

1. Einleitung

Borrelia burgdorferi, ein Bakterium aus der Familie der Spirochäten, ist das infektiöse Agens der Lyme-Krankheit oder Lyme Borreliose. Der Erreger wird durch den Biß von infizierten Zecken übertragen und ruft ein multisystemisches Krankheitsbild sowohl beim Menschen als auch bei verschiedenen Tierarten hervor. Die klinischen Symptome betreffen meist Haut, Gelenke, ZNS, Herz und Augen [1-3]. Während inzwischen viel über die klinischen Erscheinungsformen der Lyme-Krankheit bekannt ist, sind Virulenz- und Pathogenitätsfaktoren von *B. burgdorferi* zum großen Teil noch unklar.

1.1. Historischer Überblick

Die Lyme-Borreliose hat eine lange und lehrreiche Vorgeschichte. Beschreibungen von dermatologischen Manifestationen der heutigen Lyme-Borreliose gehen in Europa bis auf das letzte Jahrhundert zurück. Die Geschichte beginnt bereits 1873 mit einer ersten Abbildung einer *Acrodermatitis chronica atrophicans* (ACA) im *Atlas für Hautkrankheiten*, Rille 1898 [102], gefolgt von der Beschreibung eines *Erythema migrans* 1909 durch den schwedischen Arzt Arvid Afzelius [101] bei einer Patientin nach Zeckenbiß, und fand ihre ätiologische Aufklärung als Zecken übertragene Borreliose 1981 durch den Entomologen Willy Burgdorfer [1]. Dazwischen liegt eine lange Periode, in der Krankheitsbilder zwar mit einer durch Zecken übertragenen Infektion in Zusammenhang gebracht wurden, der sichere Erregernachweis gelang aber vor Burgdorfer niemandem.

Eine umfassende Darstellung und Benennung des Krankheitsbildes *Acrodermatitis chronica atrophicans* erfolgte bereits 1902 durch Karl Herxheimer und Kuno Hartmann in Frankfurt [103]. Der Wiener Benjamin Lipschütz berichtete 1914 über chronische Dermatosen nach Zeckenbiß und prägte auch den Begriff des *Erythema chronicum migrans* [104]. Ein Zusammenhang mit Zeckenbissen wurde von Anfang an erkannt und sowohl eine allergische als auch eine infektiöse Pathogenese diskutiert (Hellerström 1934) [105]. Eine erste Kasuistik einer Neuroborreliose publizierten die Franzosen Garin und Bujadoux 1922 [106]. Den gleichen Zusammenhang beobachtete auch Hellerström 1930 bei einem Fall von *lymphozytärer Meningitis* [107]. 1941 und 1944 beschrieb der Münchner Alfred Bannwarth das Krankheitsbild der *chronisch-lymphozytären Meningitis*, nahm aber eine rheumatische Genese an [108]. Erst Jahre später wurde die Bezeichnung *Meningopolyneuritis Garin-Bujadoux-Bannwarth* von Hörstrup und Ackermann geprägt [109].

Dermale Lymphome, früher als Lymphozytome bezeichnet, wurden 1943 von Bäfverstedt als gutartige lymphoreticuläre Proliferation der Haut definiert und als *Lymphadenosis cutis benigna* bezeichnet [110]. Insektenstiche, vor allem aber Zeckenbisse wurden schon von ihm,

später auch von Jordan (1951) als Krankheitsauslöser vermutet [111]. Die Autoren wiesen immer wieder auf vorangehende Erythemata und beobachteten auch Fälle mit nachfolgender Meningitis, Polyradiculitis sowie ACA und vermuteten für alle Krankheitsbilder ein gemeinsames infektiöses Agens. Die infektiöse Genese wurde gestützt durch die erfolgreiche Penicillintherapie von ACA durch Bianchi 1950 [112] und 1958 durch die erfolgreichen Übertragungsversuche von Hautbiopsien aus *Lymphadenosis cutis benigna* auf freiwillige Probanden durch Paschoud [113].

Kurz gesagt: Die Europäer spekulierten jahrelang über die Ätiologie, die Amerikaner, mit keiner langen Forschungsanamnese belastet, klärten sie konzentriert in wenigen Jahren auf.

Alles ging von zwei kleinen Ortschaften, Lyme und Old Lyme, in Connecticut/USA aus. Dort alarmierten zwei Hausfrauen 1975 das Gesundheitsamt über eine Endemie von Oligoarthritis und gaben sich mit der Anfangsdiagnose *Rheumatoide Arthritis* nicht zufrieden. Ihre Intervention führte zu ausgedehnten Untersuchungen von A.C. Steere und damit zur Beschreibung einer *Lyme Arthritis* [114]. Der Überträger war epidemiologisch zwar bald gefunden (Schildzecken der Gattung *Ixodes*), die diagnostische Suche nach dem Erreger ging aber erfolglos weiter. Im Jahre 1981 untersuchten Willy Burgdorfer und Jorge Benach im Rahmen eines Rickettsien-Forschungsprogrammes Zecken auf Long Island (NY, USA). Rein zufällig entdeckte Burgdorfer dabei Spirochäten im Mitteldarm der Zecken *Ixodes ricinus* und *Ixodes dammini*. Genauere Untersuchungen zeigten, daß es sich um Borrelien handelte und er vermutete, den Erreger der Lyme-Krankheit gefunden zu haben [1]. Zusammen mit Alan Babour gelang ihm die Isolierung und Kultivierung der Borrelien [60, 115]. Nachdem die Borrelien 1983 auch kulturell im Blut von Patienten mit Lyme-Krankheit und in Gewebeproben von *Erythema chronicum migrans* (ECM) nachgewiesen werden konnten, standen sie als Erreger der Lyme-Krankheit fest [116].

Auf dem 1. Internationalen Lyme-Krankheit Symposium 1983 in Yale, New Heaven, erhielt die Spirochäte den Namen *Borrelia burgdorferi*.

1.2. Der Erreger

1.2.1. Morphologie und Taxonomie

Borrelia burgdorferi (*B. burgdorferi*) gehört zur Gattung der *Borrelia*, die zusammen mit den Gattungen *Spirochaeta*, *Christaspira*, *Treponema* und *Serpulina* die Familie der *Spirochaetaceae* bildet. Die Familie der *Spirochaetaceae* und *Leptospiraceae*, zu denen auch die Gattung *Leptospira* gehört, sind in der Ordnung der *Spirochaetales* zusammengefaßt [4, 5]. *B. burgdorferi* ist ein gramnegatives Schraubenbakterium, welches mit der Giemsa- oder Silberfärbung nachgewiesen werden kann (Abb. 1).

Der lichtmikroskopische Direktnachweis gelingt meist nur im Dunkelfeldmikroskop.

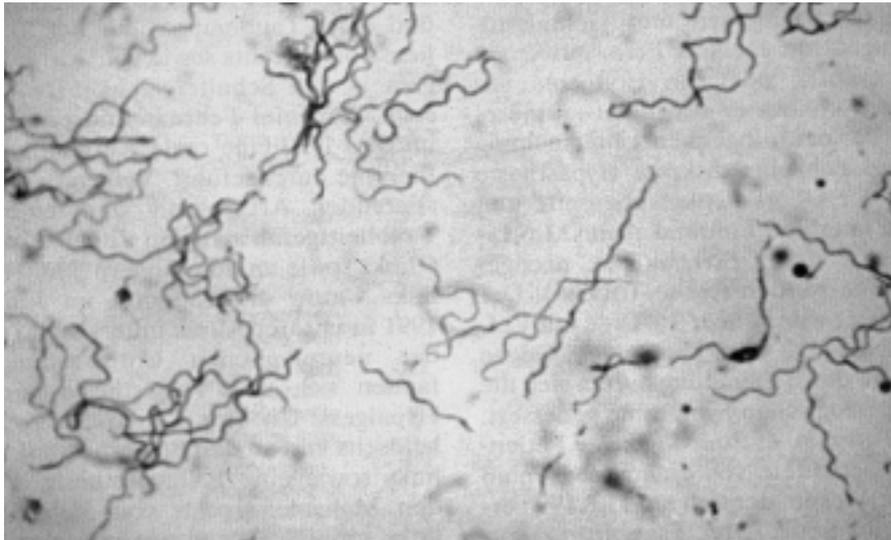


Abb. 1 *B. burgdorferi*, isoliert aus dem Liquor einer Patientin

Borrelien haben eine Länge von 10-30 μm und einen Durchmesser von 0.18 – 0.25 μm . Wie bei gramnegativen Bakterien üblich, besteht die Zellwand aus einer inneren Membran, welche den protoplasmatischen Zylinder umgibt, und einer äußeren Membran. An der inneren Membran inserieren etwa 7 – 11 periplasmatische Flagellen, wodurch die gute Beweglichkeit gewährleistet wird [117-120] (Abb. 2 und 3).

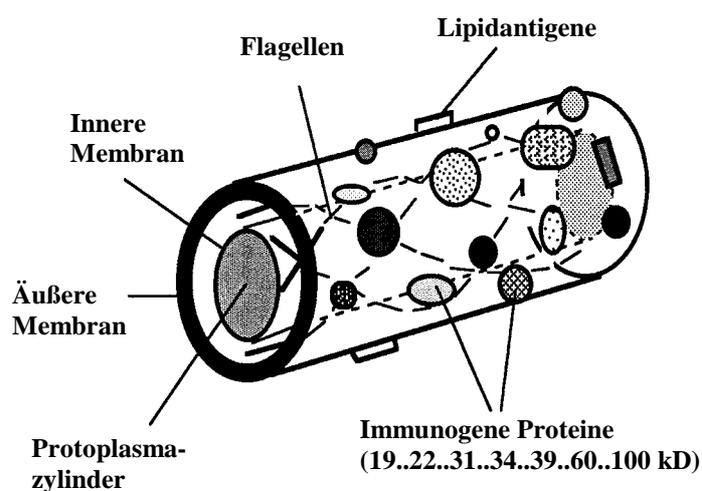


Abb. 2 Schematisch dargestellter Ausschnitt von *B. burgdorferi*



Abb.3 Elektronenmikroskopische Aufnahme von *B. burgdorferi* [242]

F = Flagellen

I = Ansatzpunkt der Flagella

► = Pfeile weisen auf die Doppelkontur der Zellwand hin

Aufgrund von molekularbiologischen Untersuchungen der 16 S ribosomalen Gensequenzen und klinischer Symptomatik wurden Kriterien festgelegt, um zwischen 8 Subtypen von *B. burgdorferi* sensu lato zu unterscheiden (Tab. 1).

Analysen der „intergenic spacer“ Region der 5S-23S rRNA Gene von *B. burgdorferi* sensu lato zeigten, daß *Borrelia afzelii*, *Borrelia valaisiana*, *Borrelia lusitaniae* und *Borrelia japonica* phylogenetisch näher mit *Borrelia garinii* verwandt sind als mit *Borrelia burgdorferi* sensu stricto. *Borrelia garinii* wird als der phylogenetisch älteste Stamm angesehen. Von den 8 beschriebenen Genospezies werden nur *B. burgdorferi* sensu stricto, *Borrelia afzelii*, *Borrelia garinii* und *Borrelia valaisiana* als Erreger der Lyme-Borreliose angesehen. Die anderen Genospezies konnten noch nicht aus Lyme-Borreliose Patienten isoliert werden, sondern sind nur aus Isolaten von Zecken und Wildtieren bekannt.

Borrelien-Stämme	Bisherige Gruppe	Vorkommen
<i>Borrelia burgdorferi</i> sensu stricto [3]		Europa und USA
<i>Borrelia garinii</i> [122]	20047	Eurasia
<i>Borrelia afzelii</i> [124]	VS461	Eurasia
<i>Borrelia japonica</i> [82]	F63B	Japan
<i>Borrelia andersonii</i> [83]	21123, auch 21038	USA
<i>Borrelia valaisiana</i> [84]	VS116 und M19	Eurasia
<i>Borrelia lusitaniae</i> [85]	PotiB2	Eurasia
<i>Borrelia bissettii</i> [86]	DN127	USA

Tab. 1 Stämme von *B. burgdorferi* sensu lato und ihre Verbreitung

B. afzelii kommt relativ häufig in Zentraleuropa und Skandinavien vor (9-84%), während *B. garinii* häufig in Westeuropa vorkommt (10-72%). *B. burgdorferi* sensu stricto ist am häufigsten in den USA vertreten, scheint aber in keiner europäischen Region zu dominieren (0-20%). *B. valaisiana* konnte in Schweiz, Niederlanden, Großbritannien, Deutschland und Skandinavien isoliert werden, es scheint die häufigste Genospezies in Irland zu sein.

B. lusitaniae dagegen konnte bisher nur in vereinzelt Fällen in Portugal und Zentraleuropa isoliert werden.

Die Einteilung von *B. burgdorferi* sensu lato in Genospezies hat auch eine klinische Relevanz. Eine Infektion mit *B. burgdorferi* sensu stricto ist häufig assoziiert mit Arthritis, meist in Nord Amerika, wo es der einzige bekannte Erreger der Lyme-Borreliose ist. *B. garinii* ist meist assoziiert mit neurologischen Symptomen, während bei *B. afzelii* eher chronische Hauterkrankungen wie ACA im Vordergrund stehen. Überlappungen zwischen den Stämmen bezüglich der klinischen Symptome existieren. Das ECM können alle humanpathogenen Stämme hervorrufen, wobei in Europa bei *B. afzelii* häufiger ein ECM beobachtet wurde als bei *B. garinii*. Am wenigsten weiß man über *B. valaisiana*, es ist bisher klinisch nur mit dem ECM assoziiert.

B. burgdorferi sensu lato kann nur in Spezialnährmedien kultiviert werden (z.B. Barbour-Stoenner-Kelly-Medium) und hat seine optimale Wachstumstemperatur zwischen 34 und 37°C, wobei die Erreger als mikroaerophil gelten [126]. Die Replikationszeit beträgt unter Laborbedingungen bei 35°C etwa 11 bis 12 Stunden.

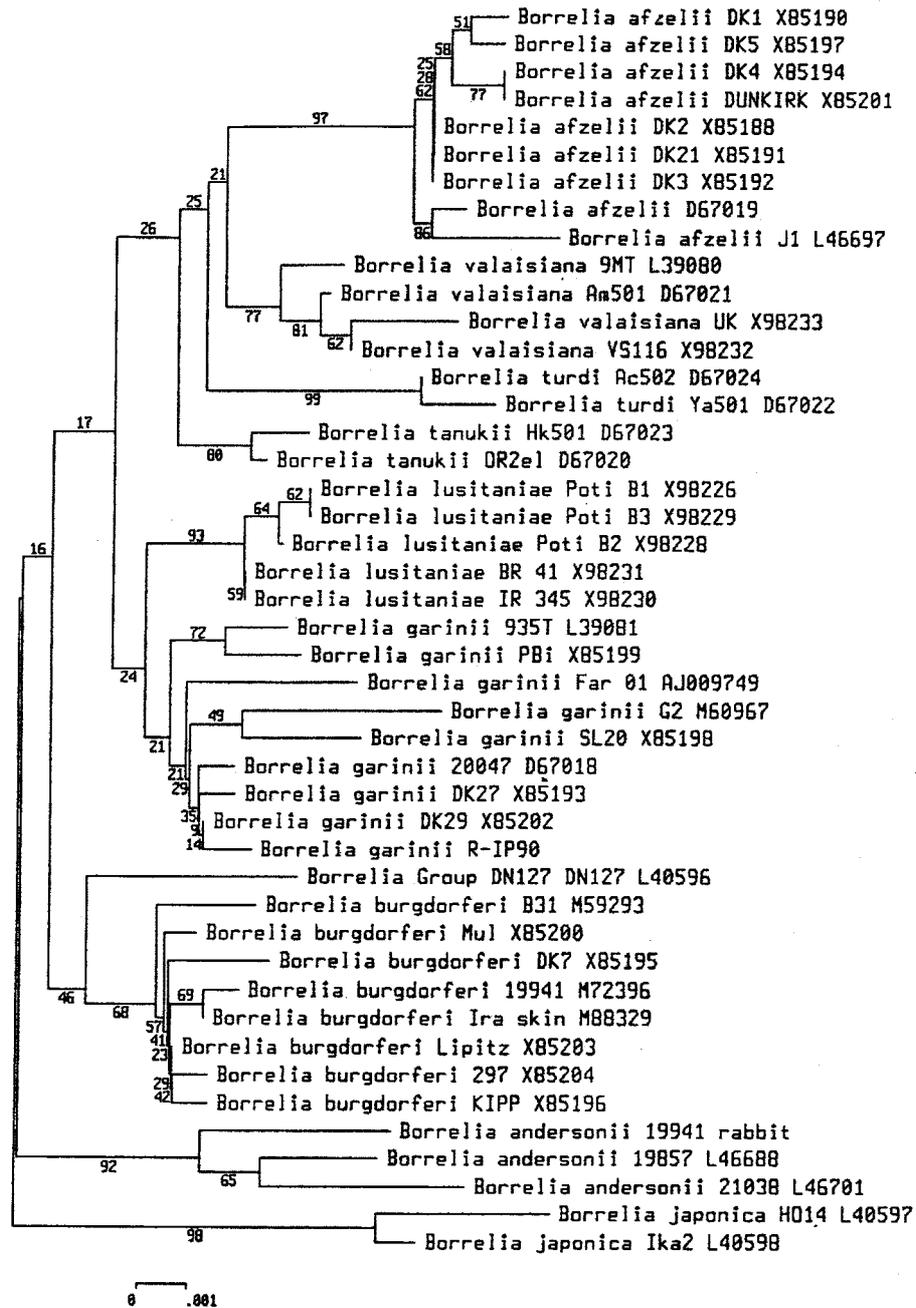


Abb. 4 Phylogenetischer Baum von *B. burgdorferi sensu lato* [244]

Daten basieren auf Vergleich der 16S rRNA Sequenzen.; bisherige Gruppenzugehörigkeit und Zugangsnummer (Accession number) der Sequenzen sind angegeben.

1.2.2. Übertragung

Die Übertragung von *B. burgdorferi* geschieht durch den Biß verschiedener Schildzeckenarten, in Europa vorwiegend durch *Ixodes ricinus* [127] (Abb. 5).

Zecken sind sehr anpassungsfähig, bevorzugen aber die gemäßigten Klimazonen bis auf eine Höhe von etwa 100 m ü.N., wobei die Rate der infizierten Zecken mit zunehmender Höhe abnimmt [128]. Sie benötigen eine relative Luftfeuchtigkeit von mindestens 75%. Geeignete

Biotope sind Laub- und Mischwälder mit reichlich Unterholz und einer dichten Krautzone, Fluß- und Bachläufe mit dichter Ufervegetation sowie moorige Gebiete.

In den untersten Vegetationsschichten findet sich eine nur wenig bewegte Luftschicht mit einer relativen Luftfeuchtigkeit von mehr als 90%, in der Bodenmatte liegt die Luftfeuchte bei 100%. In diesen Gebieten finden die Zecken optimale Lebens- und Vermehrungsbedingungen [133].

Ihre Entwicklung zeigt ein bimodales Aktivitätsmuster mit einem Maximum im Frühsommer und Spätherbst. Die Zecke entwickelt sich aus einem Ei über ein Larven- und Nymphenstadium zum adulten Tier. Für jede Metamorphose oder Eiablage ist eine vorangehende Blutmahlzeit unerlässlich (Abb. 6). Die Dauer des Lebenszyklus beträgt bei *I. ricinus* etwa 2 bis 3 Jahre, wobei die lokale Vegetation, das Klima und die Witterung einen entscheidenden Einfluß darauf haben [129].

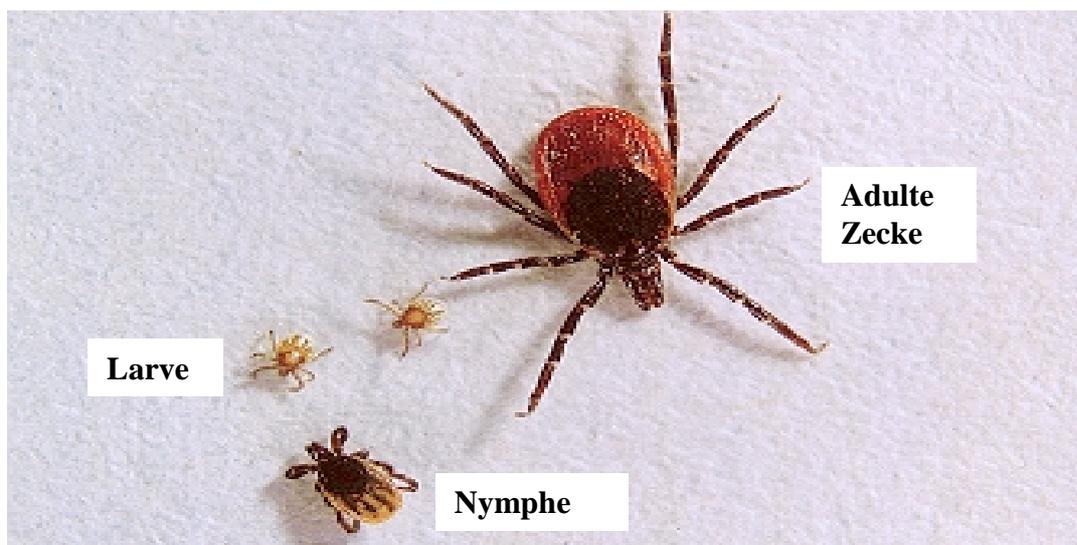


Abb. 5 Stadien der Zecke

Das Wirtsspektrum von *I. ricinus* ist vielfältig. Bis heute sind 35 Säugerarten und 45 Vogel- bzw. Reptilienarten bekannt [130]. Während Larven und Nymphen in niedriger Höhe auf ihren Wirt warten und dementsprechend die kleinen Waldtiere wie Mäuse, Igel, Vögel und Eidechsen befallen, steigen die adulten Zecken auf größere Höhen (Gräser, Sträucher) und befallen bevorzugt die großen Waldtiere wie Füchse, Rotwild, aber auch Hunde und Katzen. In Deutschland sind Haupt- und Reservoirwirte für *I. ricinus* jedoch Kleinsäuger wie die Rötelmaus, die Gelbhalsmaus und die Waldmaus [127, 131, 132].

Die Borrelien werden beim Saugakt mit dem Wirtsblut aspiriert und sind dann im Zeckendarm nachweisbar. Im Mitteldarm verbleiben die Borrelien und bilden Aggregate, es findet aber auch regelmäßig eine Durchwanderung des Darmepithels statt mit Streuung via Hämolymphe in verschiedene Organe wie Speicheldrüsen und Ovarien [134]. Beim Biß werden die Borrelien dann auf den Wirt übertragen (Abb. 7 und 8). Der Übertragungsmodus ist nicht genau geklärt. Studien zufolge werden während das Saugens großen Mengen Speichel sezerniert, hierbei wird sowohl der Darminhalt als auch das infizierte Speicheldrüsensekret regurgitiert und beim Saugakt in den Wirt eingeschwemmt [135, 136]. Das Infektionsrisiko ist dabei entscheidend von der Saugdauer anhängig [137].

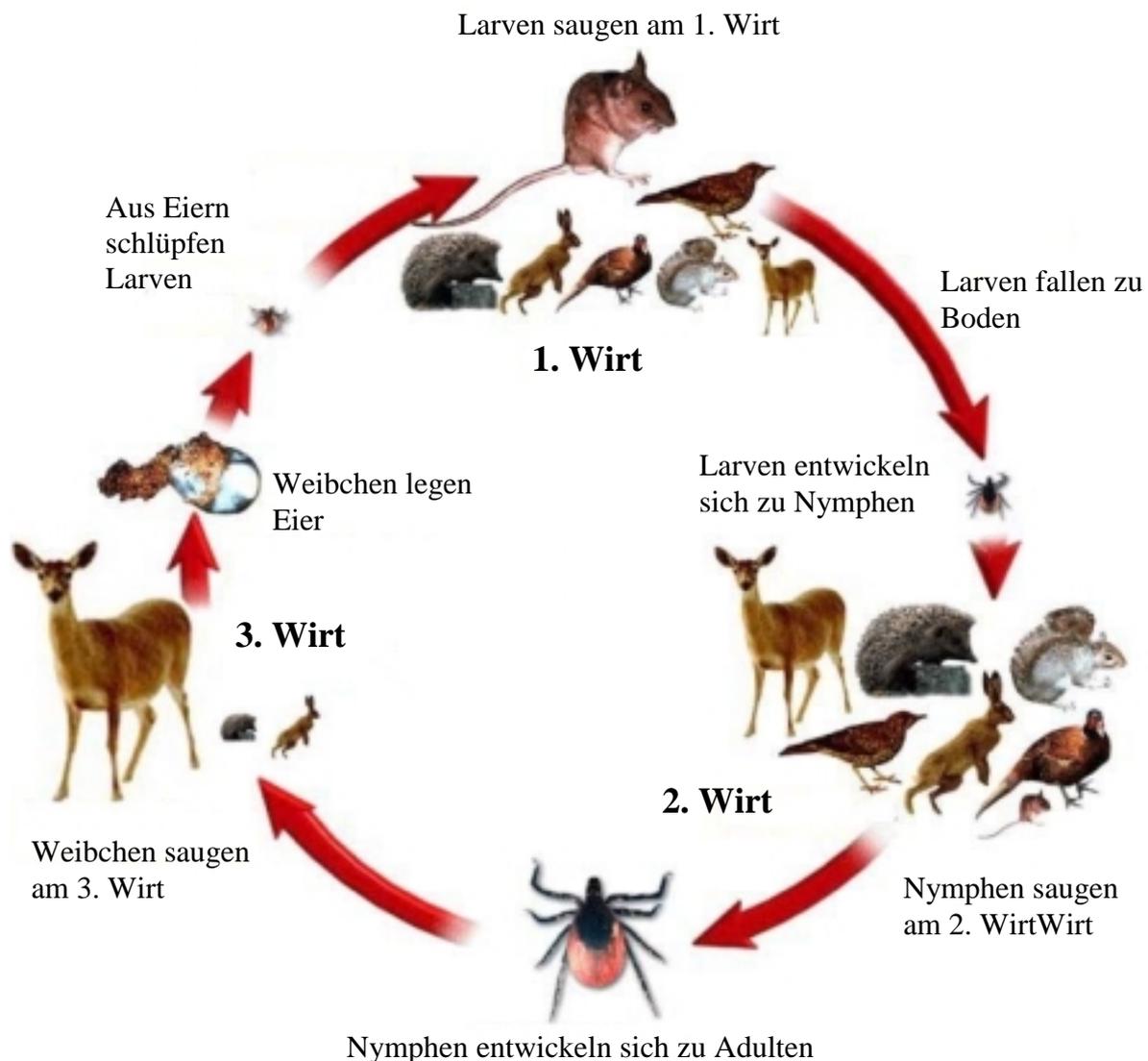


Abb. 6 Lebenszyklus und Wirte der Zecken [243]

Die relative Größe der Tiere entspricht ihrer Bedeutung als Wirtstier für die verschiedenen Lebensabschnitte der Zecke

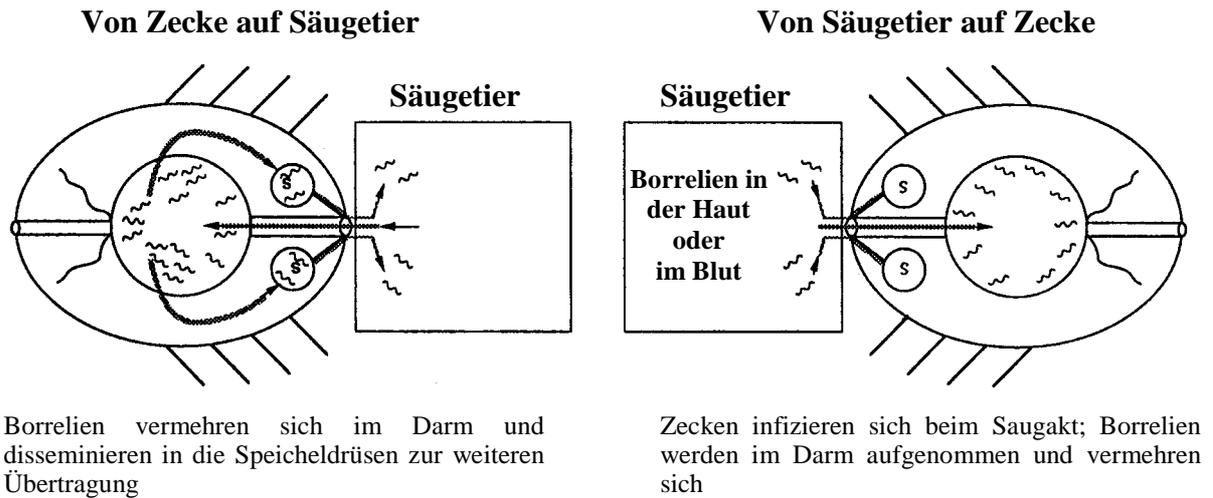


Abb. 7 Schematische Darstellung der Übertragung der Borrelien durch Zecken

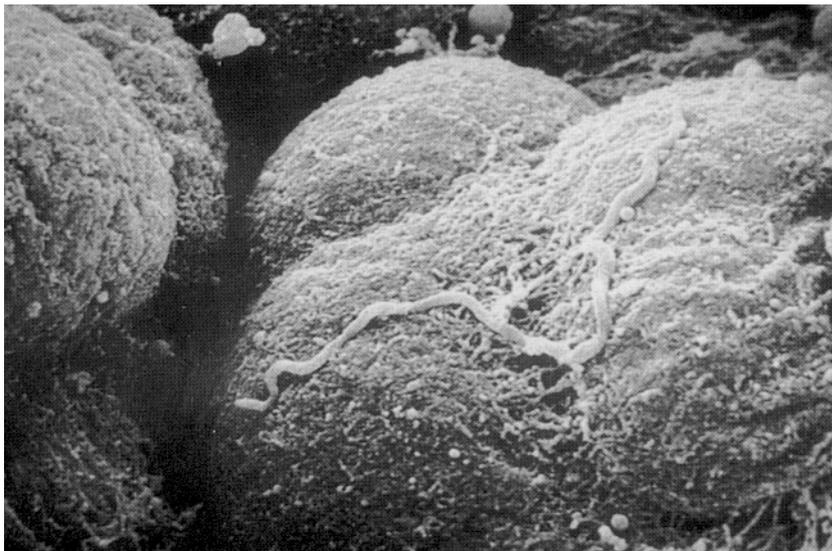


Abb. 8 *B. burgdorferi* im Darm einer Zecke [241]

1.3. Klinik der Lyme Borreliose

Die Lyme-Borreliose ist eine Multiorganerkrankung, gekennzeichnet durch eine Vielfalt an klinischen Erscheinungen und Wechselwirkungen [1-3]. Durch die Entdeckung des Erregers haben daher mehrere, bisher als selbständige nosologische Einheiten beschriebene Krankheitsbilder eine gemeinsame Ätiologie gefunden. Prinzipiell können im Rahmen der Erregerdissemination alle Organe befallen werden. Haut, Gelenke, Nervensystem und das Herz sind aber Prädilektionsorgane, die zu den bekannten und typischen

Krankheitsmanifestationen führen. Andere Organe wie Augen und Muskulatur sind eher selten betroffen [150-152].

Die Krankheit wird in 3 Stadien eingeteilt.

Stadium I (Stadium der Erstmanifestation):

Im ersten Stadium tritt nach Zeckenbiß bei einem Teil der Patienten nach einer etwa 3-wöchigen Inkubationszeit eine flächenhafte wandernde Hautrötung auf, das *Erythema chronicum migrans* (ECM). Das ECM entwickelt sich an der Stelle des Zeckenbisses und breitet sich von einer kleinen Papel ausgehend zentrifugal aus. Es ist in der Regel handteller groß und blaßt im Zentrum ab. Das ECM ist meist von Myalgien, Müdigkeit, Kopfschmerzen, Fieber und anderen Allgemeinsymptomen begleitet. Die Begleiterscheinungen und das ECM persistieren unbehandelt etwa 4 – 8 Wochen, heilen dann aber spontan ab [150-154]. Eine weitere, jedoch seltene Frühmanifestation stellt die Lymphadenitis cutis benigna (LCB) dar [110-113, 155, 156]. Bei der LCB zeigen sich typischerweise 2 – 4 cm große, blaurote Knoten an Ohr läppchen, Perimammillarregion und im Genitalbereich, meist mit begleitender Lymphadenopathie. Auch die LCB heilt unbehandelt nach Wochen ab. Auf das Stadium I kann mit zeitlicher unterschiedlicher Latenz eine Erregerdissemination und damit ein Stadium II mit Befall verschiedenster Organe folgen.

Stadium II (Stadium der Dissemination):

Das 2. Stadium tritt in 15 – 25% der Fälle nach einer Latenzzeit von 2 – 8 Wochen, manchmal auch nach mehreren Monaten, auf [157]. Ausgehend vom ECM kann es im zweiten Stadium zu einer generalisierten Infektion (Fieber, grippeartige Symptome) oder zu lokalen Krankheitsmanifestationen in einzelnen Organen wie Nervensystem, Haut, Herz oder Bewegungsapparat kommen. Allgemeine Krankheitssymptome sind rezidivierende Fieberschübe, flüchtige Gelenkschmerzen, Kopfschmerzen, Abgeschlagenheit, Nachtschweiß und Gewichtsverlust. Die neurologischen Manifestationen umfassen die Trias Meningitis, kraniale Neuritis und Radikuloneuritis [158]. Letztere wird auch als lymphozytäre Meningoradikulitis Garin-Bujadoux-Bannwarth bezeichnet [108, 109, 159]. Häufig ist auch eine ein- oder doppel seitige Fazialisparese zu beobachten [160]. Die kardiale Manifestation als Karditis ist eher selten und hat Erregungsleitungsstörungen als Hauptsymptom. An den Augen wird zuweilen eine Konjunktivitis beobachtet [161, 162]. Vereinzelt kann es auch zu einer Iritis mit nachfolgender Glaskörpertrübung und Uveitis kommen. Insgesamt werden ophthalmische Komplikationen recht selten beschrieben [163, 164]. Dagegen werden relativ häufig Arthralgien und intermittierende Arthritiden beobachtet [165, 166, 172, 173, 174].

Stadium III (Stadium der Chronizität):

Das dritte, sogenannte Spätstadium, ist den chronischen Organerkrankungen vorbehalten. Es tritt gewöhnlich nach einer mehrjährigen Latenzzeit auf. Kennzeichnend sind Organmanifestationen der Haut, der Gelenke, dem Nervensystem und dem Herzen [167]. Die Hautmanifestation ist die *Acrodermatitis chronica atrophicans* (ACA), die mitunter bis zum Erreichen des Endstadiums einen jahrzehntelangen Verlauf nehmen kann [168]. Hauptsymptome sind entzündlich-ödematöse Schwellung und livide Verfärbung der Haut im Bereich von Hand- und Fußrücken, Ellenbogen und Knien. Die Erkrankung geht nach jahrelangem Verlauf in das atrophische Stadium über, wobei die Haut papierdünn und faltig wird. Es entsteht der Aspekt der *Bratapfelhaut*. Meist erlöschen die Funktionen der Hautanhangsgebilde, wie z.B. der Schweiß- und Talgdrüsen. Die Venenzeichnung wird deutlich sichtbar, das Haar lichtet sich und Pigmentverschiebungen treten auf. In Gelenknähe entwickeln sich häufig charakteristische fibroide Knötchen.

Studien zufolge ist die *zirkumskripte Sklerodermie* als eine Variante der ACA aufzufassen [169]. Dabei kommt es zur Hautatrophie mit Ausbildung eines derb-sklerotischen Zentrums mit lividem Randwall. Der kausale Zusammenhang mit dem Lichen sclerosus et atrophicus wird noch diskutiert [170, 171, 217].

Gelenkmanifestationen mit flüchtigen Arthralgien und Arthritiden treten in allen Krankheitsstadien auf, die eigentliche Lyme-Arthritis ist jedoch eine Spätmanifestation. Dabei handelt es sich um eine akut beginnende Mon- oder Oligoarthritis, die vor allem die großen Gelenke, am häufigsten aber die Knie-Gelenke, betrifft [165, 166, 172, 173, 174]. Spontanheilungen kommen ebenso vor wie chronische Verläufe mit allmählicher Destruktion des Gelenks. Die neurologische Manifestation des 3. Stadiums ist die chronische Enzephalomyelitis. Ausgedehnte Lähmungserscheinungen wie Tetra- und Paraparesen sowie Hirnnervenausfälle sind die häufigsten Krankheitszeichen. Weiterhin kommt es zu zerebellären Symptomen, organischer Wesensänderung und Gedächtnisverlust sowie Demenz. Meist sind diese Erscheinungen Folge einer zunehmenden Demyelinisierung [175, 176].

Diese aufgestellte Einteilung in 3 Stadien muß jedoch nicht bei jedem Patienten auftreten. Der Übergang von einem zum anderen Stadium ist oft fließend und Symptome, die eigentlich verschiedenen Stadien zugeordnet werden, können auch gleichzeitig vorhanden sein. Die Reihenfolge der Stadien wird nicht immer durchlaufen und eine erste klinische Manifestation der Infektion kann in jedem Stadium erfolgen.

Schwangerschafts- und Neugeborenenborreliose:

Borrelien können während der Schwangerschaft transplazentar auf den Föten übertragen werden [177]. Mit den bisher vorliegenden Studien läßt sich weder beweisen noch widerlegen, daß eine fetale Lyme-Borreliose zu Komplikationen in der Schwangerschaft oder zu kindlichen Mißbildungen führt. Bei Infektion der Mutter im ersten Trimenon kann aber eine Mißbildung des Föten und somit ein Abort nicht ausgeschlossen werden. In mehreren Fällen konnte bei der Sektion von Fehl- und Frühgeburten der histologische und kulturelle Nachweis eines generalisierten Organbefalls mit *B. burgdorferi* erbracht und multiple Mißbildungen festgestellt werden [178]. Aufgrund zu geringer Fallzahlen läßt sich dieser Zusammenhang derzeit jedoch nicht beweisen. Beim derzeitigen Stand der Dinge wird empfohlen, die werdende Mutter bei einem Zeckenbiß während der Schwangerschaft prophylaktisch antibiotisch zu behandeln und die sonst übliche abwartende Haltung aufzugeben.

1.4. Diagnostik der Lyme Borreliose

Bei klinischem Verdacht einer Lyme-Borreliose kommt der Serologie für die Diagnosestellung eine wesentliche Bedeutung zu, da der Erreger nur in seltenen Fällen direkt nachgewiesen oder gezüchtet werden kann. Allerdings sind der serologischen Diagnostik Grenzen gesetzt. Vor allem in frühen Stadien der Infektion kann es aufgrund verspäteter Serokonversion zu falsch-negativen Ergebnissen in serologischen Tests kommen. In Frühstadien ist eine endgültige serologische Aussage nur durch eine 2-3 Wochen später erfolgende Zweituntersuchung möglich, da sich dann eine Titerbewegung feststellen läßt.

Heute übliche Routinemethoden sind der ELISA (Enzymimmunoassay), der IFT (Indirekter Immunofluoreszenz-Test), der Immunoblot und die PCR (Polymerase Chain Reaction) [179-184].

Der ELISA wird häufig als Suchtest eingesetzt. Ein fest an die Mikrotiterplatte gebundenes Antigenhomogenat dient dabei als Bindungsort für die im Patientenserum befindlichen Antikörper. Mittels enzymmarkierten polyvalenten Antihumanimmunglobulinen (Anti-IgM-, Anti-IgG und Anti-IgA-Antikörper) können die Patientenantikörper nachgewiesen werden. Da es sich bei den gängigen ELISA-Tests um Suchtests mit geringer Spezifität handelt, sollte im Anschluß an einen positiven ELISA ein IFT zur Bestätigung einer Verdachtsdiagnose durchgeführt werden. Dabei wird auf einen mit Borrelien beschichteten Objektträger Patientenserum in einer Verdünnungsreihe aufgetropft und gebundene Patientenantikörper durch Zugabe von fluoreszenzmarkierten Antihuman-IgM- oder Antihuman-IgG-Immunglobulinen sichtbar gemacht. Die Befundung erfolgt in Titerstufen.

Zur Beantwortung der Frage nach dem Krankheitsstadium (Frühstadium, chronischer Zustand bei Erregerpersistenz oder Serumnarbe nach abgeheilter Lyme Borreliose) wird ein Immunoblot im Westernblotverfahren durchgeführt. Hierbei kommt es nach Auftrennung der Borrelienantigene in der Gelelektrophorese zur Darstellung der Patientenantikörper gegen charakteristische Partialantigene von *B. burgdorferi*. Der Nachweis der gebundenen Patientenantikörper erfolgt mittels Zugabe von enzymmarkierten Antihuman-IgM- und Antihuman-IgG-Immunglobulinen.

Bei allen Tests können Kreuzreaktionen mit anderen Bakterien, vor allem mit anderen Spirochäten wie Treponemen, falsch-positive Ergebnisse liefern. Ein positives Ergebnis ist daher stetes bezüglich seiner Spezifität abzusichern. Ein Hauptproblem ist allerdings die antigene Heterogenität des Erregers selbst. Antikörper in serologischen Tests lassen sich nur dann nachweisen, wenn auch das korrespondierende Antigen im Testansatz vorhanden ist.

Man kann demnach falsch-negative Ergebnisse erhalten, wenn das diagnostisch eingesetzte Borrelienisolat (z.B. ein amerikanischer Stamm) wenig Antigengemeinschaft mit demjenigen besitzt, welches zur Infektion des Patienten (z.B. ein europäischer Stamm) geführt hat. Hierin liegt die Hauptursache dafür, daß eine Standardisierung der Diagnostik bisher nicht gelungen ist und allgemein gültige Grenzwerte nicht angegeben werden können. Daher sind diskrepante Ergebnisse zwischen den einzelnen Laboratorien und den jeweiligen Testverfahren verschiedener Hersteller nicht selten.

Da die direkte Darstellung des Erregers nur selten gelingt, wird heutzutage immer häufiger die PCR in der Diagnostik der Lyme-Borreliose eingesetzt. Verschiedene Arbeitsgruppen konnten anhand geeigneter Zielsequenzen spezifisch die DNA von *B. burgdorferi* im Patientenmaterial nachweisen, jedoch steht diese Methode noch nicht für Routinezwecke zur Verfügung [179-184]. Mittlerweile ist das gesamte Genom von *B. burgdorferi* sequenziert und es ist nur noch eine Frage der Zeit, wann geeignete PCR-Methoden auch für Routineuntersuchungen zur Verfügung stehen [80].

1.5. Therapie der Lyme-Borreliose

Schon seit 40 Jahren werden verschiedene Manifestationen der Lyme-Borreliose erfolgreich mit Penicillin behandelt. Klinische Studien der letzten Jahre zeigten aber, daß trotz adäquater Penicillintherapie Rezidive und Spätkomplikationen auftreten können [185]. Grundsätzlich haben die Manifestationen der Lyme-Borreliose eine große Spontanheilungstendenz, wobei aber die klinische Abheilung nicht gleichzusetzen ist mit der Heilung der Krankheit. Ähnlich wie bei der Lues kann sich *B. burgdorferi* inaktiv in Organ Geweben aufhalten und erst Wochen oder Jahre später wieder in Erscheinung treten. Dabei kann es zu einem neuen Krankheitsschub mit Befall der früher betroffenen oder anderer Organe kommen, oder durch

dauernde Stimulation immunologische Vorgänge und eine chronische Entzündung unterhalten werden. Der klinische Verlauf ist oft kein zuverlässiger Parameter für die Eliminierung des Erregers und eine antibiotische Behandlung sollte über die klinische Heilung hinausgehen. Im weiteren sollte bei der antibiotischen Behandlung berücksichtigt werden, daß es sich bei *B. burgdorferi* um einen langsam wachsenden Keim handelt mit einer Generationszeit von 12 bis 18 Stunden. Für eine genügende Wirksamkeit der antibiotischen Therapie muß daher eine hohe Antibiotikakonzentration für mindestens 2 bis 3 Wochen gewährleistet sein. Aus diesem Grund ist die Gabe von Antibiotika mit langer Halbwertszeit grundsätzlich sinnvoller [186]. Das Antibiotikum ist so zu wählen, daß nicht nur im Blut, sondern in erster Linie auch in den verschiedenen Organgeweben, vor allem im ZNS, in den Gelenken oder in der Herzmuskulatur eine genügende Konzentration erreicht werden kann.

Aktuelle Therapieempfehlung:

Im Stadium I und im Übergang zu Stadium II mit leichten neurologischen und arthritischen Symptomen werden orale Antibiotika appliziert:

- a) Doxycyclin 2 x 100 mg, 2 bis 4 Wochen
- b) Azithromycin 1 x 500 mg, 7 Tage
- c) Roxithromycin 2 x 150 mg, 2 bis 3 Wochen

Im 2. und 3. Stadium ist eine orale Antibiose nicht mehr zu empfehlen. Erforderlich ist eine hochdosierte intravenöse Applikation liquorgängiger Antibiotika:

- a) Ceftriaxon 1 x 2g, 2 bis 4 Wochen
- b) Cefotaxim 3 x 2g, 2 bis 4 Wochen

Im zweiten Stadium werden meist noch gute Behandlungserfolge erzielt, im dritten Stadium kommt es jedoch zu zahlreichen Therapieversagern. Hier kommt die wiederholte Behandlung mit wechselnden Antibiotika in Betracht sowie eine längerfristige Nachbehandlung mit einem oralen Antibiotikum.

1.6. Pathogenitätsfaktoren von *B. burgdorferi*

Über die Pathogenitätsfaktoren von *B. burgdorferi* ist im Gegensatz zur Klinik und Epidemiologie noch wenig bekannt. Es wurden mehrere Oberflächenproteine und Oberflächenlipoproteine beschrieben, die eine Rolle bei der Wechselwirkung mit der körpereigenen Abwehr spielen [187-190].

Für die beiden plasmidkodierten Oberflächenlipoproteine OspA (*Outer Surface Protein A*) mit einem Molekulargewicht (MG) von 31 Kilodalton (kDa) und OspB mit einem MG von 34 kDa konnte nachgewiesen werden, daß sie die Produktion von Interleukin-6, Zytokinen und *Tumor Necrosis Factor α* (TNF α) durch Knochenmarksmakrophagen anregen [24, 191,

192]. Beide Lipoproteine sind auch teilweise an der Adhärenz von *B. burgdorferi* an Human-Endothelzellen beteiligt [193, 194, 195, 196]. Jedoch konnte für beide Lipoproteine festgestellt werden, daß zwischen verschiedenen *B. burgdorferi*-Stämmen Unterschiede im MG sowohl bei OspA als auch bei OspB bestehen [197, 198]. Für OspA ist bekannt, daß es von T-Zellen erkannt wird und schon in sehr geringen Konzentrationen in der Lage ist, die Proliferation von B-Zellen zu stimulieren [24, 190, 191, 192, 199]. Verschiedene Arbeitsgruppen fanden 4 weitere plasmidkodierte Oberflächenlipoproteine von *B. burgdorferi* ermittelt [10, 18, 200, 201, 202]: OspC (MG 22 kDa), OspD (MG 28 kDa), OspE (MG 19.2 kDa) und OspF (MG 26.1 kDa). Neben diesen plasmidkodierten Oberflächenlipoproteinen ließ sich auch ein antigenes chromosomenkodiertes Glykoprotein (Oms66/p66) mit einem MG von 66 kDa identifizieren [187, 194, 201, 203, 204, 205, 206], es handelt sich dabei um ein Porin [141]. Ein anderes wichtiges Antigen ist das Flagellenprotein Flagellin, das ein MG von 41 kDa hat und spezifisch für die Gattung *Borrelia* ist [120, 207]. Sowohl dem Flagellin als auch dem OspA konnte eine chemotaktische Wirkung auf neutrophile Granulozyten nachgewiesen werden [208].

1.7. Membranlipide

Membranen legen die Außengrenze von Zellen fest und regeln den Austausch von Molekülen über diese Grenze. Sie sind widerstandsfähig, aber flexibel, selbstdichtend und selektiv permeabel für polare gelöste Stoffe. Ihre Flexibilität gestattet Formveränderungen, welche mit Zellwachstum und Bewegung einhergehen.

Membranen gliedern komplexe Reaktionsfolgen und spielen bei der biologischen Energiespeicherung und bei der Kommunikation zwischen den Zellen eine zentrale Rolle.

Dabei werden äußere Reize durch membranständige Rezeptoren aufgenommen, andererseits können Membranen selbst auch Signale erzeugen, die meist chemischer oder elektrischer Natur sind.

Membranen bestehen nur aus zwei Molekülschichten und sind daher mit einer Dicke von 6 bis 10 nm sehr dünn. Das wichtigste Merkmal des Aufbaus von Membranen ist eine Lipiddoppelschicht, die eine Schranke gegen den Durchtritt polarer Moleküle und Ionen bildet. In diese Lipiddoppelschicht verankert sind Proteine und Lipide, welche meist mit Kohlenhydratseitenketten substituiert sind.

Die Membranproteine haben spezielle Funktionen als Enzyme, Pumpen, Kanäle und Rezeptoren.

Die Membranlipide sind amphipatisch und lassen sich in drei Klassen einteilen: Cholesterin, Phospholipide und Glykolipide.

Die Phospholipide bilden die größte Gruppe der Membranlipide und leiten sich vom Glycerin oder Ceramid ab. Glykolipide bilden mit den Glykoproteinen die Glykokalix der Zellen und erfüllen wichtige biologische Funktionen [87, 88, 89] (Abb. 9).

Im folgenden soll verstärkt auf diese beiden Lipidklassen eingegangen werden.

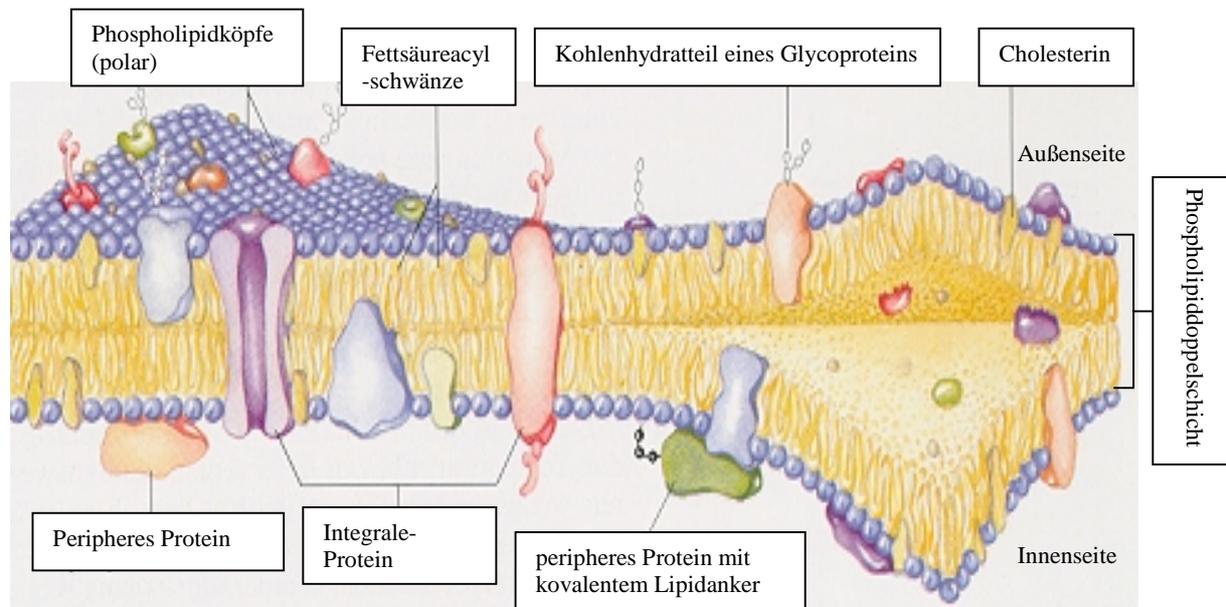


Abb. 9 Das Fluid-Mosaik-Modell der Membranstruktur [245]

Die Fettsäureacylketten bilden im Innern der Membran einen hydrophoben Lipidsee, in denen integrale Membranproteine schwimmen. Sowohl Proteine als auch Lipide können sich innerhalb der Doppelschicht frei bewegen. Die an Proteinen und Lipiden gebundenen Kohlenhydrate zeigen immer zur extrazellulären Seite.

1.7.1 Phospholipide

1.7.1.1. Glycerophospholipide

Membranen enthalten verschiedene Klassen von Lipiden, in denen zwei Fettsäuren über eine Esterbrücke mit C-1 und C-2 von Glycerin verknüpft sind, während an C-3 eine stark polare- oder geladene Kopfgruppe gebunden ist.

Von diesen polaren Lipiden kommen am häufigsten Glycerophospholipide in den Membranen vor. Bei Glycerophospholipiden ist ein polarer Alkohol über eine Phosphodiesterbindung an C-3 des Glycerins gebunden. Alle Glycerophospholipide sind Derivate der Phosphatidsäuren und werden nach ihren polaren Kopfgruppen benannt (z.B. Phosphatidylcholin und Phosphatidylethanolamin).

Für die Fettsäuren in Glycerophospholipiden steht eine breite Auswahl zur Verfügung. Sie variieren von Spezies zu Spezies und in den verschiedenen Geweben der gleichen Spezies. In der Regel enthalten Glycerophospholipide eine gesättigte Fettsäure an C-1 und eine

ungesättigte Fettsäure an C-2. Die Fettsäuregruppen sind im allgemeinen 16 oder 18 Kohlenstoffe lang [90] (Abb. 10).

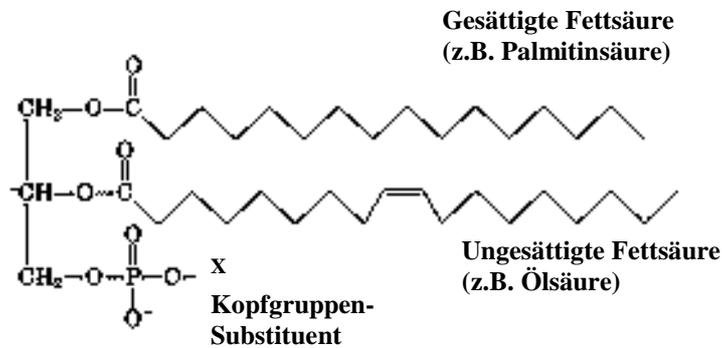


Abb. 10 Allgemeine Struktur eines Glycerophospholipids

1.7.1.2 Sphingolipide

Sphingolipide, die zweite Gruppe von Phospholipiden, haben ebenfalls einen polaren Kopf und zwei Fettsäuren, enthalten aber im Gegensatz zu Glycerophospholipiden kein Glycerin. Sie sind zusammengesetzt aus einem Molekül eines langkettigen Aminoalkohols, der sogenannten Sphingoid-Base, einem Molekül einer langkettigen Fettsäure und einer polaren Kopfgruppe.

Die Kohlenstoffe C-1, C-3 und C-3 des Spingosinmoleküls tragen funktionelle Gruppen (-OH, -NH₂, -OH). Durch Verknüpfung einer Fettsäure über eine Amidbindung mit der Sphingoid-Base entsteht ein Ceramid. Ceramid ist die allen Sphingolipiden gemeinsame Grundstruktureinheit [91, 92] (Abb. 11).

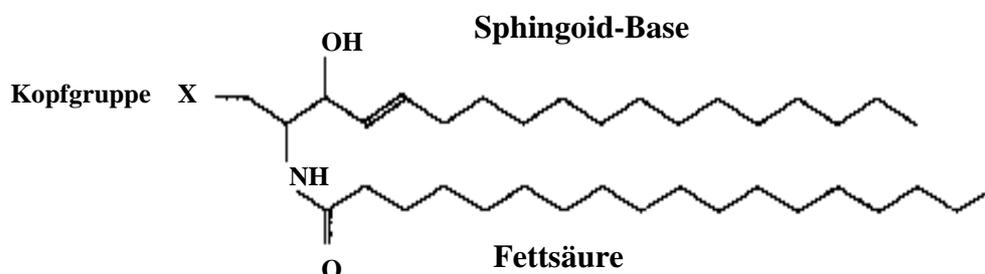


Abb.11 Allgemeine Struktur eines Sphingolipids

Es gibt drei Unterklassen von Sphingolipiden, die alle Derivate von Ceramid sind, sich jedoch in ihren Kopfgruppen unterscheiden:

- a) Sphingomyeline enthalten Phosphocholin oder Phosphoethanolamin als polare Kopfgruppe und werden daher gemeinsam mit den Glycerophospholipiden als Phospholipide klassifiziert. Die Myelinscheide, die die Axone myelinisierter Neuronen umgibt und isoliert, ist eine gute Quelle für Sphingomyeline [93].
- b) Glycosphingolipide sind zuckerhaltige Sphingolipide und enthalten einen oder mehrere Zucker in ihrer Kopfgruppe, diese sind direkt an die –OH-Gruppe am C-1 der Ceramideinheit gebunden. Als Zucker werden häufig D-Glucose, D-Galaktose und N-Acetyl-D-Galaktosamin gebunden. Diese Glycosphingolipide kommen hauptsächlich auf der äußeren Seite von Plasmamembranen vor. Bei Cerebrosiden ist nur ein Zucker an das Ceramid gebunden. Galaktosehaltige Cerebroside findet man typischerweise in Plasmamembranen von Nervengewebszellen [91-93].
- c) Ganglioside, die kompliziertesten Sphingolipide enthalten sehr große polare Köpfe, die aus mehreren Zuckereinheiten bestehen. Bei einer oder mehreren der terminalen Zucker der Ganglioside handelt es sich um N-Acetylneuraminsäure, die auch als Sialinsäure bezeichnet wird. Ganglioside machen etwa 6% der Membranlipide in der grauen Substanz des menschlichen Gehirns aus [94] (Abb. 12).

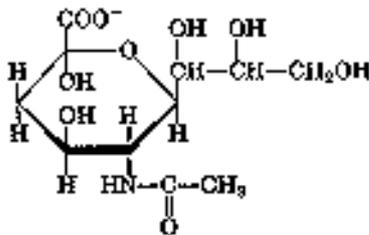


Abb. 12 Allgemeine Struktur einer N-Acetylneuraminsäure

1.7.2. Glycolipide

1.7.2.1. Glyceroglycolipide

Innerhalb der Glycolipide wird zwischen Glyceroglycolipiden und Glycerosphingolipiden unterschieden. Die Glyceroglycolipide kommen in Flora und Fauna vor und bilden die wichtigste Gruppe unter den Glycolipiden. Charakteristisch für Glyceroglycolipide sind *O*-glycosidisch an Diacylglycerol gebundene Mono-, Di- oder Trisaccharide [95] (Abb. 13).

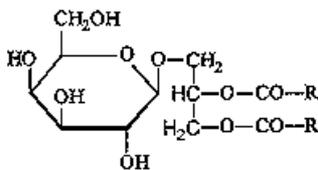


Abb. 13 Allgemeine Struktur von Glycolipiden

1.7.2.2. Glycerosphingolipide

Glycosphingolipide bilden eine weitere große Gruppe von Glycolipiden und bestehen aus einem Ceramid- und einem Kohlenhydratanteil [91, 92] (siehe 1.7.1.2. b und c).

Sie haben wichtige Funktionen in der Immunologie und sind hauptsächlich an der Differenzierung von Immunzellen beteiligt [96]. Glycosphingolipide besitzen antigene Eigenschaften, dies konnte z.B. für die humanen Blutgruppenantigene ABH, Lewis und Ii gezeigt werden [97, 98].

Störungen im Cerebrosid- und Gangliosidstoffwechsel verursachen die verheerenden Wirkungen verschiedener Erbkrankheiten wie der Tay-Sachs- und der Niemann-Pick-Krankheit [99, 229], aber auch bei Autoimmunerkrankungen wie Lupus erythematodes und Multiple Sklerose können Antikörper gegen Gangliosidstrukturen des Nervensystems nachgewiesen werden [230, 231].

Glycosphingolipide kommen in zahlreichen Bakterien vor [232, 233] und spielen eine wichtige Rolle bei der Zelladhäsion [234-240].

1.8. Problemstellung

Die Diagnostik der Lyme-Borreliose basiert hauptsächlich auf dem serologischen Nachweis der Oberflächenlipoproteine von *B. burgdorferi* im Immunoblot [6-15]. Die Identifizierung der Oberflächenproteine von *B. burgdorferi* stellte deshalb den Forschungsschwerpunkt in den letzten Jahren [5, 16-18] dar. Die wichtigsten Oberflächenproteine von *B. burgdorferi*

(OspA-F) [10, 12, 16-19] und *T. pallidum* sind Lipoproteine [13-15, 20-23]. Diese Dominanz von Lipoproteinen in beiden Bakteriengattungen spiegelt die Bedeutung der Proteinacylierung für die molekulare Architektur und Membranphysiologie der Bakterienzelle wider [142].

Es konnte gezeigt werden, daß die Lipoproteine klinisch relevante inflammatorische Eigenschaften besitzen [20, 24-26, 140] und daß diese auf deren Lipidbestandteile zurückzuführen sind [20, 27-30]. Gleichzeitig zeigten sich aber auch große Unterschiede in Verteilung und spezifischer Immunität dieser Lipoproteine, und das nicht nur zwischen amerikanischen und europäischen Stämmen von *B. burgdorferi*, sondern auch innerhalb einer Borrelienpopulation [19, 31-34]. Das ist auch einer der Gründe, weshalb eine allgemeingültige Standardisierung von serologischen Tests oder einer Vakzine so schwierig ist. Raoult et al. konnten zudem zeigen, daß Proteinantigene von *B. burgdorferi* eine hohe Kreuzreaktivität mit Seren von Patienten mit Syphilis oder Leptospirose besitzen [48].

Wenige Forschergruppen haben sich mit der Charakterisierung der Lipide von *B. burgdorferi* beschäftigt. Es ist bekannt, daß sich Lipopolysaccharide (LPS) bei gramnegativen Bakterien nachweisen lassen [41, 43]. So konnten für Leptospiren [35-37] und Treponemen [38] Lipopolysaccharide nachgewiesen werden, während dies für *B. burgdorferi* noch nicht gelungen ist. Zwar wollten Beck et al. [46, 144] ein LPS bei *B. burgdorferi* charakterisiert haben, doch die Arbeitsgruppen um Eiffert et al. [44] und Takayama et al. [39] konnten ein LPS bei *B. burgdorferi* nicht nachweisen. Auch Cinco et al. bestätigten die Abwesenheit von LPS in *B. burgdorferi*, wiesen aber auf die Existenz eines „LPS-like“ Antigens bei *B. burgdorferi* hin, welches ein MG von etwa 4-13 kDa hatte und stark mit Serum von Patienten mit Lyme-Borreliose reagierte [40, 44]. Die Arbeitsgruppe um Wheeler et al. fand ebenfalls keinen Hinweis auf ein LPS bei *B. burgdorferi*, konnte aber die Existenz zweier immunreaktiver Glykolipide im Chloroform-Methanol-Extrakt von *B. burgdorferi* darstellen [45]. Die Existenz zweier immunreaktiver Glykolipide wurde auch von Radolf et al. bestätigt [47]. Eine genaue chemische Charakterisierung dieser Glykolipide ist aber nicht erfolgt.

Es ist beschrieben, daß sich *B. burgdorferi* spezifisch an Galaktosylceramid und Glukosylceramid binden kann [138, 143], wobei es sich bei dem Rezeptor wahrscheinlich um ein Glykolipid, am ehesten ein Ceramidmonohexosid, handelt [138]. Die Bindung der Borrelien an Glykosphingolipide spielt eine wesentliche Rolle bei der Infektion der Wirtszelle durch *B. burgdorferi*. Bisher konnten 3 Proteine gefunden werden, die eine Rolle bei der Bindung an Glykosphingolipiden spielen: das 67 kDa Protein, 62 kDa Hsp60 und das 41 kDa Flagellin. Die Oberflächenlipoproteine scheinen bei der Adhäsion an Glykosphingolipiden keine Rolle zu spielen [139]. Weller et al. und Garcia-Monco et al. im Serum von Patienten mit Neuroborreliose regelmäßig Antikörper gegen Ganglioside nachweisen [146, 147, 148]. Diese Antikörper waren vor allem gegen Glykosphingolipide mit einer terminalen Galaktose

gerichtet. Es handelte sich bei diesen Antikörpern wahrscheinlich um kreuzreagierende Antikörper mikrobiologischen Ursprungs [149]. Diese kreuzreagierenden Antikörper gegen Glykosphingolipide könnten eine Rolle bei der Pathogenese der Neuroborreliose und anderer neurologischer Dysfunktionen der Lyme-Borreliose spielen [146-148].

Spirochäten wie Treponemen oder Leptospiren sind reich an Lipiden, verglichen mit anderen Bakterien [49-59]. Und im Falle von *B. burgdorferi* scheinen sie eine wichtige Rolle bei der Pathogenese der Lyme-Borreliose zu spielen. Das letzte Jahrzehnt hat unzählige Publikationen über die antigene Proteinzusammensetzung von *B. burgdorferi* geliefert, doch nur wenig ist über die Lipidstrukturen von *B. burgdorferi* bekannt.

In unserem diagnostischen Routine-Labor konnten wir regelmäßig in der Gelelektrophorese ein immundominantes Antigen in der Lauffront von Bromthymolblau nachweisen. Dieses niedermolekulare Antigen (< 10 kDa) ließ sich nicht mit Proteinfarbstoffen darstellen, zeigte aber Attribute eines Lipids wie z.B. Löslichkeit in Chloroform. In dieser Arbeit wird die chemische Struktur und das immunologische Verhalten der antigenen und nicht-antigenen Lipide von *B. burgdorferi* analysiert. Detailliertes Wissen über die Strukturen dieser Lipide gibt uns wichtige Informationen bezüglich Pathogenese und Entwicklung neuer diagnostischer Testverfahren und protektiver Vakzine.