syndrom, Defizite im Harnstoff-Zyklus und mitochondriale Störungen zu nennen (Balestrini et al., 2021).

Weitere genetische Ursachen zeigen sich in Mutationen der spannungsabhängigen Ionenkanälen oder der Transmitterzeptoren (Elger & Berkenfeld, 2017), z.B. SCN1A Mutationen beim Dravet-Syndrom (Scheffer et al., 2018). Auch andere Erkrankungen mit epileptogenem Potential, wie z.B. die Fokale kortikale Dysplasie, lassen sich den genetischen Ursachen zuordnen (Balestrini et al., 2021).

In vielen Fällen ist die Ätiologie jedoch unbekannt.

### 1.1.4 Anfallsklassifikation

Am Anfang steht die Einteilung der epileptischen Anfälle, siehe Abb. 1.

Diese erfolgt in Abhängigkeit von Anfallsursprung und Ausbreitung im Gehirn. Dabei wird nach der aktuellen Klassifikation der ILAE von 2017 unterschieden in:

- fokale Anfälle,
- generalisierte Anfälle,
- Anfälle unklaren Ursprungs
- und unklassifizierbare Anfälle.

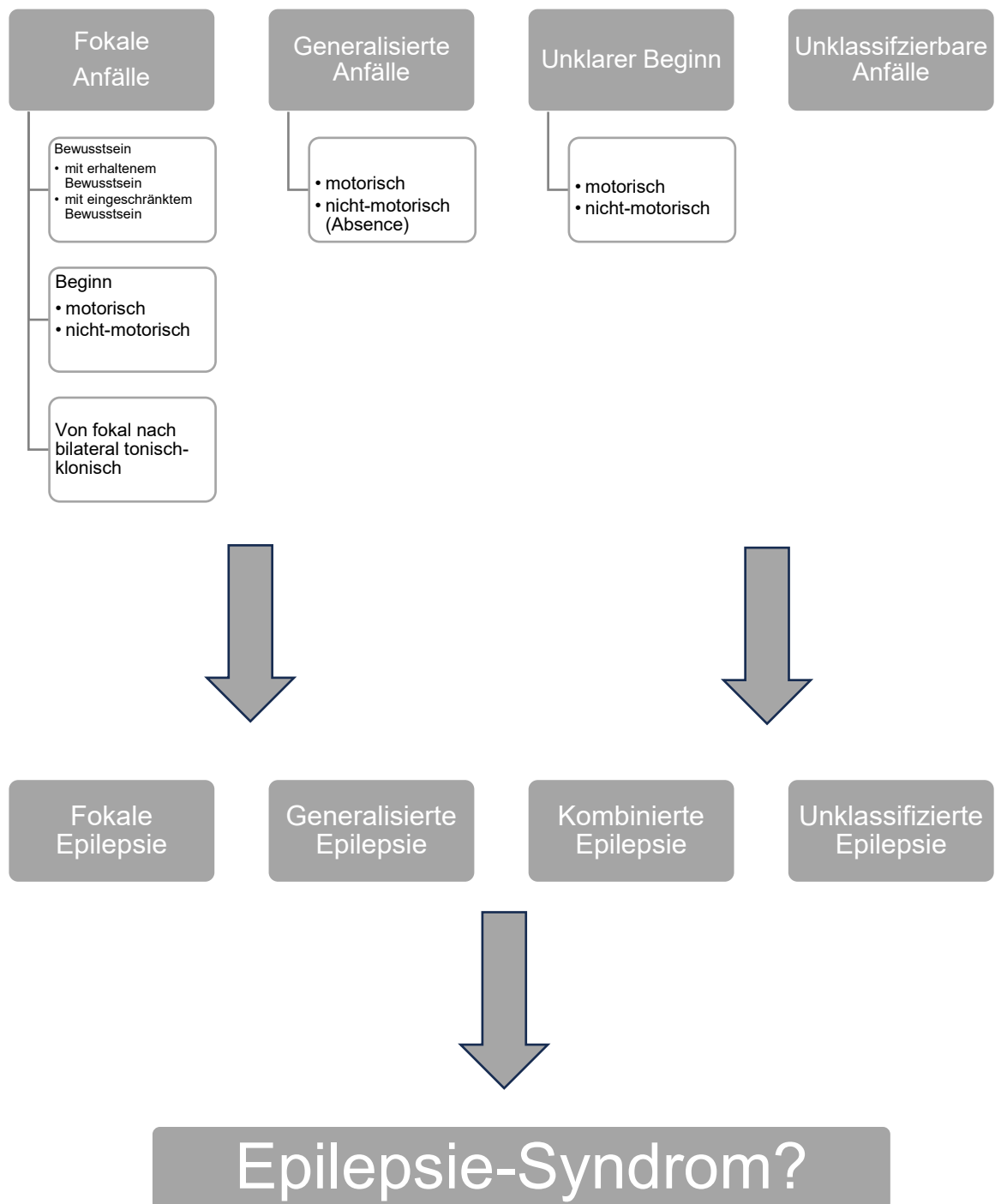
Die fokalen Anfälle lassen sich weiter in fokale Anfälle mit erhaltenem Bewusstsein (ehemals einfach-fokale Anfälle) und fokale Anfälle mit eingeschränktem Bewusstsein (ehemals komplex-fokale Anfälle) einteilen. Danach folgt die Beschreibung des Anfalls durch das erste erkennbare Anzeichen bzw. Symptom. Dies kann motorisch oder nicht-motorisch sein. Ein fokaler Anfall kann sich ausbreiten und wird nach der neuen Einteilung von fokal nach bilateral tonisch-klonischer Anfall genannt (vormals sekundär generalisierter Anfall). Auch Anfälle unklaren Ursprungs können in motorische und nicht-motorische Anfälle unterschieden werden. Der Terminus „unklassifizierbare Anfälle“ kann genutzt werden, wenn keine Informationen bereitstehen oder der Anfall sich nicht anderweitig zuordnen lässt (Fisher, Cross, et al., 2017).

Im nächsten Schritt wird die Form der Epilepsie bestimmt. Hier wird eingeteilt in:

- generalisierte Epilepsien,
- fokale Epilepsien,
- unklassifizierte Epilepsien
- und kombinierte generalisierte und fokale Epilepsien.

Sowohl in diesem Schritt als auch bei der Einteilung der Anfälle wird davon ausgegangen, dass definitionsgemäß die Diagnose eines epileptischen Anfalls, bzw. einer Epilepsie gestellt wurde.

Als nächstes erfolgt die Zuordnung zu einem Epilepsie-Syndrom, was nicht in jedem Fall möglich ist. Beispiele sind unter anderem die Juvenile Absenceepilepsie und das Dravet Syndrom (Scheffer et al., 2017).



**Abb. 1: Einteilung epileptische Anfälle/Epilepsie** angelehnt an Fisher, Cross et al., 2017; Scheffer et al., 2017

### 1.1.5 Diagnostik

Zu Beginn der Diagnostik steht die Frage, ob es sich tatsächlich um einen epileptischen Anfall handelt. Als Differentialdiagnosen kommen die konvulsive Synkope und der psychogene Anfall in Betracht. Zur Differenzierung wird eine sorgfältige Eigen- und

Fremdanamnese erhoben. Es folgen klinisch neurologische Untersuchungen sowie eine Bildgebung durch Magnetresonanztomographie (MRT) um strukturelle Ursachen zu finden bzw. ausschließen zu können. In akuten Situationen kann zusätzlich ein craniales Computertomogramm (CCT) sinnvoll sein, um einen potenziellen akuten haemorrhagischen Insult zu detektieren.

Im EEG können epilepsietypische Potentiale aufgezeichnet werden. Außerdem kann es vor einem epilepsiechirurgischen Eingriff hilfreich sein die epileptogene Zone einzugrenzen. Allerdings besitzt die Interpretation einige Fehlerquellen und nur eindeutige Befunde haben diagnostische und therapeutische Konsequenzen. Des Weiteren können laborchemische Untersuchungen der Differentialdiagnose (epileptischer Anfall vs. Synkope/psychogener Anfall) und der Zuordnung zu einer Ursachenkategorie dienen. Dies ist beispielsweise hilfreich bei Verdacht auf eine infektiöse oder immunvermittelte Genese (Elger & Berkenfeld, 2017; Holtkamp, May et al., 2023).

### **1.1.6 Therapie**

Um die geeignete Therapie einleiten zu können, ist die ausführliche Diagnostik und die Zuordnung zu einem Epilepsie-Syndrom bzw. das Detektieren einer Ursache von immenser Bedeutung. Dies gelingt jedoch nicht in jedem Fall, da noch immer eine große Anzahl der Anfälle unklaren Ursprungs sind. So sprechen beispielsweise Mutationen im SLC2A1 Gen (GLUT-1 Defizit-Syndrom) oft nicht auf eine anfallssupprimierende Medikation an, sondern eher auf eine ketogene Diät. Bei metabolischen Ursachen steht die Korrektur der jeweiligen Störung im Vordergrund. Bei infektiösen Prozessen hat die antimikrobielle Therapie große Bedeutung (Balestrini et al., 2021).

Klassische Anfallssuppressiva wirken an verschiedenen Ansatzpunkten. Es lassen sich Ionenkanalblocker (Natrium, Kalium, Kalzium), Verstärker der GABAergen Inhibition und Glutamatantagonisten unterscheiden (Sankaraneni & Lachhwani, 2015). Zu beachten sind mögliche Interaktionen (Enzyminduktion und -inhibition) mit anderen Medikamenten.

Persistieren die epileptischen Anfälle bei Patienten mit fokaler Epilepsie nach individueller Mono- oder Kombinationstherapie, kann bei geeigneten Patienten ein epilepsiechirurgischer Eingriff erwogen werden (Elger & Berkenfeld, 2017; Holtkamp, May et al., 2023). Sind die Behandlungsversuche nicht erfolgreich bzw. ist eine chirurgische Intervention nicht durchführbar, sind als weitere Therapiemöglichkeiten zur Anfallsreduktion die Neurostimulation und begleitend zur anfallssupprimierenden Medikation die ketogenen Diäten zu nennen (Holtkamp, May et al., 2023).

## 1.2 Immunsystem

### 1.2.1 Allgemeines

Die Aufgabe des Immunsystems ist einerseits die Abwehr infektiöser Mikroorganismen. Andererseits ist das Immunsystem auch an Reaktionen beteiligt, die durch nicht-infektiöse Zell- und Gewebeschädigungen, toxische oder allergene Substanzen hervorgerufen werden.

Das Immunsystem wird eingeteilt in das angeborene (unspezifische) und in das erworbene (spezifische) Immunsystem. Kommt es zur Konfrontation des Immunsystems mit einem oben genannten Auslöser, reagiert unmittelbar das angeborene Immunsystem. Es besteht aus physikalischen Barrieren, humoralen Bestandteilen, wie dem Komplementsystem, Zytokinen, Chemokinen und Defensinen sowie aus zellulären Komponenten (z.B. Granulozyten, Natürliche Killerzellen). Manche dieser Faktoren sind stets vorhanden, z.B. schleimüberdecktes Epithel. Andere Faktoren müssen aktiviert werden. Granulozyten werden z.B. durch Interaktion mit mikrobiellen Bestandteilen stimuliert. Die spezifische Immunabwehr antwortet nach einigen Tagen und ist gekennzeichnet durch die Erkennung spezifischer Antigene durch T- und B-Lymphozyten und deren klonale Expansion. So unterschiedlich diese Systeme auch sind, ist die Zusammenarbeit beider Systeme unerlässlich für eine effektive Immunantwort (Chaplin, 2010).

In den folgenden Abschnitten werden die für die vorliegende Arbeit relevanten Faktoren näher beschrieben.

### 1.2.2 Lymphozyten

#### T-Lymphozyten

Lymphozyten gehören zu den Leukozyten, welche anhand der „cluster of differentiation“ (CD)-Klassifikation eingeteilt werden. Bei diesen CD-Molekülen handelt es sich um membrangebundene Oberflächenproteine (Glykoproteine) mit unterschiedlichen Funktionen. T-Lymphozyten entstehen im Knochenmark aus der lymphatischen Vorläuferzelle, reifen im Thymus und sind Vertreter der zellvermittelten Immunität. Nachdem sie den Thymus verlassen, entwickeln sie sich in den sekundären lymphatischen Organen (Lymphknoten, Milz, MALT) weiter und zirkulieren im Blut. Sie tragen den Oberflächenmarker CD3 und sind definiert durch die Expression des transmembranären T-Zell-Rezeptors (TCR), welcher Antigene erkennt, die sich durch antigenpräsentierende Zellen (Monozyten, Makrophagen, B-Zellen, dendritische Zellen) präsentieren lassen. Dazu sind weitere Glykoproteine essenziell, die

Major histocompatibility complex (MHC)-Moleküle oder auch Humane Leukozytenantigene (HLA) bezeichnet werden. CD4 exprimierende T-Lymphozyten, die sogenannten T-Helferzellen, reagieren mit MHC-Klasse-II-Molekülen. Nach Kontakt mit der antigenpräsentierenden Zelle differenzieren sie weiter in Th1-, Th2- und Th17-Lymphozyten, in Abhängigkeit davon welches Zytokin zur Differenzierung beigetragen hat. Th1-Zellen sind verantwortlich für die zellvermittelte Immunantwort und sezernieren wie die anderen Subtypen z.B. Interleukin (IL)-2 und -6, Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), Interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) und den Granulozyten-Makrophagen-Kolonie-stimulierenden Faktor (GM-CSF). Th2-Zellen unterstützen die humorale Immunantwort sowie allergische Reaktionen und bilden außer den bereits genannten Zytokinen IL-4, -5, -9 und -13. Th17-Zellen bilden unter anderem IL-17, unterstützen die Funktion der neutrophilen Granulozyten und spielen eine Rolle bei Autoimmunerkrankungen (Chaplin, 2010; Zhu, 2018). Eine weitere Untergruppe sind die regulatorischen T-Lymphozyten (Treg), welche eine zerstörerische Immunantwort supprimieren können. CD8 exprimierende T-Lymphozyten reagieren mit MHC-Klasse-I-Molekülen und werden als zytotoxische T-Lymphozyten bezeichnet. Mit Hilfe des zytoplasmatischen Proteins Perforin lysieren sie antigenproduzierende Zellen. In Abhängigkeit des von ihnen sezernierten Zytokins können sie in T cytotoxic cell type (Tc) 1 und Tc2 eingeteilt werden (Chaplin, 2010).

### Natürliche Killerzellen

Natürliche Killerzellen (NK-Zellen) reifen im Knochenmark aus der lymphatischen Vorläuferzelle und sind danach im Blut und in verschiedenen Organen, wie z.B. Milz, Lunge und Leber ansässig. Sie sind große granuläre Lymphozyten, die CD56 („neural cell adhesion molecule“, NCAM) exprimieren und CD3- negativ sind. Außerdem sind sie durch den „natural cytotoxicity receptor“ (NCR) gekennzeichnet und exprimieren den „fragment crystallisable“ (Fc)-Rezeptor, welcher an Antikörper sowie an das „tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand“ (TRAIL)-Protein binden kann. Durch weitere Oberflächenmoleküle können sie in verschiedenen Untergruppen eingeteilt werden, z.B. in hochexprimierende CD56+ positive/CD16- negative Zellen und wenig exprimierende CD56+ positive/CD16 positive NK-Zellen. Sie besitzen keinen spezifischen Antigenrezeptor und können ihre zytotoxischen Eigenschaften sofort entfalten, ohne vorher aktiviert werden zu müssen. Daher werden sie dem angeborenen Immunsystem zugeordnet (Caligiuri, 2008; Chaplin, 2010). In ihrer Entwicklung finden sich jedoch auch Parallelen zu den Zellen des erworbenen Immunsystems (T- und B-Lymphozyten), beispielsweise das Ausbilden von langlebigen Gedächtniszellen und die klonale Expansion (Sun & Lanier, 2011). NK-Zellen sezernieren Chemokine und

Zytokine, insbesondere IFN- $\gamma$ , wodurch sie beispielsweise die Funktion von Makrophagen und T-Zellen unterstützen, und töten Zellen mittels Perforinen ab (Caligiuri, 2008). Durch Interaktion des TRAIL-Proteins mit Death-Rezeptoren lösen sie eine caspaseinduzierte Apoptose aus, welche unabhängig von der Wirkung inflammatorischer Zytokinen ist (Murphy & Weaver, 2018a). Das betrifft infizierte Zellen, transformierte Zellen bzw. Zellen die keine MHC-Klasse-I-Moleküle mehr exprimieren. Da einige Viren durch Abbau der MHC-Klasse-I-Moleküle der Bekämpfung durch zytotoxische T-Zellen entgehen, ist diese Eigenschaft der NK-Zellen von großer Bedeutung für die Infektabwehr (Caligiuri, 2008; Chaplin, 2010). Außerdem besitzen sie eine antikörperabhängige Zytotoxizität („antibody-dependent cellular cytotoxicity“, ADCC). D.h. sie binden mit ihrem Fc-Rezeptor an opsonierte Zellen und setzen ihre zytotoxischen Granula frei (Murphy & Weaver, 2018a).

Es gibt Hinweise, dass NK-Zellen die BHS durchqueren können und bei inflammatorischen Prozessen eine protektive Rolle spielen. Dies ist unter anderem auch bei autoimmunen Reaktionen der Fall, da sie Mikrogliazellen töten können, welche die autoimmune Aktivität von T-Zellen fördern (Shi et al., 2011).

#### Natürliche Killer-T-Zellen

Natürliche Killer-T-Zellen (NKT-Zellen) sind eine weitere Untergruppe der Lymphozyten und tragen Oberflächenmarker der NK-Zellen, aber auch den TCR und sind CD3+ positiv. Hier reagiert der TCR allerdings nicht mit MHC, sondern mit CD1d auf antigenpräsentierenden Zellen. CD1 sind MHC-Klasse-I- ähnliche Glykolipide, welche lipid-basierende Antigene präsentieren (Balato et al., 2009). Der TCR der NKT-Zellen kann außerdem eine Vielzahl an Antigenen erkennen. Wohingegen der TCR der typischen T-Zellen nur ein einziges Antigen identifiziert. Ebenso exprimieren NKT-Zellen eine Vielzahl an aktivierenden und inhibitorischen NK-Zell-Rezeptoren. Sie reifen im Thymus und sind später vor allem in der Leber, aber auch im Fettgewebe, im Darm, in der Lunge, der Milz und in den Lymphknoten zu finden. Sie sezernieren typische Th1-Zellen Zytokine, wie TNF- $\alpha$  und IFN- $\gamma$ , aber auch Zytokine, die typischerweise von Th2- und Th17-Zellen produziert werden, wie IL-4, -13 und -17. Sie aktivieren Makrophagen, T- und B-Lymphozyten und NK-Zellen (Cameron & Godfrey, 2018; Vogt & Mattner, 2021).

### **1.2.3 Monozyten/Makrophagen**

Monozyten entstehen sowohl im Knochenmark aus einer myeloischen Vorläuferzelle als auch unter gewissen Bedingungen in der Milz. Sie sind eine weitere Untergruppe der Leukozyten und gehören, wie die teilweise aus ihnen hervorgehenden Makrophagen und

dendritischen Zellen, zum mononukleär-phagozytären System (MPS). Sie sind Teil des angeborenen Immunsystems und werden in klassische und nicht-klassische Monozyten eingeteilt. Die klassischen Monozyten tragen CD14 auf ihrer Oberfläche und nehmen 80 – 90% der Monozyten ein, die nicht-klassischen exprimieren kaum CD14 und sind CD16+ positiv (Garré & Yang, 2018; Guilliams et al., 2018). Sie dienen der Antigenpräsentation, der Aktivierung anderer Immunzellen durch Produktion von Entzündungsmediatoren (Murphy & Weaver, 2018b), dem Remodeling sowie der Reparatur von Geweben und haben auch antiinflammatorische Eigenschaften (Guilliams et al., 2018). Monozyten zirkulieren im Blut und haben die Fähigkeit sich in inflammatorische Monozyten (Murphy & Weaver, 2018a) und gewebständige Makrophagen zu entwickeln (Guilliams et al., 2018). Dabei können unter Einwirkung verschiedener Wachstumsfaktoren zwei Subtypen entstehen, M1 (proinflammatorische) und M2 (antiinflammatorische) Makrophagen (Muñoz-Garcia et al., 2021). Gewebständige Makrophagen entstehen auch im embryonalen Dottersack (Muñoz-Garcia et al., 2021; Perdiguero et al., 2016). Ein Beispiel dafür sind die im zentralen Nervensystem (ZNS) vorhandenen Mikroglia-Zellen (Garré & Yang, 2018; Muñoz-Garcia et al., 2021). An der Proliferation und Differenzierung sind u.a. IL-34, IL-6 und der Makrophagen-Kolonie-stimulierende Faktor (M-CSF) beteiligt (Muñoz-Garcia et al., 2021; Murphy & Weaver, 2018b).

Patrouillierende Monozyten rollen am Endothel entlang und können gegebenenfalls Schäden am Endothel erkennen, differenzieren jedoch nicht zu Gewebsmakrophagen (Murphy & Weaver, 2018a). Unter pathologischen Bedingungen kann es dazu kommen, dass Monozyten die BHS überwinden, inflammatorische Botenstoffe sezernieren und so die neuronale Funktion und Plastizität beeinflussen. Es ist aber auch möglich, dass periphere Monozyten dazu beitragen, dass Zytokine die BHS überqueren. Auf diese Weise können sie, ohne selbst im Gehirn vorhanden zu sein, diese Wirkung auf die neuronale Funktion erzielen (Garré & Yang, 2018).

#### **1.2.4 Leukozytenadhäsionsmolekül ICAM-1**

„Intercellular adhesion molecule“ (ICAM)-1 ist ein Glykoprotein auf der Oberfläche von Endothel-, Epithel- und Immunzellen. Es gehört zur Immunglobulin (Ig) Superfamilie und besteht aus 5 extrazellulären immunglobulinähnlichen Domänen, einer Transmembran-Domäne und einer kurzen zytoplasmatischen Domäne. Seine Hauptliganden sind die Intergrine „lymphocyte function associated antigen“ (LFA)-1 und Makrophagen-Antigen (Mac)-1. Durch alternatives „splicing“ entstehen 6 membrangebundene Isoformen und eine lösliche Form. Durch dieses „splicing“ und durch Glykosylierung werden die Funktionen von ICAM-1 beeinflusst (Bui et al., 2020). ICAM-1 spielt eine wichtige Rolle bei der

transendothelialen Leukozytenmigration. Inflammatorisch aktiviertes Endothel exprimiert unter anderem ICAM-1, an welches über beispielsweise LFA-1 Phagozyten, T-Zellen und NK-Zellen binden (Murphy & Weaver, 2018). Überdies besitzt ICAM-1 auch immunregulatorische Eigenschaften. Exprimiert auf NK-Zellen ist es wichtig für die T-Zell Bindung. Auf T-Zellen exprimiert dient es als Co-Stimulator der T-Zell Aktivierung (Bui et al., 2020). Außerdem trägt ICAM-1 zur Programmierung von CD8+ positiven Gedächtniszellen bei und fördert die IL-2 Sekretion (Bui et al., 2020; Cox et al., 2013). Auf Makrophagen spielt es eine Rolle bei der Beseitigung von abgestorbenen Zellen, wodurch es auch die Immunantwort supprimieren und zur Resolution beitragen kann. Auch die Aktivierung von regulatorischen T-Zellen unterstützt diese Funktion der Makrophagen. Auf neutrophilen Granulozyten unterstützt es ebenfalls die Phagozytose und Zytotoxizität (Bui et al., 2020). Bei der Tumormetastasierung spielt ICAM-1 ebenfalls eine Rolle, was jedoch nicht Thema dieser Arbeit ist.

Zu den Zusammenhängen mit Epilepsie wird in Abschnitt 1.3 eingegangen.

#### **1.2.5 Toll-like Rezeptor-4**

Der Toll-Rezeptor wurde zuerst bei der Fruchtfliege *Drosophila melanogaster* entdeckt, bei welcher er für die Abwehr von Pilzinfektionen dient. Später ließen sich auch bei Säugern entsprechende Rezeptoren finden. Beim Menschen wurden 10 solcher Toll like-Rezeptoren (TLR) identifiziert (Chaplin, 2010; Murphy & Weaver, 2018a). Jeder TLR erkennt bestimmte „pathogen-associated molecular patterns“ (PAMPs), bzw. „microbe-associated molecular patterns“ (MAMPs). Sie sind unter anderem auf Makrophagen und anderen antigenpräsentierenden Zellen, B-Zellen und anderen Zellen des Immunsystems, Epithel- und Bindegewebszellen zu finden (Murphy & Weaver, 2018a). Auch im Gehirn sind sie auf Mikroglia, im Bereich der Meningen und zirkumventrikulären Organe, auf Endothel- und perivaskulären Zellen vertreten (Galic et al., 2012). Die Rezeptoren sitzen teilweise auf der Zelloberfläche, manche aber auch intrazellulär.

TLR-4 spielt eine große Rolle beim Erkennen von Lipopolysacchariden (LPS) in der Zellwand von gramnegativen Bakterien und bei dem dadurch ausgelösten septischen Schock. Bei der Aktivierung des TLR-4 sind akzessorische Proteine wie CD14 auf Makrophagen beteiligt. Die durch die TLRs ausgelösten Signale führen über bestimmte Adapterproteine (z.B. myeloischer Differenzierungsfaktor 88, MyD88,) zur Aktivierung von Transkriptionsfaktoren und dadurch zur Expression von inflammatorischen Zytokinen und antimikrobiellen Peptiden. Ein solcher Transkriptionsfaktor ist z.B. „nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B-cells“ (NF-κB). (Murphy & Weaver, 2018a). Neben den bereits genannten PAMPs und MAMPs gibt es auch

sogenannte „damage-associated molecular patterns“ (DAMPs) wie High mobility group box 1 (HMGB1), welche zur Aktivierung der Rezeptoren beitragen (Maroso et al., 2011). HMGB1 ist ein an Chromatin gebundenes Protein im Zellkern, kann aber auch freigesetzt werden. Aktivierte Zellen, beispielsweise Immunzellen, sezernieren HMGB1, nekrotische Zellen setzen es passiv frei. In apoptotischen Zellen wird es jedoch weiter an Chromatin gebunden zurückgehalten. Diese Zellen aktivieren wiederum die Freisetzung von HMGB1 durch Makrophagen (Chen et al., 2022; Scaffidi et al., 2002). So stellt HMGB1 einen wichtigen Vermittler bei septischen Organschäden dar (Qin et al., 2006).

### **1.3 Zusammenhänge von Immunsystem und Epilepsien**

Bei Epilepsien und bei anderen neurologischen Erkrankungen sind inflammatorische Prozesse involviert (z.B. Vezzani et al., 2011). Einerseits gibt es Epilepsien, die offensichtlich durch immunologische Störungen begründet sind, z.B. die Rasmussen Enzephalitis. Diese ist eine gegenüber Anfallssuppressiva resistente fokale Epilepsie, bei der zytotoxische T-Zellen und Mikroglia an der Schädigung des Hirngewebes beteiligt sind. Auch Autoantikörper spielen bei dieser Epilepsie eine Rolle (Varadkar et al., 2014). Andererseits gibt es Epilepsien, die inflammatorische Prozesse zeigen, jedoch nicht spezifischen Störungen des Immunsystems zugeordnet werden können. Außerdem ist erwiesen, dass epileptische Anfälle Immunreaktionen auslösen können, aber auch das Resultat von immunologischen Prozessen sein können, bzw. die Pathogenese/Iktogenese durch diese Prozesse beeinflusst werden kann (Vezzani et al., 2011).

Zytokine werden vorrangig von Immunzellen, inklusive Mikrogliazellen, und auch von Astrozyten sezerniert und beeinflussen die neuronale Funktion sowie die Entwicklung von neuronalen Zellen und Gliazellen (Galic et al., 2012; Sawada et al., 1995; Sei et al., 1995). Eine erhöhte Zytokinexpression tritt sowohl bei einem infektiösen Geschehen als auch bei Traumata, inklusive Apoplex, autoimmunen Prozessen und Malignomen auf (Galic et al., 2012). All diese Zustände gehen oft mit einer erniedrigten Anfallsschwelle einher. Neuronale Hyperaktivität führt wiederum zu einer erhöhten Zytokin- und Chemokinexpression durch Gliazellen und Neuronen, beispielsweise von IL-1 $\beta$ , IL-6 und TNF- $\alpha$  (Vezzani et al., 2011; Vezzani & Granata, 2005). Proinflammatorische Zytokine und Chemokine fördern die Expression von Adhäsionsmolekülen wie ICAM-1 auf Endothelzellen und sind so am Zusammenbruch der BHS und an der Leukozytentransmigration ins Gehirn beteiligt (Librizzi et al., 2007; Ransohoff et al., 2003).

Die BHS repräsentiert das mikrovaskuläre System des Gehirns und sorgt dafür, dass toxische Substanzen nicht ins Gehirn gelangen. Weiterhin regelt es den Austausch von Zytokinen, Zellen, Ionen und anderen Molekülen und ist so für den Erhalt der Homöostase im Gehirn verantwortlich (Daneman & Prat, 2015). Das Versagen der BHS führt zu Ödembildung (Profaci et al., 2020), Ionenverschiebung und Eintritt von Zellen, Zytokinen und Molekülen aus dem peripheren Kreislauf und wiederum zu neuronaler Hyperaktivität und erhöhter Anfallsbereitschaft (Daneman & Prat, 2015; Fabene et al., 2008; Janigro, 2012; Profaci et al., 2020). Die Anfälle unterhalten schließlich die BHS-Insuffizienz, so dass ein Circulus vitiosus entsteht (Reiss et al., 2023). Marchi et al. haben in einer experimentellen Studie gezeigt, dass eine Störung der BHS zu Anfällen führt (Marchi, Angelov, et al., 2007). Dieser Zusammenhang wird auch deutlich bei Erkrankungen, bei denen die BHS beeinträchtigt ist und die gleichzeitig mit Anfällen vergesellschaftet sind, z.B. Hirntrauma, Apoplex, Infektionen (Oby & Janigro, 2006; Profaci et al., 2020). Außerdem gibt es Hinweise, dass eine Wiederherstellung der BHS-Funktion das Auftreten von Anfällen vermindern kann (Greene et al., 2022; Reiss et al., 2023). Bisher ist es aber weiterhin unklar, ob bei epileptischen Anfällen anderer Genese die Störung der BHS die Ursache ist, oder ob sie durch die Anfälle bedingt ist und die Pathogenese und das Fortschreiten der Epilepsie unterhält. Die BHS besteht aus vielen einzelnen Funktionen und Eigenschaften. Welche genauen Faktoren und Mechanismen der gestörten Funktion der BHS zugrunde liegen und was zu einer erhöhten Anfallsbereitschaft führt, ist noch immer nicht vollständig geklärt.

Fabene et al. haben im Mausmodell gezeigt, dass ICAM-1 signifikant hochreguliert wurde, nachdem ein Status epilepticus mit Pilocarpin induziert wurde. Außerdem ließ sich die Anfallsaktivität durch die Blockade von ICAM-1 reduzieren, oder sogar verhindern (Fabene et al., 2008). Cudna et al. haben im Serum von Patienten nach bilateralen tonisch-klonischen Anfällen erhöhte Level von ICAM-1 und anderen Markern der BHS-Integrität gefunden. Dies werten sie als Zeichen für eine Endothelaktivierung und eine erhöhte BHS-Permeabilität (Cudna et al., 2023). Die anderen Funktionen von ICAM-1 auf (peripheren) Immunzellen wurden bereits in Abschnitt 1.2.4 erläutert. ICAM-1 wird unter anderem auch von NK-Zellen exprimiert. Ein postiktaler Anstieg der NK-Zellen wurde bei Patienten mit TLE beschrieben (Bauer et al., 2008). Marchi et al. haben 2011 die mögliche Beteiligung von NK-Zellen und zytotoxischen T-Zellen an der Iktogenese ebenfalls unterstrichen (Marchi, Johnson, et al., 2011).

Allerdings rückte die Annahme, dass es durch die Eröffnung der BHS zu einem erhöhten Übertritt von peripheren Immunzellen ins ZNS und somit zur ausgeprägten Neuroinflammation kommt, in den Hintergrund. Sowohl im Pilocarpin-Ratten-Modell als auch in epilepsiechirurgischen Resektaten von Patienten mit TLE wurde im

Hirnparenchym kein signifikanter Übertritt von Leukozyten gefunden, dafür aber ein nennenswerter Austritt von Albumin und IgG ins Hirnparenchym. Leukozyten ließen sich lediglich im vaskulären und perivaskulären Bereich nachweisen (Marchi et al., 2010b). Ein anderes Modell zeigte jedoch gegenteilige Ergebnisse. Hier wurde einerseits im Tierexperiment Kainsäure (ähnlich der Glutaminsäure) direkt in den Hippocampus injiziert und das Gewebe untersucht, andererseits wurden ebenfalls Proben von Patienten mit TLE nach epilepsiechirurgischen Eingriffen untersucht. Die Autoren vermuten einen neuroprotektiven Einfluss von Lymphozyten und Makrophagen, da das Verhindern der T-Zellinfiltration und eine Verringerung der peripheren Makrophagen, die durch die Kainsäure verursachten Läsionen aggravierten (Zattoni et al., 2011). Diese Kontroverse führt den Fokus auf die peripheren Abläufe des Immunsystems. Systemische Veränderungen und Zusammenhänge wurden vor vielen Jahren bereits von Eeg-Olofsson beschrieben. Hier zeigte sich bei Epilepsiepatienten eine signifikant erniedrigte Anzahl an T-Helferzellen und eine erhöhte Anzahl an zytotoxischen T-Zellen, der CD4+/CD8+ T-Zellen Quotient war signifikant niedriger als in einer Kontrollgruppe (Eeg-Olofsson et al., 1985). Auch in anderen Studien konnte dieser Zusammenhang gezeigt werden (Bostantjopoulou et al., 1994).

Pilocarpin wird in experimentellen Arbeiten zur Anfallsinduktion verwendet. Es ist ein cholinerges Agonist, der an muskarinergen Rezeptoren wirkt. Marchi et al. haben festgestellt, dass Pilocarpin in geringerem Maße die BHS überquert als angenommen (Marchi, Oby, et al., 2007). Die anfallsfördernde Wirkung basiert somit nicht nur auf einer direkten Wirkung im ZNS, sondern vorrangig auf der (peripher) ausgelösten erhöhten Permeabilität der BHS. Auch Leukozyten tragen muskarinerge Rezeptoren, an die Pilocarpin bindet. Diese Rezeptoren sind wichtig für die Differenzierung von CD8+ positiven Zellen in zytotoxische T-Zellen und ihre Mobilisation aus der Milz (Janigro, 2012; Marchi, Johnson, et al., 2011). Nach Pilocarpin-Injektion, aber noch vor der Entwicklung eines Status epilepticus, wurden erhöhte Serumlevel von IL-1 $\beta$  und ein erniedrigter CD4+/CD8+ Quotient festgestellt (Marchi, Oby, et al., 2007).

Zytotoxische CD8+ positive T-Zellen entfalten ihre lysierende Wirkung mittels Perforin, welches auch von NK-Zellen gebildet wird. Perforin fördert die vaskuläre Durchlässigkeit und kann die Funktion der BHS stören (Marchi, Johnson, et al., 2011; Suidan et al., 2008). Perforin-defiziente Mäuse weisen keine Veränderungen bezüglich der „tight junctions“ und keine erhöhte BHS-Permeabilität auf, die Anfallsneigung solcher Mäuse zeigt sich nach der Behandlung mit Pilocarpin vermindert (Marchi, Johnson, et al., 2011; Suidan et al., 2008).

Nicht nur in Modellen mit Pilocarpin fällt ein Zusammenhang zwischen systemischen inflammatorischen Prozessen und einer erhöhten Anfallsneigung auf. Ein

experimentelles Auslösen einer Darminfektion bewirkt bei Ratten eine erhöhte Anfallsbereitschaft, Mikroglia Aktivierung und erhöhte Level von TNF- $\alpha$  im Hippocampus (Riazi et al., 2008). Applikation des bakteriellen Endotoxins LPS löste eine hippocampale Hyperexzitabilität aus und die damit behandelten Ratten zeigten eine erhöhte „kindling“ Progression. Das Zufügen des IL-1 Rezeptor Antagonisten (IL-1RA) konnte diesen Effekt abmildern (Auvin et al., 2010). Ähnliches haben Marchi et al. 2009 festgestellt. Bei Tieren die mit dem IL-1RA vorbehandelt wurden, konnte kein Status epilepticus ausgelöst werden, bzw. zeigte sich dieser in abgemilderter Form. Die Durchlässigkeit der BHS war durch die Behandlung mit IL-1RA reduziert. Außerdem ließ sich nachweisen, dass es bereits vor dem Beginn des Status epilepticus zu einer Aktivierung von weißen Blutzellen und zu einer Erhöhung von IL-1 $\beta$  kommt. Was zu der Annahme führte, dass die Erhöhung von IL-1 $\beta$  nicht durch das Anfallsgeschehen verursacht wurde (Marchi et al., 2009).

Nun kommt auch die Beteiligung von TLR-4 an der Pathogenese zunehmend in den Fokus. Wie bereits beschrieben bindet HMGB1 an TLR-4. Die daraus resultierenden Signale stimulieren teilweise über MyD88 den Transkriptionsfaktor NF- $\kappa$ B und initiieren so eine inflammatorische Antwort (im Gehirn). Außerdem kommt es zur Phosphorylierung der NMDA Rezeptor-2B (NR2B) Untereinheit des NMDA-Rezeptors (ionotroper Glutamatrezeptor), was zu einem Einstrom von Calcium $^{2+}$  und dadurch zur Hyperexzitabilität von Neuronen führt. IL-1 $\beta$  übt ebenso über den NMDA-Rezeptor seine prokonvulsiven Eigenschaften aus. Anfälle führen wiederum zu neuronalen Zellschäden und somit zur Ausschüttung von HMGB1. Dadurch entsteht ein Circulus vitiosus. Da TLR-4 auch auf Endothelzellen der BHS exprimiert wird, kann die Bindung an HMGB1 hier zu einer Schädigung der BHS-Integrität führen (Anwar et al., 2022; Maroso et al., 2010). Im Tiermodell zeigte sich postiktal eine erhöhte HMGB1 Färbung in Astrozyten und in einem Zeitraum bis 3 Stunden postiktal auch in Mikroglia. Die TLR-4-Expression auf Neuronen und Astrozyten war ebenfalls erhöht. In Resektaten von epilepsiechirurgischen Patienten mit TLE konnten diese Resultate bestätigt werden. Antagonisten von HMGB1 und TLR-4 zeigten in diesem Tiermodell antikonvulsive Effekte (Maroso et al., 2010). In einem anderen Modell bewirkte die Behandlung mit einem Antikörper gegen HMGB1 eine reduzierte Permeabilität der BHS, weniger HMGB1 Freisetzung und eine erniedrigte Expression von proinflammatorischen Faktoren, darunter TLR-4 und IL-1 $\beta$  (Fu et al., 2017).

## 1.4 Fragestellung

Das Ziel dieser Arbeit ist es, weitere Erkenntnisse bezüglich der Pathophysiologie von Epilepsien zu gewinnen sowie mögliche Veränderungen im systemischen Immunsystem

nach Anfällen und im interiktalen Stadium zu detektieren und so mögliche wechselseitige Beeinflussungen aufzuzeigen. Dafür sollen Leukozytenadhäsionsfaktoren und TLRs als Bestandteil des angeborenen Immunsystems bei Patienten mit Epilepsie im peripheren Blut nachgewiesen und der Verlauf im zeitlichen Zusammenhang mit einem Anfall dargestellt werden. Im Rahmen dieser Studie sind Hypothesen bezüglich o.g. Parameter in Bezug auf verschiedene Epilepsie-Syndrome in Abhängigkeit zum Blutentnahme-Zeitpunkt zu generieren.

Diese Untersuchung ist eine Pilotstudie, da ein bis dato neues Feld der immunologischen Veränderungen bei Epilepsiepatienten untersucht werden sollte, um weitere ätiologische Überlegungen bezüglich der Epileptogenese zu generieren.

Sollten immunologische Mechanismen bei verschiedenen Epilepsieformen für deren Verlauf verantwortlich sein, könnte deren Beeinflussung in Zukunft neue Therapiestrategien möglich machen.

Folgenden Fragen ergeben sich:

1. Gibt es Unterschiede bezüglich der o.g. Parametern zwischen Patienten mit Epilepsie und gesunden Kontrollen?
2. Welchen Verlauf zeigen die Parameter im Rahmen eines Anfalls bis 24 Stunden postiktal?
3. Zeigen die gemessenen Parameter einen unterschiedlichen Verlauf bei fokalen vs. fokal nach bilateral tonisch-klonischen Anfällen?
4. Zeigen die gemessenen Parameter Unterschiede bei Patienten mit HS im Vergleich zu Epilepsien anderer Ätiologie?
5. Hat die Seite des Anfallsursprungs einen Einfluss auf die möglichen immunologischen Veränderungen?

## 2 Patienten, Material und Methoden

### 2.1 Patienten

Von 2011 bis 2013 wurden insgesamt 35 Patienten mit bekannter fokaler Epilepsie aus der Video-EEG-Monitoring Einheit und der Epilepsie-Ambulanz des Universitätsklinikums Marburg eingeschlossen. Es erfolgte die Einteilung in 2 Gruppen, eine postiktale Gruppe (n=20) und eine interiktale Gruppe (n=26). 11 Patienten wurden sowohl in die postiktale als auch in die interiktale Gruppe eingeschlossen. Die Patienten in der postiktalen Gruppe hatten aufgezeichnete Anfälle ( $\geq 1$ ) während ihres stationären Aufenthalts in der Video-EEG-Monitoring Einheit. Darunter waren fokale Anfälle mit eingeschränktem Bewusstsein, ein fokaler Anfall mit erhaltenem Bewusstsein (eine Aura) und fokal nach bilateral tonisch-klonische Anfälle.

Patient Nr. 10 wurde von der Datenauswertung ausgeschlossen und ist nicht in den insgesamt 35 Patienten enthalten, da dieser der einzige Patient mit einer generalisierten Epilepsie ist.

Die Patienten in der interiktalen Gruppe waren am Tag der Blutentnahme mindestens 3 Tage anfallsfrei. Außerdem wurden von 11 Patienten der postiktalen Gruppe, die zum Zeitpunkt der ersten Blutentnahme (Baseline) 3 Tage anfallsfrei waren, die Baselinewerte als interiktale Werte erhoben. Ausgehend von einer vorangegangenen Studie, bei der sich die postiktal angestiegenen Werte der Lymphozyten nach 24 Stunden wieder normalisierten (Bauer et al., 2008), wurde der Cut-off Wert von 3 Tagen gewählt, um den Status „interiktal“ zu definieren.

Alle Patienten erfüllten folgende Einschlusskriterien:

- Eindeutig diagnostizierte fokale Epilepsie
- Alter zwischen 18 und 75 Jahre
- Schriftliche Einverständniserklärung zur Teilnahme an der Studie

Ausschlusskriterien:

- maligne hirneigene Tumoren
- akute Infektion in den letzten 4 Wochen
- andere relevante schwere progressive neurologische und neuroimmunologische Erkrankungen wie z. B. Multiple Sklerose, Amyotrophe Lateralsklerose, akuter Schlaganfall, akute Blutung, Humanes Immundefizienz Virus (HIV), akute Enzephalitis u. Ä.
- Therapie mit Interferon oder Immunglobulinen in den letzten 6 Monaten

- operativer Eingriff oder relevantes Trauma in den letzten 4 Wochen
- schwere Leber- und/oder Niereninsuffizienz
- relevante schwere psychiatrische Erkrankungen
- Schwangerschaft
- fehlendes schriftliches Einverständnis durch den Patienten

Die Kontrollgruppe setzt sich aus 20 Erwachsenen zusammen, welche zusätzlich zu den bereits genannten Ausschlusskriterien kein Epilepsie-Syndrom, bzw. keine Symptome eines solchen aufwiesen.

Die Studie wurde von der lokalen Ethikkommission genehmigt (27.07.11, Aktenzeichen 57/11).

## **2.2 Material und Methoden**

### **2.2.1 Material**

- Megafuge 1.0 R®, Heraeus Instruments, Deutschland
- Eppendorf Pipette 100 – 500 µl
- Finnpiquette® 5 – 50 µl, 50 – 300 µl, 20 – 200 µl, Thermo Labsystems, USA
- 96-well Mikrotiterplatte, Greiner bio-one, Österreich
- Durchflusszytometer FACSCalibur®, Becton Dickinson, USA
- Software CellQuest®, Becton Dickinson, USA
- Falcon 5ml Polystyrol Rundbodenröhrchen, Becton Dickinson, USA
- Phosphate buffered saline (PBS), Biochrom AG, Deutschland
- CellWash, BD Biosciences, USA
- FACSafe, Becton Dickinson, USA
- FACSRinse, Becton Dickinson, USA
- BD FACSFlo<sup>TM</sup>, Becton Dickinson, USA
- Erythrozyten-Lyselösung (Aqua dest. + Ammoniumchlorid im Mischverhältnis 1:10) BD Pharm Lyse<sup>TM</sup>
- Antikörper:
  - o CD3-FITC, Acris Antibodies GmbH, Deutschland
  - o CD4-APC, BD Biosciences, USA
  - o CD8-PerCP, BD Biosciences, USA
  - o CD14-FITC, BD Biosciences, USA
  - o CD54-PE, Acris Antibodies GmbH, Deutschland
  - o CD56-APC, Acris Antibodies GmbH, Deutschland
  - o CD284-PE, Acris Antibodies GmbH, Deutschland

- Fluoreszenzfarbstoffe:
  - FITC (Fluorescein-Isothiocyanat), Emission bei 525 nm
  - PE (Phycoerythrin), Emission bei 575 nm
  - PerCP (Peridinin Chlorophyll Protein), Emission bei 675 nm
  - APC (Allophycocyanin), Emission bei 660 nm
- Weiterer Software:
  - Microsoft® Word, USA
  - Microsoft® Excel, USA
  - DrawPad Grafik-Editor, © NCH Software, Inc., USA
  - GraphPad Prism 5, © GraphPad Software Inc., USA
  - Mendeley Reference Manager, © 2023 Mendeley Ltd., Elsevier B.V., Niederlande

## 2.2.2 Methoden

### Durchflusszytometrie

Bei der Durchflusszytometrie (Fluorescence Activated Cell Sorting, FACS) handelt es sich um eine Technologie, die mittels Laser Zellen anhand ihrer Größe, Zellgranularität und Oberflächeneigenschaften sortiert und auszählt. Die mit fluoreszierenden Antikörpern gefärbten Zellen werden in einem laminaren Flüssigkeitsstrom von einem Laserstrahl detektiert und je nach Streuung und emittierter Fluoreszenz typisiert. Man spricht von einem Vorwärtsstreulicht (Forward Scatter, FSC), welches die Zellgröße erfasst, und einem Seitwärtsstreulicht (Side Scatter, SSC) im 90 Grad-Winkel, welches die Zellgranularität beschreibt.

### Durchführung

Das Blut wurde mittels oben beschriebener FACS Analyse auf die Kombination folgender Oberflächenmarker untersucht:

Lymphozyten:

CD54+/CD3+; CD3+/CD4+; CD3+/CD8+; CD4+/CD8+; CD4+/CD54+; CD8+/CD54+;  
CD3+/CD284+; CD8+/CD284+; CD4+/CD284+

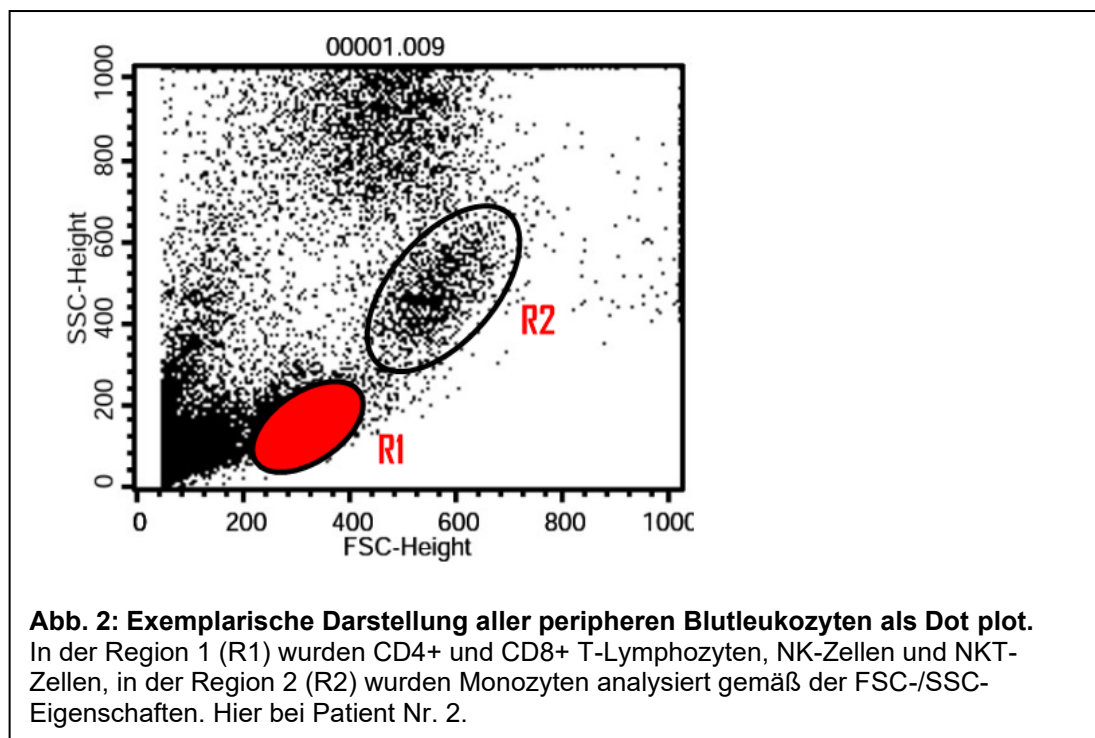
Monozyten:

CD54+/CD14+; CD284+/CD14+

NK-Zellen:

CD 54+/CD56+; CD 284+/CD56+

Dazu wurden in einer 96 Well-Mikrotiter-Platte jeweils 100 µl Blut und 100 µl Phosphate buffered saline (PBS) vermischt und anschließend zentrifugiert (1200 R/min, 4 min). Nach Verwerfen des Überstandes erfolgte die Färbung der Zellen mit Antikörpern. Dazu wurden jeweils 10 µl folgender Antikörper genutzt: Für T-Lymphozyten zwei Wells mit CD3-FITC, CD8-PerCP, CD4-APC, und zusätzlich CD54-PE, bzw. CD284-PE, für die Monozyten 2 Wells mit CD14-FITC, CD56-APC, und zusätzlich CD54-PE, bzw. CD284-PE. Die Inkubation erfolgte für 30 min im Kühlschrank. Danach erfolgte die Lyse der Erythrozyten mittels 180 µl Erythrozyten-Lyselösung und Inkubation für 10 min im Dunkeln bei Raumtemperatur. Anschließend wurde erneut zentrifugiert (1200 R/min, 4 min) und der Überstand verworfen. Die Lyse erfolgte insgesamt zweimal. Nach der zweiten Wiederholung wurden die Zellen mit jeweils 180 µl CellWash resuspendiert, zentrifugiert und nach Verwerfen des Überstandes wurde nochmals 150 µl CellWash hinzugefügt. Anschließend erfolgte die Analyse mittels FACSCalibur®. NK-Zellen und Lymphozyten wurden in einem Lymphozyten-Gate gemäß FSC-SSC Einstellung analysiert, Monozyten in einem Monozyten-Gate.



### 2.3 Statistik

Zur statistischen Analyse und graphischen Darstellung der Ergebnisse wurde GraphPad Prism 5 für Windows von der GraphPad Software Inc., USA, verwendet.

Die Messwerte werden als Mittelwert und Standardabweichung (standard deviation, SD) beschrieben. In den Tabellen finden sich die Werte außerdem als Median mit

Konfidenzintervallen von 95%. Die Darstellung erfolgt mittels Box-Whisker-Plots (Median, Mittelwert, Quartile und 5% bzw. 95% Quantile).

Da keine Normalverteilung der Daten angenommen werden konnte, erfolgte die Auswertung der Baseline- und postiktalen Werte durch den non-parametrischen Wilcoxon-Test. Für den Vergleich der verschiedenen Subgruppen miteinander und der Kontrollen mit den interiktalen Patienten fand der non-parametrische Mann-Whitney-U-Test Verwendung. Da es nicht bei allen Patienten eine Blutprobe 24 Stunden postiktal gab, konnten nur 12 Proben diesbezüglich ausgewertet werden.

Das Signifikanzniveau wurde auf  $p < 0.05$  festgesetzt. Die Darstellung der Ergebnisse erfolgt überwiegend deskriptiv, da die Arbeit zur Hypothesengenerierung dienen sollte. Es erfolgte keine Adjustierung für multiple Testungen.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Patientenmerkmale

Die Patientencharakteristika werden in Tabelle 1 beschrieben.

**Tabelle 1: Patientencharakteristika**

Pat.- Nr.	Alter (Jahre)	Epilepsie- Syndrom	Anfalls- ursprung	Anfallsart bei BE	Ätiologie	Medikation
1	47	RHE	rechts	nbFA	Strukturell (Substanzdefekt occipital rechts)	LTG, LEV
2	27	TLE	rechts	fbTKA	kryptogen	LTG
3	29	MFE	links	nbFA	kryptogen	CBZ
4	52	TLE bds.	rechts	nbFA	HS	LTG, LAC, VPA
5	50	TLE	rechts	nbFA	HS, Hämangiom	CBZ
6	38	MFE	links	nbFA	kryptogen	OXC, LEV
7	44	TLE	links	nbFA	Neurofibromatose	LEV, VPA
8	40	MFE	links	Aura (visuell)	kryptogen	LEV, LAC, LTG, VPA
9	58	TLE	links	fbTKA	HS	LAC, VPA
11	27	RHE	rechts	fbTKA	kryptogen	LEV, OXC
12	28	TLE bds.	links	nbFA	HS	LAC, VPA
13	46	TLE	rechts	nbFA	Cavernom	keine
14	45	FLE	links	fbTKA	kryptogen	LEV
15	53	TLE	rechts	nbFA	HS	VPA, ZON
16	27	TLE	links	fbTKA	HS	LTG
17	56	TLE	rechts	nbFA	V.a. genetische Ursache	LCS
18	20	TLE	links	nbFA	V.a. genetische Ursache	LEV
19	31	RHE	rechts	fbTKA	kryptogen	LEV, TPM, LTG
20	41	TLE	unklar	fbTKA	Strukturell (DNET)	LEV, LAC, OXC
21	55	TLE	rechts	nbFA	kryptogen	ZON, OXC

Abkürzungen: nbFA = nicht bewusst erlebter fokaler Anfall, CBZ = Carbamazepin, DNET = Dysembryoplastischer neuroepithelialer Tumor, fbTKA = fokal nach bilateral tonisch-klonischer Anfall, FLE = Frontallappenepilepsie, HS = Hippocampussklerose, LAC = Lacosamid, LEV = Levetiracetam, LTG = Lamotrigin, MFE = Multifokale Epilepsie, OXC = Oxcarbazepin, RHE = Rechts-hemisphärische Epilepsie, TLE = Temporallappenepilepsie, TPM = Topiramate, VPA = Valproat

Patient Nr. 10 wurde vor der Auswertung ausgeschlossen und ist hier nicht aufgeführt.

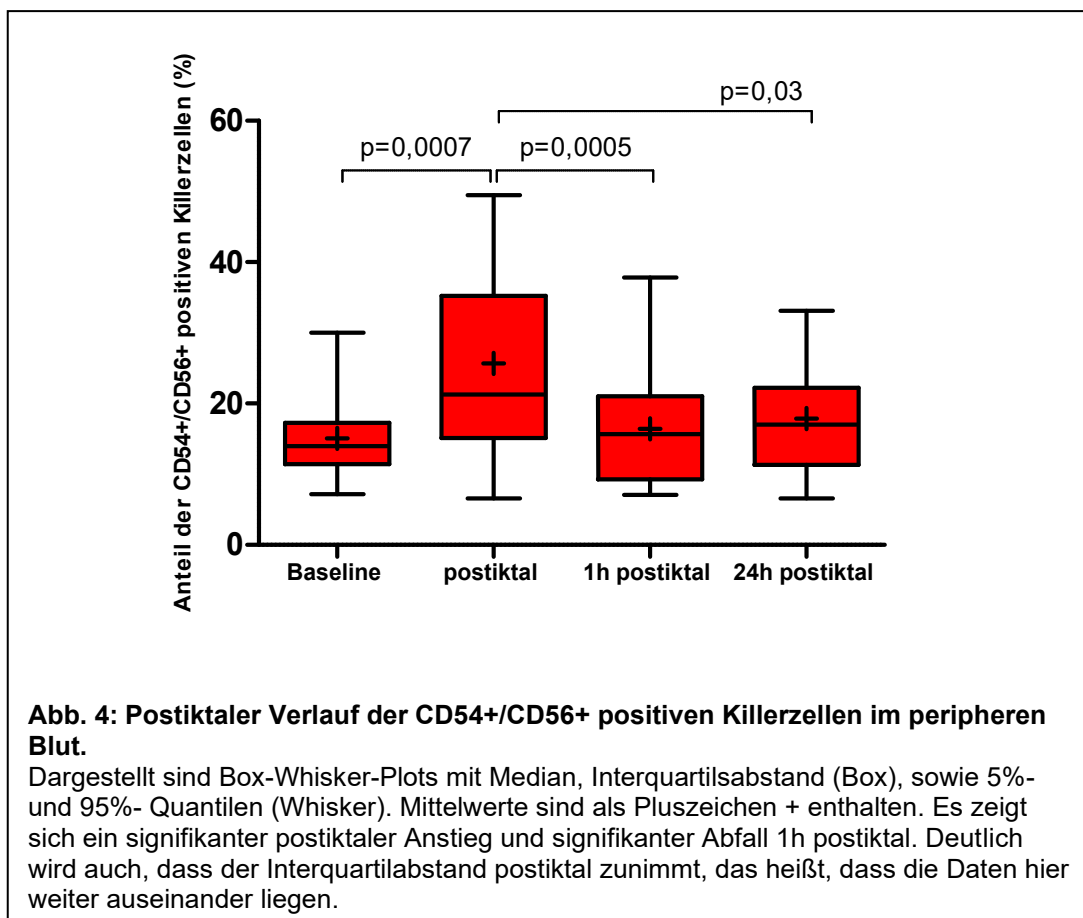
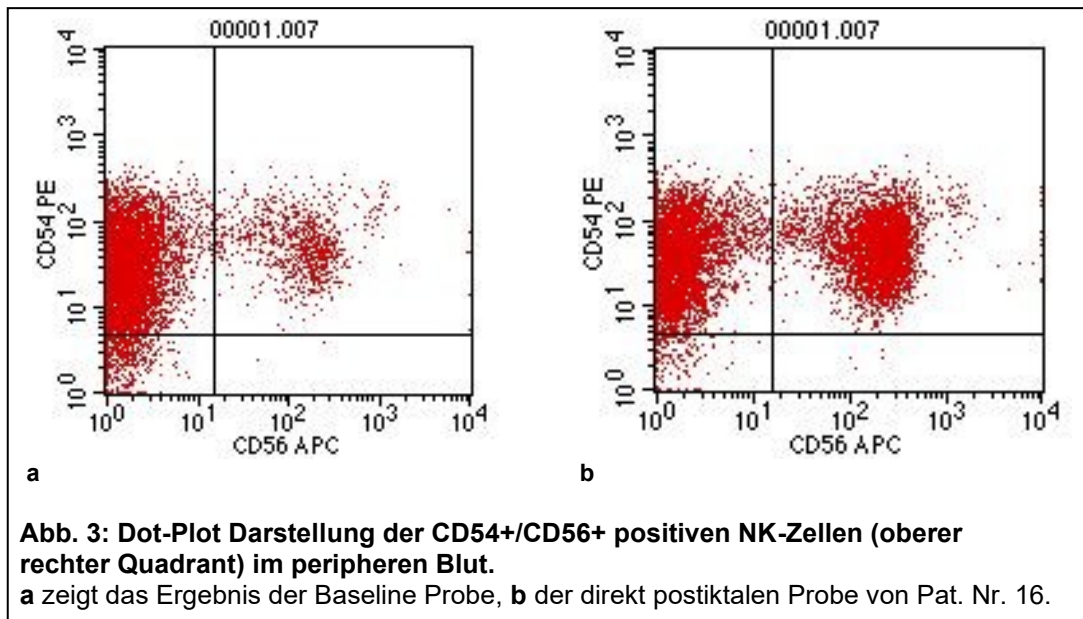
Unter den 20 eingeschlossenen Patienten mit epileptischen Anfällen während des stationären Aufenthalts sind 13 Patienten weiblich (65%). 13 Patienten haben eine TLE, 3 eine rechtshemisphärische Epilepsie (RHE), 3 eine multifokale Epilepsie (MFE) und 1 Patient hat eine Frontallappenepilepsie (FLE). Das mittlere Alter beträgt 41 (20 – 58) Jahre, die monatliche Anfallsfrequenz 6 (0,4 – 30). 12 Patienten hatten einen fokalen Anfall mit eingeschränktem Bewusstsein (nbFA), 7 einen fokal nach bilateral tonisch-

klonischen Anfall (fbTKA) und ein Patient hatte eine visuelle Aura im Sinne eines fokalen Anfalles mit erhaltenem Bewusstsein. Der Anfallsursprung war bei 10 Patienten rechtshemisphärisch, bei 9 Patienten linkshemisphärisch. Details zu den Patientencharakteristika werden in Tabelle 1 beschrieben.

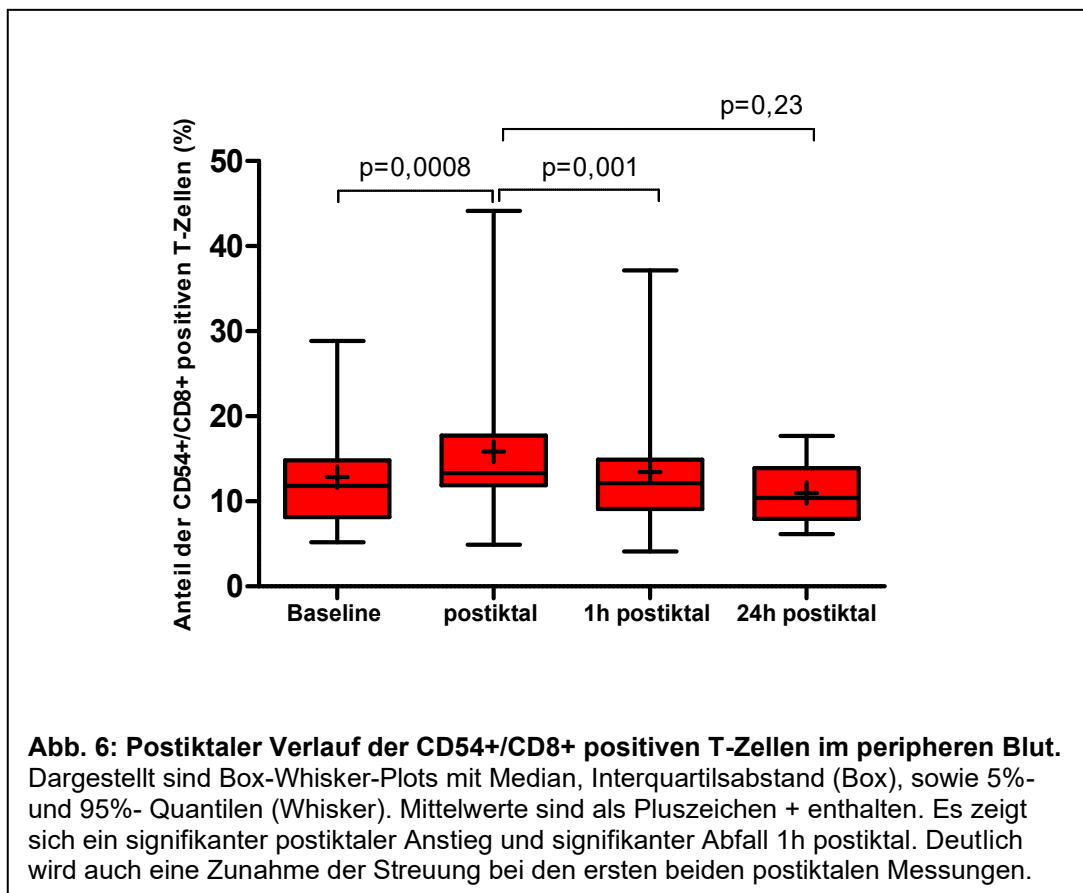
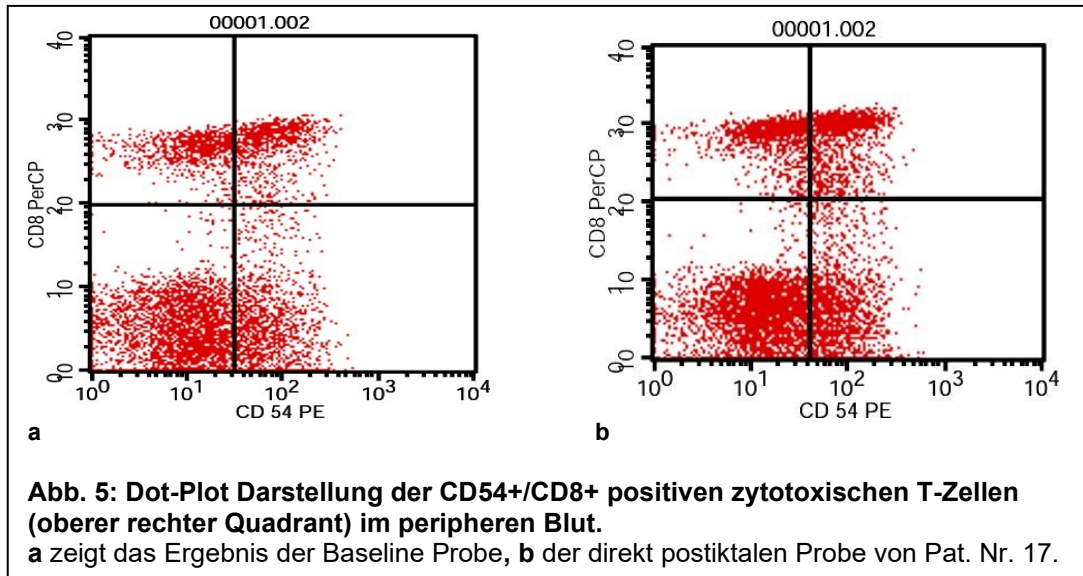
Als Kontrollgruppe dienen 20 gesunde Erwachsene (mittleres Alter 28 (22 – 50) Jahre, 60% weiblich) ohne Anzeichen oder Symptome, die für eine Epilepsie oder immunologische, entzündliche Erkrankung sprechen würden.

### **3.2 Analyse der gesamten Patientengruppe**

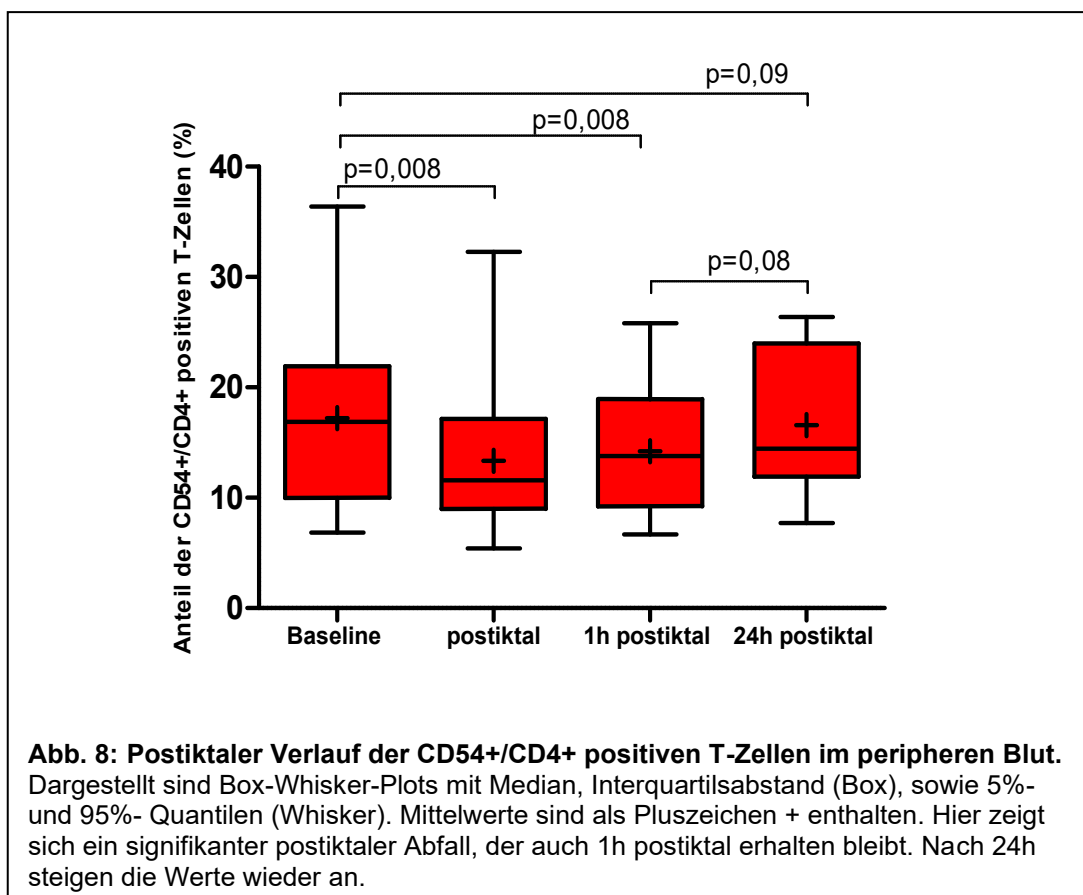
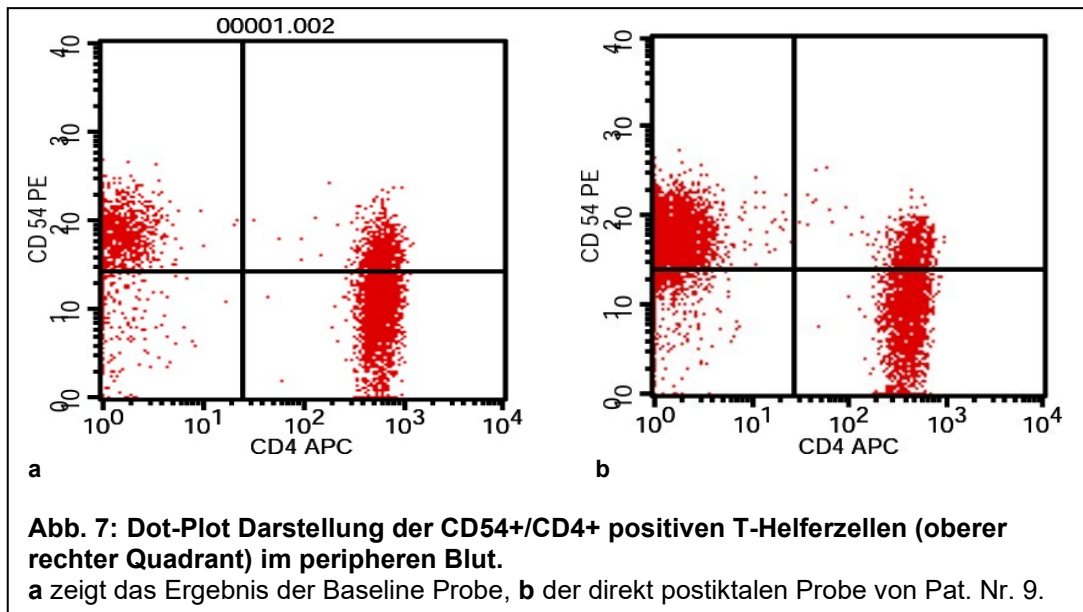
Im Vergleich zum Baseline-Wert stieg postiktal der Anteil an **CD54+/CD56+ positiven NK-Zellen** signifikant an (sofort postiktal vs. Baseline:  $25,67\% \pm 13,05\%$  vs.  $15,07\% \pm 5,70\%$ ,  $p= 0,0007$ ), sank jedoch 1 Stunde postiktal wieder signifikant auf Baseline-Niveau ab (sofort postiktal vs. 1 h postiktal:  $25,67\% \pm 13,05\%$  vs.  $16,45\% \pm 8,87\%$ ,  $p= 0,0005$ ) und blieb auch 24 Stunden postiktal auf diesem Niveau (sofort postiktal vs. 24 h postiktal:  $25,67\% \pm 13,05\%$  vs.  $17,88\% \pm 7,97\%$ ,  $p= 0,03$ ).



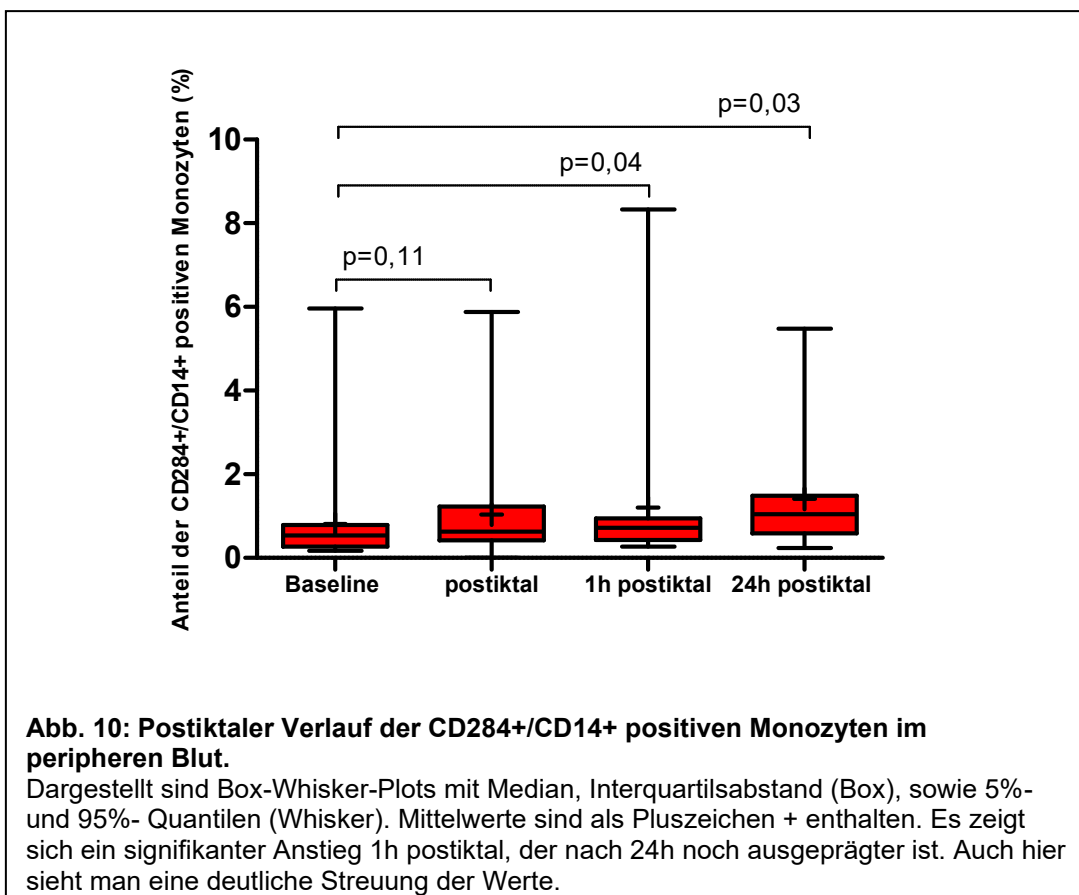
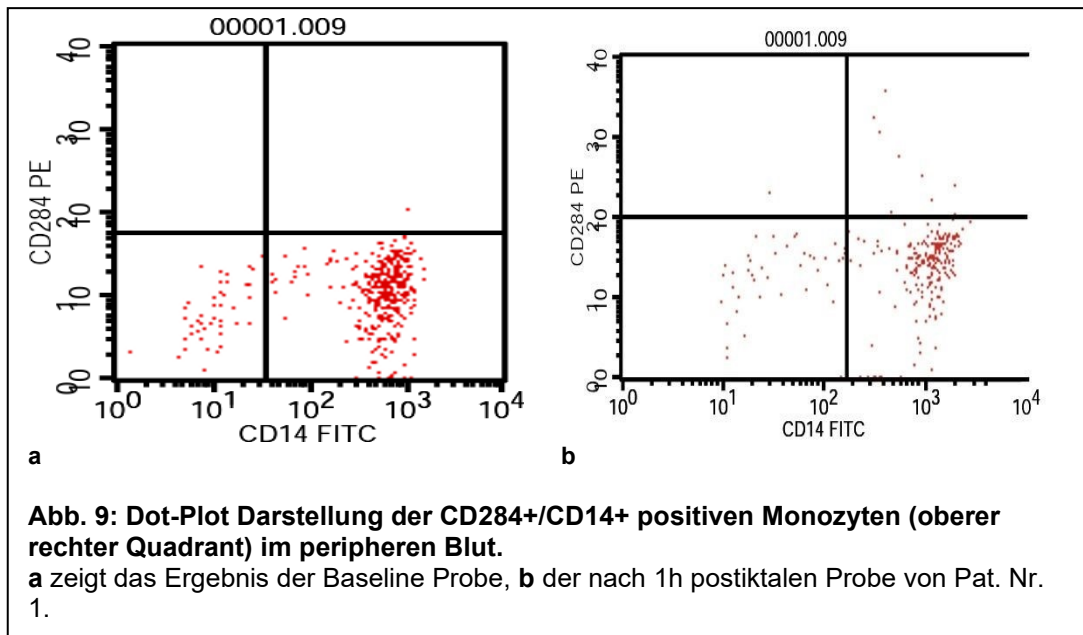
Der postiktale Anteil der **CD54+/CD8+ positiven zytotoxischen T-Zellen** war ebenfalls signifikant erhöht im Vergleich zu Baseline Werten (sofort postiktal vs. Baseline: 15,84% ± 8,11% vs. 12,85% ± 5,81%, p= 0,0008) und sank auch 1 Stunde postiktal wieder signifikant ab (sofort postiktal vs. 1 h postiktal: 15,84% ± 8,11% vs. 13,43% ± 7,83%, p= 0,001). Nach 24 Stunden postiktal blieben die Werte weiterhin auf Baseline-Niveau (Baseline vs. 24 h postiktal: 12,85% ± 5,81% vs. 11,00% ± 3,53%, p= 0,20).



Der Verlauf der **CD54+/CD4+ positiven T-Zellen** zeigte postiktal einen signifikanten Abfall im Vergleich zu Baseline Werten (sofort postiktal vs. Baseline:  $13,36\% \pm 6,58\%$  vs.  $17,23\% \pm 7,62\%$ ,  $p= 0,008$ ), die Werte blieben 1 Stunde postiktal weiterhin auf signifikant erniedrigten Werten im Vergleich zur Baseline (1 h postiktal vs. Baseline:  $14,21\% \pm 6,12\%$  vs.  $17,23\% \pm 7,62\%$ ,  $p= 0,008$ ). Im Vergleich mit 24 Stunden postiktal zeigten sich keine signifikanten Unterschiede, die Werte stiegen jedoch wieder an (1 h postiktal vs. 24 h postiktal:  $14,21\% \pm 6,12\%$  vs.  $16,58\% \pm 6,52\%$ ,  $p= 0,08$ ).



**CD284+/CD14+ positive Monozyten** zeigten einen signifikanten Anstieg 1 Stunde postiktal (1 h postiktal vs. Baseline:  $1,20\% \pm 1,79\%$  vs.  $0,81\% \pm 1,25\%$ ,  $p=0,04$ ), welcher 24 Stunden postiktal noch anhielt (24 h postiktal vs. Baseline  $1,41\% \pm 1,40\%$  vs.  $0,81\% \pm 1,25\%$ ,  $p=0,03$ ).



Es ergaben sich keine statistisch signifikanten Unterschiede in den Verläufen der CD54+/CD3+; CD284+/CD8+; CD284+/CD4+, CD284+/CD3+ positiven T-Zellen, der CD54+/CD14+ positiven Monozyten und der CD284+/56+ positiven NK-Zellen.

Details sind in Tabelle 2 beschrieben.

**Tabelle 2: Veränderungen der einzelnen Zellpopulationen in der Gesamtpatientengruppe**

Gesamtpatientengruppe					
Parameter	Zeitpunkt BE	Median	95% KI	Mittelwert	SD
CD54+/CD56+ (in %)	Baseline (n=20)	13,98	12,41 - 17,74	15,07	5,70
	Postiktal (n=20)	21,26	19,56 - 31,78	25,67	13,05
	1h postiktal (n=20)	15,66	12,30 - 20,60	16,45	8,87
	24h postiktal (n=12)	17,02	12,81 - 22,94	17,88	7,97
CD54+/CD8+ (in %)	Baseline (n=20)	11,80	10,14 - 15,57	12,85	5,81
	Postiktal (n=20)	13,30	12,04 - 19,63	15,84	8,11
	1h postiktal (n=20)	12,14	9,76 - 17,09	13,43	7,83
	24h postiktal (n=12)	10,39	8,76 - 13,24	11,00	3,53
CD54+/CD4+ (in %)	Baseline (n=20)	16,90	13,66 - 20,80	17,23	7,62
	Postiktal (n=20)	11,58	10,28 - 16,44	13,36	6,58
	1h postiktal (n=20)	13,79	11,35 - 17,08	14,21	6,12
	24h postiktal (n=12)	14,44	12,44 - 20,72	16,58	6,52
CD54+/CD3+ (in %)	Baseline (n=20)	26,96	24,79 - 33,19	28,99	8,97
	Postiktal (n=20)	27,55	23,62 - 31,09	27,35	7,99
	1h postiktal (n=20)	24,69	22,43 - 29,81	26,12	7,89
	24h postiktal (n=12)	27,28	21,71 - 32,18	26,94	8,25
CD284+/CD14+ (in%)	Baseline (n=20)	0,54	0,23 - 1,39	0,81	1,25
	Postiktal (n=20)	0,63	0,45 - 1,64	1,04	1,28
	1h postiktal (n=20)	0,72	0,36 - 2,04	1,20	1,79
	24h postiktal (n=12)	1,05	0,52 - 2,30	1,41	1,40
CD284+/CD8+ (in %)	Baseline (n=20)	0,07	-0,06 - 0,77	0,35	0,89
	Postiktal (n=20)	0,09	0,04 - 1,23	0,63	1,28
	1h postiktal (n=20)	0,05	0,004 - 1,07	0,54	1,14
	24h postiktal (n=12)	0,06	-0,14 - 0,69	0,28	0,65
CD284+/CD4+ (in %)	Baseline (n=20)	0,16	-0,11 - 1,68	0,78	1,91
	Postiktal (n=20)	0,15	0,01 - 2,13	1,07	2,27
	1h postiktal (n=20)	0,20	0,02 - 1,87	0,94	1,98
	24h postiktal (n=12)	0,16	-0,45 - 2,14	0,84	2,04
CD284+CD3+ (in %)	Baseline (n=20)	0,25	-0,24 - 3,14	1,45	3,61
	Postiktal (n=20)	0,23	0,04 - 3,81	1,92	4,03
	1h postiktal (n=20)	0,41	0,09 - 3,30	1,69	3,43
	24h postiktal (n=12)	0,23	-0,57 - 3,00	1,22	2,81
CD284+/CD56+ (in %)	Baseline (n=20)	0,02	0,003 - 0,10	0,05	0,11
	Postiktal (n=20)	0,02	0,01 - 0,12	0,06	0,11
	1h postiktal (n=20)	0,03	0,01 - 0,10	0,06	0,10
	24h postiktal (n=12)	0,02	0,01 - 0,11	0,06	0,08
CD54+/CD14+ (in %)	Baseline (n=20)	91,71	89,56 - 93,10	91,33	3,78
	Postiktal (n=20)	90,23	87,47 - 92,66	90,07	5,54
	1h postiktal (n=20)	92,48	89,84 - 93,49	91,66	3,90
	24h postiktal (n=12)	94,32	90,80 - 95,00	92,90	3,31

Abkürzungen: BE = Blutentnahme, KI = Konfidenzintervall, SD = Standardabweichung

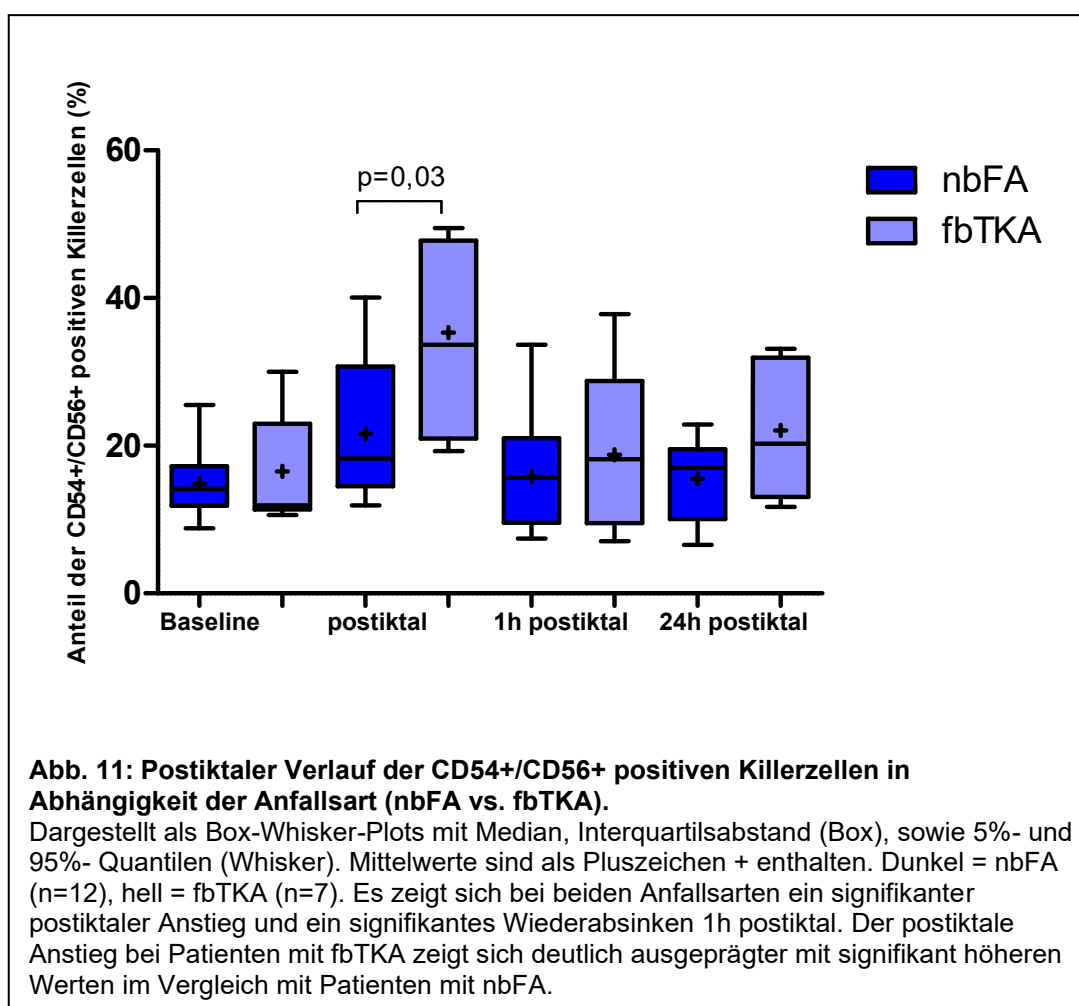
### 3.3 Subgruppenanalysen

Aufgrund der teilweise deutlichen Streuung der Ergebnisse und um mögliche Unterschiede und Einflüsse der verschiedenen Patientengruppen zu untersuchen, wurden hinsichtlich der Anfallsart, Anfallsätiologie und Ursprungsseite des Anfalls Subgruppenanalysen vorgenommen.

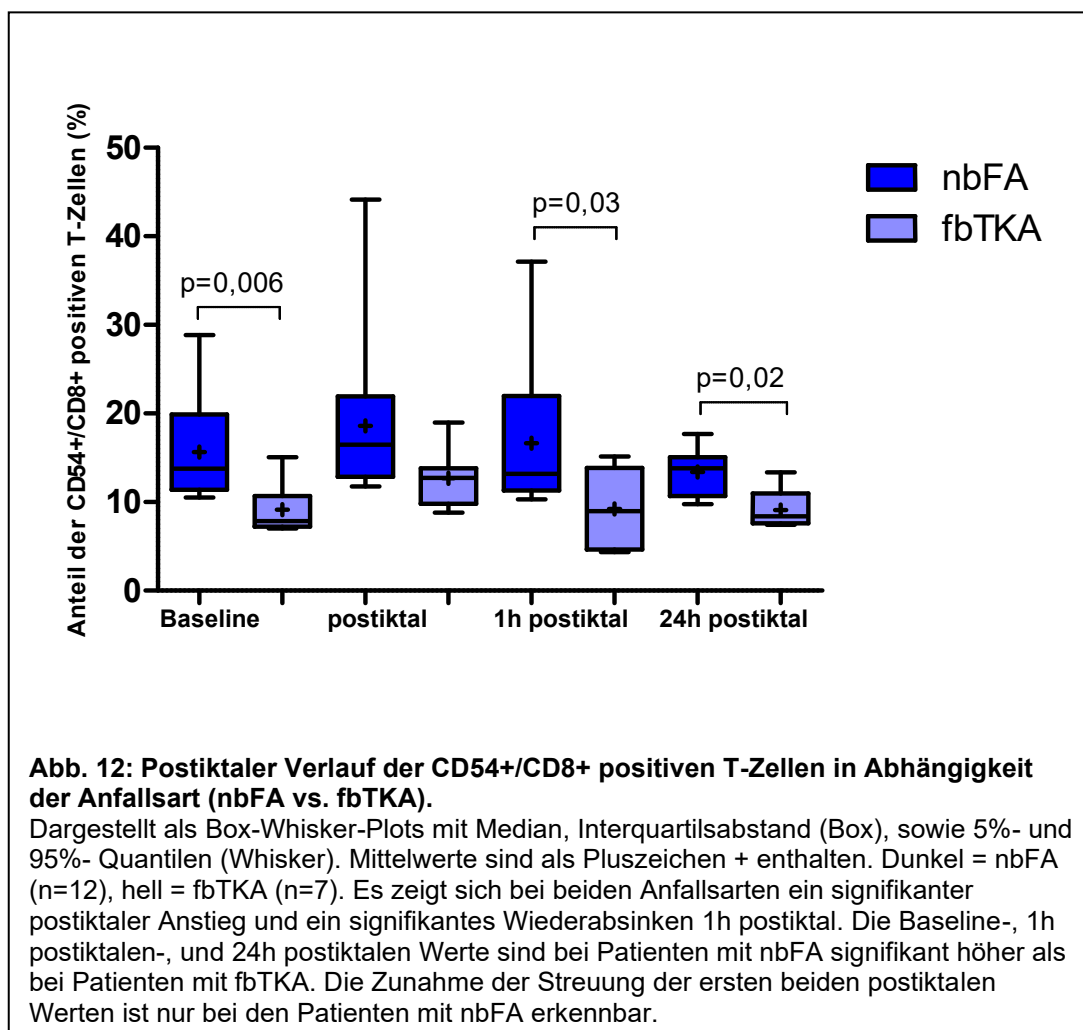
#### 3.3.1 Fokale Anfälle mit eingeschränktem Bewusstsein vs. fokal nach bilateral tonisch-klonische Anfälle

Es wurden 12 nbFA und 7 fbTKA ausgewertet. Der aufgezeichnete fokale Anfall mit erhaltenem Bewusstsein (Aura) wurde in diese Analyse nicht miteinbezogen.

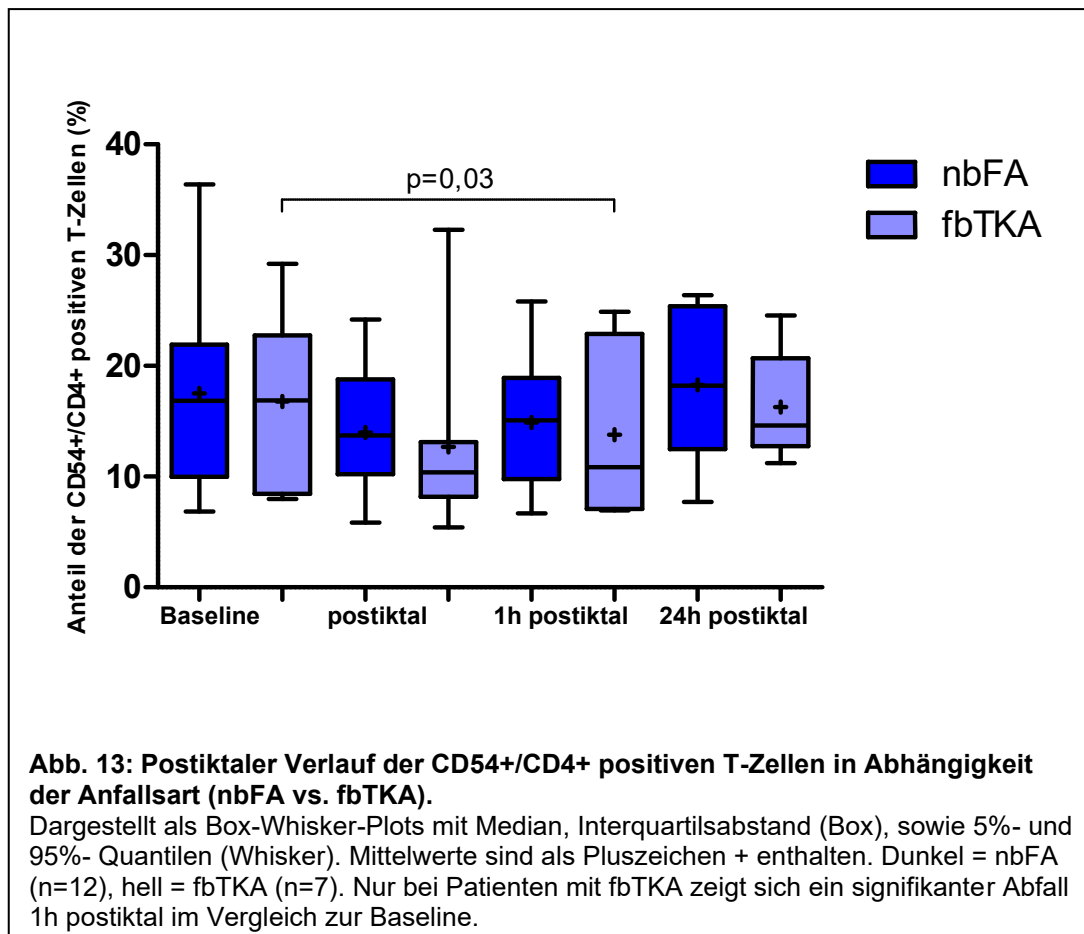
In beiden Gruppen zeigte sich, wie auch in der gesamten Patientengruppe, ein signifikanter postiktaler Anstieg der **CD54+/CD56+ positiven NK-Zellen** (Baseline vs. sofort postiktal fbTKA:  $16,50\% \pm 7,41\%$  vs.  $35,32\% \pm 13,00\%$ ,  $p= 0,03$ ; Baseline vs. sofort postiktal nbFA:  $14,90\% \pm 4,37\%$  vs.  $21,63\% \pm 9,58\%$ ,  $p= 0,005$ ), die nach einer Stunde wieder signifikant abfielen (sofort postiktal vs. 1 h postiktal fbTKA:  $35,32\% \pm 13,00\%$  vs.  $18,77\% \pm 11,15\%$ ,  $p= 0,02$ ; sofort postiktal vs. 1 h postiktal nbFA:  $21,63\% \pm 9,58\%$  vs.  $15,82\% \pm 7,57\%$ ,  $p= 0,01$ ). Bei Patienten mit fbTKA stiegen die Werte nach 24 Stunden wieder über Baseline-Niveau an, jedoch nicht statistisch signifikant (Baseline vs. 24 h postiktal fbTKA:  $16,50\% \pm 7,41\%$  vs.  $22,06\% \pm 9,58\%$ ,  $p= 0,44$ ). Die Werte der Patienten mit nbFA blieben nach 24 Stunden weiterhin erniedrigt (sofort postiktal vs. 24 h postiktal nbFA:  $21,63\% \pm 9,58\%$  vs.  $15,52\% \pm 5,76\%$ ,  $p= 0,56$ ). Der postiktale Anstieg war bei Patienten mit fbTKA signifikant höher als bei Patienten mit nbFA (postiktal fbTKA  $35,32\% \pm 13,00\%$  vs. postiktal nbFA  $21,63\% \pm 9,58\%$ ,  $p= 0,03$ ). Zwischen Baseline (fbTKA  $16,50\% \pm 7,41\%$  vs. nbFA  $14,90\% \pm 4,37\%$ ,  $p= 0,97$ ), 1 Stunde postiktalen (Baseline vs. 1 h postiktal fbTKA:  $16,50\% \pm 7,41\%$  vs.  $18,77\% \pm 11,15\%$ ,  $p= 0,47$ ; Baseline vs. 1 h postiktal nbFA:  $14,90\% \pm 4,37\%$  vs.  $15,82\% \pm 7,57\%$ ,  $p= 0,68$ ; 1 h postiktal fbTKA  $18,77\% \pm 11,15\%$  vs. 1 h postiktal nbFA  $15,82\% \pm 7,57\%$ ,  $p= 0,79$ ) und 24 Stunden postiktalen Werten (Baseline vs. 24 h postiktal fbTKA:  $16,50\% \pm 7,41\%$  vs.  $22,06\% \pm 9,58\%$ ,  $p= 0,44$ ; Baseline vs. 24 h postiktal nbFA:  $14,90\% \pm 4,37\%$  vs.  $15,52\% \pm 5,76\%$ ,  $p= 0,69$ ; 24 h postiktal fbTKA  $22,06\% \pm 9,58\%$  vs. 24 h postiktal nbFA:  $15,52\% \pm 5,76\%$ ,  $p= 0,33$ ) gab es keine statistisch signifikanten Unterschiede.



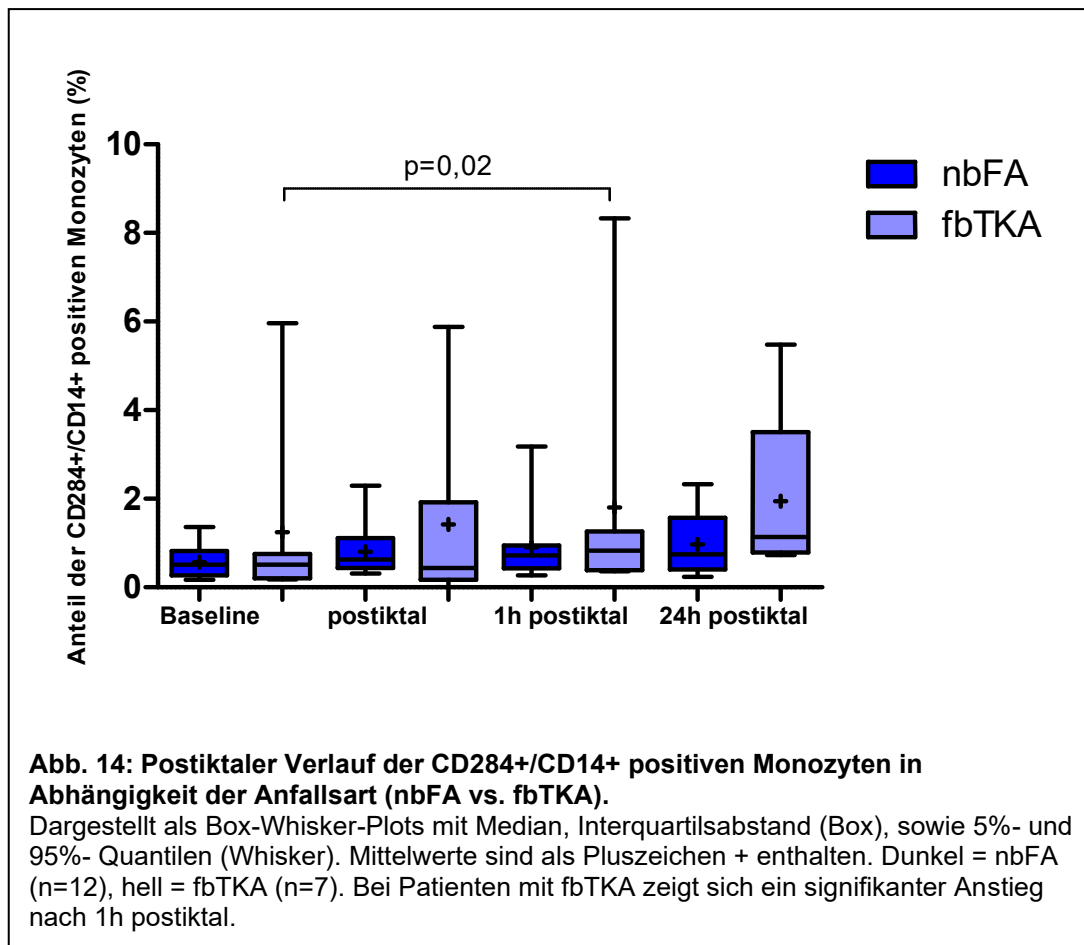
**CD54+/CD8+ positive T-Zellen** zeigten ebenfalls einen signifikanten postiktalen Anstieg in beiden Gruppen (sofort postiktal vs. Baseline fbTKA:  $12,67\% \pm 3,34\%$  vs.  $9,14\% \pm 2,92\%$ ,  $p=0,02$ ; sofort postiktal vs. Baseline nbFA:  $18,60\% \pm 9,04\%$  vs.  $15,66\% \pm 5,55\%$ ,  $p=0,02$ ) mit signifikant höheren Baseline- (Baseline fbTKA  $9,14\% \pm 2,92\%$  vs. Baseline nbFA  $15,66\% \pm 5,55\%$ ,  $p=0,006$ ), 1 Stunde (1 h postiktal fbTKA  $9,24\% \pm 4,12\%$  vs. 1 h postiktal nbFA  $16,65\% \pm 8,14\%$ ,  $p=0,03$ ) und 24 Stunden postiktalen (24 h postiktal fbTKA  $9,11\% \pm 2,41\%$  vs. 24 h postiktal nbFA  $13,38\% \pm 2,76\%$ ,  $p=0,02$ ) Werten bei Patienten mit nbFA. In beiden Gruppen sanken die **CD54+/CD8+ positiven T-Zellen** 1 Stunde postiktal wieder signifikant ab (sofort postiktal vs. 1 h postiktal fbTKA:  $12,67\% \pm 3,34\%$  vs.  $9,24\% \pm 4,12\%$ ,  $p=0,03$ ; sofort postiktal vs. 1 h postiktal nbFA:  $18,60 \pm 9,04\%$  vs.  $16,65\% \pm 8,14\%$ ,  $p=0,02$ ). 24 Stunden postiktal gab es keine signifikanten Veränderungen (Baseline vs. 24 h postiktal fbTKA:  $9,14\% \pm 2,92\%$  vs.  $9,11\% \pm 2,41\%$ ,  $p=0,13$ ; Baseline vs. 24 h postiktal nbFA:  $15,66\% \pm 5,55\%$  vs.  $13,38\% \pm 2,76\%$ ,  $p=0,84$ ).



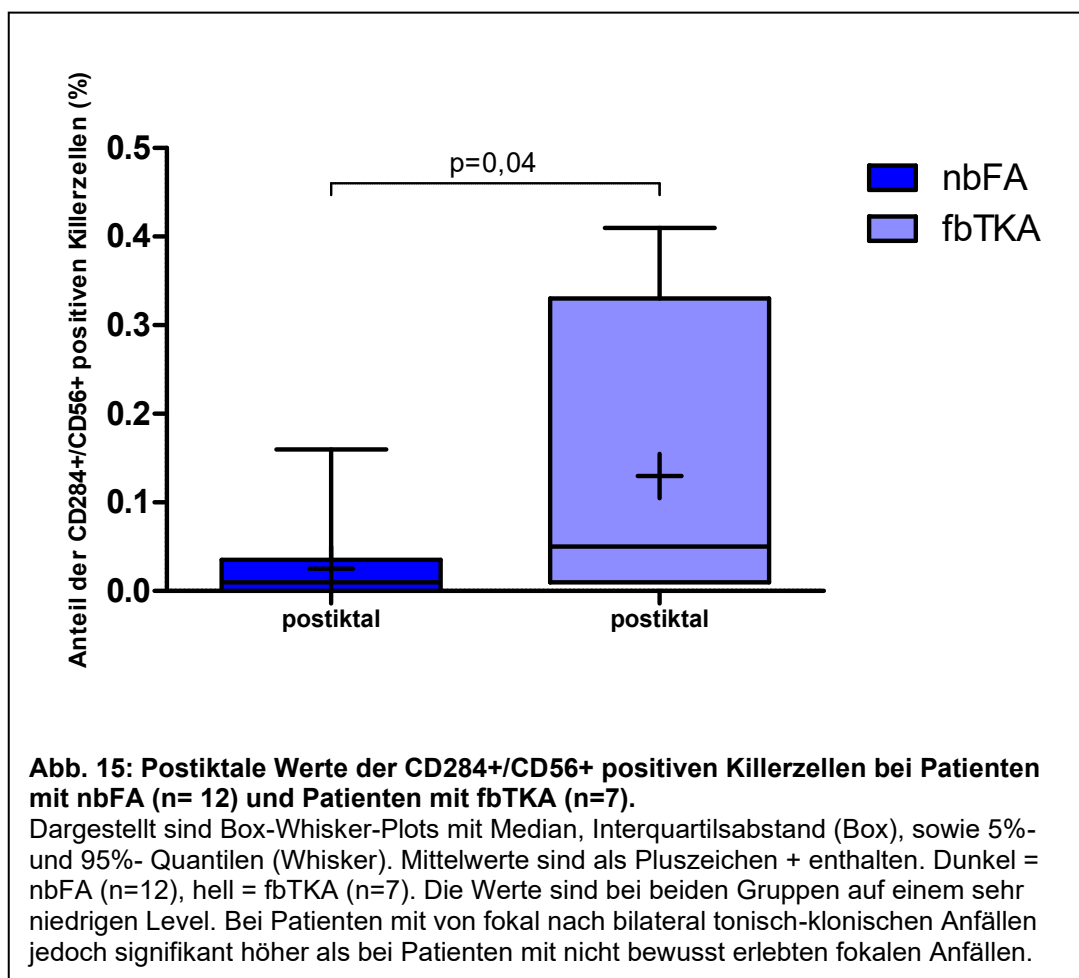
Bei den **CD54+/CD4+ positiven T-Zellen** fielen, außer signifikant gesunkenen Werten eine Stunde postiktal im Vergleich zu Baseline (1 h postiktal vs. Baseline nbFA:  $13,80\% \pm 7,34\%$  vs.  $16,77\% \pm 7,57\%$ ,  $p=0,03$ ) bei Patienten mit nbFA, keine weiteren statistisch signifikanten Unterschiede auf. Die Werte stiegen nach 24 Stunden wieder auf Baseline Niveau an (24 h postiktal vs. Baseline nbFA:  $16,29\% \pm 5,03\%$  vs.  $16,77\% \pm 7,57\%$ ,  $p=0,63$ ). Patienten mit fbTKA präsentierten den gleichen Verlauf, jedoch ohne statistisch signifikante Unterschiede.



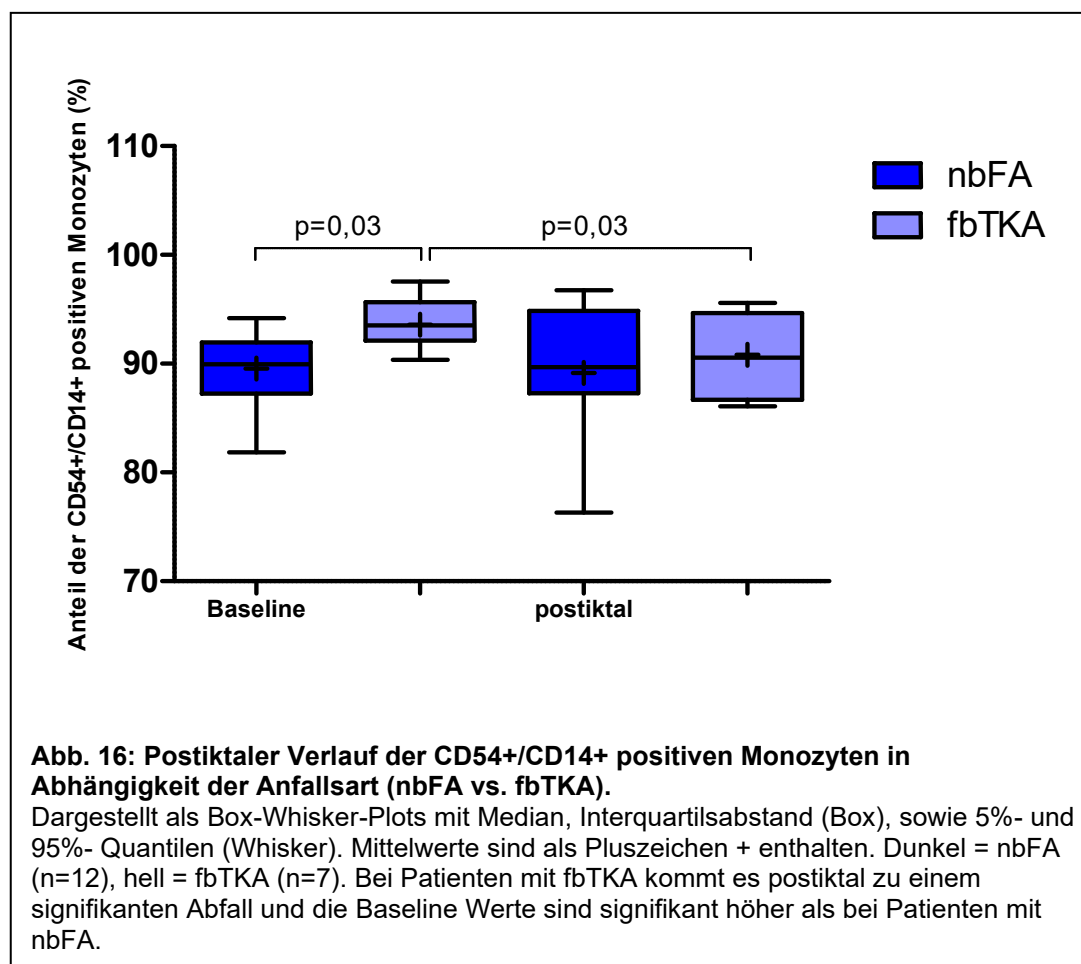
Nur bei Patienten mit fbTKA stiegen die **CD284+/CD14+ positiven Monozyten** statistisch signifikant eine Stunde postiktal an im Vergleich zu Baseline Werten (1 h postiktal vs. Baseline fbTKA:  $1,80\% \pm 2,90\%$  vs.  $1,24\% \pm 2,09\%$ ,  $p = 0,02$ ). 24 Stunden postiktal waren die Werte noch höher. Ausgehend vom p-Wert ist dieser Unterschied jedoch nicht statistisch signifikant. Zur Bedeutung des p-Wertes siehe Abschnitt 4.2. Patienten mit nbFA zeigten den gleichen Verlauf, ohne statistisch signifikante Veränderungen.



Im Verlauf der **CD284+/CD56+ positiven NK-Zellen** waren die sofort postiktalen Werte bei Patienten mit fbTKA signifikant höher als bei Patienten mit nbFA (sofort postiktal fbTKA  $0,13\% \pm 0,17\%$  vs. sofort postiktal nbFA  $0,03\% \pm 0,05\%$ ,  $p=0,04$ ).



In der Population der **CD54+/CD14+ positiven Monozyten** zeigte sich in der Gruppe der fbTKA ein signifikanter Abfall von Baseline auf postiktale Werte (sofort postiktal vs. Baseline fbTKA  $90,81\% \pm 3,76\%$  vs.  $93,57\% \pm 2,40\%$ ,  $p=0,03$ ), außerdem waren die Baseline Werte bei diesen Patienten signifikant höher als bei Patienten mit nbFA (Baseline fbTKA  $93,57\% \pm 2,40\%$  vs. Baseline nbFA  $89,56\% \pm 3,47\%$ ,  $p=0,03$ ).



Einzelheiten können den Tabellen 3 und 4 entnommen werden.

**Tabelle 3: Veränderungen der einzelnen Zellpopulationen bei Patienten mit fokalen Anfällen mit eingeschränktem Bewusstsein**

Fokale Anfälle mit eingeschränktem Bewusstsein					
Parameter	Zeitpunkt BE	Median	95% KI	Mittelwert	SD
CD54+/CD56+ (in %)	Baseline (n=12)	14,19	12,12- 17,67	14,90	4,37
	Postiktal (n=12)	18,28	15,55- 27,72	21,63	9,58
	1h postiktal (n=12)	15,66	11,01 - 20,63	15,82	7,57
	24h postiktal (n=6)	17,02	9,48 - 21,56	15,52	5,76
CD54+/CD8+ (in %)	Baseline (n=12)	13,76	12,13 - 19,19	15,66	5,55
	Postiktal (n=12)	16,47	12,85 - 24,34	18,60	9,04
	1h postiktal (n=12)	13,19	11,47 - 21,82	16,65	8,14
	24h postiktal (n=6)	13,82	10,48 - 16,28	13,38	2,76
CD54+/CD4+ (in %)	Baseline (n=12)	16,86	12,25 - 22,80	17,53	8,30
	Postiktal (n=12)	13,73	10,55 - 17,44	14,00	5,42
	1h postiktal (n=12)	15,09	11,27 - 18,49	14,88	5,69
	24h postiktal (n=6)	18,22	10,52 - 26,03	18,27	7,39
CD54+/CD3+ (in %)	Baseline (n=12)	29,92	26,05 - 37,25	31,65	8,81
	Postiktal (n=12)	28,75	25,81 - 33,35	29,58	5,93
	1h postiktal (n=12)	29,48	23,74 - 33,88	28,81	7,98
	24h postiktal (n=6)	30,89	22,22 - 38,39	30,31	7,71
CD284+/CD14+ (in%)	Baseline (n=12)	0,52	0,35 - 0,79	0,57	0,35
	Postiktal (n=12)	0,63	0,45 - 1,16	0,81	0,56
	1h postiktal (n=12)	0,72	0,41 - 1,40	0,90	0,78
	24h postiktal (n=6)	0,75	0,17 - 1,78	0,97	0,77
CD284+/CD8+ (in %)	Baseline (n=12)	0,07	-0,15 - 0,70	0,28	0,67
	Postiktal (n=12)	0,11	-0,19 - 1,27	0,54	1,14
	1h postiktal (n=12)	0,12	-0,25 - 1,41	0,58	1,31
	24h postiktal (n=6)	0,06	-0,07 - 0,32	0,13	0,19
CD284+/CD4+ (in %)	Baseline (n=12)	0,19	-0,30 - 1,49	0,60	1,41
	Postiktal (n=12)	0,14	-0,03 - 1,18	0,58	0,95
	1h postiktal (n=12)	0,24	0,05 - 0,98	0,52	0,73
	24h postiktal (n=6)	0,13	-0,24 - 0,94	0,35	0,56
CD284+CD3+ (in %)	Baseline (n=12)	0,35	-0,34 - 2,51	1,09	2,24
	Postiktal (n=12)	0,47	-0,01 - 2,28	1,13	1,81
	1h postiktal (n=12)	0,47	-0,12 - 2,36	1,12	1,95
	24h postiktal (n=6)	0,24	-0,26 - 1,43	0,58	0,81
CD284+/CD56+ (in %)	Baseline (n=12)	0,02	0,01 - 0,03	0,02	0,02
	Postiktal (n=12)	0,01	0,00 - 0,05	0,03	0,05
	1h postiktal (n=12)	0,02	0,01 - 0,05	0,03	0,03
	24h postiktal (n=6)	0,01	0,00 - 0,03	0,02	0,01
CD54+/CD14+ (in %)	Baseline (n=12)	89,94	87,36 - 91,76	89,56	3,47
	Postiktal (n=12)	89,69	85,08 - 93,21	89,15	6,40
	1h postiktal (n=12)	92,35	88,32 - 92,56	90,44	3,34
	24h postiktal (n=6)	93,73	88,91 - 96,00	92,46	3,38

Abkürzungen: BE = Blutentnahme, KI = Konfidenzintervall, SD = Standardabweichung

**Tabelle 4: Veränderungen der einzelnen Zellpopulationen bei Patienten mit von fokal nach bilateral tonisch-klonischen Anfällen**

Von fokal nach bilateral tonisch-klonische Anfälle					
Parameter	Zeitpunkt BE	Median	95% KI	Mittelwert	SD
CD54/CD56 (in %)	Baseline (n=7)	11,93	9,66 - 23,35	16,50	7,41
	Postiktal (n=7)	33,68	23,30 - 47,34	35,32	13,00
	1h postiktal (n=7)	18,19	8,46 - 29,08	18,77	11,15
	24h postiktal (n=5)	20,27	10,17 - 33,95	22,06	9,58
CD54/CD8 (in %)	Baseline (n=7)	7,87	6,44 - 11,84	9,14	2,92
	Postiktal (n=7)	12,71	9,58 - 15,75	12,67	3,34
	1h postiktal (n=7)	8,97	5,43 - 13,05	9,24	4,12
	24h postiktal (n=5)	8,40	6,11 - 12,10	9,11	2,41
CD54/CD4 (in %)	Baseline (n=7)	16,90	9,77 - 23,78	16,77	7,57
	Postiktal (n=7)	10,39	4,40 - 20,98	12,69	8,96
	1h postiktal (n=7)	10,86	7,01 - 20,58	13,80	7,34
	24h postiktal (n=5)	14,61	10,05 - 22,53	16,29	5,03
CD54/CD3 (in %)	Baseline (n=7)	23,86	17,46 - 33,47	25,47	8,65
	Postiktal (n=7)	22,51	16,50 - 34,39	25,44	9,67
	1h postiktal (n=7)	20,86	17,99 - 28,43	23,21	5,64
	24h postiktal (n=5)	23,81	17,72 - 33,86	25,79	6,50
CD284/CD14 (in %)	Baseline (n=7)	0,51	-0,69 - 3,18	1,24	2,09
	Postiktal (n=7)	0,44	-0,50 - 3,33	1,41	2,07
	1h postiktal (n=7)	0,83	-0,88 - 4,48	1,80	2,90
	24h postiktal (n=5)	1,14	-0,54 - 4,43	1,95	2,00
CD284/CD8 (in %)	Baseline (n=7)	0,07	-0,64 - 1,71	0,53	1,27
	Postiktal (n=7)	0,06	-0,61 - 2,39	0,89	1,62
	1h postiktal (n=7)	0,05	-0,36 - 1,44	0,54	0,97
	24h postiktal (n=5)	0,07	-0,74 - 1,76	0,51	1,01
CD284/CD4 (in %)	Baseline (n=7)	0,14	-1,36 - 3,75	1,19	2,76
	Postiktal (n=7)	0,15	-1,28 - 5,38	2,05	3,60
	1h postiktal (n=7)	0,11	-1,22 - 4,71	1,74	3,21
	24h postiktal (n=5)	0,16	-2,34 - 5,49	1,57	3,15
CD284/CD3 (in %)	Baseline (n=7)	0,15	-2,85 - 7,38	2,26	5,53
	Postiktal (n=7)	0,21	-2,37 - 9,42	3,52	6,37
	1h postiktal (n=7)	0,14	-2,26 - 7,62	2,68	5,34
	24h postiktal (n=5)	0,24	-3,19 - 7,57	2,19	4,33
CD284/CD56 (in %)	Baseline (n=7)	0,04	-0,04 - 0,27	0,12	0,17
	Postiktal (n=7)	0,05	-0,02 - 0,28	0,13	0,17
	1h postiktal (n=7)	0,05	-0,03 - 0,25	0,11	0,15
	24h postiktal (n=5)	0,06	-0,03 - 0,24	0,11	0,11
CD54/CD14 (in %)	Baseline (n=7)	93,52	91,35 - 95,79	93,57	2,40
	Postiktal (n=7)	90,55	87,33 - 94,29	90,81	3,76
	1h postiktal (n=7)	94,47	89,17 - 97,36	93,27	4,43
	24h postiktal (n=5)	94,21	88,29 - 97,62	92,96	3,76

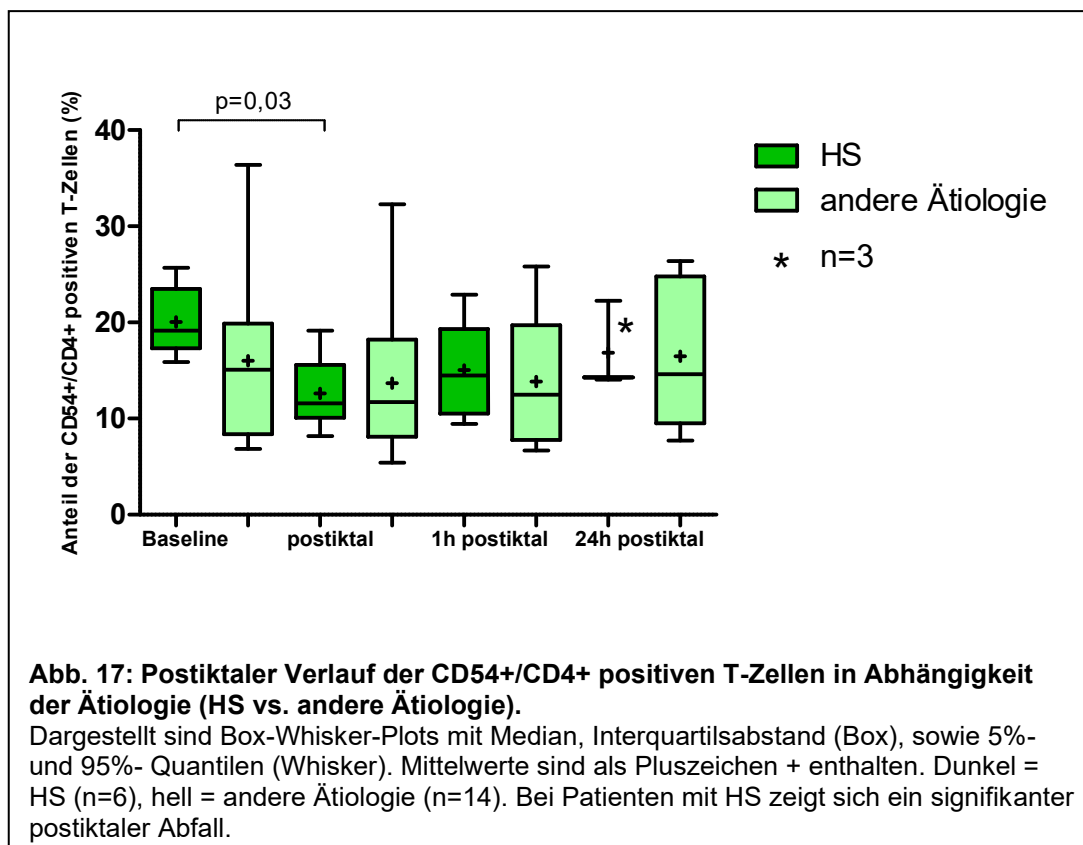
Abkürzungen: BE = Blutentnahme, KI = Konfidenzintervall, SD = Standardabweichung

### 3.3.2 Hippocampussklerose vs. andere Ätiologie

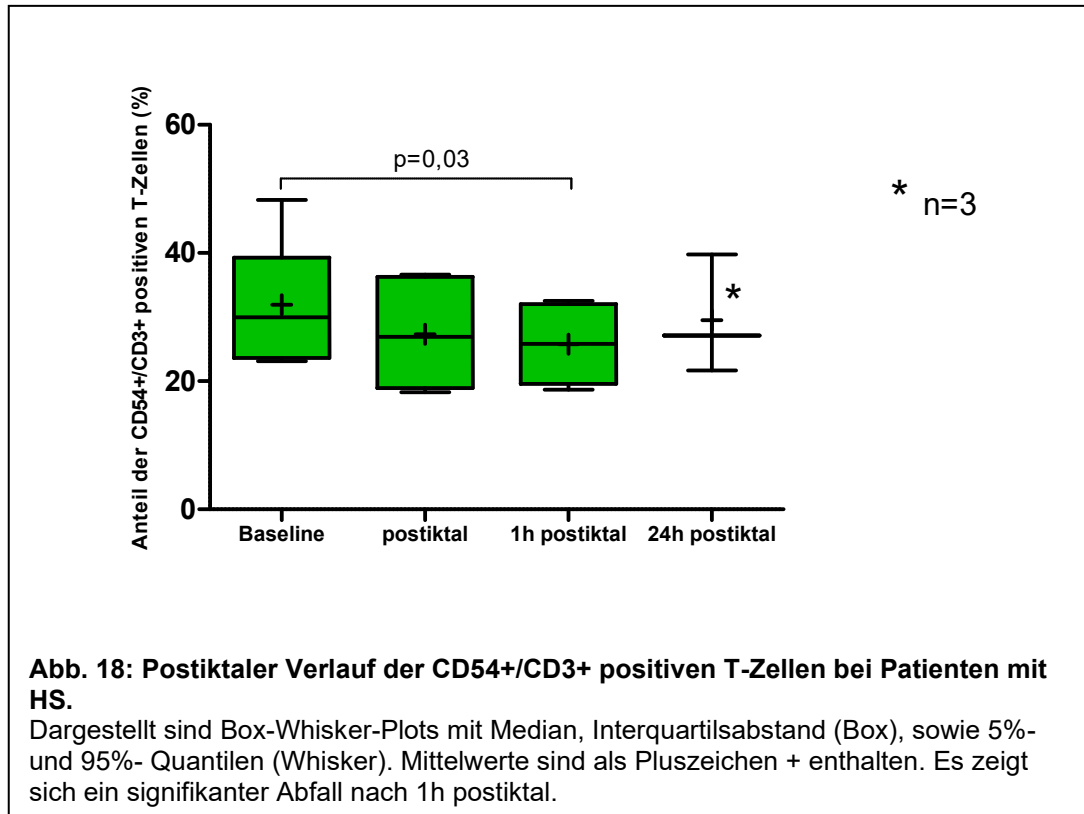
Unter den Patienten gibt es 6 mit einer HS und 14 mit anderer Ätiologie, darunter 1 Patient mit Cavernom, 1 Patientin mit Neurofibromatose, 2 Patienten mit weiteren strukturellen Auffälligkeiten und 2 Patientinnen (Mutter und Tochter) mit möglichem genetischen Hintergrund. Die anderen 8 werden als unbekannte Epilepsie klassifiziert, es konnte bildmorphologisch keine epileptogene Läsion dargestellt werden.

Bei Patienten mit HS fanden sich folgende statistisch signifikanten Veränderungen:

**CD54+/CD4+ positive T-Zellen** zeigten den gleichen Verlauf wie in der Gesamtgruppe, sie sanken direkt postiktal signifikant ab (sofort postiktal vs. Baseline:  $12,60\% \pm 3,80\%$  vs.  $20,07\% \pm 3,65\%$ ,  $p= 0,03$ ), jedoch nicht signifikant bei Patienten ohne HS (sofort postiktal vs. Baseline:  $13,69\% \pm 7,57\%$  vs.  $16,02\% \pm 8,63\%$ ,  $p= 0,13$ ).



Außerdem gab es auch bei den **CD54+/CD3+ positiven T-Zellen** einen signifikanten Abfall im Vergleich von Baseline und 1 Stunde postiktalen Werten (1 h postiktal vs. Baseline:  $25,77\% \pm 6,59\%$  vs.  $31,91\% \pm 10,12\%$ ,  $p= 0,03$ ). Nach 24 Stunden postiktal stiegen die Werte wieder an (1 h postiktal vs. 24 h postiktal:  $25,77\% \pm 6,59\%$  vs.  $29,51\% \pm 9,28\%$ ,  $p= 0,25$ ).

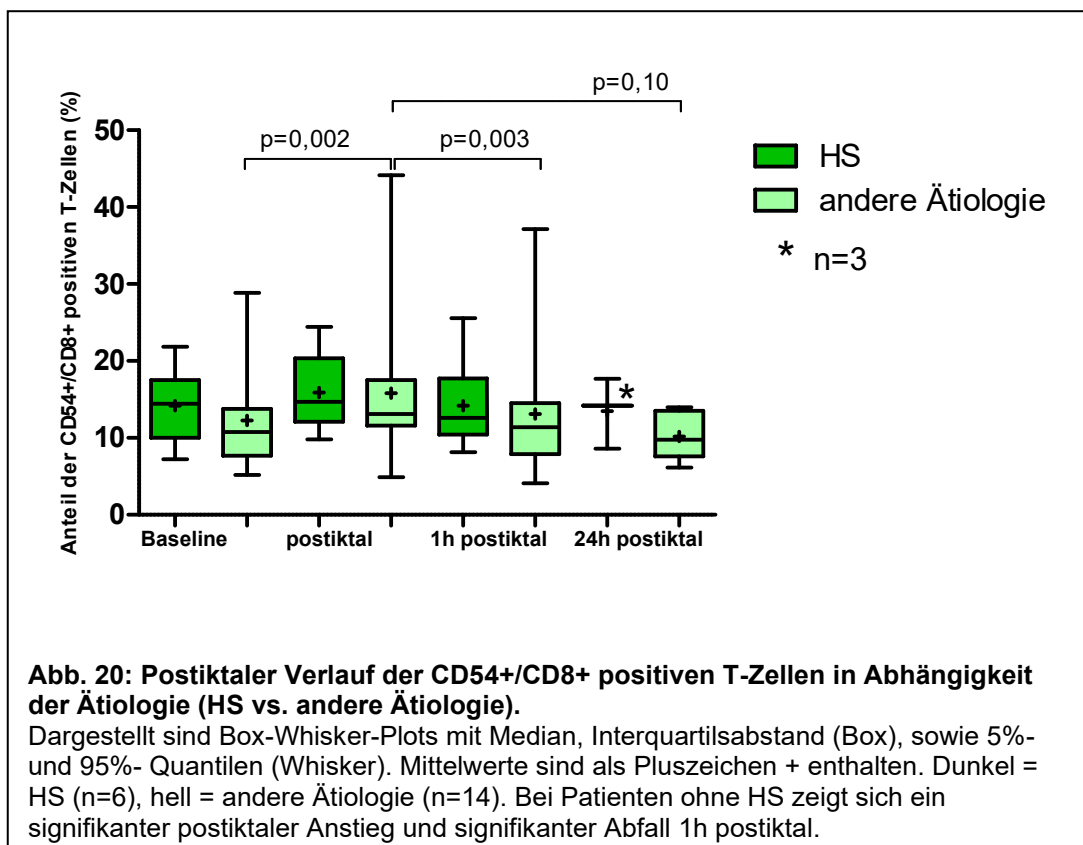
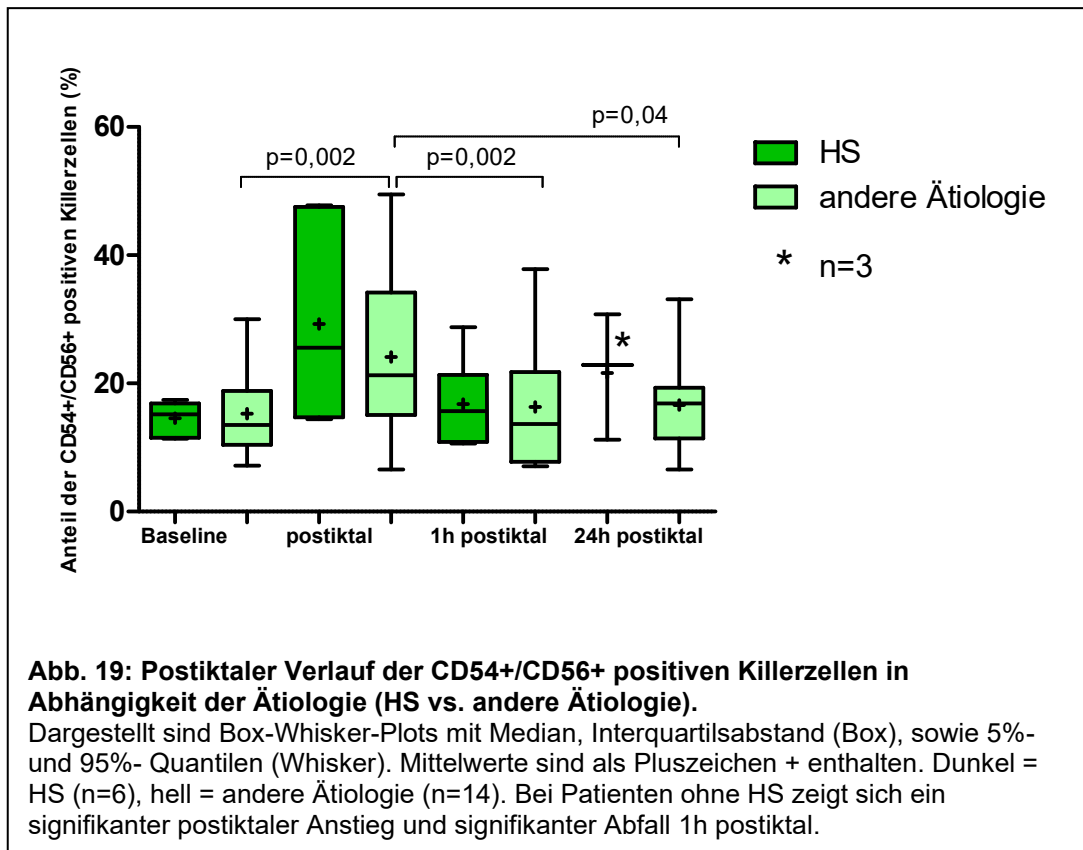


**Abb. 18: Postiktaler Verlauf der CD54+/CD3+ positiven T-Zellen bei Patienten mit HS.**

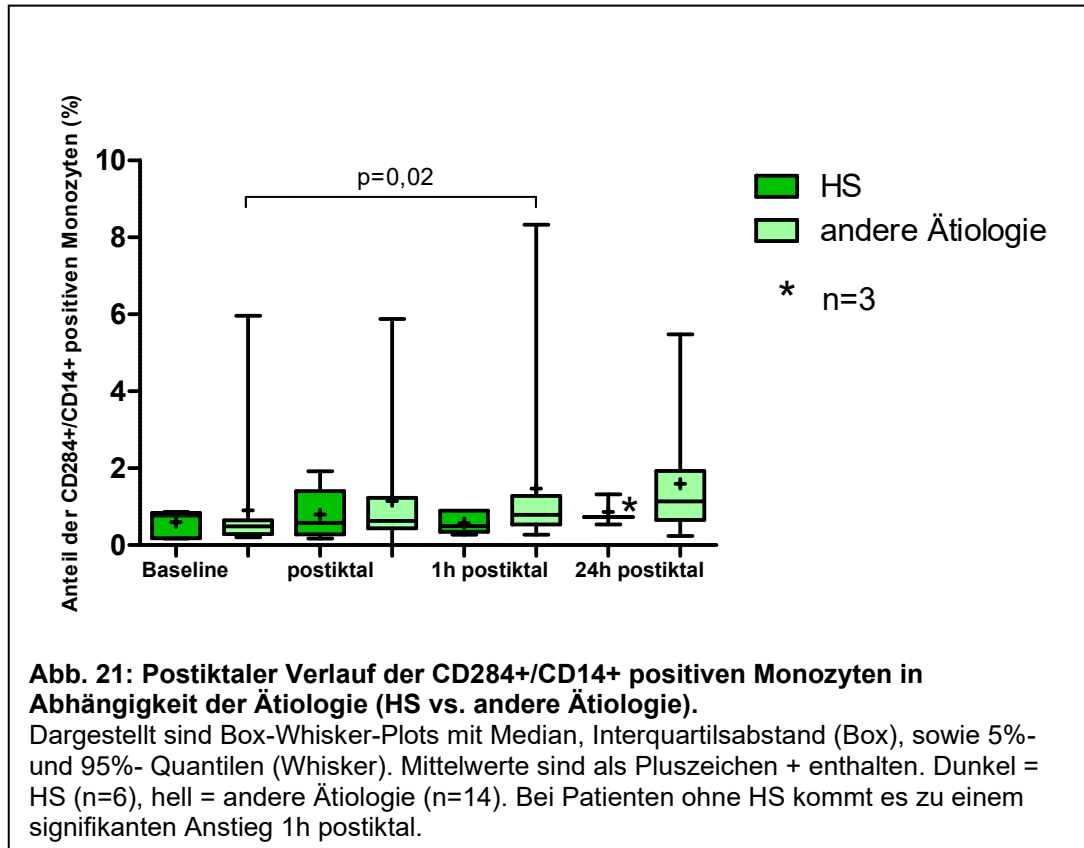
Dargestellt sind Box-Whisker-Plots mit Median, Interquartilsabstand (Box), sowie 5%- und 95%- Quantilen (Whisker). Mittelwerte sind als Pluszeichen + enthalten. Es zeigt sich ein signifikanter Abfall nach 1h postiktal.

Sonst zeigten sich in dieser Patientengruppe keine weiteren Auffälligkeiten. Der Verlauf der **CD54+/CD56+ positiven NK-Zellen** war vergleichbar mit der Gesamtgruppe, auch wenn gemäß p-Wert keine statistisch signifikanten Veränderungen gemessen werden konnten (sofort postiktal vs. Baseline: 29,28% ± 15,82% vs. 14,56% ± 2,71%, p= 0,09).

Patienten ohne HS präsentierten bezüglich der **CD54+/CD56+ positiven NK-Zellen** und der **CD54+/CD8+ positiven T-Zellen** den gleichen Verlauf wie in der Gesamtgruppe beschrieben, zunächst einen signifikanten postiktalen Anstieg (sofort postiktal vs. Baseline CD54+/CD56+:  $24,12\% \pm 12,00\%$  vs.  $15,29\% \pm 6,67\%$ ,  $p= 0,002$ ; sofort postiktal vs. Baseline CD54+/CD8+:  $15,81\% \pm 9,25\%$  vs.  $12,29\% \pm 6,22$ ,  $p= 0,002$ ) und darauf einen signifikanten Abfall 1 Stunde postiktal (sofort postiktal vs. 1 h postiktal CD54+/CD56+:  $24,12\% \pm 12,00\%$  vs.  $16,32\% \pm 9,89\%$ ,  $p= 0,002$ ; sofort postiktal vs. 1 h postiktal CD54+/CD8+:  $15,81\% \pm 9,25\%$  vs.  $13,10\% \pm 8,68\%$ ,  $p= 0,003$ ). 24 Stunden postiktal blieben die Werte beider Zellpopulationen weiterhin erniedrigt im Vergleich zu sofort postiktal (sofort postiktal vs. 24 h postiktal CD54+/CD56+:  $24,12\% \pm 12,00\%$  vs.  $16,63\% \pm 7,50\%$ ,  $p= 0,04$ ; sofort postiktal vs. 24 h postiktal CD54+/CD8+:  $15,81\% \pm 9,25\%$  vs.  $10,17\% \pm 2,96\%$ ,  $p= 0,10$ ).



Zudem stiegen die **CD284+/CD14+ positiven Monozyten** 1 Stunde postiktal im Vergleich zu Baseline Werten signifikant an (1 h postiktal vs. Baseline:  $1,47\% \pm 2,10\%$  vs.  $0,90\% \pm 1,49\%$ ,  $p=0,02$ ).



Details in Tabellen 5 und 6.

**Tabelle 5: Veränderungen der einzelnen Zellpopulationen bei Patienten mit Hippocampussklerose**

Hippocampussklerose					
Parameter	Zeitpunkt BE	Median	95% KI	Mittelwert	SD
CD54/CD56 (in %)	Baseline (n=6)	15,17	11,72 - 17,41	14,56	2,71
	Postiktal (n=6)	25,60	12,68 - 45,88	29,28	15,82
	1h postiktal (n=6)	15,66	9,76 - 23,76	16,76	6,67
	24h postiktal (n=3)	22,88	-2,83 - 46,07	21,62	9,84
CD54/CD8 (in %)	Baseline (n=6)	14,45	8,98 - 19,36	14,17	4,94
	Postiktal (n=6)	14,70	10,44 - 21,38	15,91	5,21
	1h postiktal (n=6)	12,60	7,89 - 20,51	14,20	6,01
	24h postiktal (n=3)	14,19	2,12 - 24,85	13,49	4,58
CD54/CD4 (in %)	Baseline (n=6)	19,16	16,24 - 23,89	20,07	3,65
	Postiktal (n=6)	11,58	8,61 - 16,59	12,60	3,80
	1h postiktal (n=6)	14,47	9,85 - 20,25	15,05	4,96
	24h postiktal (n=3)	14,24	5,24 - 28,48	16,86	4,68
CD54/CD3 (in %)	Baseline (n=6)	29,97	21,29 - 42,53	31,91	10,12
	Postiktal (n=6)	26,90	18,90 - 35,75	27,33	8,03
	1h postiktal (n=6)	25,84	18,86 - 32,68	25,77	6,59
	24h postiktal (n=3)	27,10	6,45 - 52,57	29,51	9,28
CD284/CD14 (in %)	Baseline (n=6)	0,78	0,25 - 0,94	0,60	0,33
	Postiktal (n=6)	0,58	0,10 - 1,50	0,80	0,67
	1h postiktal (n=6)	0,50	0,28 - 0,86	0,57	0,28
	24h postiktal (n=3)	0,73	-0,15 - 1,87	0,86	0,41
CD284/CD8 (in %)	Baseline (n=6)	0,07	0,04 - 0,10	0,07	0,03
	Postiktal (n=6)	0,05	-0,17 - 0,55	0,19	0,34
	1h postiktal (n=6)	0,05	-0,13 - 0,53	0,20	0,32
	24h postiktal (n=3)	0,05	0,05 - 0,05	0,05	0,00
CD284/CD4 (in %)	Baseline (n=6)	0,24	0,14 - 0,40	0,27	0,13
	Postiktal (n=6)	0,15	0,02 - 0,44	0,23	0,20
	1h postiktal (n=6)	0,21	0,08 - 0,42	0,25	0,16
	24h postiktal (n=3)	0,15	0,05 - 0,25	0,15	0,04
CD284/CD3 (in %)	Baseline (n=6)	0,39	0,05 - 0,97	0,51	0,44
	Postiktal (n=6)	0,22	-0,33 - 0,96	0,46	0,47
	1h postiktal (n=6)	0,29	0,03 - 0,01	0,42	0,37
	24h postiktal (n=3)	0,21	-0,24 - 0,91	0,33	0,23
CD284/CD56 (in %)	Baseline (n=6)	0,00	-0,01 - 0,03	0,01	0,02
	Postiktal (n=6)	0,01	-0,01 - 0,05	0,02	0,03
	1h postiktal (n=6)	0,02	-0,01 - 0,08	0,04	0,04
	24h postiktal (n=3)	0,01	-0,06 - 0,10	0,02	0,03
CD54/CD14 (in %)	Baseline (n=6)	91,29	85,47 - 94,72	90,10	4,41
	Postiktal (n=6)	90,81	88,09 - 94,20	91,14	2,91
	1h postiktal (n=6)	92,13	86,82 - 94,38	90,60	3,60
	24h postiktal (n=3)	91,96	85,31 - 98,38	91,85	2,63

Abkürzungen: BE = Blutentnahme, KI = Konfidenzintervall, SD = Standardabweichung

**Tabelle 6: Veränderungen der einzelnen Zellpopulationen bei Patienten ohne Hippocampussklerose**

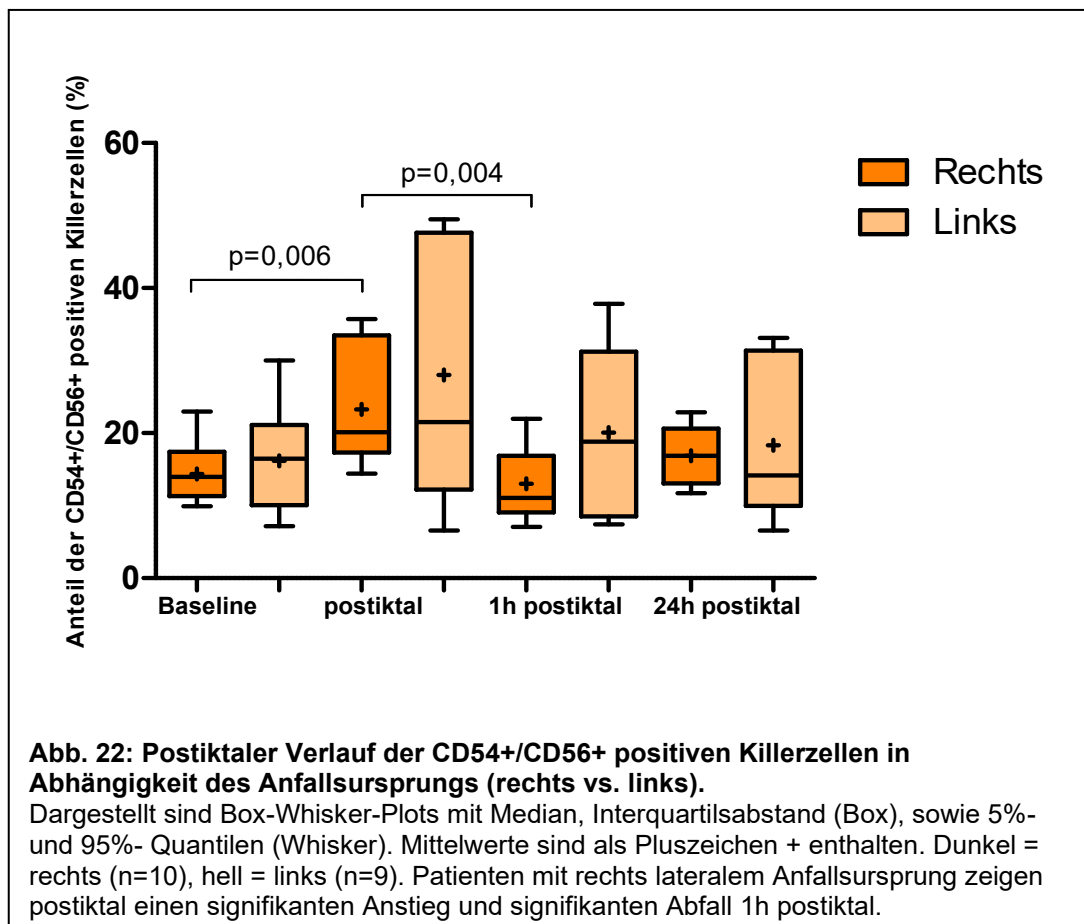
Andere Ätiologie					
Parameter	Zeitpunkt BE	Median	95% KI	Mittelwert	SD
CD54/CD56 (in %)	Baseline (n=14)	13,53	11,44 - 19,14	15,29	6,67
	Postiktal (n=14)	21,26	17,19 - 31,05	24,12	12,00
	1h postiktal (n=14)	13,66	10,61 - 22,02	16,32	9,89
	24h postiktal (n=9)	16,90	10,86 - 22,39	16,63	7,50
CD54/CD8 (in %)	Baseline (n=14)	10,77	8,70 - 15,88	12,29	6,22
	Postiktal (n=14)	13,12	10,46 - 21,15	15,81	9,25
	1h postiktal (n=14)	11,38	8,09 - 18,11	13,10	8,68
	24h postiktal (n=9)	9,79	7,89 - 12,44	10,17	2,96
CD54/CD4 (in %)	Baseline (n=14)	15,10	11,03 - 21,00	16,02	8,63
	Postiktal (n=14)	11,73	9,31 - 18,06	13,69	7,57
	1h postiktal (n=14)	12,47	9,99 - 17,72	13,86	6,69
	24h postiktal (n=9)	14,61	10,89 - 22,08	16,49	7,28
CD54/CD3 (in %)	Baseline (n=14)	26,96	22,82 - 32,66	27,74	8,52
	Postiktal (n=14)	27,55	22,59 - 32,14	27,37	8,27
	1h postiktal (n=14)	24,69	21,29 - 31,24	26,27	8,61
	24h postiktal (n=9)	27,45	19,72 - 32,46	26,09	8,29
CD284/CD14 (in %)	Baseline (n=14)	0,49	0,04 - 1,76	0,90	1,49
	Postiktal (n=14)	0,63	0,30 - 2,00	1,15	1,47
	1h postiktal (n=14)	0,79	0,26 - 2,68	1,47	2,10
	24h postiktal (n=9)	1,14	0,38 - 2,81	1,59	1,58
CD284/CD8 (in %)	Baseline (n=14)	0,05	-0,13 - 1,08	0,47	1,05
	Postiktal (n=14)	0,09	-0,04 - 1,68	0,82	1,49
	1h postiktal (n=14)	0,08	-0,09 - 1,46	0,68	1,34
	24h postiktal (n=9)	0,07	-0,22 - 0,93	0,35	0,75
CD284/CD4 (in %)	Baseline (n=14)	0,13	-0,31 - 2,31	1,00	2,27
	Postiktal (n=14)	0,15	-0,10 - 2,96	1,43	2,66
	1h postiktal (n=14)	0,19	-0,10 - 2,58	1,24	2,33
	24h postiktal (n=9)	0,16	-0,73 - 2,88	1,07	2,35
CD284/CD3 (in %)	Baseline (n=14)	0,20	-0,62 - 4,32	1,86	4,28
	Postiktal (n=14)	0,25	-0,17 - 5,27	2,55	4,71
	1h postiktal (n=14)	0,47	-0,08 - 4,56	2,24	4,01
	24h postiktal (n=9)	0,24	-0,97 - 3,99	1,51	3,23
CD284/CD56 (in %)	Baseline (n=14)	0,03	-0,00 - 0,14	0,07	0,12
	Postiktal (n=14)	0,03	0,01 - 0,16	0,08	0,13
	1h postiktal (n=14)	0,03	0,00 - 0,13	0,07	0,11
	24h postiktal (n=9)	0,02	0,00 - 0,14	0,07	0,09
CD54/CD14 (in %)	Baseline (n=14)	91,71	89,83 - 93,90	91,86	3,52
	Postiktal (n=14)	89,69	85,92 - 93,29	89,61	6,39
	1h postiktal (n=14)	92,81	89,78 - 94,46	92,12	4,06
	24h postiktal (n=9)	94,56	90,51 - 96,00	93,25	3,57

Abkürzungen: BE = Blutentnahme, KI = Konfidenzintervall, SD = Standardabweichung

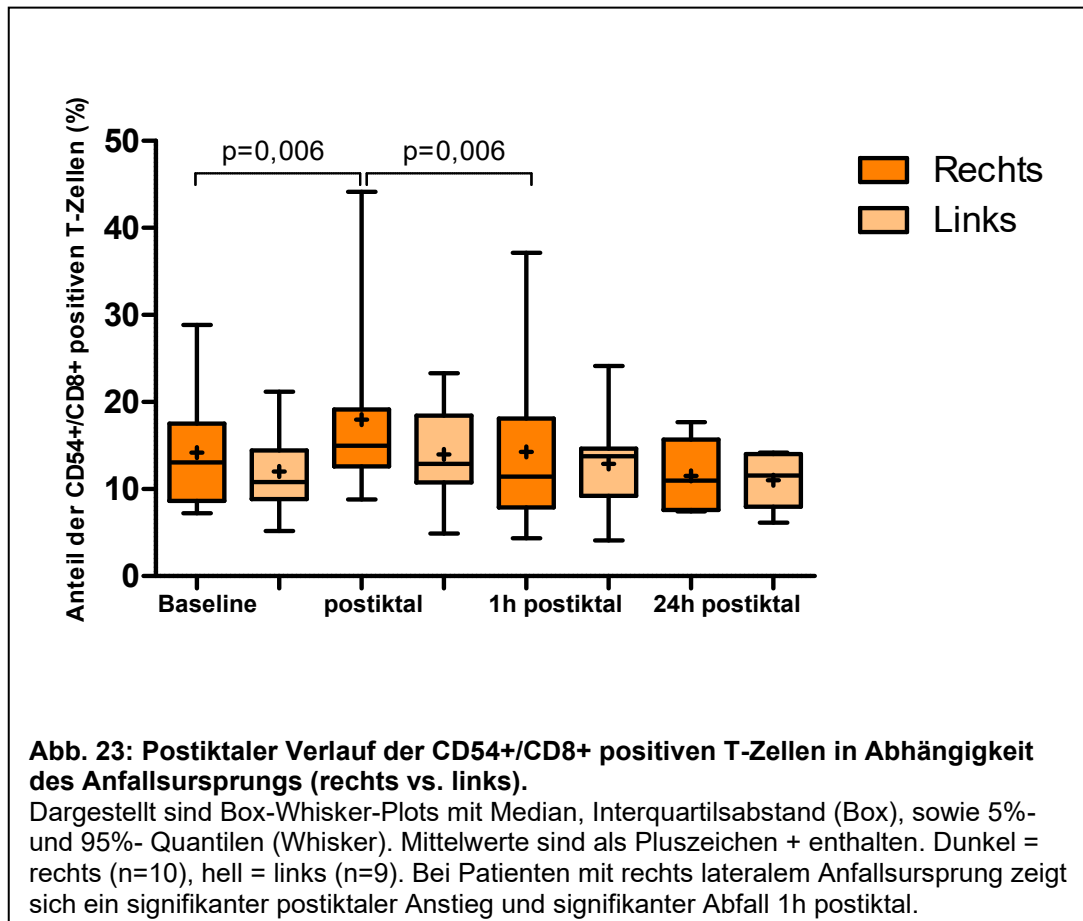
### 3.3.3 Anfallsursprung links temporal vs. rechts temporal

Der Anfallsursprung konnte bei 9 Patienten links temporal, bei 10 Patienten rechts temporal bestimmt werden. Bei einem Patienten blieb der Ursprung unklar.

Es fiel auf, dass Patienten mit rechts lateralem Anfallsursprung einen signifikanten postiktalen Anstieg der **CD54+/CD56+ positiven NK-Zellen** präsentierten (sofort postiktal vs. Baseline:  $23,26\% \pm 7,96\%$  vs.  $14,40\% \pm 3,97\%$ ,  $p=0,006$ ) um nach einer Stunde postiktal wieder signifikant abzufallen (sofort postiktal vs. 1 h postiktal:  $23,26\% \pm 7,96\%$  vs.  $13,00\% \pm 4,96\%$ ,  $p=0,004$ ).

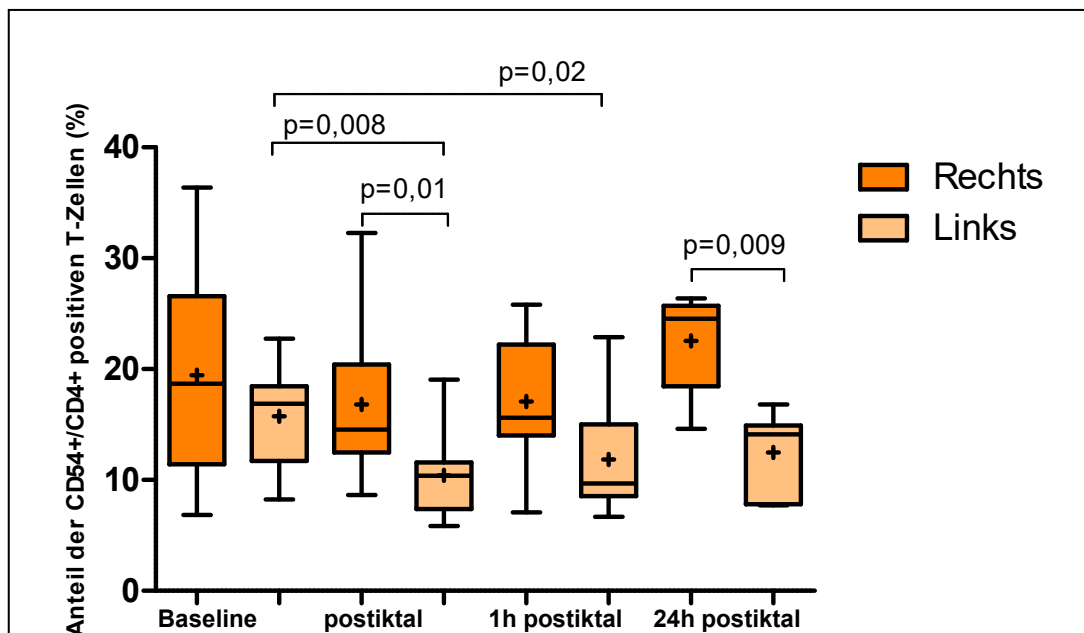


Der Verlauf der **CD54+/CD8+ positiven T-Zellen** zeigte das gleiche Schema (sofort postiktal vs. Baseline; 1 h postiktal: 17,99%  $\pm$  10,08% vs. 14,19%  $\pm$  6,73%,  $p=0,006$ ; 14,28%  $\pm$  10,00%,  $p=0,004$ ).



Patienten mit Anfallsursprung in der linken Hemisphäre zeigten hinsichtlich dieser Zellpopulationen keine statistisch signifikanten Veränderungen. Der Verlauf war jedoch gleichförmig. Dafür präsentierten sie einen signifikanten postiktalen Abfall der **CD54+/CD4+ positiven T-Zellen** (sofort postiktal vs. Baseline: 10,41%  $\pm$  3,86% vs. 15,76%  $\pm$  4,64%,  $p=0,008$ ) Dieser Effekt hielt auch noch eine Stunde postiktal an (1 h postiktal vs. Baseline: 11,84%  $\pm$  5,44% vs. 15,76%  $\pm$  4,64%,  $p=0,02$ ). Ein Anfallsursprung rechtshemisphärisch wiederum war nicht mit derartigen statistisch signifikanten Veränderungen vergesellschaftet. Die postiktalen (rechtshemisphärisch 16,82%  $\pm$  7,01% vs. linkshemisphärisch 10,41%  $\pm$  3,86%,  $p=0,01$ ) und 24 Stunden postiktalen Werte (rechtshemisphärisch 22,57%  $\pm$  4,69% vs. linkshemisphärisch 12,49%  $\pm$  3,78%,  $p=0,009$ ) waren jedoch signifikant höher als bei Patienten mit linkshemisphärischem Anfallsursprung. Auch die Baseline (rechtshemisphärisch 19,44%  $\pm$  9,35% vs. linkshemisphärisch 15,76%  $\pm$  4,64%,  $p=0,51$ ) und 1 Stunde

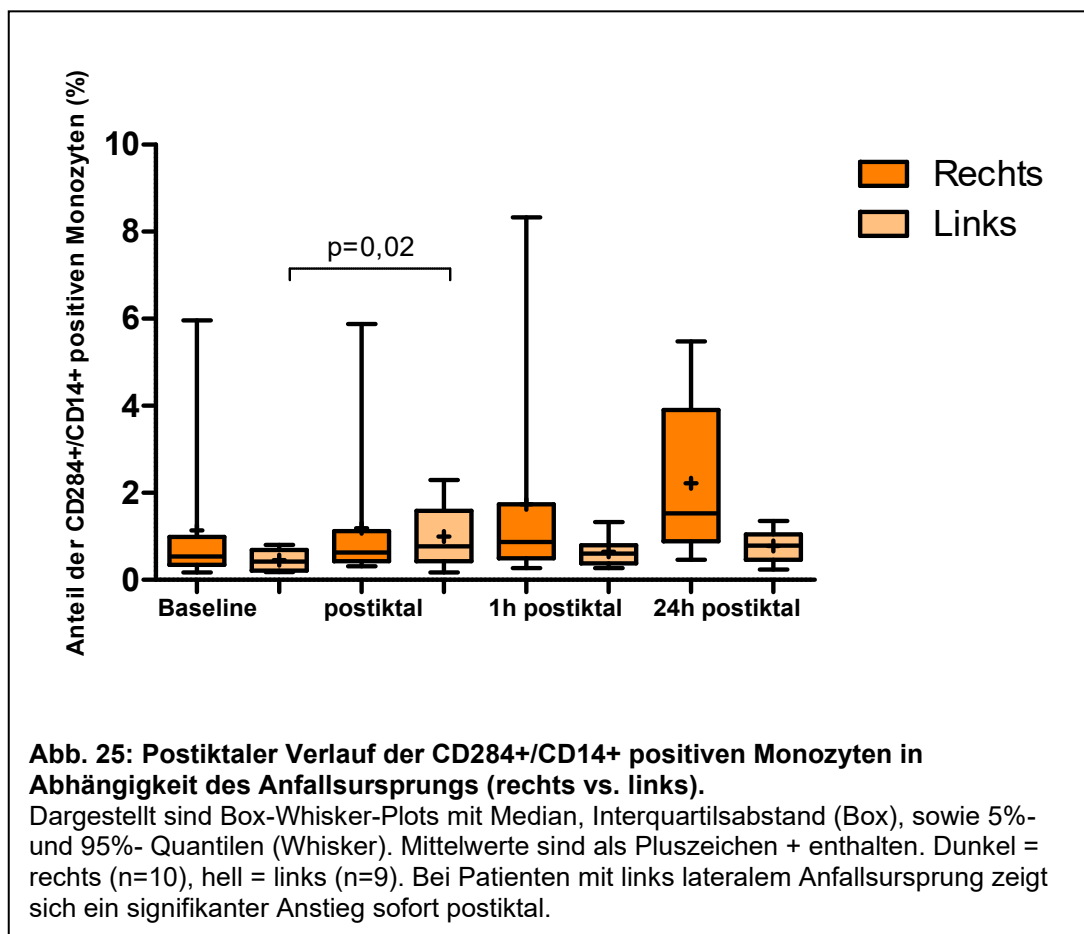
postiktalen Werte (rechtshemisphärisch  $17.07\% \pm 5,67\%$  vs. linkshemisphärisch  $11,84\% \pm 5,44\%$ ,  $p = 0,05$ ) waren auf einem höheren Niveau, jedoch nicht signifikant.



**Abb. 24: Postiktaler Verlauf der CD54+/CD4+ positiven T-Zellen in Abhängigkeit des Anfallsursprungs (rechts vs. links).**

Dargestellt sind Box-Whisker-Plots mit Median, Interquartilsabstand (Box), sowie 5%- und 95%-Quantilen (Whisker). Mittelwerte sind als Pluszeichen + enthalten. Dunkel = rechts (n=10), hell = links (n=9). Ein signifikanter Abfall zeigt sich nur bei Patienten mit links lateralem Anfallsursprung. Die sofort postiktalen und 24h postiktalen Werte der Patienten mit rechts lateralem Anfallsursprung sind jedoch signifikant höher als die betreffenden Werte der Patienten mit links lateralem Anfallsursprung.

**CD284+/CD14+ positive Monozyten** stiegen bei Patienten mit linkem Anfallsursprung postiktal signifikant an (sofort postiktal vs. Baseline:  $1,00\% \pm 0,74\%$  vs.  $0,46\% \pm 0,25\%$ ,  $p=0,02$ ). In der Gesamtgruppenanalyse war dieser Effekt erst 1 Stunde postiktal zu sehen. Bei Patienten mit Anfallsursprung rechts stiegen die Werte minimal an, jedoch nicht signifikant, weder postiktal (sofort postiktal vs. Baseline:  $1,19\% \pm 1,67\%$  vs.  $1,14\% \pm 1,73\%$ ,  $p=0,68$ ) noch 1 Stunde postiktal (1 h postiktal vs. Baseline:  $1,74\% \pm 2,46\%$  vs.  $1,14\% \pm 1,73\%$ ,  $p=0,14$ ). 24 Stunden postiktal war ein deutlicher Anstieg zu sehen, allerdings nicht statistisch signifikant (24 h postiktal vs. Baseline:  $2,22\% \pm 1,94\%$  vs.  $1,14\% \pm 1,73\%$ ,  $p=0,31$ ).



Bezüglich der übrigen Zellpopulationen gab es keine auffälligen Verläufe.

Details in Tabellen 7 und 8.

**Tabelle 7: Veränderungen der einzelnen Zellpopulationen bei Patienten mit Anfallsursprung links lateral**

Anfallsursprung links					
Parameter	Zeitpunkt BE	Median	95% KI	Mittelwert	SD
CD54/CD56 (in %)	Baseline (n=9)	16,47	10,40 - 21,93	16,17	7,50
	Postiktal (n=9)	21,54	14,30 - 41,74	28,02	17,85
	1h postiktal (n=9)	18,84	11,35 - 28,81	20,08	11,36
	24h postiktal (n= 6)	14,17	6,67 - 29,97	18,32	11,10
CD54/CD8 (in %)	Baseline (n=9)	10,83	8,43 - 15,62	12,02	4,67
	Postiktal (n=9)	12,90	9,80 - 18,13	13,96	5,42
	1h postiktal (n=9)	13,77	8,69 - 17,13	12,91	5,49
	24h postiktal (n=6)	11,57	7,52 - 14,49	11,01	3,32
CD54/CD4 (in %)	Baseline (n=9)	16,90	12,19 - 19,32	15,76	4,64
	Postiktal (n=9)	10,39	7,44 - 13,37	10,41	3,86
	1h postiktal (n=9)	9,68	7,66 - 16,03	11,84	5,44
	24h postiktal (n=6)	14,12	8,52 - 16,45	12,49	3,78
CD54/CD3 (in %)	Baseline (=9)	23,86	22,61 - 30,39	26,50	5,06
	Postiktal (n=9)	24,93	19,99 - 28,08	24,03	5,27
	1h postiktal (n=9)	22,26	19,11 - 29,51	24,31	6,76
	24h postiktal (n=6)	24,39	15,92 - 28,88	22,40	6,17
CD284/CD14 (in %)	Baseline (n=9)	0,42	0,27 - 0,65	0,46	0,25
	Postiktal (n=9)	0,77	0,43 - 1,56	1,00	0,74
	1h postiktal (n=9)	0,60	0,39 - 0,89	0,64	0,32
	24h postiktal (n=6)	0,79	0,38 - 1,17	0,78	0,38
CD284/CD8 (in %)	Baseline (n=9)	0,07	-0,25 - 0,94	0,34	0,77
	Postiktal (n=9)	0,08	-0,04 - 0,38	0,17	0,27
	1h postiktal (=9)	0,11	0,03 - 0,30	0,17	0,18
	24h postiktal (n=6)	0,06	-0,07 - 0,32	0,13	0,19
CD284/CD4 (in %)	Baseline (n=9)	0,22	-0,49 - 1,99	0,75	1,61
	Postiktal (n=9)	0,16	-0,05 - 0,86	0,40	0,59
	1h postiktal (n=9)	0,23	-0,03 - 0,82	0,39	0,55
	24h postiktal (n=6)	0,17	-0,19 - 0,96	0,39	0,55
CD284/CD3 (in %)	Baseline (n=9)	0,25	-0,76 - 3,22	1,23	2,59
	Postiktal (n=9)	0,27	0,02 - 1,32	0,67	0,85
	1h postiktal (n=9)	0,43	0,10 - 1,32	0,71	0,79
	24h postiktal (n=6)	0,25	-0,28 - 1,40	0,56	0,80
CD284/CD56 (in %)	Baseline (n=9)	0,00	-0,00 - 0,03	0,01	0,02
	Postiktal (n=9)	0,02	0,00 - 0,08	0,04	0,05
	1h postiktal (n=9)	0,01	0,01 - 0,05	0,03	0,03
	24h postiktal (n=6)	0,01	-0,01 - 0,06	0,03	0,03
CD54/CD14 (in %)	Baseline (n=9)	92,18	89,18 - 94,32	91,75	3,34
	Postiktal (n=9)	89,30	82,87 - 93,88	88,37	7,17
	1h postiktal (n=9)	92,71	88,95 - 93,99	91,47	3,28
	24h postiktal (n=6)	94,49	91,16 - 96,36	93,76	2,47

Abkürzungen: BE = Blutentnahme, KI = Konfidenzintervall, SD = Standardabweichung

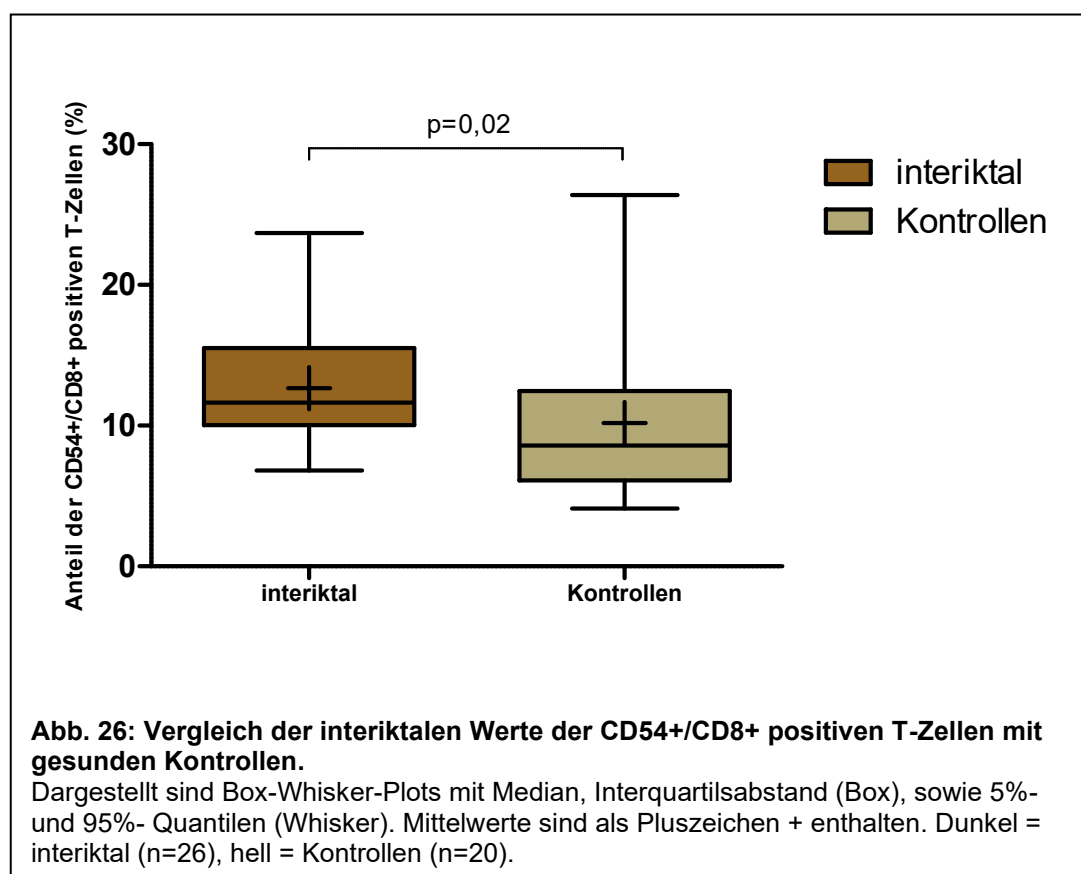
**Tabelle 8: Veränderungen der einzelnen Zellpopulationen bei Patienten mit Anfallsursprung rechts lateral**

Anfallsursprung rechts					
Parameter	Zeitpunkt BE	Median	95% KI	Mittelwert	SD
CD54/CD56 (in %)	Baseline (n=10)	13,98	11,56 - 17,24	14,40	3,97
	Postiktal (n=10)	20,13	17,57 - 28,96	23,26	7,96
	1h postiktal (n=10)	11,06	9,46 - 16,55	13,00	4,96
	24h postiktal (n=5)	16,90	11,63 - 22,10	16,87	4,22
CD54/CD8 (in %)	Baseline (n=10)	13,06	9,37 - 19,00	14,19	6,73
	Postiktal (n=10)	14,97	10,78 - 25,20	17,99	10,08
	1h postiktal (n=10)	11,44	7,13 - 21,44	14,28	10,00
	24h postiktal (n=5)	10,98	6,18 - 16,83	11,50	4,29
CD54/CD4 (in %)	Baseline (n=10)	18,69	12,75 - 26,13	19,44	9,35
	Postiktal (n=10)	14,54	11,80 - 21,83	16,82	7,01
	1h postiktal (n=10)	15,63	13,02 - 21,13	17,07	5,67
	24h postiktal (n=5)	24,54	16,74 - 28,39	22,57	4,69
CD54/CD3 (in %)	Baseline (n=10)	33,62	24,96 - 39,99	32,47	10,50
	Postiktal (n=10)	32,48	25,57 - 37,30	31,43	8,20
	1h postiktal (n=10)	29,90	22,47 - 34,69	28,58	8,54
	24h postiktal (n=5)	35,13	26,42 - 41,27	33,84	5,98
CD284/CD14 (in %)	Baseline (n=10)	0,54	-0,10 - 2,37	1,14	1,73
	Postiktal (n=10)	0,63	-0,01 - 2,38	1,19	1,67
	1h postiktal (n=10)	0,87	-0,02 - 3,50	1,74	2,46
	24h postiktal (n=5)	1,53	-0,18 - 4,63	2,22	1,94
CD284/CD8 (in %)	Baseline (n=10)	0,05	-0,36 - 1,16	0,40	1,06
	Postiktal (n=10)	0,11	-0,11 - 2,33	1,11	1,70
	1h postiktal (n=10)	0,04	-0,18 - 2,03	0,92	1,55
	24h postiktal (n=5)	0,05	-0,76 - 1,76	0,50	1,01
CD284/CD4 (in%)	Baseline (n=10)	0,15	-0,76 - 2,54	0,89	2,31
	Postiktal (n=10)	0,13	-0,43 - 3,97	1,77	3,08
	1h postiktal (n=10)	0,25	-0,40 - 3,45	1,52	2,69
	24h postiktal (n=5)	0,11	-2,42 - 5,47	1,53	3,18
CD284/CD3 (in %)	Baseline (n=10)	0,24	-1,49 - 5,08	1,80	4,59
	Postiktal (n=10)	0,22	-0,68 - 7,13	3,23	5,46
	1h postiktal (n=10)	0,40	-0,60 - 6,08	2,74	4,67
	24h postiktal (n=5)	0,21	-3,18 - 7,58	2,20	4,33
CD284/CD56 (in %)	Baseline (n=10)	0,03	-0,02 - 0,19	0,08	0,15
	Postiktal (n=10)	0,01	-0,03 - 0,19	0,08	0,15
	1h postiktal (n=10)	0,03	-0,01 - 0,18	0,09	0,13
	24h postiktal (n=5)	0,02	-0,05 - 0,17	0,06	0,09
CD54/CD14 (in %)	Baseline (n=10)	90,58	87,70 - 94,06	90,88	4,45
	Postiktal (n=10)	90,49	88,66 - 93,93	91,29	3,67
	1h postiktal (n=10)	92,48	88,86 - 95,44	92,15	4,59
	24h postiktal (n=5)	94,21	87,57 - 97,82	92,70	4,13

Abkürzungen: BE = Blutentnahme, KI = Konfidenzintervall, SD = Standardabweichung

### 3.4 Interiktale Patienten vs. Kontrollen

Im Vergleich von 20 gesunden Kontrollen mit den interiktalen Patienten fiel auf, dass bei den Patienten die **CD54+/CD8+ positiven T-Zellen** signifikant höher waren. Bei den übrigen Zellpopulationen fanden sich keine signifikanten Unterschiede.



Details in Tabelle 9.

Werte sind als Median mit 95% Konfidenzintervall angegeben.

**Tabelle 9: Interiktale Patienten vs. Kontrollen**

Parameter	Interiktale Patienten (n=26)	Kontrollen (n=20)	p-Wert
CD54+/CD56+ (in %)	15,38 (14,69 – 20,21)	13,38 (10,75 – 16,78)	0,15
CD54+/CD8+ (in %)	11,65 (10,91 – 14,40)	8,60 (7,51 – 12,88)	<b>0,02</b>
CD54+/CD4+ (in %)	17,34 (15,48 – 20,18)	16,46 (14,45 – 20,96)	0,80
CD54+/CD3+ (in %)	26,78 (26,85 – 34,07)	29,49 (26,70 – 36,83)	0,76
CD284+/CD14+ (in %)	0,45 (0,27 – 1,18)	0,50 (0,45 – 1,19)	0,27
CD284+/CD8+ (in %)	0,05 (-0,03 – 0,61)	0,03 (0,02 – 0,05)	0,17
CD284+/CD4+ (in %)	0,13 (0,06 – 1,45)	0,18 (0,14 – 0,81)	0,33
CD284+/CD3+ (in%)	0,24 (0,05 – 2,63)	0,26 (0,25 – 0,99)	0,51
CD284+/CD56+ (in %)	0,03 (0,02 – 0,12)	0,01 (0,01 – 0,02)	0,07
CD54+/CD14+ (in %)	93,59 (91,84 – 94,61)	95,15 (92,83 – 95,41)	0,39

## 4 Diskussion

Für die vorliegende Arbeit wurden insgesamt 35 Patienten mit bekannter fokaler Epilepsie eingeschlossen, um interiktale und postiktale Veränderungen von Leukozytenadhäsionsfaktoren und TLRs im Blut zu untersuchen.

### 4.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

#### Postiktaler Verlauf

##### *ICAM positive Zellen*

Bei den postiktalen Patienten zeigte sich in der Gesamtpatientengruppe ein unmittelbar postiktaler signifikanter Anstieg der CD54+/CD56+ positiven Zellen (ICAM-1 positive Killerzellen), sowie der CD54+/CD8+ positiven Zellen (ICAM-1 positive zytotoxische T-Zellen), welcher nach einer Stunde postiktal wieder signifikant rückläufig war. Der postiktale Anstieg war jeweils statistisch signifikant bei Patienten ohne HS und bei Patienten mit rechtslateralem Anfallsursprung. Patienten mit fbTKA präsentierten einen deutlicheren Anstieg der CD54+/CD56+ positiven Zellen als Patienten mit nbFA. Die Werte der CD54+/CD8+ positiven Zellen wiederum waren bei Patienten mit nbFA zu allen Zeitpunkten signifikant höher als bei Patienten mit fbTKA.

Die CD54+/CD4+ positiven Zellen (ICAM-1 positive T-Helferzellen) zeigten einen signifikanten postiktalen Abfall. Dies trat jedoch nur bei Patienten mit bilateralen Anfällen, mit HS und linkslateralem Anfallsursprung auf.

ICAM-1 exprimierende Monozyten (CD54+/CD14+) präsentierten in der Gesamtpatientengruppe keinen auffälligen Verlauf. Bei Patienten mit fbTKA zeigte sich jedoch ein signifikanter Abfall direkt postiktal. Die Baseline-Werte dieser Patienten waren signifikant höher als bei Patienten mit nbFA.

##### *TLR-4 positive Zellen*

Hier ließ sich in der Gesamtpatientengruppe nur bei den CD284+/CD14+ positiven Monozyten ein auffälliger Verlauf nachweisen. Diese Zellen stiegen nach 1 Stunde postiktal signifikant an, nach 24 Stunden noch ausgeprägter. Dieser Effekt trat deutlicher bei Patienten mit fbTKA und bei Patienten ohne HS auf. Bei Patienten mit linkslateralem Anfallsursprung war der Anstieg bereits unmittelbar postiktal zu sehen und war danach wieder leicht rückläufig. Bei Patienten mit rechtshemisphärischer Epilepsie sah man einen Anstieg erst nach 24 Stunden postiktal.

#### Interiktale Veränderungen

Interiktal zeigte sich eine signifikant höhere Anzahl der ICAM-1 tragenden zytotoxischen T-Zellen (CD54+/CD8+) im Vergleich zu gesunden Kontrollen.

### Vergleich mit anderen Studien

Der postiktale Anstieg von NK-Zellen und zytotoxischen T-Zellen wird in einigen Vorarbeiten zu diesem Thema bestätigt (Bauer et al., 2008; Marchi, Johnson, et al., 2011). Auch neuere Arbeiten kommen zu ähnlichen Ergebnissen (Lang et al., 2021).

Ebenso können wir einen Abfall der CD4+ positiven T-Helferzellen, wie er bereits bei Bauer et al. beschrieben wird, bestätigen (Bauer et al., 2008).

Allerdings sind unsere Ergebnisse bezüglich der HS gegensätzlich im Vergleich mit Vorstudien. In der vorliegenden Arbeit zeigten Patienten mit HS keinen statistisch signifikanten postiktalen Anstieg der zytotoxischen Zellen, bei Bauer et al. zeigten nur die Patienten mit HS diesen Verlauf. In unsere Studie wurden jedoch nur 6 Patienten mit HS eingeschlossen, Bauer et al. hatten 14 Patienten. In einer anderen Studie konnten Bauer et al. postiktal erhöhte Level von IL-6 nachweisen, welches für die T-Zell Reifung und Regulation wichtig ist (Rose-John, 2018). Die erhöhten IL-6 Level konnten jedoch nicht bei Patienten mit HS nachgewiesen werden. Wobei auch eine neuroprotektive Funktion von IL-6 diskutiert wird (Bauer et al., 2009). Nowak et al. zeigten eine interiktal erhöhte Anzahl CD4+ positiver T-Zellen bei Patienten mit HS im Vergleich mit anderen Ätiologien und eine erhöhte Anzahl an Monozyten sowie eine erhöhte IL-6 Konzentration im Vergleich mit der Kontrollgruppe (Nowak et al., 2011).

Erhöhte postiktale Serum Level von ICAM-1 konnten auch Cudna et al. zeigen (Cudna et al., 2023). In einer anderen Studie konnten interiktal erhöhte Level von löslichem ICAM-1 (sICAM-1) im Serum von Patienten mit Epilepsie nachgewiesen werden. Dabei zeigten Patienten mit pharmakoresistenter Epilepsie deutlich höhere Spiegel als neu diagnostizierte oder anfallsfreie Patienten. In dieser Studie waren die Patienten zum Zeitpunkt der Blutentnahme 24 Stunden anfallsfrei (Luo et al., 2014).

Erhöhte Level an TLR-4 wurden bei Patienten mit Epilepsie gefunden (Kamas et al., 2020), auch hier mit signifikant höheren Werten bei Patienten mit schwerwiegenderem Krankheitsverlauf. In der vorliegenden Arbeit zeigten sich interiktal zwar keine Auffälligkeiten bezüglich der TLR-4 tragenden Zellen im Vergleich mit gesunden Kontrollen. Im postiktalen Verlauf konnte jedoch ein signifikanter Anstieg der CD284+/CD14+ positiven Monozyten nachgewiesen werden.

## **4.2 Limitationen**

Zum jetzigen Zeitpunkt ist die vorliegende Arbeit die erste Studie die den Verlauf von der interiktalen Phase am Aufnahmetag bis 24 Stunden postiktal von ICAM-1 und TLR-4 im peripheren Blut bei Patienten mit Epilepsie darstellt. Die unmittelbar präiktale Phase wurde allerdings nicht in den Verlauf miteinbezogen. In der interiktalen Gruppe basierte das Kriterium „interiktal“ zum Zeitpunkt der Blutentnahme vorrangig auf anamnestischen

Angaben der Patienten und konnte nicht validiert werden. Der Abstand zwischen der Baseline- und der ersten postiktalen Blutentnahme variiert unter den Patienten. Die postiktale Blutentnahme sollte unmittelbar nach einem Anfall erfolgen. In Abhängigkeit vom Patientenzustand, konnte es jedoch dazu kommen, dass die Blutentnahme erst einige Minuten postiktal durchgeführt werden konnte.

Die Patientengruppe, insbesondere der Patienten mit Anfällen im Verlauf des stationären Aufenthaltes, war eher klein und sehr heterogen was Alter, Ätiologie und Epilepsie-Syndrom betrifft. Die Subgruppen hatten jeweils unterschiedliche Größen und die Aussagekraft der Analyse ist auch aufgrund der niedrigen Patientenzahl stark limitiert.

Die Patienten erhielten verschiedene anfallssupprimierende Medikamente, meist in Kombinationstherapie. Diese Medikamente haben mögliche Einflüsse auf immunologische Parameter (Beghi & Shorvon, 2011; Verrotti et al., 2001). Die möglichen Medikamenteneinflüsse sind in dieser Arbeit nicht untersucht.

Es wurden außerdem nur Patienten mit fokalen Epilepsien eingeschlossen. Dies lag in der Häufigkeit dieser Epilepsien in der Video-Monitoring Einheit begründet. Hier befinden sich zum Großteil Patienten vor einem epilepsiechirurgischen Eingriff.

Die in die Studie eingeschlossenen Patienten haben eine eindeutige Epilepsiediagnose und regelmäßige Anfälle. Durch die in dieser Studie definierten Ausschlusskriterien konnten die Einflüsse anderer Faktoren auf das Immunsystem reduziert werden.

Bei der Analyse der CD56+ positiven Zellen hat keine weitere Differenzierung zwischen CD3+ positiven und CD3- negativen Zellen stattgefunden. Diese Population beinhaltet also sowohl NK-Zellen als auch NKT-Zellen. Ebenso wenig wurden die nicht-klassischen CD14- negativen Monozyten miteinbezogen.

Die vorliegende Arbeit konzentriert sich auf die Veränderungen im peripheren Blut. Um den Verlauf der Iktogenese besser zu verstehen und um immunologische Veränderungen im ZNS zu untersuchen, ist auch die zeitgleiche Bestimmung der Parameter im Liquor cerebrospinalis interessant. In der Vergangenheit wurden unterschiedliche Konzentrationen von Zytokinen und sICAM-1 im Liquor cerebrospinalis und Serum gemessen (Luo et al., 2014; Peltola et al., 1998). Daher scheint ein Rückschluss von Werten aus dem peripheren Blut auf Verhältnisse im Liquor cerebrospinalis nicht sicher möglich zu sein. Aus medizinethischen Gründen ist dies jedoch schwierig durchzuführen. Bei Patienten mit medizinischer Indikation zur Liquorgewinnung, können mögliche Einflüsse der Grunderkrankung bzw. der Indikation auf das Immunsystem nicht ausgeschlossen werden.

In vielen wissenschaftlichen Studien, so auch in dieser, dient der p-Wert dazu anzugeben, ob es einen statistisch signifikanten Unterschied zwischen zwei Gruppen gibt. Oft wird dieser Wert jedoch fehlinterpretiert und mit tatsächlicher bzw. biologischer

und klinischer Relevanz gleichgesetzt. Der p-Wert trifft eine Aussage darüber in welchem Maße die Daten der sogenannten Nullhypothese widersprechen. Die Nullhypothese geht davon aus, dass es keinen Effekt bzw. keinen Unterschied zwischen den Daten gibt. Je kleiner der p-Wert, umso größer ist der Widerspruch mit der Nullhypothese. Das heißt jedoch nicht, dass kleine p-Werte einen größeren und wichtigeren Effekt postulieren und große p-Werte das Gegenteil. Der p-Wert ist zudem stark abhängig von der Gruppengröße (Wasserstein & Lazar, 2016). Dieser Zusammenhang erklärt, warum es innerhalb von Studien und im Vergleich verschiedener Studien zu widersprüchlichen Ergebnissen kommen kann. Die vorliegende Arbeit, die als Pilotstudie ausgelegt ist, zeigt den Verlauf der gemessenen Parameter im zeitlichen Zusammenhang mit einem epileptischen Anfall und kann damit Aufschluss über immunologischen Veränderungen geben, selbst ohne sich ausschließlich auf p-Werte zu konzentrieren. In einer größer angelegten Studie sollten weitere statistische Ansätze mit einbezogen werden.

### **4.3 Interpretation und klinische Relevanz**

#### **4.3.1 Stress als möglicher Auslöser von gemessenen Veränderungen**

Ein epileptischer Anfall bedeutet Stress für den Organismus. Insbesondere bei generalisierten Anfällen kommt es zu einer gesteigerten iktalen Muskelaktivität. Postiktal kommt es zu erhöhten Adrenalinkonzentrationen im Blut, deutlicher bei Patienten mit fbTKA (Bauer et al., 2008). Ebenso gehört die Ausschüttung von Glukokortikoiden zur Stress Reaktion, welche durch die Hypothalamo-Hypophysen-Nebennieren-Achse gesteuert wird (Capellino et al., 2020). Nach epileptischen Anfällen kommt es ebenfalls zu einer Erhöhung des Kortisolspiegels (Brandner et al., 2022; Maguire & Salpekar, 2013; Wulsin et al., 2016). Auf der anderen Seite ist Stress, in den verschiedensten Arten, jedoch selbst schon ein lang bekannter Auslöser für Anfälle und auch die basalen Kortisolspiegel zeigen erhöhte Werte bei Patienten mit Epilepsie (Maguire & Salpekar, 2013; Wulsin et al., 2016).

Zu den typischen glukokortikoiden Wirkungen gehört die Leukozytose, welche auf einer Erhöhung der neutrophilen Granulozyten beruht. Die anderen Lymphozyten sind erniedrigt (Fauci et al., 1976). Zudem beeinflussen Glukokortikoide die Gentranskription und hemmen so die Zytokinexpression, z.B. von IL-6 und IL-1 $\beta$ , und beeinflussen damit die T-Zell- und die NK-Zell- Funktion (Almawi et al., 1996; Capellino et al., 2020). Eine durch Glukokortikoide reduzierte Expression von Integrinen, Perforinen und IFN- $\gamma$  inhibiert die zytotoxischen Eigenschaften der NK-Zellen. Allerdings scheint das Vorhandensein von IL-12, welches von Monozyten und dendritischen Zellen exprimiert wird, den Einfluss der Glukokortikoide auf NK-Zellen zu blockieren (Capellino et al.,

2020). Außerdem ist entscheidend, ob es sich um akuten oder chronischen Stress handelt. Akuter Stress kann NK-Zellen aktivieren, aber über GABAerge Inhibition auch antikonvulsiv wirken, während sich chronischer Stress negativ auf die NK-Zell Funktion, jedoch prokonvulsiv auswirkt, (Capellino et al., 2020; Maguire & Salpekar, 2013). Auch die Ergebnisse von Marchi et al. lassen einen Zusammenhang zwischen Glukokortikoiden und Anfallsneigung vermuten. Sie zeigten, dass die Behandlung mit Dexamethason (synthetisches Glukokortikoid) die BHS vor Schäden schützt und eine anfallsreduzierende Wirkung besitzt. (Marchi, Granata, et al., 2011). Dabei ist auch interessant, dass Glukokortikoide den Transkriptionsfaktor NF $\kappa$ B und somit die ICAM-1-Expression inhibieren (Van de Stolpe et al., 1994). Auf der anderen Seite ist chronischer Stress, wie bereits erwähnt, ein Risikofaktor für epileptische Anfälle und Epilepsiepatienten zeigen erhöhte basale Kortisolspiegel.

Wie passen diese Erkenntnisse zusammen? IL-1 $\beta$  ist ein Zytokin mit prokonvulsiven Eigenschaften, die über den IL-1R/TLR Signalweg ausgeübt werden. Im Tierversuch konnte an hypothalamischen Resektaten die Freisetzung von IL-1 $\beta$  aus hypothalamischen Zellen durch CRH (Corticotropin-releasing Hormon) stimuliert werden (Tringali et al., 1997; Vitkovic et al., 2001). Im Versuch von Triangali et al. zeigte Dexamethason zwar keine inhibierende Wirkung auf die IL-1 $\beta$  Freisetzung, Glukokortikoide hemmen jedoch über den negativen Feedbackmechanismus die CRH-Ausschüttung im Hypothalamus (Fukuoka et al., 2020; Gjerstad et al., 2018; Spiga et al., 2015). Vice versa stimuliert IL-1 $\beta$  die CRH-Ausschüttung und es gibt Hinweise darauf, dass es ein peripheres CRH-System in den lymphatischen Organen gibt, welches von dort seine Wirkung ausübt (Agelaki et al., 2002). Eine andere Erklärung könnte sein, dass der erhöhte basale Kortisolspiegel durch Hemmung der NK-Aktivität bei Epilepsiepatienten nicht die Anfälle bedingt, sondern möglicherweise eine protektive Wirkung haben könnte. Außerdem ist eine Abhängigkeit der Wirkung von der genauen Konzentration und der Kinetik der Kortisolausschüttung (pulsatil, zirkadian, gleichmäßig) anzunehmen. Um den Zusammenhang genauer zu verstehen, wären zeitgleiche interiktale und periiktale Messungen der immunologischen Parameter und des Kortisolspiegels interessant.

Der postiktale Anstieg der NK-Zellen scheint die Antwort auf den akuten Stressor „Anfall“ zu sein. In der Arbeit von Bauer et al. zeigte sich eine positive Korrelation zwischen erhöhten postiktalen Adrenalinspiegeln und dem Anstieg der NK-Zellen. Die Dynamik bzw. die kurze Zeitspanne der postiktalen Veränderungen legt nahe, dass es sich weniger um neu differenzierte NK-Zellen handelt als vielmehr um eine Rekrutierung von bereits bestehenden NK-Zell Populationen. Durch die stressbedingte verminderte

Expression von Integrinen und somit verminderte Adhäsion werden NK-Zellen freigegeben (Bauer et al., 2008).

ICAM-1 findet sich auf der Oberfläche von vielen Zellen, auch auf NK- und zytotoxischen T-Zellen. In der vorliegenden Arbeit konnte eine erhöhte Zahl an ICAM-1 exprimierenden NK- und zytotoxischen T-Zellen gezeigt werden. ICAM-1 auf anderen Zellen, wie z.B. Monozyten, zeigte sich nicht erhöht, die ICAM-1 exprimierenden CD4+ positiven T-Helferzellen waren erniedrigt. Die Interaktion von LFA-1 und ICAMs hat große Bedeutung für die zytolytische Aktivität von zytotoxischen Zellen die durch IL-2 und IL-12 aktiviert wurden. Die zytolytischen Eigenschaften werden durch Perforine vermittelt, welche auch die Funktion der BHS stören können (Suidan et al., 2008). Dabei muss jedoch erwähnt werden, dass der Effekt von ICAM-2 und -3 in diesem Zusammenhang größer war als der von dem in dieser Arbeit untersuchten ICAM-1 (G. Matsumoto et al., 2000; Perez et al., 2004).

Somit sind ICAMs wichtig für die LFA-1 vermittelte Zytotoxizität. Die Interaktion von LFA-1 und ICAM-1 fördert, wie bereits in Abschnitt 1.2.4 erwähnt, die IL-2 Sekretion, welches wichtig ist für die Aktivierung zytotoxischer Zellen (Cox et al., 2013), und welches wiederum die Bindung von (löslichem) ICAM an CD56+ positive NK- und NKT-Zellen verstärkt (Perez et al., 2004). Glukokortikoide vermindern die Expression des Integrins LFA-1. IL-12 jedoch hebt die hemmende Wirkung von Glukokortikoiden auf NK-Zellen wieder auf. IL-12 wird von Monozyten exprimiert. Dabei spielen Signalwege die durch TLRs induziert und durch Zytokine wie IFN- $\gamma$  verstärkt werden eine Rolle (Trinchieri, 2003). Ein Anstieg der TLR-4 tragenden Monozyten wurde ebenfalls in der vorliegenden Arbeit nachgewiesen.

Ein weiterer prokonvulsiver Mechanismus des TLR-4 ergibt sich aus dem Zusammenwirken mit HMGB-1 und IL-1 $\beta$  und der Aktivierung des Transkriptionsfaktors NF $\kappa$ B (Maroso et al., 2011; Matin et al., 2015). Auch das Aktivieren bzw. die erhöhte Expression von TLR-4 kann durch die vermehrte Aktivität von HMGB-1 durch das Anfallsgeschehen selbst bedingt sein. Gleichzeitig spielt dies eine Rolle in der Epileptogenese. Sowohl das Inaktivieren von ICAM-1 als auch von TLR-4 führte in Tierversuchen zu einer verminderten Anfallsbereitschaft (Fabene et al., 2008; Iori et al., 2017; Maroso et al., 2010).

Die Zusammenschau dieser Ergebnisse legt nahe, dass sowohl ICAM-1 als auch TLR-4 mit ihrem Einfluss auf die BHS eine wichtige Rolle in der Iktogenese spielen. Auch andere experimentelle Arbeiten lassen die Annahme zu, dass Änderungen der Immunparameter, wie der Anstieg von IL-1 $\beta$  im Serum, und eine erhöhte Durchlässigkeit der BHS bereits vor dem Anfallsbeginn stattgefunden haben und nicht durch den Anfall bedingt sind (Marchi et al., 2009). Um genauere Aussagen darüber treffen zu können

und um zu unterscheiden, ob erst der Anfall oder erst die Veränderungen im Blut aufgetreten sind, welcher Zustand also durch den anderen bedingt wird, und welchen Einfluss Stress auf die Veränderungen hat, braucht es weitere Studien. Diese sollten häufigere Blutentnahmen enthalten, vergleichbar mit der Arbeit von Lang et al. 2021. Zudem weiter eingegrenzte Zellpopulationen und eine homogenere und größere Patientengruppe. Auch der Vergleich von Patienten mit hoher Anfallsfrequenz und Patienten mit langen anfallsfreien Intervallen ist sinnvoll. Die erhöhte Anzahl an ICAM-1 tragenden zytotoxischen T-Zellen bei Patienten in der interiktalen Phase könnte ein Hinweis dafür sein, dass bei Patienten mit Epilepsie eine anhaltende Beeinträchtigung der BHS vorliegt und so den Verlauf der Erkrankung beeinflusst. Diese Annahme könnte im Einklang mit den Ergebnissen von Luo et al. sein, die erhöhte interiktale Serumlevel von sICAM-1 in Patienten mit Epilepsie zeigten (Luo et al., 2014).

#### **4.3.2 Fokale vs. bilaterale Anfälle**

Die vorliegende Studie schloss Patienten mit fokalen Epilepsien ein. Bei der Auswertung der Subgruppen wurden 12 Patienten mit nbFA und 7 Patienten mit fbTKA eingeschlossen. Anhand der hier erhobenen Daten lässt sich keine pauschale Aussage über mögliche Einflüsse der beiden Anfallstypen auf immunologische Parameter treffen. Der Anstieg der CD54+/CD56+ positiven NK-/NKT-Zellen war deutlicher bei Patienten mit fbTKA. Bei den CD54+/CD8+ positiven T-Zellen zeigte sich Gegenteiliges. Die CD54+/CD4+ positiven T-Zellen sanken nur bei Patienten mit fbTKA statistisch signifikant. In der Arbeit von Bauer et al. zeigte sich ebenfalls ein deutlich höherer Anstieg der gesamten Lymphozyten bei Patienten mit fbTKA. Dieser Effekt war vor allem einem Anstieg der NK-Zellen zuzuordnen. Die CD4+ positiven T-Zellen sanken in der genannten Studie ebenfalls stärker bei Patienten mit fbTKA (Bauer et al., 2008).

Die CD284+/CD14+ positiven Monozyten stiegen nur bei Patienten mit fbTKA statistisch signifikant an. Beim Vergleich der Baseline Werte gab es keine signifikanten Unterschiede. Die Baseline Werte der CD54+/CD14+ positiven Monozyten waren jedoch in der Gruppe der fbTKA signifikant höher, nicht jedoch die postiktalen Werte und so zeigte sich ein signifikanter Abfall postiktal bei den Patienten mit fbTKA. Dies könnte in Übereinstimmung mit einer Studie sein, in der Patienten mit fokalen und generalisierten Epilepsien verglichen wurden. Hier zeigte sich, dass die Gesamtleukozytenzahl bei Patienten mit generalisierten Epilepsien signifikant höher war. Dieser Effekt lag vor allem in der Erhöhung der Monozyten begründet. Allerdings beinhaltet diese Studie nur die Messung von interiktalen Unterschieden (Sarkis et al., 2012). In anderen Studien konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden (Eeg-Olofsson et al., 1985; Nowak et al., 2011).

### 4.3.3 Ätiologie

Die HS gilt als prognostischer Faktor. In der Gruppe der pharmakoresistenten Epilepsien nehmen Patienten mit HS einen großen Teil ein (Blümcke, 2009; Thom, 2014), da sich Epilepsien im Rahmen einer HS häufig resistent gegenüber Antikonvulsiva zeigen (Semah et al., 1998).

Nachdem Bauer et al. einen möglichen Einfluss der HS auf die immunologischen Parameter diskutierten (Bauer et al., 2008, 2009), wurden in der vorliegenden Arbeit als Subgruppenanalyse ebenfalls die Werte der Patienten mit und ohne HS verglichen. Dabei sind die wichtigsten Ergebnisse, dass sich der signifikante postiktale Anstieg der CD54+/CD56+, CD54+/CD8+ und der CD284+/CD14+ positiven Zellen nur bei Patienten ohne HS präsentierte. Der signifikante Abfall der CD54+/CD4+ Zellen war jedoch nur bei den Patienten mit HS zu beobachten.

Die Bedeutung dieser Ergebnisse ist aufgrund der geringen Patientenzahl in dieser Studie und den zum Teil gegensätzlichen Ergebnissen in anderen Arbeiten (siehe Abschnitt 4.1 Vergleich mit anderen Studien) unklar. Ebenso sei erwähnt, dass bei Patienten mit HS der Verlauf der CD54+/CD56+ positiven NK-Zellen keine statistisch signifikanten Veränderungen aufzeigte, es aber sehr wohl zu einem deutlichen postiktalen Anstieg kam. Der Einfluss von limbischen Strukturen auf die Stressregulation und die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse (HPA-Achse) ist bekannt und wurde von Hermann et al. zusammengefasst. Der Hippocampus wirkt überwiegend inhibitorisch auf die HPA-Achse, eine Stimulation des Hippocampus senkt die Glukokortikoidsekretion. Eine Läsion des Hippocampus erhöht die CRH-Freisetzung aus dem Hypothalamus und führt zu einer höheren Glukokortikoidausschüttung. Allerdings hängt dieser Effekt vom Stressor, von der Läsion und der Region im Hippocampus ab und kann dementsprechend auch gegenteilig ausfallen (Herman et al., 2005). Dies erklärt möglicherweise die gegensätzlichen Ergebnisse in den Studien.

### 4.3.4 Zerebrale Lateralisation

Es ist schon viele Jahre bekannt, dass das menschliche Gehirn in seinen Funktionen lateralisiert und nicht symmetrisch ist (Brown & Kosslyn, 1993; Geschwind & Behan, 1982; Neveu & Merlot, 2003). Neveu und Merlot zeigten im Tierversuch einen Zusammenhang zwischen Lateralisation, Stress und Immunreaktionen. Mäuse die als „rechtshändig“ eingeteilt wurden, reagierten stärker auf den durch LPS ausgelösten Stress als „linkshändige“ Mäuse (Neveu & Merlot, 2003). In der Vergangenheit gab es außerdem einige Hinweise, dass die Lokalisation des Anfallsursprungs einen Einfluss auf Reaktionen des Immunsystems hat, wobei die Studien teilweise zu

widersprüchlichen Ergebnissen kamen. 2008 konnten Bauer et al. keinen Unterschied zwischen Anfällen mit linkshemisphärischen und Anfällen mit rechtshemisphärischen Anfallsbeginn feststellen. 2009 konnte diese Forschungsgruppe eine postiktal erhöhte Konzentration von IL-6 bei Patienten mit rechtstemporalen Anfällen aufdecken (Bauer et al., 2008, 2009). Meador et al. zeigten, dass es nach einer kortikalen Resektion in der sprachdominanten linken Hemisphäre zu einer interiktal verminderten Zahl an Gesamtlymphozyten, T-Lymphozyten und CD4+ positiven T-Lymphozyten kam. Eine Resektion in der rechten Hemisphäre erhöhte diese Parameter (Meador et al., 2004). Im Gegensatz dazu wird in der klinischen Studie von Lorenz eine erhöhte Serumkonzentrationen von IL-1 bei Kindern mit linkshemisphärischer Epilepsie beschrieben (Lorenz, 2001). Goldstein et al. zeigten im Tiermodell einen signifikanten Anstieg von IFN- $\gamma$  und IL-10 nur nach linksseitiger Stimulation (Goldstein et al., 2002). Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit sind ebenfalls inkonsistent. Der postiktale Anstieg der CD54+/CD56+ positiven NK- und NKT-Zellen und der CD54+/CD8+ positiven T-Lymphozyten zeigte sich nur bei den Patienten mit rechtshemisphärischer Epilepsie statistisch signifikant. Der Anstieg der CD54+/CD56+ positiven Killerzellen war jedoch auch bei linkshemisphärischer Epilepsie deutlich zu sehen. Die CD284+/CD14+ positiven Monozyten stiegen zunächst nur bei Patienten mit linkem Anfallsursprung signifikant an. Patienten mit rechtshemisphärischer Epilepsie präsentierten einen deutlichen Anstieg 24 Stunden postiktal.

Das statistisch signifikante Absinken der CD54+/CD4+ positiven T-Lymphozyten wiederum war nur bei Patienten mit linkshemisphärischer Epilepsie zu sehen.

Der Effekt der zerebralen Lateralisation auf das Immunsystem wird möglicherweise durch das neuroendokrine System (HPA-Achse) und das autonome Nervensystem vermittelt (Neveu, 2002). Das sympathische Nervensystem innerviert die lymphatischen Organe (Bauer et al., 2008; Wrona, 2006).

Aufgrund der uneinheitlichen Datenlage ist die Einordnung, Bedeutung und klinische Relevanz der Ergebnisse unklar.

#### **4.4 Ausblick**

In der vorliegenden, exploratorisch angelegten Arbeit konnten Veränderungen hinsichtlich der ICAM-1- und der TLR-4-Expression nachgewiesen werden. Der Verlauf zeigte sich dabei beeinflusst von der Art der Anfälle, der Ätiologie und der Anfallsursprungsseite im Gehirn. Um die Bedeutung der Ergebnisse klar einordnen zu können, bedarf es weiterer Studien. Trotzdem konnten die Ergebnisse zum weiteren Verständnis der immunologischen Mechanismen bei Patienten mit Epilepsie beitragen und eine weitere Grundlage für weiterführende Arbeiten liefern.

Diese Arbeit unterstützt die Aussage von Studien in denen die Blockade von ICAM-1 oder TLR-4 zu einer verminderten Anfallsaktivität führte und kann als Grundlage dazu dienen neue anfallssupprimierende Medikamente zu entwickeln. Da es sich bei diesen Studien allerdings um tierexperimentelle Arbeiten handelt, ist die Aussage limitiert und die Frage und die Herausforderung ist es, wie man diese Erkenntnisse auf den Menschen übertragen kann (Shanks et al., 2009). Eine klinische Phase-3-Studie mit einem „interleukin-converting enzyme“-Hemmer (ICE-Hemmer) wurde beispielsweise abgebrochen. Im Tierversuch wurden zuvor vielversprechende Ergebnisse erzielt (Rosenow et al., 2014).

Eine weitere Herausforderung bei der Entwicklung von immunmodulatorischen Substanzen ist es, den zur Pathologie führenden Mechanismus zu blockieren, das Immunsystem in seiner suffizienten Grundfunktion jedoch so gut wie möglich zu erhalten. Sollte dies gelingen, ist die Hoffnung gegeben, dass diese neue kausale Therapie vor allem bei Patienten mit bislang pharmakoresistenter Epilepsie die Anfallshäufigkeit reduzieren bzw. Anfallsfreiheit ermöglichen könnte.

## 5 Zusammenfassung

### 5.1 Deutsche Zusammenfassung

Epilepsie ist eine Erkrankung des Gehirns mit anhaltender Tendenz wiederkehrende Anfälle zu erleiden. Epileptische Anfälle sind definiert als exzessive oder synchrone neuronale Aktivität im Gehirn die ein vorübergehendes Auftreten von Symptomen hervorruft. Es gibt verschiedene Ursachen, die teilweise ineinander übergehen. Eine Kategorie stellen hierbei inflammatorische Prozesse dar. Viele Zusammenhänge zwischen Immunsystem und Epilepsie sind bereits bekannt. Eine veränderte Integrität der Blut-Hirn-Schranke spielt dabei eine große Rolle. Die genauen Mechanismen sind allerdings noch nicht bis ins Detail geklärt.

Die vorliegende Arbeit soll weitere Erkenntnisse bezüglich der immunologischen Vorgänge bei Patienten mit Epilepsie gewinnen. Dazu wurden Veränderungen von Leukozytenadhäsionsfaktoren und Toll-like Rezeptoren im peripheren Blut von Patienten mit Epilepsie mittels Durchflusszytometrie untersucht, sowohl interiktal als auch im zeitlichen Zusammenhang mit einem Anfall. Mitberücksichtigt wurden die Einflussfaktoren Anfallsart, Hippocampussklerose und Seite des Anfallsursprungs.

Es wurden insgesamt 35 Patienten mit eindeutig diagnostizierter fokaler Epilepsie aus der Video-Elektroenzephalographie-Monitoring Einheit und der Epilepsie-Ambulanz des Universitätsklinikums Marburg in die Studie eingeschlossen. Blutentnahmen bei Patienten mit Anfällen erfolgten am Aufnahmetag (Baseline), direkt postiktal, 1 Stunde postiktal und wenn möglich, 24 Stunden postiktal. Die interiktalen Blutproben wurden mit 20 gesunden Kontrollen verglichen.

Die wesentlichen Ergebnisse zeigen einen postiktalen Anstieg der Intercellular adhesion molecule-1 tragenden zytotoxischen Zellen (CD54+/CD56+ und CD54+/CD8+) und der Toll-like Rezeptor-4 tragenden Monozyten (CD284+/CD14+) sowie einen postiktalen Abfall der Intercellular adhesion molecule-1 tragenden T-Helferzellen (CD54+/CD4+). Im Vergleich mit den gesunden Kontrollen fällt interiktal eine erhöhte Anzahl der Intercellular adhesion molecule-1 tragenden zytotoxischen T-Zellen (CD54+/CD8+) auf. Der Verlauf war dabei teilweise abhängig von der Art der Anfälle, der Ätiologie und der Anfallsursprungsseite.

Der postiktale Anstieg von Natürlichen Killerzellen und zytotoxischen T-Zellen bestätigt sich in einigen Vorarbeiten und auch in neueren Arbeiten zu diesem Thema. Auch der Abfall der T-Helferzellen zeigte sich in früheren Studien. Erhöhte Level an Toll-like Rezeptor-4 tragenden Zellen bei Patienten mit Epilepsie wurden ebenfalls in anderen Studien nachgewiesen.

In tierexperimentellen Vorstudien präsentierten sich anfallssupprimierende Wirkungen von Intercellular adhesion molecule-1 und von Toll-like Rezeptor-4 Inhibitoren. Die vorliegende Arbeit unterstützt auch diese Studien und liefert einen weiteren Beitrag zum Verständnis der immunologischen Mechanismen bei epileptischen Anfällen. Damit kann auch zur Entwicklung neuer anfallssupprimierender Medikamente beigetragen werden. Die Zusammenschau der vorliegenden und der durch Vorstudien erlangten Ergebnisse legt nahe, dass sowohl Intercellular adhesion molecule-1 als auch Toll-like Rezeptor-4 mit ihrem Einfluss auf die Blut-Hirn-Schranke eine wichtige Rolle in der Iktogenese spielen. Um noch genauere Aussagen darüber treffen zu können und um die wechselseitige Wirkung von Anfall, Stress und Veränderungen der Blut-Hirn-Schranke besser zu verstehen, sind weitere Studien mit häufigeren Blutentnahmen und einem größeren Patientenkollektiv angebracht.

## 5.2 Englische Zusammenfassung - Summary

Epilepsy is a disorder of the brain with a persistent tendency to suffer from seizures. Epileptic seizures are defined as excessive or synchronous neuronal activity which induces a transient occurrence of symptoms. There are many different aetiologies, which are merging partially. Inflammatory processes represent one category. Many links between the immune system and epilepsy are already known. An altered integrity of the blood-brain-barrier plays an important role. The detailed mechanisms however are not fully understood.

With this study we aimed to gain further knowledge regarding immunological activities in patients with epilepsy. For that purpose, alterations of leucocyte adhesion factors and Toll-like receptors in peripheral blood of patients with epilepsy were investigated by using fluorescence activated cell sorting, interictally as well as in context with seizures. Seizure type, hippocampal sclerosis and side of seizure onset in the brain were considered as influencing factors.

We included 35 patients from the video-electroencephalography monitoring unit and the epilepsy outpatient department of the Philipps-University Marburg who were diagnosed with focal epilepsy. Blood samples were taken at admission day (Baseline), immediately postictally, 1 hour postictally and 24 hours postictally, if possible. The interictal samples were compared to 20 healthy controls.

The main findings show postictal increase of intercellular adhesion molecule-1 positive cytotoxic cells (CD54+/CD56+ and CD54+/CD8+) and Toll-like receptor-4 positive monocytes (CD284+/CD14+), as well as postictal decrease of intercellular adhesion molecule-1 positive T helper cells (CD54+/CD4+). In comparison with healthy controls, we noticed a higher rate of intercellular adhesion molecule-1 positive cytotoxic T cells (CD54+/CD8+) interictally. The course was partially dependent of seizure type, aetiology and side of seizure onset.

The postictal increase of natural killer cells and cytotoxic T cells has been described in former and in recent studies. Also, the decrease of T helper cells was shown in previous studies. Higher rates of Toll-like receptor-4 carrying cells in patients with epilepsy were noticed also in other studies.

In animal models inhibitors of intercellular adhesion molecule-1 and Toll-like receptor-4 indicated a seizure suppressing effect. With our study we can support these findings and provide a better understanding of the immunological mechanisms in epileptic seizures. This might contribute to the development of new seizure suppressing drugs in the future. Taken together, the findings of this study and former studies suggest that with their influence on the blood-brain-barrier both, intercellular adhesion molecule-1 and Toll-like receptor-4 play an important role in ictogenesis. To give a more detailed statement and

to better understand the reciprocal effects of seizures, stress and alterations of the blood-brain-barrier, more precise studies with more frequent blood samples and a larger number of patients would be needed.

## 6 Literaturverzeichnis

- Agelaki, S., Tsatsanis, C., Gravanis, A., & Margioris, A. N. (2002). Corticotropin-releasing hormone augments proinflammatory cytokine production from macrophages in vitro and in lipopolysaccharide-induced endotoxin shock in mice. *Infection and Immunity*, *70*(11), 6068–6074.
- Almawi, W. Y., Beyhum, H. N., Rahme, A. A., & Rieder, M. J. (1996). Regulation of cytokine and cytokine receptor expression by glucocorticoids. *Journal of Leukocyte Biology*, *60*(5), 563–572.
- Anwar, M. A., Zhai, F., Liang, S., Zhang, S., & Chen, F. (2022). Role of HMGB1/TLR4 and IL-1 $\beta$ /IL-1R1 Signaling Pathways in Epilepsy. *Frontiers in Neurology* [www.frontiersin.org](http://www.frontiersin.org), Article 904225.
- Auvin, S., Shin, D., Mazarati, A., & Sankar, R. (2010). Inflammation induced by LPS enhances epileptogenesis in immature rat and may be partially reversed by IL1RA. *Epilepsia*, *51*(SUPPL. 3), 34–38.
- Balato, A., Unutmaz, D., & Gaspari, A. A. (2009). Natural Killer T Cells: An Unconventional T-Cell Subset with Diverse Effector and Regulatory Functions. *Journal of Investigative Dermatology*, *129*, 1628–1642.
- Balestrini, S., Arzimanoglou, A., Blümcke, I., Scheffer, I. E., Wiebe, S., Zelano, J., & Walker, M. C. (2021). The aetiologies of epilepsy. *Epileptic Disorders*, *23*(1), 1–16.
- Bauer, S., Cepok, S., Todorova-Rudolph, A., Nowak, M., Köller, M., Lorenz, R., Oertel, W. H., Rosenow, F., Hemmer, B., & Hamer, H. M. (2009). Etiology and site of temporal lobe epilepsy influence postictal cytokine release. *Epilepsy Research*, *86*(1), 82–88.
- Bauer, S., Köller, M., Cepok, S., Todorova-Rudolph, A., Nowak, M., Nockher, W. A., Lorenz, R., Tackenberg, B., Oertel, W. H., Rosenow, F., Hemmer, B., & Hamer, H. M. (2008). NK and CD4+ T cell changes in blood after seizures in temporal lobe epilepsy. *Experimental Neurology*, *211*(2), 370–377.
- Beghi, E. (2020). The Epidemiology of Epilepsy. *Neuroepidemiology*, *54*, 185–191.
- Beghi, E., Carpio, A., Forsgren, L., Hesdorffer, D. C., Malmgren, K., Sander, J. W., Tomson, T., & Hauser, W. A. (2010). Recommendation for a definition of acute symptomatic seizure. *Epilepsia*, *51*(4), 671–675.
- Beghi, E., Giussani, G., Abd-Allah, F., Abdela, J., Abdelalim, A., Abraha, H. N., Adib, M. G., Agrawal, S., Alahdab, F., Awasthi, A., Ayele, Y., Barboza, M. A., Belachew, A. B., Biadgo, B., Bijani, A., Bitew, H., Carvalho, F., Chaiah, Y., Daryani, A., Murray, C. J. L. (2019). Global, regional, and national burden of epilepsy, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *The Lancet Neurology*, *18*(4).
- Beghi, E., & Shorvon, S. (2011). Antiepileptic drugs and the immune system. *Epilepsia*, *52*(SUPPL. 3), 40–44.

- Blümcke, I. (2009). Neuropathology of focal epilepsies: a critical review. *Epilepsy & Behavior: E&B*, 15(1), 34–39.
- Bostantjopoulou, S., Hatzizisi, O., Argyropoulou, O., Andreadis, S., Deligiannis, K., Kantaropoulou, M., Kazis, A., Kyrazis, G., & Routsonis, K. (1994). Immunological parameters in patients with epilepsy. *Functional Neurology*, 9(1), 11–15.
- Brandner, S., Schroeter, S., Çalışkan, G., Salar, S., Kobow, K., Coras, R., Blümcke, I., Hamer, H., Schwarz, M., Buchfelder, M., & Maslarova, A. (2022). Glucocorticoid modulation of synaptic plasticity in the human temporal cortex of epilepsy patients: Does chronic stress contribute to memory impairment? *Epilepsia*, 63(1), 209–221.
- Brown, H. D., & Kosslyn, S. M. (1993). Cerebral lateralization. *Current Opinion in Neurobiology*, 3(2), 183–186.
- Bui, T. M., Wiesolek, H. L., & Sumagin, R. (2020). ICAM-1: A master regulator of cellular responses in inflammation, injury resolution, and tumorigenesis. *Journal of Leukocyte Biology*, 108(3), 787–799.
- Caligiuri, M. A. (2008). Human natural killer cells. *Blood*, 112(3), 461–469.
- Cameron, G., & Godfrey, D. I. (2018). Differential surface phenotype and context-dependent reactivity of functionally diverse NKT cells. *Immunology and Cell Biology*, 96(7), 759–771.
- Capellino, S., Claus, M., & Watzl, C. (2020). Regulation of natural killer cell activity by glucocorticoids, serotonin, dopamine, and epinephrine. *Cellular and Molecular Immunology*, 17(7), 705–711.
- Chaplin, D. D. (2010). Overview of the immune response. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 125(2 SUPPL. 2), S3–S23.
- Chen, R., Kang, R., & Tang, D. (2022). The mechanism of HMGB1 secretion and release. *Experimental and Molecular Medicine*, 54(2), 91–102.
- Cox, M. A., Barnum, S. R., Bullard, D. C., & Zajac, A. J. (2013). ICAM-1-dependent tuning of memory CD8 T-cell responses following acute infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(4), 1416–1421.
- Cudna, A., Bronisz, E., Jopowicz, A., & Kurkowska-Jastrzębska, I. (2023). Changes in serum blood-brain barrier markers after bilateral tonic-clonic seizures. *Seizure*, 106, 129–137.
- Daneman, R., & Prat, A. (2015). The blood–brain barrier. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 7(1), Article 020412.
- Eeg-Olofsson, O., Prchal, J. F., & Andermann, F. (1985). Abnormalities of T-lymphocyte subsets in epileptic patients. *Acta Neurologica Scandinavica*, 72(2), 140–144.
- Elger, C. E., & Berkenfeld, R. (2017). Erster epileptischer Anfall und Epilepsien im Erwachsenenalter. *Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie*. [www.dgn.org](http://www.dgn.org)

- Engelborghs, S., D'Hooge, R., & De Deyn, P. P. (2000). Pathophysiology of epilepsy. *Acta Neurologica Belgica*, *100*(4), 201–213.
- Fabene, P. F., Mora, G. N., Martinello, M., Rossi, B., Merigo, F., Ottoboni, L., Bach, S., Angiari, S., Benati, D., Chakir, A., Zanetti, L., Schio, F., Osculati, A., Marzola, P., Nicolato, E., Homeister, J. W., Xia, L., Lowe, J. B., McEver, R. P., Constantin, G. (2008). A role for leukocyte-endothelial adhesion mechanisms in epilepsy. *Nature Medicine*, *14*(12), 1377–1383.
- Falco-Walter, J. (2020). Epilepsy-Definition, Classification, Pathophysiology, and Epidemiology. *Seminars in Neurology*, *40*(6), 617–623.
- Fauci, A. S., Dale, D. C., & Balow, J. E. (1976). Glucocorticosteroid therapy: mechanisms of action and clinical considerations. *Annals of Internal Medicine*, *84*(3), 304–315.
- Fisher, R. S., Acevedo, C., Arzimanoglou, A., Bogacz, A., Cross, J. H., Elger, C. E., Engel, J., Forsgren, L., French, J. A., Glynn, M., Hesdorffer, D. C., Lee, B. I., Mathern, G. W., Moshé, S. L., Perucca, E., Scheffer, I. E., Tomson, T., Watanabe, M., & Wiebe, S. (2014). ILAE Official Report: A practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia*, *55*(4), 475–482.
- Fisher, R. S., Cross, J. H., Souza, C. D. ', French, J. A., Haut, S. R., Higurashi, N., Hirsch, E., Jansen, F. E., Lagae, L., Mosh, S. L., Peltola, J., Roulet Perez, E., Scheffer, I. E., Schulze-Bonhage, A., Somerville, E., Sperling, M., Arcia Yacubian, E. M., & Zuberi, S. M. (2017). Instruction manual for the ILAE 2017 operational classification of seizure types. *Epilepsia*, *58*(4), 531–542.
- Fisher, R. S., Helen Cross, J., French, J. A., Higurashi, N., Hirsch, E., Jansen, F. E., Lagae, L., Mosh, S. L., Peltola, J., Roulet Perez, E., Scheffer, I. E., & Zuberi, S. M. (2017). Operational classification of seizure types by the International League Against Epilepsy: Position Paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*, *58*(4), 522–530.
- Fisher, R. S., van Emde Boas, W., Blume, W., Elger, C., Genton, P., Lee, P., & Engel, J. (2005). Epileptic Seizures and Epilepsy: Definitions Proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). *Epilepsia*, *46*(4), 470–472.
- Fu, L., Liu, K., Wake, H., Teshigawara, K., Yoshino, T., Takahashi, H., Mori, S., & Nishibori, M. (2017). Therapeutic effects of anti-HMGB1 monoclonal antibody on pilocarpine-induced status epilepticus in mice. *Scientific Reports*, *7*(1), Article 1179.
- Fukuoka, H., Shichi, H., Yamamoto, M., & Takahashi, Y. (2020). The mechanisms underlying autonomous adrenocorticotrophic hormone secretion in cushing's disease. *International Journal of Molecular Sciences* *21*(23), 1–18.
- Galic, M. A., Riazi, K., & Pittman, Q. J. (2012). Cytokines and brain excitability. *Frontiers in Neuroendocrinology*, *33*(1), 116–125.
- Garré, J. M., & Yang, G. (2018). Contributions of monocytes to nervous system disorders. *Journal of Molecular Medicine*, *96*(9), 873–883.

- Geschwind, N., & Behan, P. (1982). Left-handedness: association with immune disease, migraine, and developmental learning disorder. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 79(16), 5097–5100.
- Gjerstad, J. K., Lightman, S. L., & Spiga, F. (2018). Role of glucocorticoid negative feedback in the regulation of HPA axis pulsatility. *Stress*, 21(5), 403–416.
- Goddard, G. V., McIntyre, D. C., & Leech, C. K. (1969). A permanent change in brain function resulting from daily electrical stimulation. *Experimental Neurology*, 25(3), 295–330.
- Goldstein, K. R., Bhatt, R., Barton, B. E., Zalcman, S. S., Rameshwar, P., & Siegel, A. (2002). Effects of hemispheric lateralization and site specificity on immune alterations induced by kindled temporal lobe seizures. *Brain, Behavior, and Immunity*, 16(6), 706–719.
- Greene, C., Hanley, N., Reschke, C. R., Reddy, A., Mäe, M. A., Connolly, R., Behan, C., O’Keeffe, E., Bolger, I., Hudson, N., Delaney, C., Farrell, M. A., O’Brien, D. F., Cryan, J., Brett, F. M., Beausang, A., Betsholtz, C., Henshall, D. C., Doherty, C. P., & Campbell, M. (2022). Microvascular stabilization via blood-brain barrier regulation prevents seizure activity. *Nature Communications*, 13(1).
- Guilliams, M., Mildner, A., & Yona, S. (2018). Developmental and Functional Heterogeneity of Monocytes. *Immunity*, 49(4), 595–613.
- Herman, J. P., Ostrander, M. M., Mueller, N. K., & Figueiredo, H. (2005). Limbic system mechanisms of stress regulation: Hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 29(8), 1201–1213.
- Iori, V., Iyer, A. M., Ravizza, T., Beltrame, L., Paracchini, L., Marchini, S., Cerovic, M., Hill, C., Ferrari, M., Zucchetti, M., Molteni, M., Rossetti, C., Brambilla, R., Steve White, H., D’Incalci, M., Aronica, E., & Vezzani, A. (2017). Blockade of the IL-1R1/TLR4 pathway mediates disease-modification therapeutic effects in a model of acquired epilepsy. *Neurobiology of Disease*, 99, 12–23.
- Janigro, D. (2012). Are you in or out? Leukocyte, ion, and neurotransmitter permeability across the epileptic blood-brain barrier. *Epilepsia*, 53(SUPPL. 1), 26–34.
- Jefferys, J. G. R. (2010). Advances in understanding basic mechanisms of epilepsy and seizures. *Seizure*, 19(10), 638–646.
- Jefferys, J. G. R. (2015). Chapter 3 Basic mechanisms of epilepsy. [epilepsysociety.org.uk](http://epilepsysociety.org.uk)
- Kamas, T., Dilber, B., Özer Yaman, S., Diler Durgut, B., Kurt, T., Acar Arslan, E., Caner Karahan, S., & Cansu, A. (2020). HMGB-1, TLR4, IL-1R1, TNF-, and IL-1: novel epilepsy markers? *Epileptic Disord*, 22(2), 183–193.

- Lang, J. D., Olmes, D. G., Proske, M., Hagge, M., Dogan Onugoren, M., Rothhammer, V., Schwab, S., & Hamer, H. M. (2021). Pre- and Postictal Changes in the Innate Immune System: Cause or Effect? *European Neurology*, *84*(5), 380–388.
- Librizzi, L., Regondi, M. C., Pastori, C., Frigerio, S., Frassoni, C., & De Curtis, M. (2007). Expression of adhesion factors induced by epileptiform activity in the endothelium of the isolated guinea pig brain in vitro. *Epilepsia*, *48*(4), 743–751.
- Lorenz, R. (2001). Clinical study: epileptic seizures may modify cytokine secretion in patients suffering from epilepsy and in experimental animals. *Neuro Endocrinology Letters*, *22*(5), 330–331.
- Luo, J., Wang, W., Xi, Z., dan, C., Wang, L., Xiao, Z., & Wang, X. (2014). Concentration of Soluble Adhesion Molecules in Cerebrospinal Fluid and Serum of Epilepsy Patients. *Journal of Molecular Neuroscience*, *54*(4), 767–773.
- Maguire, J., & Salpekar, J. A. (2013). Stress, seizures, and hypothalamic-pituitary-adrenal axis targets for the treatment of epilepsy. *Epilepsy and Behavior*, *26*(3), 352–362.
- Marchi, N., Angelov, L., Masaryk, T., Fazio, V., Granata, T., Hernandez, N., Hallene, K., Diglaw, T., Franic, L., Najm, I., & Janigro, D. (2007). Seizure-promoting effect of blood-brain barrier disruption. *Epilepsia*, *48*(4), 732–742.
- Marchi, N., Fan, Q., Ghosh, C., Fazio, V., Bertolini, F., Betto, G., Batra, A., Carlton, E., Najm, I., Granata, T., & Janigro, D. (2009). Antagonism of peripheral inflammation reduces the severity of status epilepticus. *Neurobiology of Disease*, *33*(2), 171–181.
- Marchi, N., Granata, T., Freri, E., Ciusani, E., Ragona, F., Puvenna, V., Teng, Q., Alexopolous, A., & Janigro, D. (2011). Efficacy of anti-inflammatory therapy in a model of acute seizures and in a population of pediatric drug resistant epileptics. *PLoS ONE*, *6*(3), e18200.
- Marchi, N., Johnson, A. J., Puvenna, V., Johnson, H. L., Tierney, W., Ghosh, C., Cucullo, L., Fabene, P. F., & Janigro, D. (2011). Modulation of peripheral cytotoxic cells and ictogenesis in a model of seizures. *Epilepsia*, *52*(9), 1627–1634.
- Marchi, N., Oby, E., Batra, A., Uva, L., De Curtis, M., Hernandez, N., Van Boxel-Dezaire, A., Najm, I., & Janigro, D. (2007). In vivo and in vitro effects of pilocarpine: Relevance to ictogenesis. *Epilepsia*, *48*(10), 1934–1946.
- Marchi, N., Teng, Q., Ghosh, C., Fan, Q., Nguyen, M. T., Desai, N. K., Bawa, H., Rasmussen, P., Masaryk, T. K., & Janigro, D. (2010). Blood-brain barrier damage, but not parenchymal white blood cells, is a hallmark of seizure activity. *Brain Research*, *1353*, 176–186.
- Maroso, M., Balosso, S., Ravizza, T., Liu, J., Aronica, E., Iyer, A. M., Rossetti, C., Molteni, M., Casalgrandi, M., Manfredi, A. A., Bianchi, M. E., & Vezzani, A. (2010). Toll-like receptor 4 and high-mobility group box-1 are involved in ictogenesis and can be targeted to reduce seizures. *Nature Medicine*, *16*(4), 413–419.

- Maroso, M., Balosso, S., Ravizza, T., Liu, J., Bianchi, M. E., & Vezzani, A. (2011). Interleukin-1 type 1 receptor/Toll-like receptor signalling in epilepsy: The importance of IL-1beta and high-mobility group box 1. *Journal of Internal Medicine*, 270(4), 319–326.
- Martin Holtkamp, med, & phil Theodor May, B. (2023). Erster epileptischer Anfall und Epilepsien im Erwachsenenalter Entwicklungsstufe: S2k. *Kommission Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Neurologie (DGN) in Zusammenarbeit mit der Deutschen Gesellschaft für Epileptologie (DGfE) Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie*. www.awmf.org
- Matin, N., Tabatabaie, O., Falsaperla, R., Lubrano, R., Pavone, P., Mahmood, F., Gullotta, M., Serra, A., Di Mauro, P., Cocuzza, S., & Vitaliti, G. (2015). Epilepsy and innate immune system: A possible immunogenic predisposition and related therapeutic implications. *Human Vaccines and Immunotherapeutics*, 11(8), 2021–2029.
- Matsumoto, G., Omi, Y., Lee, U., Nishimura, T., Shindo, J., & Penninger, J. M. (2000). Adhesion mediated by LFA-1 is required for efficient IL-12-induced NK and NKT cell cytotoxicity. *European Journal of Immunology*, 30(12), 3723–3731.
- Matsumoto, H., & Marsan, C. A. (1964). Cortical cellular phenomena in experimental epilepsy: Ictal manifestations. *Experimental Neurology*, 9(4), 305–326.
- Mcnamara, J. O. (1994). Cellular and Molecular Basis of Epilepsy. *The Journal of Neuroscience*, 14(6), 3413–3425.
- Meador, K. J., Loring, D. W., Ray, P. G., Helman, S. W., Vazquez, B. R., & Neveu, P. J. (2004). Role of cerebral lateralization in control of immune processes in humans. *Annals of Neurology*, 55(6), 840–844.
- Muñoz-García, J., Cochonneau, D., Télétchéa, S., Moranton, E., Lanoe, D., Brion, R., Lézet, F., Heymann, M. F., & Heymann, D. (2021). The twin cytokines interleukin-34 and CSF-1: Masterful conductors of macrophage homeostasis. *Theranostics*, 11(4), 1568–1593.
- Murphy, K., & Weaver, C. (2018a). Die induzierten Reaktionen der angeborenen Immunität. *Janeway Immunologie*, 95–173.
- Murphy, K., & Weaver, C. (2018b). Grundbegriffe der Immunologie. *Janeway Immunologie*, 3–46.
- Neveu, P. J. (2002). Cerebral lateralization and the immune system. *International Review of Neurobiology*, 52, 303–323.
- Neveu, P. J., & Merlot, E. (2003). Cytokine stress responses depend on lateralization in mice. *Stress*, 6(1), 5–9.
- Nowak, M., Bauer, S., Haag, A., Cepok, S., Todorova-Rudolph, A., Tackenberg, B., Norwood, B., Oertel, W. H., Rosenow, F., Hemmer, B., & Hamer, H. M. (2011). Interictal alterations of cytokines and leukocytes in patients with active epilepsy. *Brain, Behavior, and Immunity*, 25(3), 423–428.

- Oby, E., & Janigro, D. (2006). The blood-brain barrier and epilepsy. *Epilepsia*, *47*(11), 1761–1774.
- Peltola, J., Hurme, M., Miettinen, A., & Keränen, T. (1998). Elevated levels of interleukin-6 may occur in cerebrospinal fluid from patients with recent epileptic seizures. *Epilepsy Research*, *31*(2), 129–133.
- Perdiguero, E. G., Geissmann, F., & Author, N. I. (2016). Development and maintainance of resident macrophages HHS Public Access Author manuscript. *Nat Immunol*, *17*(1), 2–8.
- Perez, O. D., Mitchell, D., Jager, G. C., & Nolan, G. P. (2004). LFA-1 signaling through p44/42 is coupled to perforin degranulation in CD56+CD8+ natural killer cells. *Blood*, *104*(4), 1083–1093.
- Profaci, C. P., Munji, R. N., Pulido, R. S., & Daneman, R. (2020). The blood–brain barrier in health and disease: Important unanswered questions. *Journal of Experimental Medicine*, *217*(4), e20190062.
- Qin, S., Wang, H., Yuan, R., Li, H., Ochani, M., Ochani, K., Rosas-Ballina, M., Czura, C. J., Huston, J. M., Miller, E., Lin, X., Sherry, B., Kumar, A., LaRosa, G., Newman, W., Tracey, K. J., & Yang, H. (2006). Role of HMGB1 in apoptosis-mediated sepsis lethality. *Journal of Experimental Medicine*, *203*(7), 1637–1642.
- Ransohoff, R. M., Kivisäkk, P., Kidd, G. (2003). Three or more routes for leukocyte migration into the central nervous system. *Nature Reviews Immunology*, *3*(7), 569–581.
- Reiss, Y., Bauer, S., David, B., Devraj, K., Fidan, E., Hattingen, E., Liebner, S., Melzer, N., Meuth, S. G., Rosenow, F., Rüber, T., Willems, L. M., & Plate, K. H. (2023). The neurovasculature as a target in temporal lobe epilepsy. In *Brain Pathology* *33* (2), e13147.
- Riazi, K., Galic, M. A., Kuzmiski, J. B., Ho, W., Sharkey, K. A., & Pittman, Q. J. (2008). Microglial activation and TNF production mediate altered CNS excitability following peripheral inflammation. *PNAS*, *105*(44), 17151-17156
- Richard, X., Burman, J., & Parrish, R. R. (2018). The Widespread Network Effects of Focal Epilepsy. *Journal of Neuroscience*, *38*(19), 8107-8109
- Rose-John, S. (2018). Interleukin-6 family cytokines. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, *10*(2), Article 028415.
- Rosenow, F., Klein, K. M., Strzelczyk, A., Hamer, H. M., Menzler, K., Bauer, S., & Knake, S. (2014). Neues auf dem Gebiet der Epilepsien. *Der Nervenarzt*, *85*(8), 955–964.
- Sankaraneni, R., & Lachhwani, D. (2015). Antiepileptic drugs-a review. *Pediatric Annals*, *44*(2), e36–e42.
- Sarkis, R. A., Jehi, L., Silveira, D., Janigro, D., & Najm, I. (2012). Patients with generalised epilepsy have a higher white blood cell count than patients with focal epilepsy. *Epileptic Disorders: International Epilepsy Journal with Videotape*, *14*(1), 57–63.

- Sawada, M., Suzumura, A., & Marunouchi, T. (1995). Cytokine network in the central nervous system and its roles in growth and differentiation of glial and neuronal cells. *Int. J. Devl Neuroscience*, 13(4), 253-264.
- Scaffidi, P., Misteli, T., & Bianchi, M. E. (2002). Release of chromatin protein HMGB1 by necrotic cells triggers inflammation. *Nature*, 418(6894), 191–195.
- Scheffer, I. E., Berkovic, S., Capovilla, G., Connolly, M. B., French, J., Guilhoto, L., Hirsch, E., Jain, S., Mathern, G. W., Moshé, S. L., Nordli, D. R., Perucca, E., Tomson, T., Wiebe, S., Zhang, Y. H., & Zuberi, S. M. (2017). ILAE classification of the epilepsies: Position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*, 58(4), 512–521.
- Sei, Y., Vitković, L., & Yokoyama, M. M. (1995). Cytokines in the Central Nervous System: Regulatory Roles in Neuronal Function, Cell Death and Repair. *Neuroimmunomodulation*, 2(3), 121–133.
- Semah, F., Picot, M. C., Adam, C., Broglin, D., Arzimanoglou, A., Bazin, B., Cavalcanti, D., & Baulac, M. (1998). Is the underlying cause of epilepsy a major prognostic factor for recurrence? *Neurology*, 51(5), 1256–1262.
- Seneviratne, U., Cook, M. J., & Souza, D. (2017). Electroencephalography in the Diagnosis of Genetic Generalized Epilepsy Syndromes. *Front. Neurol*, 8, 499.
- Shanks, N., Greek, R., & Greek, J. (2009). Are animal models predictive for humans? *Philosophy, Ethics, and Humanities in Medicine*, 4(1), 2.
- Shi, F. D., Ljunggren, H. G., La Cava, A., & Van Kaer, L. (2011). Organ-specific features of natural killer cells. *Nature Reviews Immunology*, 11(10), 658–671.
- Spiga, F., Walker, J. J., Gupta, R., Terry, J. R., & Lightman, S. L. (2015). Glucocorticoid dynamics: Insights from mathematical, experimental and clinical studies. *Journal of Endocrinology*, 226(2), T55–T66.
- Suidan, G. L., Mcdole, J. R., Chen, Y., Pirko, I., & Johnson, A. J. (2008). Induction of blood brain barrier tight junction protein alterations by CD8 T cells. *PLoS ONE*, 3(8), e3037.
- Sun, J. C., & Lanier, L. L. (2011). NK cell development, homeostasis and function: Parallels with CD8 + T cells. *Nature Reviews Immunology*, 11(10), 645–657.
- Thom, M. (2014). Review: Hippocampal sclerosis in epilepsy: A neuropathology review. *Neuropathology and Applied Neurobiology*, 40(5), 520–543.
- Trinchieri, G. (2003). Interleukin-12 and the regulation of innate resistance and adaptive immunity. *Nature Reviews Immunology*, 3(2), 133–146.
- Tringali, G., Mirtella, A., Mancuso, C., Guerriero, G., Preziosi, P., & Navarra, P. (1997). The release of immunoreactive interleukin-1 $\beta$  from rat hypothalamic explants is modulated by neurotransmitters and corticotropin-releasing hormone. *Pharmacological Research*, 36(4), 269–273.

- Van de Stolpe, A., Caldenhoven, E., Stade, B. G., Koenderman, L., Raaijmakers, J. A. M., Johnson, J. P., & Van der Saag, P. T. (1994). 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate- and tumor necrosis factor  $\alpha$ - mediated induction of intercellular adhesion molecule-1 is inhibited by dexamethasone. Functional analysis of the human intercellular adhesion molecule-1 promoter. *Journal of Biological Chemistry*, 269(8), 6185–6192.
- Varadkar, S., Bien, C. G., Kruse, C. A., Jensen, F. E., Bauer, J., Pardo, C. A., Vincent, A., Mathern, G. W., & Cross, J. H. (2014). Rasmussen's encephalitis: Clinical features, pathobiology, and treatment advances. *The Lancet Neurology*, 13(2), 195–205.
- Verrotti, A., Basciani, F., Trotta, D., Greco, R., Morgese, G., & Chiarelli, F. (2001). Effect of anticonvulsant drugs on interleukins-1, -2 and -6 and monocyte chemoattractant protein-1. *Clinical and Experimental Medicine*, 1(3), 133–136.
- Vezzani, A., French, J., Bartfai, T., & Baram, T. Z. (2011). The role of inflammation in epilepsy. *Nature Reviews Neurology*, 7(1), 31–40.
- Vezzani, A., & Granata, T. (2005). Critical Review Brain Inflammation in Epilepsy: Experimental and Clinical Evidence. *Epilepsia*, 46(11), 1724-1743.
- Vitkovic, L., Bockaert, J., & Jacque, C. (2001). "Inflammatory" Cytokines. *Journal of Neurochemistry*, 74(2), 457–471.
- Vogt, S., & Mattner, J. (2021). NKT Cells Contribute to the Control of Microbial Infections. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 11, Article 718350.
- Wasserstein, R. L., & Lazar, N. A. (2016). The ASA Statement on  $p$ -Values: Context, Process, and Purpose. *The American Statistician*, 70(2), 129–133.
- Wrona, D. (2006). Neural-immune interactions: An integrative view of the bidirectional relationship between the brain and immune systems. *Journal of Neuroimmunology*, 172(1–2), 38–58.
- Wulsin, A. C., Solomon, M. B., Privitera, M. D., Danzer, S. C., & Herman, J. P. (2016). Hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis dysfunction in epilepsy. *Physiology and Behavior*, 166, 22–31.
- Zattoni, M., Mura, M. L., Deprez, F., Schwendener, R. A., Engelhardt, B., Frei, K., & Fritschy, J. M. (2011). Brain infiltration of leukocytes contributes to the pathophysiology of temporal lobe epilepsy. *Journal of Neuroscience*, 31(11), 4037–4050.
- Zhu, J. (2018). T helper cell differentiation, heterogeneity, and plasticity. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 10(10).

## 7 Anhang

### 7.1 Verzeichnis der akademischen LehrerInnen

Meine akademischen Lehrer in Marburg waren:

Arndt, Bartsch, Baum, Baumann, Becker S., Becker K., Bien, Boesner, Cetin, Daut, Dodel, Donner-Banzoff, Ellenrieder, Engenhardt-Cabillic, Fendrich, Feuser, Fuchs-Winkelmann, Geks, Görg Ch., Görg K., Hertl, Höffken, Hofmann, Horn, Hoyer, Jerrentrup, Kalder, Kann, Kill, Kircher, Klose, Köhler S., Köhler Ch., Koolmann, Kühnert, Lill, Löffler, Lohoff, Maier, Maisch, Maisner, Moll, Mueller, Müller, Mutters, Neubauer, Neumüller, Nimsky, Oertel, Opitz, Pagenstecher, Plant, Renke, Renz, Richter, Röhm, Rosenow, Ruchholtz, Schäfer, Schütz, Seifert, Seitz, Sekundo, Steiniger, Tackenberg, Vassiliou, Vogelmeier, Wagner, Weihe, Werner, Westermann, Wrocklage, Wulf, Ziller, Zwiorek

Meine akademischen Lehrer in Schwalmstadt waren:

Meuschke, Schulze, Stiebler, Stopinski, Weber

## 7.2 Danksagung

An dieser Stelle bedanke ich mich herzlich bei allen Personen, die mich auf verschiedenste Weisen unterstützt haben:

Angefangen bei Prof. Dr. med. Hajo Hamer der mir dieses Thema bereitgestellt hat. Bei Prof. Dr. med. Felix Rosenow und Dr. med. Mareike Hagge bedanke ich mich für die Betreuung und die Möglichkeit auch nach so langer Zeit diese Arbeit fertigzustellen. Ich möchte mich auch bei Dr. med. Sebastian Bauer bedanken, der mir in der Zeit in Marburg bei Fragen stets zur Seite stand. Ebenso bedanke ich mich beim Team der Video-EEG-Monitoring Einheit und der Epilepsie- Ambulanz des Universitätsklinikums Marburg für die gute Zusammenarbeit. Auch bei Prof. Dr. med. Björn Tackenberg und dem Team des FACS-Labors möchte ich mich bedanken für die Möglichkeit am FACS-Gerät zu arbeiten. Bei Tino Schmidt bedanke ich mich für das Korrektur lesen und die Unterstützung bei der Formatierung. Ich bedanke mich herzlich bei meiner Familie, die immer an mich geglaubt und mich unterstützt hat, insbesondere bei meinem Ehemann Lukas Reccius, der mir so gut es ging den Rücken freigehalten, mich motiviert und unsere Kinder bei Laune gehalten hat, wenn sie auf mich verzichten mussten. Bei meinem verstorbenen Vater möchte ich mich auch bedanken. Er hat mir die Leidenschaft für die Medizin in die Wiege gelegt und vorgelebt. Ich danke auch dem verstorbenen Edmund Benzinger, der wie der Rest der Familie immer an mich geglaubt hat, mich unterstützt hat und immer ein Vorbild dafür war, dass man alles erreichen kann, aller Umständen zum Trotz.

**Herzlichen Dank!**