

Diplomarbeit

**Die Rolle der Antikörper in der Pathogenese der Multiplen
Sklerose und assoziierten ZNS- Erkrankungen**

eingereicht von

Christina Hermetter

Geb. Dat.: 05.06.1989

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktorin der gesamten Heilkunde

(Dr.ⁱⁿ med. univ.)

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt am

LKH-Univ. Klinikum Graz

Abteilung für Neurologie

unter der Anleitung von

Priv.-Doz.ⁱⁿ Dr.ⁱⁿ med.univ. Dr.ⁱⁿ rer.nat. Sonja Hochmeister

Graz, am 30.03.2014

Christina Hermetter

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, am 30.03.2014

Christina Hermetter

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt:

Frau Priv.-Doz.ⁱⁿ Dr.ⁱⁿ med.univ. Dr.ⁱⁿ rer.nat. Sonja Hochmeister für die Bereitstellung des Themas, die unterstützenden Ratschläge und motivierende Betreuung.

Meiner gesamten Familie, die mich in jeder Lebensphase unterstützt hat und mir ein großer Rückhalt war. Auf nichts könnte ich je stolzer sein, als so eine großartige Familie um mich zu haben.

Meinem Freund Musi, der immer an mich geglaubt hat und mir mit seinem Humor den Alltag erheitert.

Zusammenfassung

Die molekularen Mechanismen in der Pathogenese der Multiplen Sklerose und assoziierten ZNS- Erkrankungen sind bis heute nicht vollständig aufgeklärt. Die Definition der Rolle der Antikörper gewann in den letzten zehn Jahren zunehmend an Bedeutung und ist nach wie vor ein „hot topic“ in der Multiplen Sklerose-Forschung. Die Identifizierung eines Antikörpers als Biomarker ist von großem Interesse, auf der einen Seite für die Diagnostik, Prognoseabschätzung der/des Betroffenen und individuelle Therapie, andererseits für die Aufklärung der Pathogenese der Erkrankung. Das Ziel der vorliegenden Arbeit war deshalb den derzeitigen Wissensstand über die Rolle der Antikörper in der Multiplen Sklerose und assoziierten Erkrankung, wie der Neuromyelitis optica darzulegen.

Zur Beantwortung der Forschungsfrage wurde eine umfassende Literaturrecherche in medizinischen Datenbanken durchgeführt. Die Literatur wurde sorgfältig aufgearbeitet, neue Erkenntnisse zusammengefasst und interpretiert.

Bislang gibt es einige vielversprechende neue Ansätze. Die Entdeckung der Aquaporin4-Antikörper stellte einen enormen Fortschritt in der Forschung dar. Erstmals war eine klare Trennung der NMO von der Multiplen Sklerose anhand eines Bluttests möglich. Die KIR4.1-Antikörper könnten eine ähnlich bedeutsame Rolle spielen, weitere Studien bleiben abzuwarten.

Zusammenfassend gilt, dass es zum jetzigen Zeitpunkt keinen spezifischen Biomarker für die Multiple Sklerose gibt. Die jüngsten Forschungsergebnisse, besonders am Beispiel der NMO, sind jedoch ermutigend. Daher sind weiterführende Studien, die ihren Fokus auf die Validierung der neu entdeckten Antikörper als Biomarker legen, erforderlich.

Abstract

To date, the molecular mechanisms in the pathogenesis of multiple sclerosis and associated CNS diseases have not been fully explored yet. Defining the role of antibodies has increasingly become a focus of interest in the last decade and is still a "hot topic" in Multiple Sclerosis research. The biomarker-identification is of great importance, on the one hand for the diagnosis, prognosis estimation of the person concerned and an individual therapy, on the other hand for the elucidation of the pathogenesis of the disease. The aim of this thesis was therefore to lay out the current state of knowledge on the role of antibodies in multiple sclerosis and associated diseases, such as neuromyelitis optica.

In order to answer the research question, a comprehensive literature search in medical databases needed to be carried out. The literature was carefully studied, new findings summarized and interpreted.

So far, there are some promising new approaches. The discovery of Aquaporin4-antibodies was a huge step forward. For the first time a clear separation between NMO and multiple sclerosis on the basis of a blood test was possible. The KIR4.1-antibodies could play a similarly important role, further studies remain to be seen.

In summary, at present there are no specific biomarkers in multiple sclerosis. The recent research results, especially in the case of NMO, are still encouraging. Further studies that put their focus on the validation of newly discovered antibodies as biomarkers are now required.

Inhaltsverzeichnis

Eidesstattliche Erklärung	i
Danksagung.....	ii
Zusammenfassung.....	iii
Abstract.....	iv
Inhaltsverzeichnis	v
Abkürzungsverzeichnis	vii
Abbildungs- und Tabellenverzeichnis	viii
1 Einführung.....	- 1 -
1.1 Problemstellung	- 1 -
1.2 Zielsetzung.....	- 3 -
1.3 Forschungsfrage	- 3 -
2 Material und Methoden.....	- 4 -
2.1 Literaturrecherche	- 4 -
2.2 Aufbau der wissenschaftlichen Arbeit	- 4 -
3 Hintergrundwissen	- 5 -
3.1 Multiple Sklerose- die Krankheit mit den tausend Gesichtern	- 5 -
3.2 Neuromyelitis Optica- mehr als eine MS-Variante.....	- 10 -
4 Antikörper bei Multipler Sklerose.....	- 13 -
4.1 Die Rolle der Antikörper.....	- 13 -
4.2 Die Vorreiter in der Biomarkersuche	- 16 -
4.2.1 Oligoklonale Banden.....	- 16 -
4.2.3 MOG-Antikörper.....	- 19 -
4.3 Axo-gliale Proteine	- 21 -
4.4 Kalium Kanal KIR4.1	- 25 -

5	NMO und Aquaporin 4-Antikörper.....	- 29 -
5.1	<i>Aquaporin 4.....</i>	<i>- 29 -</i>
5.2	<i>NMO Läsionen- ein typisches Bild</i>	<i>- 31 -</i>
5.3	<i>NMO-Antikörper</i>	<i>- 34 -</i>
6	Diskussion.....	- 36 -
6.1	<i>Schlussfolgerung und Ausblick</i>	<i>- 41 -</i>
7	Literaturverzeichnis	- 42 -
7.1	<i>Internetquellen</i>	<i>- 46 -</i>

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
AQP	Aquaporin
EAE	Experimentelle Autoimmune Enzephalomyelitis
EDSS	Expanded Disability Status Scale
ELISA	Enzym-Linked Immuno Sorbent Assay
Et al.	Und andere
Gfap	Glial fibrillary acidic protein
HLA	Humanes Leukozyten Antigen
IDD	<i>Inflammatory demyelinating diseases</i>
Kir	<i>K⁺ inwardly rectifying</i>
Ig	Immunglobulin
MOG	Myelin Oligodendrozyten Glykoprotein
MRT	Magnetresonanztomographie
MS	Multiple Sklerose
NF-155	Neurofascin-155 (155 kDA ¹)
NMO	Neuromyelitis optica
OAP	Orthogonale Partikelkomplexe
OKB	Oligoklonale Banden
OND	Other Neurological Diseases
PP-MS	<i>Primary Progressive MS</i>
PR-MS	<i>Progressive Relapsing MS</i>
RR-MS	<i>Relapsing Remitting MS</i>
SP-MS	<i>Secondary Progressive MS</i>
SLE	Systemischer Lupus Erythematoses
TAG-1	<i>Transiently-expressed Axonal Glycoprotein</i>
ZNS	Zentralnervensystem

¹ Einheit für die molekulare Masse

Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Abbildung 1: Verlaufsformen der MS.....	- 6 -
Abbildung 2: Vier Säulen der Therapie.....	- 9 -
Abbildung 3: Nachweis von OKB im Liquor.	- 17 -
Abbildung 4: Lokalisation der Nf-Isoformen.....	- 23 -
Abbildung 5: Validierung von KIR4.1 als Zielstruktur der Serum-IgG-Reaktion bei MS-PatientInnen	- 26 -
Abbildung 6: Verteilung von AQP4 im ZNS und Intestinaltrakt.	- 29 -
Abbildung 7: AQP4-Verlust und Astrozytenschädigung bei NMO	- 32 -
Abbildung 8: AQP4-Expression bei MS und NMO.....	- 33 -
Tabelle 1: Vergleich MS und NMO	- 12 -

1 Einführung

1.1 Problemstellung

Die Multiple Sklerose stellt, abgesehen von Trauma, die häufigste Ursache für eine Invalidität und Arbeitsunfähigkeit bei jungen Erwachsenen dar. Weltweit sind rund zwei Millionen Menschen davon betroffen. (Lalive 2008, Dutta und Trapp 2011).

Sie ist damit der Prototyp des Formenkreises der inflammatorischen demyelinisierenden Erkrankungen (IDD) des Zentralnervensystems. Diese Entitäten weisen ein breites Spektrum an Erkrankungen auf, die sich in ihrem klinischen Verlauf, ihrer epidemiologischen Verteilung, bildgebenden Befunden und Immunpathogenese unterscheiden (Lassmann et al. 2007).

Zu den sogenannten MS-Varianten zählen folgende, durch multifokale Läsionen im ZNS gekennzeichnete Erkrankungen:

- Akute demyelinisierende Enzephalomyelitis (ADEM)
- Marburg Erkrankung
- Balo's konzentrische Sklerose
- Rezidivierende demyelinisierende Enzephalomyelitis (RDEM) (Lalive 2008)

Die Neuromyelitis optica- nach ihrem Erstbeschreiber auch Devic-Syndrom genannt- galt ebenso lange Zeit als Variante der MS. Vielen PatientInnen mit initialen Symptomen einer NMO wurde eine MS diagnostiziert. Weder für MS noch für NMO gab es diagnostische Marker. Die frühe Diagnosestellung ist besonders wichtig, da die beiden Erkrankungen einer unterschiedlichen Therapie bedürfen und sich daraus die Prognose ableitet. Die Entdeckung eines spezifischen IgG-Auto-Antikörpers bei der NMO im Jahre 2004, revolutionierte das Verständnis über die Pathogenese dieser seltenen Erkrankung. Seither wird die NMO als eigenständige Entität betrachtet (Lennon et al. 2004, Barnett und Sutton 2012).

Die inflammatorischen demyelinisierenden ZNS-Erkrankungen weisen einige gemeinsame Merkmale auf. Sie alle treten idiopathisch auf, betreffen ausschließlich das ZNS, insbesondere die weiße Substanz, führen zu einer Demyelinisierung und sind durch komplexe inflammatorische Reaktionen aus Lymphozyten, aktivierten Makrophagen sowie Mikroglia, gekennzeichnet. Eine eindeutige Diagnosestellung ist daher unter diesen Umständen nur erschwert durchführbar, wobei in Folge einer Verwechslung zudem die Gefahr einer fehlerhaften Diagnose besteht (Lassmann et al. 2007, Lalive 2008).

Unterschieden werden die IDD anhand des klinischen Verlaufs, den körperlichen Untersuchungen kombiniert mit bildgebenden Verfahren sowie biologischen Tests und dem Ausschluss anderer Ursachen wie etwa Infektionen oder Tumoren.

Bis zum jetzigen Zeitpunkt ist jedoch trotz intensiver Forschung der ätiologische sowie pathophysiologische Mechanismus dieser komplexen Erkrankungen nicht vollständig geklärt (Lalive 2008).

Die Rolle der Antikörper bei der MS und anderen Subtypen zu definieren stellt bis heute eine Herausforderung dar. Einige Gründe dafür sind das unterschiedliche klinische Ansprechen auf Antikörper-Eliminationstherapien (wie etwa Plasmapherese) sowie Schwierigkeiten im Aufzeigen der spezifischen und funktionellen Rolle von Antikörpern. Bei einigen IDD fehlen zudem Antikörperablagerungen im ZNS.

Eine Vielzahl dieser Erkrankungen wird mit der Präsenz spezifischer Antikörper assoziiert. Trotz Identifizierung neuer Antikörper in den letzten Jahren, gibt es noch viele ungeklärte Fragen bezüglich deren Signifikanz für die IDD.

Die Entdeckung von potenziellen diagnostischen Biomarkern könnte der Schlüssel zum besseren Verständnis molekularer Mechanismen sein und die Diagnostik, Prognoseabschätzung und personalisierte Behandlung entscheidend verbessern (Lalive 2008).

1.2 Zielsetzung

Ziel dieser Diplomarbeit ist es, einen Überblick über den aktuellen Stand in der Biomarkerforschung zu schaffen sowie auch die Bedeutsamkeit der Thematik hervorzuheben. Im Weiteren sollen vielversprechende neue Erkenntnisse aufgezeigt und interpretiert werden. Den LeserInnen soll über dieses Thema ein aktuelles Bild vermittelt werden und so in Folge zu einem besseren Verständnis der noch nicht hinreichend geklärten Rolle der Antikörper führen. Dafür wurden im Rahmen der Diplomarbeit die wesentlichen Erkenntnisse zusammengeführt und beurteilt.

1.3 Forschungsfrage

Wie ist der derzeitige Wissensstand über die Rolle der Antikörper in der Multiplen Sklerose und anderen ZNS-Erkrankungen wie der Neuromyelitis optica?

Die Forschungsfrage ist für Männer und Frauen gleichermaßen bedeutsam, für Frauen vielleicht etwas mehr, da sie häufiger an MS erkranken.

2 Material und Methoden

2.1 Literaturrecherche

Zur Beantwortung der Forschungsfrage war eine umfassende Literaturrecherche notwendig. In den elektronischen Datenbanken wie PubMed und Zeitschriftenkatalogen, wie dem New England Journal of Medicine, Journal of Neurological Sciences, The International Journal of Biochemistry& Cell Biology, Journal of Neuroimmunology gab es eine große Menge an englischsprachiger geeigneter Literatur, die eine detaillierte Suche nach verschiedenen Forschungsgebieten und aktuellsten Ergebnissen ermöglichte. Die Literatursuche wurde auf Publikationen der letzten zehn Jahre begrenzt.

Die verwendeten Schlüsselbegriffe waren unter anderen: antibodies, biomarkers, central nervous system, multiple sclerosis, neuromyelitis optica, demyelinating diseases, grey matter injury, neurofascin, contactin, node of ranvier, immunological patterns, autoantigens, autoimmunity, prognosis, aquaporin-4, AQP4, potassium channel, MOG, OCB, intrathecal synthesis.

2.2 Aufbau der wissenschaftlichen Arbeit

Die Arbeit ist in mehrere Teile gegliedert:

1. Im Einleitungsteil wurde die Problemstellung erörtert. Es wurden zudem die Forschungsfrage und die Zielsetzung der Diplomarbeit dargestellt.
2. Im folgenden Teil wird versucht den LeserInnen ein fundiertes Hintergrundwissen zum besseren Verständnis der Thematik zu verschaffen.
3. Anschließend werden die Ergebnisse der bereits erfolgten Forschungen dargestellt.
4. Schlussendlich werden die wichtigsten Erkenntnisse zusammengefasst, interpretiert und die Forschungsfrage beantwortet.

3 Hintergrundwissen

3.1 Multiple Sklerose- die Krankheit mit den tausend Gesichtern

Die Multiple Sklerose ist eine immunvermittelte, chronisch entzündlich-neurodegenerative Erkrankung des Zentralnervensystems (Lalive 2008).

Über die zugrundeliegende Ursache der MS ist bis heute wenig bekannt. Erbliche Faktoren, Umwelteinflüsse, Infektionen sowie niedrige Vitamin D Spiegel werden in Zusammenhang diskutiert. Man geht davon aus, dass letztendlich eine multifaktorielle Genese zur Manifestation der Erkrankung führt (Derfuss et al. 2010). Erstgradige Verwandte von MS-PatientInnen haben ein bis zu fünf prozentig erhöhtes Risiko an MS zu erkranken, bei eineiigen Zwillingen beträgt es 20-35% (Lalive 2008).

Die Erkrankung beginnt meist im jungen Erwachsenenalter, häufig zwischen dem 20. und 40. Lebensjahr. Eine Erstmanifestation im Kindes- oder Greisenalter ist selten. Frauen sind generell ungefähr zwei bis drei Mal häufiger betroffen als Männer (Stüve und Oksenberg 2006).

Die MS ist die häufigste, zu bleibender Behinderung und Arbeitsunfähigkeit führende, neurologische Erkrankung bei jungen Erwachsenen und betrifft weltweit mehr als zwei Millionen Menschen. Aufgrund ihres frühzeitigen Auftretens ist sie, sowohl vom persönlichen als auch vom gesundheitsökonomischen Aspekt betrachtet, eine hohe Belastung. Die höchste Prävalenz weist die Bevölkerung kaukasischen Ursprungs auf (Lalive 2008, Derfuss 2012).

Die Erkrankung kann jede Struktur im ZNS betreffen, wobei je nach Lokalisation der Entzündungsherde unterschiedliche Symptome auftreten. Die häufigsten Beschwerden bei Erstvorstellung sind, Sehstörungen als Ausdruck einer Optikusneuritis, Sensibilitätsstörungen, Gangstörungen sowie eine belastungsabhängige Schwäche der Beine. Diese Symptome können sowohl isoliert als auch kombiniert auftreten und müssen mindestens 24 Stunden anhaltend sein (Stüve und Oksenberg 2006).

Unterschieden werden vier klinische Verlaufsformen, die in Abb. 1 veranschaulicht dargestellt sind:

- a. Schubförmig remittierende MS (RR-MS): Der Verlauf ist gekennzeichnet durch vollständige Remissionen oder einzelne Residuen. Betrifft zu Krankheitsbeginn nahezu 85% der PatientInnen und ist damit die häufigste Form. Innerhalb der darauffolgenden zehn Jahre, entwickeln etwa 50% der Menschen mit RR-MS eine sekundär chronisch progrediente Form.
- b. Schubförmig progrediente MS (PR-MS): Bei der Seltensten der vier Verlaufsformen (betrifft ca. 5%), zeigt sich anfangs das Bild einer PP-MS, phasenweise kommt es jedoch zur vollständigen Remission.
- c. Primär chronisch progrediente MS (PP-MS): Die Symptome verlaufen schleichend und progredient ohne Schub- oder Remissionsphasen. Das Besondere ist, dass sich diese MS, verglichen mit anderen MS-Formen erst zu einem späteren Zeitpunkt manifestiert, meist in der vierten Lebensdekade und beide Geschlechter gleich häufig betroffen sind.
- d. Sekundär chronisch progrediente MS (SP-MS): Diese MS verläuft initial schubförmig und in weiterer Folge mit oder ohne Schübe progredient (Stüve und Oksenberg 2006).

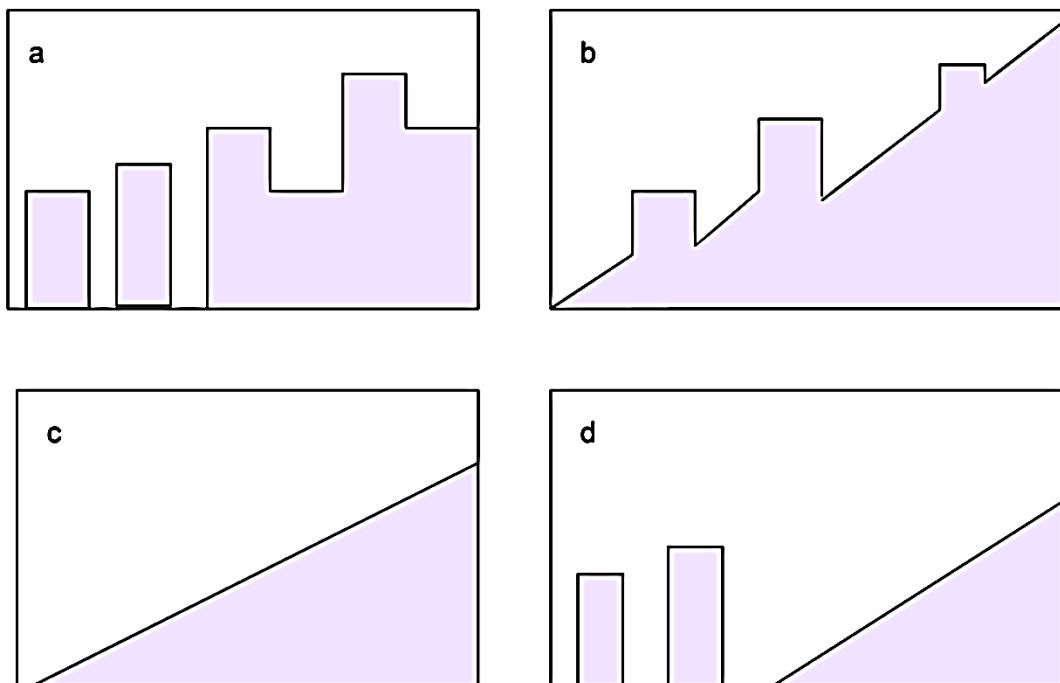


Abbildung 1: Verlaufsformen der MS: a) RR-MS, b)PR-MS, c) PP-MS, d) SP-MS, Hoffmann et al. 2009.

Der Krankheitsverlauf ist sehr variabel und lässt sich zu Beginn der Erkrankung langfristig nicht voraussagen. In 10-15% verläuft die Erkrankung benigne und die PatientInnen brauchen auch nach 20 Jahren keinerlei Gehhilfen. Andererseits gibt es ausgesprochen fulminante Verlaufsformen, wo Patienten innerhalb von fünf Jahren einen hohen Behinderungsgrad entwickeln. Auch bei Patienten mit positiver Familienanamnese hinsichtlich MS ist das Spektrum der Verläufe innerhalb der Verwandtschaft breit gefächert (Stüve und Oksenberg 2006, Derfuss et al. 2012).

Mit einer schlechteren Prognose assoziierte Faktoren sind, eine hohe Schubrate innerhalb der ersten zwei bis drei Erkrankungsjahre, unvollständige Rückbildung der Schübe, motorische Ausfälle in der Frühphase, männliches Geschlecht und ein hohes Erstmanifestationsalter. Zusätzlich geben paraklinische Kriterien, wie initial zahlreiche Läsionen in der MRT und MS-typische elektrophysiologische Befunde, Hinweise auf ein aktives Stadium der Erkrankung. Im Einzelfall ist die Vorhersagekraft aus diesen Parametern jedoch leider gering (Derfuss 2012).

Die Pathogenese ist sehr komplex. Über einen längeren Zeitraum hat man vergeblich versucht, den einen speziellen Pathomechanismus der MS zu identifizieren. Ursprünglich war die Pathologie der MS definiert als inflammatorischer Prozess, assoziiert mit disseminierten demyelinisierenden Entzündungsherden (sogenannten Plaques) in der weißen Substanz des Gehirns und Rückenmarks. Die Entzündung wird durch eine zellulär-vermittelte Immunreaktion mit T-Zellen, aktivierten Makrophagen sowie Mikroglia dominiert und von einem ausgeprägten Integritätsverlust der Blut-Hirn-Schranke begleitet. Jedoch sind zumindest in bestimmten Subtypen auch andere Faktoren wie Autoantikörper, proinflammatorische Zytokine und Chemokine, Komplementaktivierung an den pathophysiologischen Vorgängen beteiligt. Durch die vollständige Demyelinisierung kommt es zu einer sekundären axonalen Degeneration und entgegenwirkenden reaktiven Gliose. Diese neuropathologischen Vorgänge führen schlussendlich zu einer Verzögerung bis hin zum Verlust der Reizleitung im ZNS (Lassmann et al. 2007, Dutta und Trapp 2011).

Neben diesen Veränderungen der weißen Substanz, wird auch der Kortex, besonders in progressiven Stadien, schwer geschädigt (Lassmann et al. 2007, Dutta und Trapp 2011).

Die ausgeprägte Variabilität der Erkrankung mit unspezifischen Symptomen erschwert die Diagnosestellung häufig. Die Diagnose beruht bislang auf einer ausführlichen klinischen Untersuchung zusammen mit Befunden aus Labor, Elektrophysiologie, MRT und Liquoranalytik mit Bestimmung von oligoklonalen IgG-Banden. Seit der Entdeckung von erhöhten Immunglobulinen im Liquor bei über 90% der MS-PatientInnen ist der Nachweis OKB ein sehr sensitiver diagnostischer Marker, wobei die Spezifität jedoch gering ist. Letztendlich entscheidend für die Diagnose, ist der Nachweis einer örtlichen und zeitlichen Dissemination der Entzündungsherde (Reindl et al. 2006, Ottervald et al. 2010).

Die McDonald-Kriterien dienen als Diagnoseleitlinien und weisen aktuell den MRT-Befunden die größte Bedeutsamkeit zu. Erstmals wurden sie im Jahre 2001 publiziert, in den Jahren 2005 und 2010 erfolgte eine Revision. Nun ist eine Diagnose bereits möglich, wenn nach dem ersten Krankheitsschub nachweisbare Auffälligkeiten in der elektrophysiologischen Untersuchung vorliegen und sich zusätzlich mindestens zwei MS-typische Läsionen in der initialen MRT finden. Diese Läsionen sollten an zwei von vier MS-typischen Lokalisationen (im Gehirn periventrikulär, juxtakortikal, oder infratentoriell oder im Rückenmark) vorliegen (Polman et al. 2011). Für eine genauere Auflistung der Kriterien wird auf die Publikation von Polman et al. 2011 verwiesen.

Die MS ist nicht nur in Ätiologie, klinischem Verlauf, pathophysiologischen Prozessen, sondern auch hinsichtlich der Therapieerfolge sehr heterogen. Ist die Diagnose gestellt, sollte so früh wie möglich nach ausführlicher Aufklärung über mögliche Nebenwirkungen und in Absprache mit den PatientInnen eine Therapie eingeleitet werden. Bisher besteht keine kausale Therapiemöglichkeit. Die verfügbaren Therapiemaßnahmen richten sich in erster Linie gegen inflammatorische Prozesse, beeinflussen aber kaum die sekundären Leitungsstörungen und sind in der progressiven Phase wenig effizient (Weissert 2013, Lassmann et al. 2007).

Welche Therapien für welche PatientInnen erfolgversprechend sind, ist sehr variabel und schwer vorauszusagen. Der Therapieerfolg wird anhand der Schubrate, Progression der Behinderung und neu aufgetretener Läsionen im MRT innerhalb eines Jahres beurteilt (Derfuss 2012).

Grundsätzlich stützt sich die Behandlung der MS auf vier Säulen, die je nach Bedarf zum Einsatz kommen:

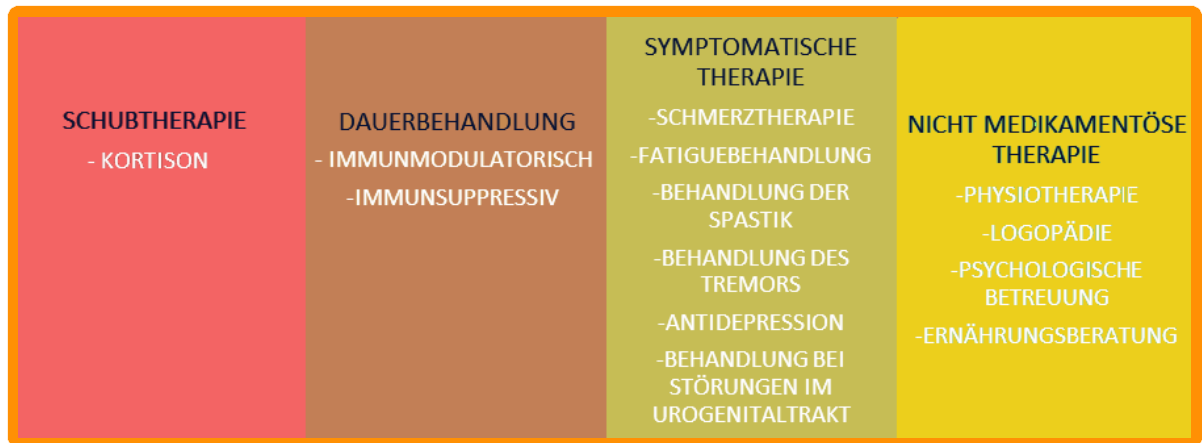


Abbildung 2: Vier Säulen der Therapie,
Eigene Erstellung in Anlehnung an Limmroth und Sindern 2004.

Bis zum jetzigen Zeitpunkt gibt es keine Biomarker, die den ÄrztInnen eine individuelle Prognoseabschätzung ermöglichen. Die Wahl der richtigen Therapie stellt eine Herausforderung dar und bedarf einer langjährigen Erfahrung des/der Behandelnden. Jede Therapie birgt ein beträchtliches Risiko, da bei einer fehlerhaften Auswahl der/die Betroffene wertvolle Zeit verliert. Deshalb ist die Identifizierung spezifischer Biomarker, die eine Prognoseabschätzung und individuelle personalisierte Therapie ermöglichen, von maßgebender Bedeutung (Derfuss 2012).

3.2 Neuromyelitis Optica- mehr als eine MS-Variante

Die Neuromyelitis optica ist eine schwere inflammatorische, demyelinisierende Erkrankung des ZNS, die durch eine Entzündung des Rückenmarks und der Sehnerven charakterisiert ist (Chanson et al. 2013).

Die Erkrankung ist selten. Die Prävalenz liegt bei zwei bis vier pro 100.000 Menschen und tritt bei Frauen gegenüber Männern sechs bis acht Mal häufiger auf. Im Gegensatz zur MS, ist nicht die Kaukasische sondern vor allem die asiatische und schwarze Bevölkerung betroffen (Ratelade und Verkman 2012).

Eine Erstmanifestation erfolgt meist um das 39. Lebensjahr. Bei 80-90% der PatientInnen ist der Verlauf schubförmig und durch schwere Attacken (meist gravierender als bei MS-PatientInnen), kurze Abstände zwischen den Schüben und unvollständige Remission gekennzeichnet. Monophasische oder progressive Formen sind im Vergleich seltener, vgl. dazu Tab. 1. Nach sechs Jahren, haben etwa 1/3 aller NMO-PatientInnen eine dauerhafte motorische Behinderung, 1/4 sitzen im Rollstuhl, 1/5 sind auf beiden Augen sehbehindert, 10% sind verstorben (González et al. 2013, Mitsdoerffer et al.2013).

Genetische Faktoren scheinen zumindest teilweise eine Rolle in der Entstehung zu spielen, da zumindest in drei Prozent der Fälle eine positive Familienanamnese besteht. Außerdem sind bestimmte HLA-Typen mit einem erhöhten Risiko assoziiert. Auch andere Autoimmunerkrankungen wie SLE, Sjögren Syndrom und Myasthenia gravis stehen mit der NMO in Zusammenhang (Morrow et al. 2012, Papadopoulos und Verkman 2012).

Es gibt Sonderformen, sogenannte NMO-Spektrum-Erkrankungen. Dazu zählen die Longitudinale Extensive Transverse Myelitis (LETM), die rezidivierende isolierte Optikusneuritis (RION) oder bilaterale Optikusneuritis (González et al. 2013).

Die NMO beginnt häufig mit Symptomen der Optikusneuritis, die sich als akute Schmerzen bei Augenbewegungen bis hin zum vollständigen Verlust der Sehkraft manifestieren. Bei der Myelitis ist das klinische Bild von der Lokalisation der Läsionen abhängig. Als Symptome können Übelkeit, Erbrechen, Singultus, Nystagmus aber auch symmetrische Paraplegie, Sensibilitäts- sowie Funktionsstörungen von Darm und Blase vorkommen. Letztendlich kann durch respiratorische Insuffizienz der Tod eintreten (González et al. 2013, Morrow et al. 2012).

Die Diagnose kann nach den Kriterien des Jahres 2006 gestellt werden, wenn die Leitsymptome einer Optikusneuritis und Myelitis vorliegen und mindestens 2 der folgenden 3 Zusatzkriterien erfüllt sind:

- Nachweis einer Läsion im spinalen MRT, die sich über ≥ 3 Wirbelkörpersegmente erstreckt,
- Kraniales MRT, das einer MS nicht eindeutig zuzuordnen ist,
- Positiver NMO-IgG-Nachweis im Serum (Papadopoulos und Verkman 2012).

Ein positiver Antikörpernachweis im Serum findet sich häufiger bei PatientInnen mit schubförmigem Verlauf, Optikusneuritis oder ausgeprägter transverser Myelitis als bei monophasischer Erkrankung. Im Durchschnitt vergehen vom Auftreten der NMO und der Zeit bis zum Erfüllen der im Jahre 2006 festgesetzten NMO-Kriterien 28 Monate (Papadopoulos und Verkman 2012, González et al. 2013).

Aufgrund der schweren Schübe und dem hohen Risiko der Invalidität sollte eine adäquate Therapie so schnell wie möglich eingeleitet werden. Aufgrund der Seltenheit der Erkrankung, gibt es bisher für ihre Therapie keine ausreichenden randomisierten klinischen Studien. Die Behandlung stützt sich auf immunsupprimierende Medikamente und Plasmapherese. Akut ist Methylprednisolon Therapie der ersten Wahl, zur Erhaltungstherapie können Azathioprin, Mycophenolat-Mofetil, Rituximab, Mitoxantron, Cyclophosphamid, Methotrexat, intravenöse Immunglobuline und Prednisolon als Immunsuppressiva eingesetzt werden (González et al. 2013, Morrow et al.2012).

Infolge eines Mangels an Vergleichsstudien ist ungeklärt, welche Therapie für die NMO PatientInnen die Geeignetste ist (González et al. 2013, Morrow et al.2012).

Historisch gesehen galt die Neuromyelitis optica lange als Subtyp der Multiplen Sklerose, mit ausschließlichem Befall von Rückenmark und Sehnerven. Dennoch unterscheidet sich die NMO von der MS hinsichtlich pathologischer, laborchemischer und bildgebender Merkmale, vgl. dazu Tab. 1. Eine sichere Abgrenzung wurde erst durch die Entdeckung eines zirkulierenden IgG1-Antikörpers erreicht. Dieser Durchbruch in der Antikörperforschung führte dazu, dass die NMO nun als eigenständige Erkrankung gilt und gibt auch der Suche nach spezifischen Autoantikörper-Reaktionen bei der MS neuen Aufwind (Srivastava et al. 2012, Barnett und Sutton 2012).

	MS	NMO
Initiale Verlaufsform	85% RR 15% PP	80-90% RR 10-20% monophasisch
Sekundär chronisch progredient	häufig	selten
MRT Läsionen im Gehirn	periventrikulär, subkortikal	wenn vorhanden, symmetrisch hypothalamisch, Hirnstamm
MRT Läsionen im RM	1-2 Segmente lang	≥ 3 Segmente
Weißer Blutzellen im Liquor bei einem Schub	< 50/mm ³ , monomorphkernig	Häufig > 50/mm ³ , teils polymorphkernig
Oligoklonale Banden im Liquor	~ 85%	15-30%
Systemische Autoimmunerkrankung	gelegentlich	häufig
Schwere der Schübe	mild- mäßig	mäßig- schwer
Grad der Remission	partiell- komplett	partiell- minimal
Nutzen von Interferonen	hilfreich	ev. Verschlechterung des Zustandes

Tabelle 1: Vergleich MS und NMO,
Eigene Erstellung in Anlehnung an Wingerchuk und Morrow 2012.

4 Antikörper bei Multipler Sklerose

4.1 Die Rolle der Antikörper

Die Multiple Sklerose ist hinsichtlich ihrer Ätiologie, klinischen Präsentation, und pathophysiologischen Vorgänge, wie eingangs erläutert, ausgesprochen heterogen. Dies gilt auch für den Krankheitsverlauf und die Erfolge in der therapeutischen Behandlung. Die Entdeckung von spezifischen Biomarkern für die MS und damit die Subtypisierung der PatientInnen ist notwendig, um den Betroffenen ein individuelles Behandlungskonzept und eine langfristige Prognoseeinschätzung zu ermöglichen (Reindl et al. 2006). Dazu müssen spezifische klinische Parameter, die eine Unterscheidung der pathologischen Muster bei PatientInnen erlauben, definiert werden.

Aufgrund der Forschungsergebnisse der letzten Jahre ist erwiesen, dass die pathophysiologischen Mechanismen verglichen mit der einstigen Hypothese, autoreaktive T-Zellen wären der Schlüssel zur Pathogenese und das Myelin das Zielantigen der Erkrankung, erheblich komplexer sind (Derfuss et al. 2010).

Im Laufe des letzten Jahrzehnts haben B-Zellen und Antikörper eine hohe Aufmerksamkeit erlangt. Zumindest bei einem Teil der Betroffenen spielt die humorale Immunreaktion in der Pathogenese eine besondere Rolle. Anhaltspunkte sind hierfür Ablagerungen von Immunglobulinen und Komplement-Aktivierung in aktiven MS-Läsionen, eine Demyelinisierung aufgrund spezifischer Antikörper im Tiermodell für die MS (EAE) und der gewiss überzeugendste Hinweis, eine therapeutische Wirksamkeit der Plasmapherese oder B-Zell-Depletion.

Die Entdeckung von vier verschiedenen Demyelinisierungsmustern war ein enormer Fortschritt im Verständnis der pathologischen Prozesse bei MS. Biopsie- und Autopsiematerial mit aktiven demyelinisierenden Läsionen wurde ausgewählt und mittels immunologischer Marker analysiert. Bei ein und derselben Person fand man ein homogenes Demyelinisierungsmuster. Verglichen mit Läsionen mehrerer PatientInnen, konnten 4 verschiedene äußerst heterogene Muster beobachtet werden (Lalive 2008).

Obwohl die meisten Fälle die T-Zell- und Makrophagen-dominierte inflammatorische Reaktion teilen, ist der Mechanismus der Myelinschädigung offensichtlich unterschiedlich.

Bei Typ I (~20%) führt die Freisetzung proinflammatorischer Zytokine oder Proteasen durch aktivierte Makrophagen zum Myelinverlust. Typ II (~55%) ist dem Ersten ähnlich, allerdings werden zusätzlich Ablagerungen von Autoantikörpern an zerstörten Myelinscheiden, sowie eine Komplement-vermittelte Demyelinisierung beobachtet. Die Heterogenität zwischen Typ I und II spiegelt die Situation in der EAE wider, wo abhängig von der genetischen Veranlagung der Tiere und Art der Immunisierung, die Demyelinisierung durch Antikörper oder unabhängig davon ausgelöst wird. Typ III und IV (~25%) sind gekennzeichnet durch eine geringere Makrophageninfiltration, fehlende Antikörperablagerungen und Komplementaktivierung, jedoch Zeichen der Oligodendrozytendystrophie. Sie ähneln einer Virus- oder Toxin-induzierten Demyelinisierung. Diese Ergebnisse zeigen, dass Antikörper eine elementare Rolle bei zumindest 50-60% der MS PatientInnen spielen und erklären weshalb die Bestimmung von Autoantikörpern als hochspezifische Biomarker der MS so schwierig ist (Lassmann et al. 2007, Lalive 2008).

Eine Studie über die Reaktion auf Plasmapherese anhand der 4 histopathologischen Typen ergab, dass ausschließlich PatientInnen mit Typ II-Muster darauf ansprachen. Die Änderung des Musters beziehungsweise der Art der Entzündungsreaktion abhängig vom Krankheitsstadium innerhalb einer Person, wurde bisher jedoch nicht untersucht (Lalive 2008).

Die Angriffspunkte der humoralen Immunantwort sind nicht bekannt. Die B-Zell-Aktivierung könnte einerseits spezifisch Antigen getriggert erfolgen. Andererseits wäre möglich, dass die Aktivierung ein rein zufälliger Nebeneffekt im Zuge der Entzündungsreaktion ist oder sogar regulatorische beziehungsweise regenerative Funktionen hat (Reindl et al. 2006).

Während der letzten Jahre hat man sich in der Forschung stark auf die Suche nach möglichen Zielantigenen konzentriert. Es sind sowohl Bestandteile des Myelins als auch andere ZNS-Komponenten, als mögliche Angriffspunkte der Autoantikörper bei MS beschrieben. Bis zum jetzigen Zeitpunkt ist ihre Rolle in der Pathogenese und ihre klinische Relevanz ungeklärt (Weissert 2013).

Mittlerweile gibt es eine große Anzahl an Therapieoptionen die eine Reduktion der Schubrate, MRT Aktivität und Behinderungsentwicklung bewirken. Dennoch kommt es in der Mehrheit der PatientInnen zwangsläufig zu weiteren Schüben und schließlich einer Behinderung (Graber et al. 2011).

Die potentielle Bedeutung von Biomarkern bei der MS liegt also in der:

- genauen und frühen Diagnosestellung
- Prognose über die individuelle Verlaufsform der Erkrankung
- Erfassung einer subklinischen Krankheitsaktivität
- Differenzierung von MS-Subtypen
- Erfassung eines Therapieerfolges/einer Therapieresistenz

Die Entwicklung von Biomarkern ist also von ungeheurem Wert für die klinische Versorgung der PatientInnen. Aufgrund der hohen Variabilität im Verlauf, der Pathogenese, Nichtspezifität von Krankheitsparametern, Intra- und interindividueller Variabilität der Marker, unterschiedliche Therapieantworten stellt die Identifikation klinisch anwendbarer Biomarker jedoch letztendlich eine große Herausforderung (Graber et al. 2011).

In den nun folgenden Kapiteln soll ein Überblick über aktuelle Forschungsergebnisse geschaffen werden.

4.2 Die Vorreiter in der Biomarkersuche

4.2.1 Oligoklonale Banden

Der bedeutendste Hinweis für eine Beteiligung des humoralen Abwehrsystems in der Pathologie der Multiplen Sklerose, ist die gesteigerte IgG-Synthese, mit der Ausbildung oligoklonaler Banden (Brennan et al. 2011).

Im Gegensatz zu gesunden Personen und PatientInnen mit nicht-inflammatorischen neurologischen Erkrankungen, bei denen B-Zellen im Liquor kaum vorkommen, sind bei MS- PatientInnen eine hohe Zahl expandierter B-Zellklone nachweisbar. Diese bestehen aus B-Gedächtniszellen, Zentroblasten (die normalerweise ausschließlich in germinativen Zentren lymphatischer Organe zu finden sind), sowie Antikörper-produzierenden Plasmazellen und Plasmablasten, die für die Produktion intrathekaler IgG und Bildung oligoklonaler Banden verantwortlich sind. Die OKB sind typischerweise Antikörper des komplementaktivierenden IgG1-Suptyps, gekennzeichnet durch somatische Hypermutation als Zeichen einer Antigen-induzierten Selektion von B-Zellen. Die Spezifität dieser Antikörper herauszufinden, gestaltet sich seit der Erstbeschreibung vor über 40 Jahren nach wie vor als schwierig (Fraussen et al. 2009, Brennan et al. 2011).

Bereits 1964 wurden erstmals mit Hilfe der Agarose-Gelelektrophorese oligoklonale Banden im Liquor sichtbar gemacht, die im Serum nicht vorhanden waren. Dies signalisierte eine intrathekale Ig-Produktion. Somit konnte man daraus schließen, dass nicht allein die Störung der Blut-Hirn-Schranke mit Migration von B-Zellen und Immunglobulinen für die Anwesenheit von OKB verantwortlich ist. Aufgrund einer erfolgten Methodenverbesserung ist nun die isoelektrische Fokussierung mit anschließender Immunfixation von Serum und Liquor der Goldstandard zur Detektion der OKB, siehe Abb.3. Die Sensitivität dieses Verfahrens liegt bei über 95% (Awad et al. 2010).

IgG-OKB sind bei Auftreten erster klinischer Symptome bei zirka 90% der PatientInnen, denen schlussendlich die Diagnose MS gestellt wird, vorhanden (Krumbholz et al. 2012).

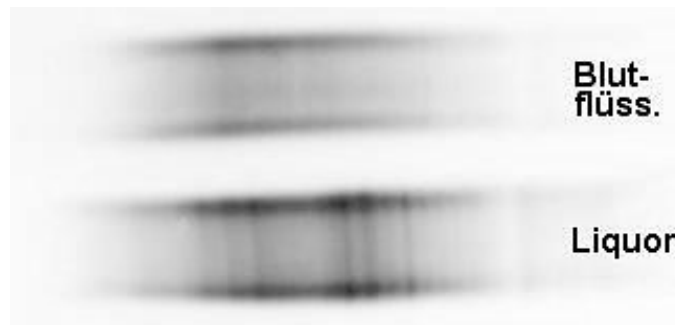


Abbildung 3: Nachweis von OKB im Liquor,
http://www.med4you.at/laborbefunde/lbef_eiweiss_liquor.html (Stand 30.03.14).

Der Nachweis oligoklonaler Banden im Liquor ist daher bis heute, besonders im Rahmen der Erstdiagnose, der meist verwendete Biomarker der MS. Der Stellenwert der Liquoruntersuchung ändert sich laufend, in den aktuellen Diagnosekriterien ist sie nicht mehr Hauptbestandteil. Das Auftreten der OKB im Liquor erhöht dennoch erheblich die Wahrscheinlichkeit, dass eine Person mit dem erstmaligen Auftreten von Symptomen einer MS eine zweite Episode und klinisch definitive MS entwickeln wird. Vor allem zur Vereinfachung der Diagnosestellung bei atypischen Erscheinungsformen und der Abgrenzung von Differentialdiagnosen ist die OKB-Bestimmung hilfreich. Daher spielt die Liquoruntersuchung im klinischen Alltag nach wie vor eine zentrale Rolle und wird bei MS-Verdacht routinemäßig durchgeführt (Graber et al. 2011, Awad et al.2010).

Die Abwesenheit oligoklonaler Banden im Liquor schließt die Möglichkeit einer MS-Diagnose definitiv nicht aus, wobei jedoch die Arbeitshypothese überdacht werden sollte. Umgekehrt sind die OKB trotz ihrer hohen Sensitivität polyspezifisch und können bei einer Vielzahl an inflammatorischen, erregerbedingten oder neoplastischen Erkrankung vorkommen. Allerdings findet man die OKB üblicherweise dann nur vorübergehend, wohingegen die OKB bei der MS, trotz aggressiver Therapie, über Jahre konstant sind und offenbar unabhängig von der Krankheitsaktivität produziert werden (Graber et al. 2011, Krumbholz et al. 2012).

Einige Studien beschreiben, dass die OKB unter prognostischen Gesichtspunkten relevant sind und eine OKB-positive MS mit einem aggressiveren Verlauf als die OKB-Negative assoziiert ist. Eine einheitliche Ansicht der Forschenden fehlt diesbezüglich jedoch, da andere Studien diesen Zusammenhang wiederum nicht bestätigten (Awad et al. 2010).

Andere OKB im Liquor als vom IgG-Subtyp, wie IgA und IgM, scheinen einen geringeren Stellenwert in der MS-Diagnose zu haben. Das Auftreten von IgA-Banden ist äußerst selten. IgM-Banden (OKMB) finden sich hingegen häufiger, bei 30-60% der MS-PatientInnen, allerdings nie ohne gleichzeitige IgG-Synthese. Jüngste Arbeiten beschäftigten sich ausführlicher mit der Rolle der OKMB in der MS-Prognose. Von Villar et al. wurde die Reaktion der OKMB gegen Nicht-Protein-Komponenten des Myelins untersucht. Das Ergebnis der Studie war, dass das Vorhandensein von intrathekalem IgM gegen Myelinlipide, mit einem aggressiveren Krankheitsverlauf assoziiert ist. Auch die Tatsache, dass IgM-Antikörper die effizienteste Komplementfixierung zeigen und Komplement eine Demyelinisierung und axonale Schädigung bewirkt, spricht für diese Annahme. In einer weiteren Studie von García-Barragán et al. wurden 75 PatientInnen mit einem klinisch isolierten Syndrom getestet. Achtzehn PatientInnen waren OKMB-positiv. Die Immuntherapie verminderte die Schubrate und den EDSS-Score (betrifft die Angabe des Schweregrades einer Behinderung), bei der OKMB-positiven Gruppe. Bei der negativen Gruppe hingegen änderte sich die EDSS nicht (Awad et al. 2011, Villar et al. 2005).

Trotz der Beschreibung zahlreicher potentieller Biomarker im Serum oder Liquor, ermöglicht bisher kein Parameter, eine ähnliche Zuverlässigkeit und somit breite Anwendbarkeit wie der Nachweis oligoklonaler Banden (Graber et al. 2011).

4.2.3 MOG-Antikörper

Eins der meist erforschten Antigene der MS ist das Myelin Oligodendrozyten Glykoprotein. Das MOG ist quantitativ nur eine kleine Komponente des ZNS-Myelins (weniger als 0,05% aller ZNS Myelinproteine), allerdings befindet sich das Protein extrazellulär an der Außenseite des Myelins und ist somit für Antikörper leicht zugänglich (Lalive 2008, Mayer et al. 2012).

Die genaue Funktion des MOG ist ungeklärt, die Lokalisation und Struktur lässt eine Rolle als Adhäsionsmolekül für Myelinfasern vermuten (Mayer et al 2012).

Im Tiermodell, Experimentelle Autoimmune Enzephalomyelitis, sind Antikörper gegen MOG in der Lage eine Demyelinisierung auszulösen. Aus diesen Beobachtungen heraus wurde die Präsenz von Anti-MOG-Antikörpern im Liquor und Serum von MS-PatientInnen ausgiebig erforscht. Die Demonstration einer Antikörperpathogenität beim Menschen blieb aus. Über 30 Publikationen über Anti-MOG Antikörper bei MS wurden bisher veröffentlicht, die Resultate sind jedoch äußerst strittig. Generell zeigt der Trend in Richtung eines Anstieges von Anti-MOG Antikörpern bei MS. Dieser Anstieg ist jedoch nicht notwendigerweise spezifisch für MS, denn MOG-Antikörper werden ebenso in Kontrollgruppen, sowohl bei der gesunden Vergleichsgruppe als auch bei PatientInnen mit anderen neurologischen Erkrankungen, gefunden. Die Sensitivität und Spezifität der MOG-Antikörper unterscheidet sich in allen Studien erheblich, möglicherweise aufgrund unterschiedlicher analytischer Verfahren (Lalive 2008, Derfuss und Meinl 2012).

Im Jahre 2003 wurde eine vielversprechende Studie von Berger et al. veröffentlicht, die die Prävalenz von Antimyelin-Antikörpern, Anti-MOG IgM sowie Anti-MBP(Myelin Basic Protein) bei PatientInnen mit einem klinisch isolierten Syndrom mittels Immunoblot analysierte. Im follow-up der PatientInnen entwickelten jene, die Anti-MOG oder Anti-MBP beziehungsweise beide im Serum aufwiesen, im Vergleich zu jenen, die seronegativ waren, deutlich früher (7 versus 45 Monate) einen neuerlichen Schub. Anhand dieses Ergebnisses wurde postuliert, dass die Präsenz von Anti-Myelin-Antikörpern die Wahrscheinlichkeit einer kurzen Dauer bis zu einem nächsten Schub erhöhe und somit als Prädiktor für den Krankheitsverlauf diene.

Diese Ergebnisse konnten in einer ähnlich groß angelegten randomisierten, doppelt-verblindeten, placebokontrollierten Vergleichsstudie im Jahre 2007 jedoch nicht reproduziert werden. Es konnte keine signifikante Korrelation zwischen dem erhöhtem Risiko eine klinisch sichere MS zu entwickeln und dem Antimyelin-Antikörper-Status beobachtet werden. Die Studie verwendete exakt dieselben Untersuchungsmethoden wie jene von Berger et al. im Jahre 2003 und eine ähnliche PatientInnenkohorte mit minimalen Unterschieden. Ein Kritikpunkt bestand darin, dass die Studie nur über einen Zeitraum von 24 Monaten angesetzt war. Die Ergebnisse wurden letztendlich wieder mit einer anderen Studie verglichen, die mit einem follow-up der ProbandInnen über bis zu 47 Monaten, zum selben Ergebnis kam und ebenso keinen signifikanten Zusammenhang zwischen Antikörperstatus und klinischem Outcome zeigte (Kuhle et al. 2007).

Die Anti-MOG-Antikörper sind gängige Funde bei inflammatorischen ZNS-Erkrankungen und nicht für die MS spezifisch. Welche Rolle diese Antikörper bei der MS spielen ist noch unklar (Kuhle et al. 2007).

In einer ebenfalls im Jahre 2007 von Zadro et al. durchgeführten Studie wurden die Anti-MOG-IgG Level aus Serum und Liquorproben von PatientInnen mit RR-MS, PP-MS und nicht-entzündlichen neurologischen Erkrankungen verglichen. Ziel war die Erforschung, ob Antikörper gegen das MOG als diagnostischer Marker zur Differenzierung von klinischen Verlaufsformen der MS dienen könnten. Die Level zeigten keine statistisch signifikanten Unterschiede in den PatientInnengruppen. Die Studie unterstützt somit die Auffassung, dass die Bestimmung von Anti-MOG IgG zum jetzigen Zeitpunkt keine klinische Relevanz hat.

Trotz verschiedener Literaturmeinungen zu Antikörpern gegen das MOG, zeichnet sich ab, dass jene Antikörper kaum bei Erwachsenen mit MS, jedoch bei nahezu 20% aller Kinder mit demyelinisierenden Erkrankungen vorhanden sind (Krumbholz et al.2012).

Eine Vielzahl an Autoantikörpern, wie andere Anti-Myelin- und neuronale Antikörper, wurde untersucht. Ob sie jedoch pathogene oder eventuell sogar protektive Eigenschaften haben oder überhaupt eine funktionelle Rolle spielen ist nicht geklärt (Lalive 2008).

4.3 Axo-gliale Proteine

Aufgrund neuester Entwicklungen in der Bildgebung und aus aktuellen Studien ist nun bekannt, dass nicht ausschließlich das Myelin, sondern auch die graue Substanz sowie die Axone angegriffen werden und das bereits früh im Krankheitsverlauf. Viele Jahre bestand die Ansicht, dass die Herde in der weißen Substanz ausschlaggebend für die körperliche Behinderung bei PatientInnen mit MS sind. Die graue Substanz ist an mehreren Stellen des ZNS betroffen, unter anderem im Bereich der Basalganglien, des Hippocampus, Rückenmark und Kortex (Derfuss et al. 2010).

Die Art der Immunantwort gegen die graue Substanz ist unklar. Während der progressiven Phase der Erkrankung verschlechtert sich die kortikale Pathologie und scheint mit der klinischen Progression zu korrelieren. In diesem Stadium treten auch psychische Veränderungen auf. Dies ist seit der Erstbeschreibung der Erkrankung bekannt. Die PatientInnen leiden unter anderem an Affektstörungen, Angst, kognitiver Beeinträchtigung und Sinnestäuschungen (Mitchell et al. 2005).

In einer groß angelegten Studie im Jahre 2009 von Derfuss et al. wurden Zielstrukturen der humoralen Immunreaktion bei MS-PatientInnen gesucht. In der Studie wurde mittels Proteomanalyse das krankheitsassoziierte Autoantikörperrepertoire untersucht. Eine Methode, die eine objektive Suche nach Antigenen aus der Gesamtheit aller Proteine des Gewebes ermöglicht .

Dazu wurden humane Myelin-Glykoproteine isoliert und auf einem 2D-Gel getrennt und dargestellt. Proteinspots die ausschließlich von Antikörpern der MS-PatientInnen gebunden wurden, nicht aber von jenen der Kontrollproben (Sera von Personen mit Kardiomyopathie oder peripherer Neuropathie), wurden mittels massenspektrometrischem Verfahren identifiziert (Derfuss et al. 2009).

Anhand dieses Nachweisverfahrens konnten die um die Ranvier'schen Schnürringe lokalisierten axo-glialen Proteine, Neurofascin und Contactin-2/TAG-1 (transiently expressed axonal glycoprotein 1), als neue potentielle Autoantigene bestimmt werden (Derfuss et al. 2009).

Contactin-2 ist ein Zelladhäsionsmolekül das von Neuronen im embryonalen Nervensystem exprimiert wird, wo es am Auswachsen der Neuriten beteiligt ist. Während der Entwicklung ist diese Expression downreguliert. Im Erwachsenenalter wird es hauptsächlich in der juxtaparanodalen Region der Axone, jedoch auch von Neuronenpopulationen des Hippocampus und Rückenmarks exprimiert. Diese Tatsache ließ die Autoren vermuten, dass die Autoimmunantwort gegen Contactin-2 an der Entwicklung der Schädigung der grauen Substanz beteiligt sein könnte. Contactin-2 wurde in weiteren Tests sowohl von T-Zellen als auch Autoantikörpern der MS-PatientInnen erkannt (Derfuss et al. 2009, Derfuss et al. 2010).

Die Forschungsgruppe um Derfuss et al. untersuchte weiter, ob PatientInnen eine krankheitsassoziierte T-Zell-Antwort gegen das Autoantigen entwickeln. Dazu wurden periphere mononukleäre Blutzellen von 9 unbehandelten MS-PatientInnen und 8 gesunden ProbandInnen mit Contactin-2 und zum Vergleich, mit anderen Antigenen wie Tetanustoxin stimuliert. Contactin-2 führte bei MS-PatientInnen im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe zu einer signifikant höheren Proliferation der Blutzellen. Im Gegensatz dazu war die Reaktion gegen die anderen Antigene in beiden Gruppen gleich (Derfuss et al. 2009).

Im Tiermodell wurde durch den adoptiven Transfer von TAG-1- spezifischen T-Zellen eine EAE ausgelöst. Das TAG-1-Protein entspricht dem humanen Contactin-2. Die inflammatorische Reaktion richtete sich gegen den zerebralen Kortex, außerdem gegen die graue und weiße Substanz des Rückenmarks. Dieses Reaktionsmuster unterscheidet sich zu demjenigen, das durch MOG-spezifische T-Zellen ausgelöst wird. Im Gegensatz zur MOG-Transfer-EAE, wo sich die Immunreaktion hauptsächlich gegen die weiße Substanz richtete, war bei der TAG-1-Transfer-EAE die graue Substanz des Kortex und Rückenmarks vorwiegend betroffen (Derfuss et al. 2009).

Diese Beobachtungen sind beachtlich, wenn man bedenkt, dass bis zu dem Zeitpunkt eine bevorzugte Beteiligung des Kortex nie berichtet wurde (Derfuss et al. 2009).

Neurofascin ist ebenfalls ein Zelladhäsionsmolekül, das in zwei Isoformen vorkommt. Die 155-kDA Isoform wird von den Oligodendrozyten exprimiert und ist im Bereich des Paranodus lokalisiert, als Bestandteil des Myelinmantels. Die 186-kDA Isoform kommt auf den myelinfreien Ranvier-Knoten vor, vgl. dazu Abb.4. Beide Formen werden von den Autoantikörpern erkannt, wobei die Letztere aufgrund ihrer Lokalisation für Antikörper leichter zugänglich ist (Derfuss et al. 2010).

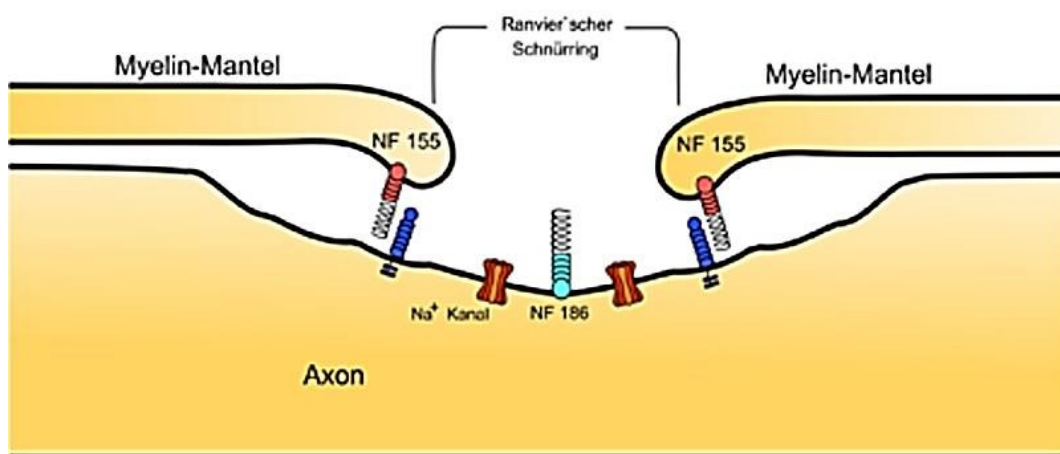


Abbildung 4: Lokalisation der Nf-Isoformen,
http://www.neuro.mpg.de/373946/research_report_412878 (Stand 30.03.14).

Im Tiermodell wurde ein Neurofascin-Antikörper mit MOG-spezifischen enzephalitogenen T-Zellen, die die Blut-Hirn-Schranke durchbrechen, co-transferiert. In diesem Modell richtete sich die Anti-Neurofascin-Antikörper abhängige Komplementaktivierung ausschließlich gegen die Ranvier-Knoten und induzierte eine axonale Schädigung mit Leitungsblock und einen Krankheitsausbruch. Diese Ergebnisse demonstrieren einen neuen Mechanismus der axonalen Schädigung bei der MS (Hohlfeld et al. 2008).

Zusammengefasst konnten von Derfuss et al. zwei axo-gliale Antigene als neue Ziele der Autoimmunreaktion bei MS identifiziert werden. Obwohl die Beobachtungen im Tiermodell suggerieren, dass die Contactin-2/Tag-1-spezifische T-Zell-Antwort zur Entwicklung der Pathologie der grauen Substanz und Antikörper gegen Neurofascin zur axonalen Schädigung führen, müssen weitere Experimente zur Konkretisierung dieser Hypothese durchgeführt werden. Letztendlich wird auch eine Untersuchung der Rolle dieser Antigene bei humanen MS- PatientInnen und deren klinischer Relevanz als Biomarker erforderlich sein (Derfuss und Meinl 2012).

Derfuss et al. argumentieren daher aufgrund ihrer Erkenntnisse, dass sich die Ziele der autoaggressiven T-Zellen in der MS nicht ausschließlich von internodalem Myelin ableiten, sondern axo-gliale Antigene miteinschließen (Meinl et al. 2011, Derfuss et al. 2010).

4.4 Kalium Kanal KIR4.1

Der Kanal KIR4.1 gehört zur Familie der sogenannten einwärts gleichrichtenden Kaliumkanäle (Kir-Kanäle). Sie werden reichlich von Gliazellen exprimiert und sind im Großen und Ganzen für die Aufrechterhaltung des Ruhemembranpotentials und somit der Erregbarkeit der Neuronen verantwortlich. Die Kir-Kanäle werden nach ihren molekularen und elektrophysiologischen Eigenschaften in Subtypen 1-7 unterteilt, vgl. dazu Abb.5 (Verkhratsky und Batt 2006).

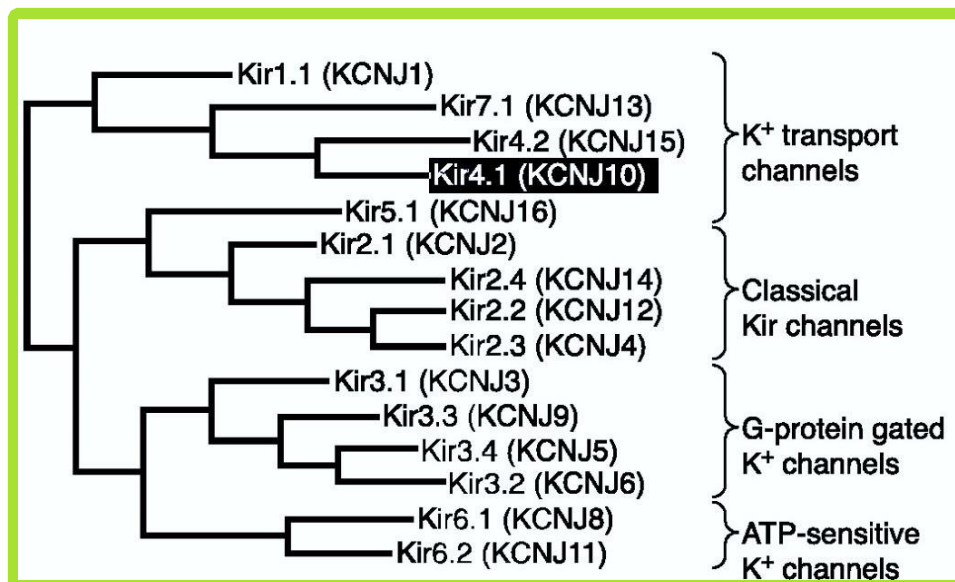


Abbildung 5: Kir-Kanäle,
Hibino et al. 2010.

Eine kürzlich veröffentlichte Studie von Srivastava et al., die sich mit der Suche nach Zielantigenen befasste, beschreibt die Präsenz von Antikörpern gegen den Kanal KIR4.1 bei bis zu 50% der getesteten PatientInnen mit MS (Cross und Waubant 2012).

Aus Serumproben von PatientInnen mit MS wurden IgG-Antikörper aufgereinigt und die Reaktivität mit Hirngewebsschnitten getestet. Bei 58% der getesteten PatientInnen konnte eine spezifische Immunreaktion gegen Gliazellen beobachtet werden. Diese Reaktion wurde in der Kontrollgruppe (PatientInnen mit anderen neurologischen Erkrankungen) nicht gesehen (Srivastava et al. 2012).

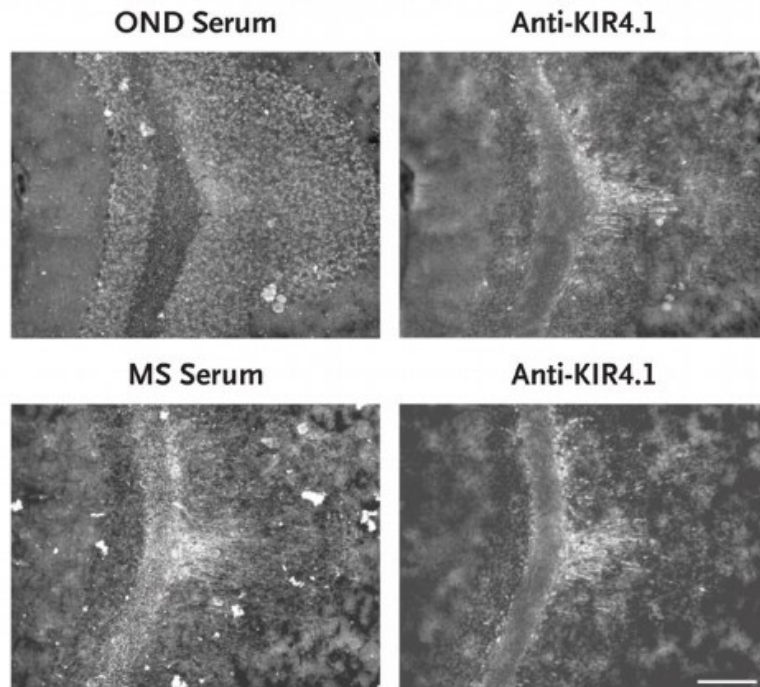


Abbildung 5: Validierung von KIR4.1 als Zielstruktur der Serum-IgG-Reaktion bei MS-PatientInnen: Die Abb. zeigt bei Doppelimmunofluoreszenzfärbung eine Co-lokalisierung des monoklonalen Anti-KIR4.1 und aufgereinigten Serum-IgG von Personen mit MS in Kleinhirnschnitten von Ratten. Im Vergleich oben, Serum-IgG von Personen mit einer anderen neurologischen Erkrankung (OND), es zeigt sich keine Co-lokalisierung, Srivastava et al. 2012.

Im ELISA zeigte sich, dass die Seren von MS PatientInnen ausschließlich an Platten die mit Membranproteinen beschichtet waren, banden, außerdem im Vergleich zur Kontrollgruppe ausgeprägter. Daher wurden in weiterer Folge Membranproteine isoliert und mittels Proteomverfahren analysiert. Das isolierte Protein, gegen welches sich IgG-Antikörper der MS-Seren spezifisch richteten, wurde als Kalium Kanal KIR4.1 identifiziert. Die Identität von KIR4.1 als Zielantigen der Serum-IgG von Personen mit MS wurde mit Western Blotting und Immunpräzipitation bestätigt.

Um diese Ergebnisse reflektieren und reproduzieren zu können, wurden weitere Experimente durchgeführt (Srivastava et al. 2012).

Mittels ELISA screenete die Forschungsgruppe auf Antikörper gegen den Kalium Kanal KIR4.1. Die Antikörpertiter in der Gruppe der MS-PatientInnen waren im Vergleich zu beiden Kontrollgruppen (PatientInnen mit anderen neurologischen Erkrankungen und gesunde ProbandInnen) signifikant höher (Srivastava et al. 2012).

Die Anti-KIR4.1 IgG Isotypen waren in erster Linie IgG1 und IgG3, welche in der Lage sind Komplement zu binden und somit die Zelllyse einzuleiten (Cross und Waubant 2012).

Diese Ergebnisse konnten in zwei weiteren Validierungsreihen reproduziert werden. Nahezu die Hälfte der untersuchten MS-PatientInnen zeigten Antikörper spezifisch für KIR4.1, in den Vergleichsgruppen waren diese bei nur 0,9% der ONDs und 0% der Gesunden nachweisbar. Zwischen verschiedenen MS-Formen zeigten sich keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Anti-KIR4.1-Titer.

Im Tierversuch fanden die Wissenschaftler heraus dass KIR4.1 hauptsächlich in den Zellmembranen von Gliazellen exprimiert wird, speziell in den perivaskulär gelegenen Oligodendrozyten und Astrozyten. Im menschlichen Gehirn war diese Lokalisation ähnlich (Srivastava et al. 2012).

Um die pathogene Wirkung der KIR4.1 spezifischen Antikörper in vivo zu bestimmen, wurden Anti-KIR4.1-IgG von Personen mit MS in die Cisterna magna von Wildmäusen injiziert. Zum Vergleich wurden KIR4.1 depletierte Antikörper verwendet. Beide wurden zusammen mit humanem Komplement verabreicht. Nach 24 Stunden wurden die Mäuse getötet und anhand von Kleinhirnschnitten auf die Expression von glial fibrillären Säureproteinen(Gfap), KIR4.1 und C9neo (einem Marker für Komplementaktivierung) immunhistochemisch untersucht.

Mäuse mit depletierten Antikörpern, zeigten keine C9neo Reaktivität und ein normales Muster der Gfap und KIR4.1 Expression. Im Gegensatz dazu fand man bei den Mäusen mit KIR4.1-spezifischen Antikörpern eine Veränderung der Gfap Expression, einen Verlust der KIR4.1 Expression und C9neo Ablagerungen (Srivastava et al. 2012).

Die C9neo Ablagerungen waren ausschließlich in Regionen mit KIR4.1 Depletion vorhanden. Diese Ergebnisse lassen vermuten dass die Anti-KIR4.1-Serum-IgG ihr Zielantigen im ZNS erkennen können und eine strukturelle Schädigung der Gliazellen bewirken (Srivastava et al. 2012).

Zusätzlich dazu haben Studien an KIR4.1 knock-out Mäusen gezeigt, dass die Entwicklung von Oligodendrozyten und die Myelinisierung abhängig von der KIR4.1 Expression ist (Srivastava et al. 2012).

Eine Mutation von KCNJ10(das Gen welches für KIR4.1 kodiert) beim Menschen, ist mit einem EAST oder synonym SeSAME Syndrom assoziiert, dass durch Epilepsie, Ataxie, Tubulopathie und sensorische Schwerhörigkeit charakterisiert ist.

Anhand dieser Beobachtungen gehen Srivastava et al. davon aus, dass KIR4.1 ein viel versprechendes Zielantigen in der MS ist (Srivastava et al. 2012).

5 NMO und Aquaporin 4-Antikörper

5.1 Aquaporin 4

Im Jahr 2003 erhielt Peter Agre den Nobelpreis für die Entdeckung der Aquaporine. Aktuell wird zwischen 13 verschiedenen Isoformen unterschieden (González et al. 2013).

Aquaporin 4 (AQP4) ist im ZNS der mengenmäßig am stärksten exprimierte Wasserkanal. Alle Aquaporine besitzen eine ähnliche Struktur und durchspannen als Tetramere die Membranen. Im Gegensatz zu anderen Aquaporinen bildet AQP4 supramolekulare Aggregate, sogenannte orthogonale Partikelkomplexe (OAP). Im Falle der NMO ist bedeutend, dass die meisten AQP4-Antikörper vorzugsweise an die OAP binden und über eine multivalente Bindung an C1q für die Komplementabhängige- Zytotoxizität wesentlich zu sein scheinen (Ratelade und Verkman 2012, Papadopoulos und Verkman 2012).

Es sind zwei Isoformen bekannt, M23-AQP4 und M1-AQP4, die sich hinsichtlich ihrer Größe unterscheiden. Beide finden sich in den Zellmembranen der gefäßumgebenden Astrozytenfortsätze, somit an der Grenze der Blut-Hirn-Schranke. Ebenso sind sie im Ependym und der Glia limitans lokalisiert, vgl. dazu Abb. 6 (González et al. 2013, Papadopoulos und Verkman 2012).

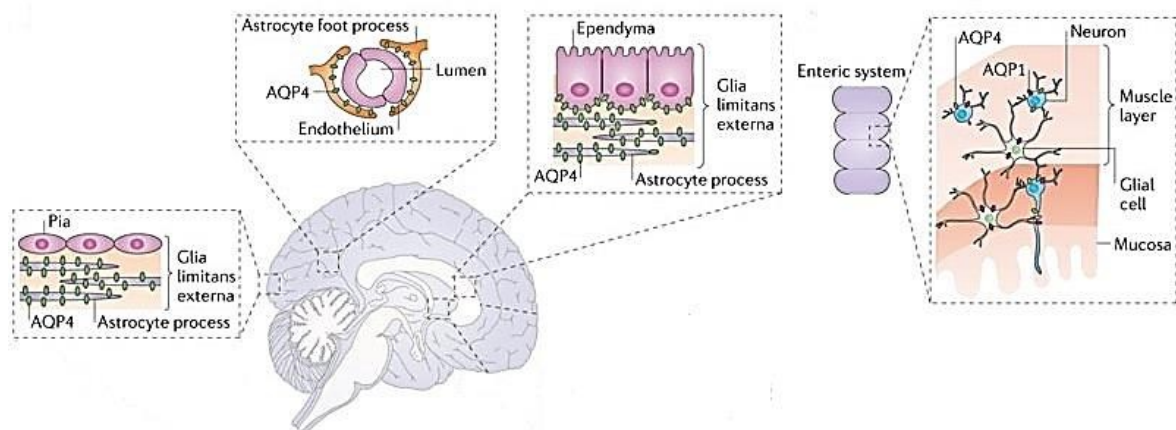


Abbildung 6: Verteilung von AQP4 im ZNS und Intestinaltrakt,
In Anlehnung an Papadopoulos und Verkman 2013.

Ihre Funktion ist es, den Wasseraustausch zwischen den Zellmembranen folgend einem osmotischen Gradienten zu ermöglichen und dadurch die Aufrechterhaltung der Wasserhomöostase zu gewährleisten. M23-AQP4 ist im Gegensatz zu M1-AQP4 in der Lage OAPs zu bilden. Mehrere Studien haben gezeigt dass die AQP4-IgG in Seren von NMO-PatientInnen häufiger, jedoch nicht ausschließlich, an M23-AQP4 binden (González et al. 2013, Papadopoulos und Verkman 2012).

AQP4 kommt auch peripher in den Epithelzellen von Niere, Darm, Luftwegen, Drüsen und Skelettmuskulatur vor. Außerdem in Astrozyten-ähnlichen Zellen wie den Müller Zellen der Retina.

Das bisher verfügbare Wissen über die biologische Rolle von Aquaporin 4 stammt ausschließlich von AQP4 Knockout-Mäusen, da bisher keine „loss of function“-Mutation beim Menschen bekannt ist (Papadopoulos und Verkman 2012).

In Experimenten mit AQP4-Null-Mäusen fand man heraus, dass AQP4 im Gehirn einerseits die Entstehung von zytotoxischen Ödemen bei zerebraler Ischämie, Hyponatriämie oder Meningitis begünstigt, andererseits einem vasogenen Ödem bei Tumoren oder Hirnabszessen entgegenwirkt. Im Rückenmark vermag AQP4 ein posttraumatisches Ödem durch vermehrten Wasserabtransport zu reduzieren. Außerhalb des ZNS fehlten, abgesehen von einer geringen Beeinträchtigung der maximalen Harnkonzentrierung, diese Veränderungen (Ratelade et al. 2012, González et al. 2013, Papadopoulos und Verkman 2012).

5.2 NMO Läsionen- ein typisches Bild

Berichte aus histopathologischen Vergleichen von Läsionen bei MS und NMO, ergaben ein einzigartiges pathologisches Muster bei der NMO. In akuten Läsionen zeigen sich vaskulozentrische Ablagerungen von Immunglobulinen zusammen mit aktivierten Komplementfaktoren, womit eine humorale Immunantwort gegen ein perivaskuläres Antigen nahe liegt (Mitsdoerffer et al. 2013, Papadopoulos und Verkman 2012).

Aktiviertes Komplement hat chemotaktische Eigenschaften und erleichtert somit die Rekrutierung von Makrophagen und Eosinophilen zu den Läsionsorten. Beide Zelltypen sind über Rezeptoren in der Lage die Komplement- und Antikörper-abhängige Zytotoxizität zu vermitteln. Zusätzlich können aktivierte Makrophagen zusammen mit Eosinophilen und Neutrophilen, Zytokine, Proteasen, Sauerstoff- und Stickstoffradikale bilden, die unselektiv Strukturen der weißen und grauen Substanz zerstören.

Weitere Merkmale der NMO Läsionen sind eine erhöhte vaskuläre Permeabilität und Ödeme, die möglicherweise sekundär durch einer Ödem-induzierte Ischämie eine weitere Gewebsdestruktion bewirken (Mitsdoerffer et al. 2013).

In aktiven NMO-Läsionen konnte eine deutliche Verminderung von AQP4 und Gfap(einem Marker für Astrozytenschädigung) gezeigt werden, vereinbar mit einer gezielten Antikörperreaktion, die sich gegen AQP4 richtet und ein Astrozytensterben auslöst. Das Vorhandensein einiger AQP4-negativen- oder Gfap-positiven Astrozyten in Läsionen, lässt darauf schließen, dass der Verlust von AQP4 dem Astrozytensterben vorausgeht. Gelegentlich ist das Myelin trotz AQP4- und Gfap- Verlust erhalten, wodurch Grund zur Annahme besteht, dass die Astrozyten vor dem Zusammenbruch des Myelins zerstört werden, vgl. dazu Abb.7 (Papadopoulos und Verkman 2012).

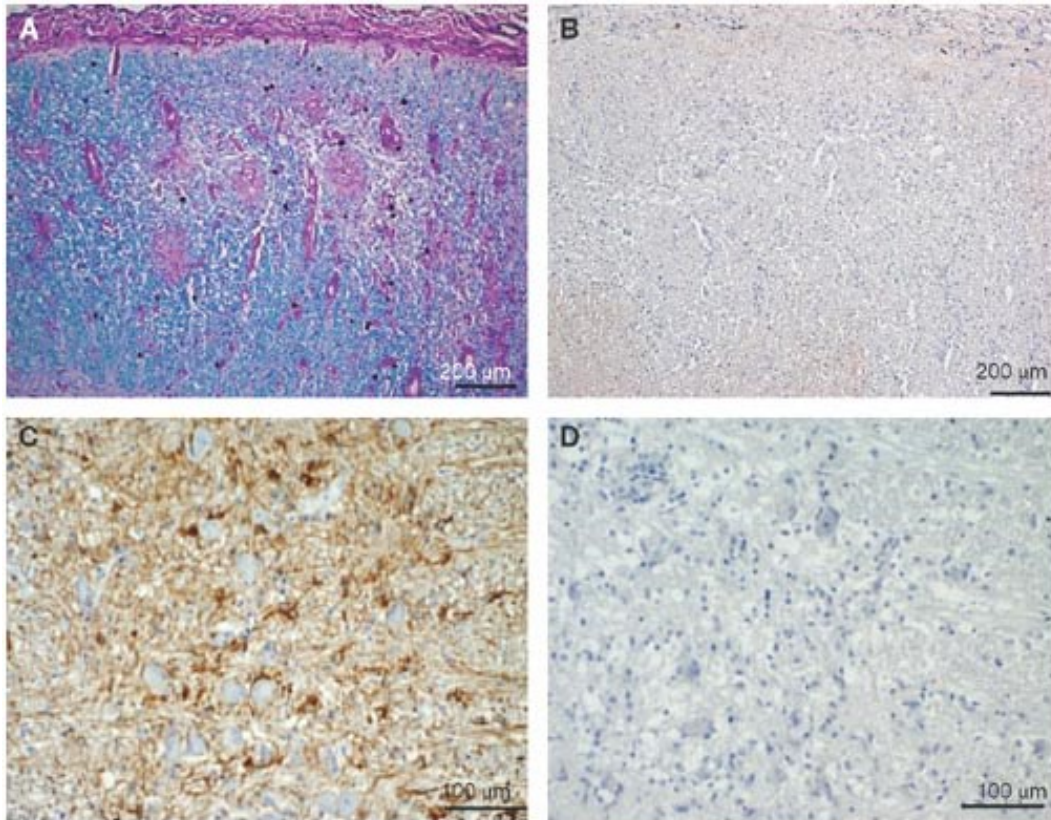


Abbildung 7: AQP4-Verlust und Astrozytenschädigung bei NMO. Der AQP4-Verlust scheint der Astrozytenschädigung voranzugehen (A) Das Myelin (blau) ist relativ erhalten trotz (B) einem ausgeprägten Verlust von AQP4. (C) In manchen Läsionen ist GFAP(braun) exprimiert trotz (D) dem Mangel an AQP4, Jarius et al. 2008.

Im Gegensatz dazu, scheint AQP4 in aktiven MS- Läsionen hochreguliert und lediglich in inaktiven Phasen vermindert zu sein, vgl. dazu Abb. 8. Da die Bildung von AQP4 Stadien-abhängig ist, ist AQP4 im Falle der MS wahrscheinlich nicht das primäre Zielantigen (Mitsdoerffer et al. 2013).

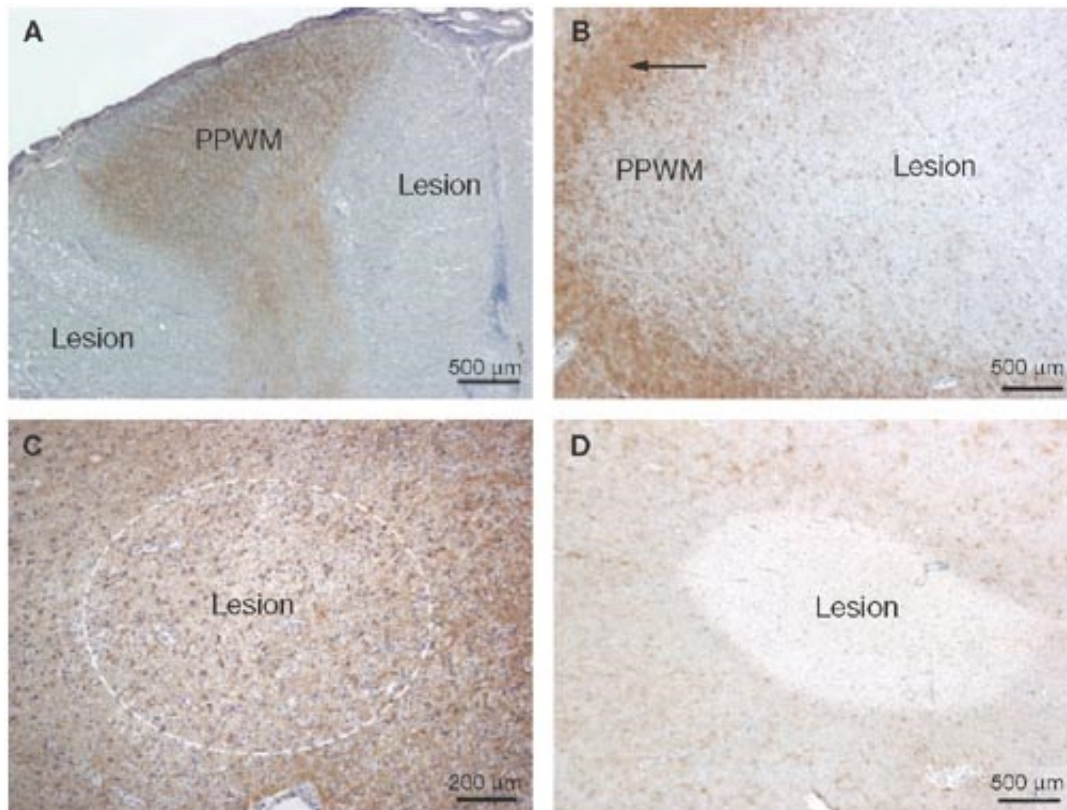


Abbildung 8: AQP4-Expression bei MS und NMO: Alle Abbildungen zeigen Rückenmarksläsionen. (A) Bei der NMO zeigt sich eine Stadien-unabhängige ausgeprägte Abnahme von AQP4 (braunes Areal) in den Läsionen, in der peri-Plaque-weißen-Substanz(PPWM) ist es erhalten. (B,C,D) Stadien-abhängige AQP4-Immunreaktion in Läsionen der Multiplen Sklerose. (B) Aktive Stadium: Gesteigerte AQP4-Expression in der grauen Substanz (Pfeil) und der PPWM. (C) Aktive Remyelinisierung: Diffuse Expression von AQP4. (D) Chronisch inaktive Läsion: Vollständiger Verlust von AQP4, Jarius et al. 2008.

Ähnliche Läsionen wurden in einem Tierversuch beobachtet. Mäusen mit einer experimentellen autoimmunen Enzephalomyelitis wurde passiv AQP4-IgG verabreicht. Dies führte zu einer Verschlechterung der Erkrankung und reproduzierte das histopathologische Bild von NMO-Läsionen.

Bei Tieren ohne EAE zeigte die Applikation hingegen keine Pathologien. Daher besteht Grund zur Annahme, dass ein inflammatorischer Prozess wie im EAE-Model, Voraussetzung für eine pathogene Wirksamkeit der AQP4-Injektion ist. Bei Menschen können diese Voraussetzung durch ZNS Infektionen oder generalisierten Infektionen mit neurotrophen Viren erfüllt werden. Eine Virusinfektion in der Anamnese ist bei 15-35% der NMO-PatientInnen zu erheben (González et al. 2013).

5.3 NMO-Antikörper

Die Entdeckung eines zirkulierenden IgG1-Antikörpers (auch NMO-IgG genannt) bei NMO-PatientInnen, der bei MS-PatientInnen und gesunden Probanden nicht nachgewiesen werden konnte, wurde im Jahre 2004 von Lennon et al. publiziert. Dieser Antikörper wies eine ausgeprägte Spezifität (>90%) und eine Sensitivität von 74% auf und wurde in die revidierten Diagnosekriterien der NMO, den NMSS Task Force Kriterien, sowie den European Task Force Kriterien aufgenommen. Auch wenn die Pathogenese noch nicht vollständig geklärt ist, ist die Identifizierung von AQP4-IgG ein enormer Fortschritt für die Diagnose und ermöglicht eine klare Unterscheidung zwischen der NMO und MS. Erstmals konnte trotz unvollständiger Erfüllung der diagnostischen Kriterien eine immunsuppressive Therapie aufgrund des AQP4-Antikörper-Nachweises im Serum eingeleitet werden (González et al. 2013, Chanson et al. 2013).

Die Verteilung der Antikörper-Bindung im ZNS von Mäusen wies darauf hin, dass das entsprechende Antigen im Bereich der Blut-Hirn-Schranke zu suchen war. Aquaporin 4 wurde kurz darauf als ein Zielantigen der Immunreaktion bei der NMO identifiziert (Lennon et al. 2004, Bradl et al. 2009).

In Experimenten mit Mäusen führte die intravenöse Applikation von rekombinanten monoklonalen humanen Anti-AQP4-IgG zu einer Anreicherung in AQP4-exprimierenden Zellmembranen der Niere, des Skelettmuskels, der Trachea, des Darms und der Astrozyten des Gehirns. Da die NMO ausschließlich das ZNS betrifft, wurde in einem weiteren Versuch intrazerebral IgG von NMO-PatientInnen und humanes Komplement verabreicht. Dabei wurden NMO-typische Läsion mit Inflammation, Verlust an AQP4-Expression, perivaskuläre Ablagerungen von aktivierten Komplementfaktoren, ausgeprägte Demyelinisierung, Astrozytendegeneration und Neuronenzelltod hervorgerufen (González et al. 2013).

Aus Studien gibt es Hinweise, dass Anti-AQP4 Antikörper einen direkten zytotoxischen Effekt haben. Sie zählen zur IgG Subklasse und können Komplement aktivieren (González et al. 2013, Papadopoulos und Verkman 2012).

Sowohl bei Mäusen als auch in vitro, führt die Bindung von AQP4-IgG an AQP4 zu einer Komplement-abhängigen Zytotoxizität, wenn Komplement vorhanden ist. Die Komplement-abhängige Zytotoxizität scheint daher der Hauptmechanismus in der NMO Pathogenese zu sein (González et al. 2013, Papadopoulos und Verkman 2012).

AQP4-IgM-Antikörper kommen bei etwa 10% der NMO-PatientInnen vor, sind aber stets zusammen mit IgG- Antikörpern nachweisbar. Umgekehrt findet man IgG-Antikörper häufig ohne IgM-Nachweis. Sie scheinen daher vernachlässigbar und eine Testung nicht indiziert zu sein (González et al. 2013).

Aus klinischen Beobachtungen und Studien zeigt sich, dass die AQP4-IgG-Konzentration im Serum mit der Schwere der Erkrankung korreliert. Generell scheint es, als ob vor einem Schub die Konzentration steigt und ihre Abnahme im Plasma nach Plasmapherese die Krankheitsaktivität reduziert. Allerdings gibt es keinen festgelegten Schwellwert, da die Konzentrationen individuell verschieden sind. Ob die Antikörper für die Krankheitsaktivität und Therapiewirksamkeit als Marker verwendbar sind, muss erst noch bestimmt werden (Papadopoulos und Verkman 2012, González et al. 2013).

Derzeit existiert kein Standardtest zur Untersuchung von AQP4-Antikörpern. Mindestens 15 verschiedene Bestimmungsmethoden sind aktuell verfügbar, trotz erheblicher Schwankungen in der Sensitivität, ist die Spezifität (im Mittel 99%) sehr hoch. Die häufigsten Methoden im klinischen Alltag sind die indirekte Immunfluoreszenz und ELISA im Serum (González et al. 2013).

Zwar schließt ein negativer AQP4-IgG-Test die Erkrankung nicht aus, ein positiver Befund jedoch bestätigt den Verdacht. Mit der Verfügbarkeit der AQP-4-IgG besteht nun auch eine labortechnische Unterscheidungsmöglichkeit der seropositiven NMO von der MS. Somit stellen klinische und radiologische Befunde nicht mehr die einzige Methode zur Differenzierung dar. Für die NMO-IgG-negativen PatientInnen sind diese Methoden jedoch nach wie vor besonders relevant (Jarius und Wildemann 2013).

6 Diskussion

Seit Jahrzehnten beschäftigen sich weltweit Forschungsgruppen mit der Entschlüsselung neuropathologischer Vorgänge der MS und assoziierten ZNS-Erkrankungen. Die Entdeckung der oligoklonalen Banden rückte erstmals die humorale Komponente der Krankheitsentstehung in den Vordergrund. Die Angriffspunkte dieser Antikörper zu entdecken ist allerdings bis heute nicht gelungen. Obwohl die humorale Reaktion nicht als einzige Komponente in der Entzündungsreaktion gesehen werden sollte, ist sie dennoch ein wichtiger Faktor. Folglich machte es sich Vielzahl an Studien zum Ziel die Rolle der Antikörper und ihre Angriffspunkte aufzudecken. Die vorliegende Arbeit beschäftigte sich deshalb eingehend mit der Frage nach neuen wissenschaftlichen Erkenntnissen sowie dem aktuellen Wissensstand in der Antikörperforschung der MS und assoziierten Erkrankungen.

Auch wenn viele potentielle Biomarker beschrieben wurden, ist der bedeutendste Marker für den klinischen Gebrauch nach wie vor der Nachweis oligoklonaler Banden im Liquor von MS-PatientInnen. Eine große Zahl an Studien befasste sich intensiv mit der Aufklärung ihrer Funktion in der Pathogenese. Ob die OKB nun maßgeblich zur Pathologieentstehung führen oder, ob sie sich als Epiphänomen im Rahmen der Gewebsschädigung entwickeln, ist noch nicht geklärt, aber möglicherweise der entscheidende Schlüssel zum besseren Verständnis der Natur dieser komplexen Erkrankung. Einige Studiendesigns versuchten das potentielle Antigen der OKB-Antikörper zu detektieren. Selbst die unterschiedlichen Verfahren und Strategien führten jedoch nicht zum gewünschten Erfolg. Die Identifizierung von Antigenen im Rahmen von Immunassays kann durch Faktoren wie Antikörperaffinität, Fixierungsmethode und Antigenmenge beeinträchtigt sein. Die Liste potentieller Antigene für die oligoklonalen Banden ist äußerst umfangreich.

Das Antigen ist möglicherweise nicht neuronal. Beim Extrahieren von IgG aus Hirngewebe und Liquor von MS-PatientInnen, bindet der Antikörper kaum an Hirngewebe von MS-PatientInnen oder Gesunden. Es könnte vielmehr ein infektiöses Agens Zielstruktur sein (Owens et al. 2006).

Interessanterweise sind die OKB im gesamten Krankheitsverlauf, also auch in symptomfreien Intervallen und trotz aggressiver Therapien, persistierend. Dies spricht dafür, dass die Antikörper wahrscheinlich für die Progression wenig relevant sind. Auf eine bestimmte Aktivität der Erkrankung oder Verlaufsform, lässt sich also aus der Zahl der OKB nicht schließen.

Für die tatsächliche Einstufung OKMB-positiver PatientInnen als Hoch-Risiko-Gruppe sind letztendlich weitere Studien für den Beweis eines signifikanten Zusammenhangs zwischen der Prognose und der intrathekalen IgM-Synthese erforderlich, da eine solche Einstufung eine zu einem früheren Zeitpunkt erfolgende, aggressivere Therapie zur Folge hätte

Die MOG-Antikörper sind seit langer Zeit in Diskussion. Zahlreiche Studien waren äußerst kontrovers, von nicht signifikanten bis zu hochsignifikanten Ergebnissen, was häufig unterschiedlichen Forschungsverfahren zuzurechnen war. Die Studie von Berger et al. 2003 postulierte erstmals einen klinisch signifikanten Zusammenhang zwischen dem Nachweis von MOG-Antikörpern und der Prognose- fälschlicherweise- wie sich einige Jahre später unerwartet herausstellte. Das Forschungsteam um Kuhle et al. wandte in enger Zusammenarbeit mit den Beteiligten der im Jahre 2003 erfolgten Studie exakt dasselbe Untersuchungsverfahren an, weshalb die Diskrepanzen in den Ergebnissen nicht Folge des uneinheitlichen Vorgangs gewesen sein können.

Eine Bestimmung der Ursachen für diese gegenteiligen Resultate gestaltet sich als schwierig. Bis auf minimale Unterschiede die Studienkohorten betreffend, in Hinsicht auf den Zeitpunkt der Blutentnahme und Kortikosteroidtherapie, gibt es keine weiteren Anhaltspunkte für eine mögliche Erklärung.

Trotz der bedauerlichen Unmöglichkeit einer Reproduktion der Ergebnisse, ist diese Erkenntnis dennoch von besonderer Bedeutung, da sie eindeutig zeigt, dass ein Überprüfen von Forschungsergebnissen in jedem Fall vor deren Geltendmachung als Faktum indiziert ist.

Der wechselnde Stellenwert der MOG Antikörper demonstriert die Schwierigkeiten in der Entwicklung zuverlässiger Biomarker für die Stratifizierung von MS-PatientInnen.

Welche Strukturen in der grauen Substanz und den Axonen bei MS-PatientInnen Angriffspunkte für die Schädigung sind, ist nicht geklärt. Ein interessanter Ansatz, der gänzlich ohne den Einfluss bisheriger Studien und abseits der bereits viel erforschten Antigene auskam, war das Studiendesign von Derfuss et al. 2009, wodurch die neuen potentiellen Antigene, Contactin-2 und Neurofascin, identifiziert wurden. Beide kommen sowohl in der Myelinschicht als auch in den Neuronen vor.

Infolge der näheren Erforschung dieser Antigene, wies die Lokalisation darauf hin, dass die Antigene wichtige Angelpunkte sowohl in der Schädigung der weißen als auch grauen Substanz sein könnten.

Anschließend wurden mögliche Reaktionen dieser neuen Antigene im Tiermodell untersucht. Beachtlich war in diesem Zusammenhang, dass sich die Immunreaktion im Vergleich zu Tiermodellen mit MOG-Antikörpern vorwiegend gegen die graue Substanz in Gehirn und Rückenmark und Axone richtete.

Diese Ergebnisse schildern eindrucksvoll, wie aufgrund einer unvoreingenommenen Herangehensweise vollkommen neue Erkenntnisse gewonnen werden können. Die Erkenntnisse sprechen für die Überlegung, dass die Axonschädigung nicht nur unspezifisch als Folge der Demyelinisierung vorkommt, sondern auch direkt Antigen-gezielt erfolgt.

In jedem Fall ist eine Durchführung weiterer Studien erforderlich, um eine Aussage für die Relevanz dieser neuen Zielantigene in der MS treffen zu können. Insbesondere ist zu klären, ob die Reaktion bei menschlichen MS-PatientInnen derjenigen im Tiermodell gleicht und ob PatientInnen mit einem Nachweis axogliale Antikörper möglicherweise mit einer aggressiveren Form der MS konfrontiert sind, da die Schädigung der grauen Substanz in progressiven Stadien zunimmt und häufig mit der klinischen Progression korreliert.

Die Besonderheit der Arbeit von Srivastava et al. bestand zunächst darin, dass ein unvoreingenommenes Forschungsverfahren für die Suche nach für MS-PatientInnen spezifischen Serumantikörpern durchgeführt und nach deren Entdeckung schrittweise das Zielantigen gesucht wurde. Des Weiteren waren nicht nur die Antikörper gegen KIR4.1 hochspezifisch für die MS, sondern auch das Zielantigen plausibel. Letztendlich wurden zudem neuropathologische Veränderungen bei den Mäusen nach Injektion von humanen Anti-KIR4.1 und Komplement gefunden, welche die Annahme eines pathogenen Potentials beim Menschen unterstützen (Cross und Waubant 2012).

Ausgesprochen interessant ist, dass die Antikörper gegen Kir4.1 im in vivo-Test bei nahezu 50%, in den Vergleichsgruppen aber praktisch nicht nachweisbar waren. Im Vergleich zu bisherigen Antigen-Antikörper-Studien ist dieses Ergebnis äußerst signifikant und viel versprechend.

Diese Zielstruktur scheint also zumindest bei einem Teil der MS-PatientInnen auslösend für die Antikörperreaktion zu sein. Der KIR4.1-Antikörper muss nun auf seine Eignung als Marker für die MS analysiert werden und in diesem Rahmen ist zu untersuchen, ob der Antikörperspiegel im Serum durch bestimmte Therapeutika beeinflussbar ist. Es wäre möglich, dass KIR4.1-Antikörper bald eine ähnlich wichtige Rolle spielen könnten wie AQP4-Antikörper bei der NMO und sich für die klinische Anwendbarkeit etablieren.

Aquaporin4-Antikörper sind spezifisch für die NMO. Die pathogene Rolle von NMO-IgG muss geklärt werden, ob der Antikörper Auslöser der Erkrankung oder einer von mehreren Mechanismen ist, bleibt offen. Interessant wäre außerdem die Untersuchung, ob zwischen NMO-negativen und positiven PatientInnen im klinischen Verlauf markante Unterschiede bestehen beziehungsweise ob die AQP4-Antikörper-Titer mit der Krankheitsaktivität zusammenhängen. Auch die Rolle der T-Zellen könnte in diesem Kontext diskutiert werden. Im Mausmodell sind sie für die Entstehung der NMO Läsionen durch Injektion von AQP4-Antikörper nicht erforderlich, eventuell aber entscheidend bei NMO-IgG-negativen PatientInnen.

Jedenfalls wären Studien mit großen Kohorten für die Definition eines Schwellwerts des AQP4-Antikörperlevels erforderlich, wodurch eine nähere Feststellung des Beginns eines neuerlichen Schubes oder der Wirksamkeit einer Therapie möglich wäre. Bisher dient der Marker hauptsächlich der Diagnosestellung.

Da es bisher keine randomisierten Studien für die Therapie der NMO gibt, sollte ein verbessertes Tiermodell für den Test neuer Behandlungsmethoden etabliert werden. Neue, gezielt gegen die NMO-IgG gerichtete Therapien, würden ein enormen Fortschritt bedeuten und in der Folge zumindest für NMO-IgG-positive PatientInnen eine viel versprechende Option darstellen.

Ein weiteres Tätigkeitsfeld zukünftiger Forschungsprojekte sollte die Untersuchung sein, weshalb NMO Läsionen praktisch ausschließlich in Sehnerven und Rückenmark zu finden sind, nicht aber im Gehirn und der Peripherie.

Die Entdeckung und Integration der NMO-Antikörper in die Diagnosekriterien ermöglichte den behandelnden ÄrztInnen erstmals eine klare Abgrenzung zu einer MS-Verdachtsdiagnose. Dieser revolutionäre Forschungserfolg weckt die Zuversicht, dass es zukünftig noch viele Erkenntnisse geben wird, die Schritt für Schritt hoffentlich auch eine derart komplexe Erkrankung wie die MS entschlüsseln werden.

6.1 Schlussfolgerung und Ausblick

Aus den erwähnten bisherigen Studien lässt sich vermuten, dass bei einer so heterogenen Erkrankung wie der MS nicht allein ein Zielantigen, sondern eine Vielzahl in den Autoimmunvorgängen involviert sind.

Trotz enormer Fortschritte in der Antikörperforschung sind noch viele Fragen offen. Die Rolle der B-Zellpopulationen, die Mechanismen die zur ausgeprägten Heterogenität der Erkrankung führen, sowie die Schnittstellen der Abwehrkomponenten sind in jedem Fall noch für die Verschaffung eines ganzheitlichen Erkrankungsbildes zu klären.

Zur Aussagekraft der einzelnen Resultate fehlen zudem umfassende weiterführende Studien für eine Reproduktion der Ergebnisse und Erforschung der Bedeutung der Antigen-Antikörper-Reaktion, spezifisch für die MS und assoziierte Erkrankungen.

Letztendlich wird die Charakterisierung der Zielantigene weiterhin das entscheidende Thema in den Forschungsprojekten sein. Erst durch die Entschlüsselung der pathophysiologischen Mechanismen, wird die Entwicklung neuer Therapien möglich sein, die im Weiteren den Krankheitsverlauf entscheidend beeinflussen.

Die zukünftigen Forschungsergebnisse bewirken hoffentlich die Etablierung von Biomarkern und somit die Möglichkeit PatientInnen durch ihr Autoantikörperprofil einem Subtyp der MS zuteilen zu können, um in Folge eine Prognose erstellen beziehungsweise eine individuell abgestimmte Therapie anbieten zu können.

7 Literaturverzeichnis

Awad A, Hemmer B, Hartung H, Kieseier B, Bennett J, Stuve O.: Analyses of cerebrospinal fluid in the diagnosis and monitoring of multiple sclerosis. *J Neuroimmunolog.* 2010;219:1-7.

Barnett MH, Sutton I.: Neuromyelitis optica: not a multiple sclerosis variant. *Curr Opin Neurol.* 2012 Jun;25(3):215-20.

Berger T, Rubner P, Schautzer F, Egg R, Ulmer H, Mayringer I, Dilitz E, Deisenhammer F, Reindl M.: Antimyelin antibodies as a predictor of clinically definite multiple sclerosis after a first demyelinating event. *N Engl J Med.* 2003 Jul 10;349(2):139-45.

Bradl M, Misu T, Takahashi T, Watanabe M, Mader S, Reindl M, Adzemovic M, Bauer J, Berger T, Fujihara K, Itoyama Y, Lassmann H.: Neuromyelitis optica: pathogenicity of patient immunoglobulin in vivo. *Ann Neurol.* 2009 Nov;66(5):630-43.

Brennan K, Galban-Horcajo F, Rinaldi S, O'Leary C, Goodyear C, Kalna G, Arthur A, Elliot C, Barnett S, Linington C, Bennett J, Owens G, Willison H.: Lipid arrays identify myelin-derived lipids and lipid complexes as prominent targets for oligoclonal band antibodies in multiple sclerosis. *J Neuroimmunolog.* 2011 Sep 15;238(1-2):87-95.

Calder C, Duddy M, Bar-Or A.: B-cell subsets: cellular interactions and relevance in multiple sclerosis. *Rev Clin Immunol.* 2007;3(1):73-83.

Chanson JB, de Seze J, Eliaou JF, Vincent T.: Immunological follow-up of patients with neuromyelitis optica: is there a good biomarker? *Lupus.* 2013 Mar;22(3):229-32.

Cross AH, Waubant E.: Antibodies to potassium channels in multiple sclerosis. *N Engl J Med.* 2012 Jul 12;367(2):172-4.

Derfuss, Tobias: Personalized medicine in multiple sclerosis: hope or reality? *BMC Med.* 2012;10(1):116.

Derfuss T, Linington C, Hohlfeld R, Meinl E.: Axo-glial antigens as targets in multiple sclerosis: implications for axonal and grey matter injury. *J Mol Med (Berl)*. 2010 Aug;88(8):753-61. Review

Derfuss T, Meinl E.: Identifying autoantigens in demyelinating diseases: valuable clues to diagnosis and treatment? *Curr Opin Neurol*. 2012 Jun;25(3):231-8. Review

Derfuss T, Parikh K, Velhin S, Braun M, Mathey E, Krumbholz M, Kümpfel T, Moldenhauer A, Rader C, Sonderegger P, Pöllmann W, Tiefenthaller C, Bauer J, Lassmann H, Wekerle H, Karagogeos D, Hohlfeld R, Linington C, Meinl E.: Contactin-2/TAG-1-directed autoimmunity is identified in multiple sclerosis patients and mediates gray matter pathology in animals. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009 May 19;106(20):8302-7.

Dutta R, Trapp B.: Mechanisms of neuronal dysfunction and degeneration in multiple sclerosis. *Prog Neurobiol*. 2011 Jan;93(1):1-12.

Fraussen J, Vrolix K, Martinez-Martinez P, Losen M, De Baets MH, Stinissen P, Somers V.: B cell characterization and reactivity analysis in multiple sclerosis. *Autoimmun Rev*. 2009;8:654-8.

González C, González-Buitrago JM, Izquierdo G.: Aquaporins, anti-aquaporin-4 autoantibodies and neuromyelitis optica. *Clin Chim Acta*. 2013 Jan 16;415:350-60.

Graber J, Dhib-Jalbut S.: Biomarkers of disease activity in multiple sclerosis. *J Neurol Sci*. 2011 Apr 03;305:1-10.

Hibino H, Inanobe A, Furutani K, Murakami S, Findlay I, Kurachi Y.: Inwardly rectifying potassium channels: Their structure, function, and physiological roles. *Physiol Rev*. 2010 Jan 01;90:291-366.

Hoffmann S, Vitzthum K, Mache S, Spallek M, Quarcoo D, Groneberg D, Uibel S.: Multiple Sklerose: Epidemiologie, Pathophysiologie, Diagnostik, Therapie. *Prakt. Arb.med*. 2009;17:12-8.

Hohlfeld R, Meinl E, Dornmair K.: B- and T-cell responses in multiple sclerosis: novel approaches offer new insights. *J Neurol Sci.* 2008 Nov 15;274(1-2):5-8. Review.

Jarius S, Paul F, Franciotta D, Waters P, Zipp F, Hohlfeld R, Vincent R, Wildemann B.: Mechanisms of Disease: aquaporin-4 antibodies in neuromyelitis optica. *Nat Clin Pract Neurolog.* 2008;4:202-14.

Jarius S, Wildemann J.: The history of neuromyelitis optica. *J Neuroinflamm.* 2013;10:8. Review

Krumbholz M, Derfuss T, Hohlfeld R, Meinl E.: B cells and antibodies in multiple sclerosis pathogenesis and therapy. *Nat Rev Neurolog.* 2012 Oct 09;8:613-23.

Kuhle J, Pohl C, Mehling M, Edan G, Freedman MS, Hartung HP, Polman CH, Miller DH, Montalban X, Barkhof F, Bauer L, Dahms S, Lindberg R, Kappos L, Sandbrink R.: Lack of association between antimyelin antibodies and progression to multiple sclerosis. *N Engl J Med.* 2007 Jan 25;356(4):371-8.

Lalive PH.: Autoantibodies in inflammatory demyelinating diseases of the central nervous system. *Swiss Med Wkly.* 2008 Nov 29;138(47-48):692-707. Review.

Lassmann H, Brück W, Lucchinetti CF.: The immunopathology of multiple sclerosis: an overview. *Brain Pathol.* 2007 Apr;17(2):210-8. Review.

Lennon V, Wingerchuk D, Kryzer T, Pittock S, Lucchinetti C, Fujihara K, Nakashima I, Weinshenker B.: A serum autoantibody marker of neuromyelitis optica: distinction from multiple sclerosis. *Lancet.* 2004 Dec 11;364:2106-12.

Limmroth V, Sindern E. 2004. Multiple Sklerose: Taschenatlas Spezial. Deutschland: Thieme-Verlag.

Mayer MC, Hohlfeld R, Meinl E.: Viability of autoantibody-targets: how to tackle pathogenetic heterogeneity as an obstacle for treatment of multiple sclerosis. *J Neurol Sci.* 2012 Aug 15;319(1-2):2-7.

Meinl E, Derfuss T, Krumbholz M, Pröbstel AK, Hohlfeld R.: Humoral autoimmunity in multiple sclerosis. *J Neurol Sci.* 2011 Jul 15;306(1-2):180-2. Review.

Mitchell A, Benito-Léon J, Moralez González J, Rivera-Navarro J.: Quality of life and assessment in multiple sclerosis: integrating physical and psychological components of wellbeing. *Lancet Neurol.* 2005;(4):556-66.

Mitsdoerffer M, Kuchroo V, Korn T. Immunology of neuromyelitis optica: a T cell-B cell collaboration. *Ann N Y Acad Sci.* 2013 Apr;1283:57-66. Review

Morrow MJ, Wingerchuk D.: Neuromyelitis optica. *J Neuroophthalmol.* 2012 Jun;32(2):154-66.

Ottervald J, Franzén B, Nilsson K, Andersson LI, Khademi M, Eriksson B, Kjellström S, Marko-Varga G, Végvári A, Harris RA, Laurell T, Miliotis T, Matusevicius D, Salter H, Ferm M, Olsson T.: Multiple sclerosis: Identification and clinical evaluation of novel CSF biomarkers. *J Proteomics.* 2010 Apr 18;73(6):1117-32.

Owens G, Bennett J, Gilden D, Burgoon M.: The B cell response in multiple sclerosis. *Neurol Res.* 2006 Apr;28:236-344.

Papadopoulos MC, Verkman AS.: Aquaporin 4 and neuromyelitis optica. *Lancet Neurol.* 2012 Jun;11(6):535-44. Review.

Papadopoulos MC, Verkman AS.: Aquaporin water channels in the nervous system. *Nat Rev Neurosc.* 2013 Apr;14:265-77.

Polman CH, Reingold, SC, Banwell B, Clanet M, Cohen JA, Filippi M, Fujihara K, Havrdova E, Hutchinson M, Kappos L, Lublin FD, Montalban X, O'Connor P, Sandberg-Wollheim M, Thompson AJ, Waubant E, Weinshenker B, Wolinsky JS.: Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 Revisions to the McDonald criteria. *Ann Neurol.* 2011;69 (2): 292–302.

Ratelade J, Verkman AS.: Neuromyelitis optica: aquaporin-4 based pathogenesis mechanisms and new therapies. *Int J Biochem Cell Biol.* 2012 Sep;44(9):1519-30. Review

Reindl M, Khalil M, Berger T.: Antibodies as biological markers for pathophysiological processes in MS. *J Neuroimmunol.* 2006 Nov;180(1-2):50-62. Review.

Srivastava R, Aslam M, Kalluri SR, Schirmer L, Buck D, Tackenberg B, Rothhammer V, Chan A, Gold R, Berthele A, Bennett JL, Korn T, Hemmer B.: Potassium channel KIR4.1 as an immune target in multiple sclerosis. N Engl J Med. 2012 Jul 12;367(2):115-23.

Verkhratsky A, Butt AM.: Inwardly rectifying potassium channels Kir in central nervous system: a special role for Kir4.1 in glial functions. J Cell Mol Med. 2006 Mar 15;10(1): 33-44.

Villar L, Sádaba M, Roldán E, Masjuan J, González-Porqué P, Villarrubia N, Espiño M, García-Trujillo J, Bootello A, Álvarez.Cermeño J.: Intrathecal synthesis of oligoclonal IgM against myelin lipids predicts an aggressive disease course in MS. J Clin Invest. 2005;115:187-94.

Weissert R : The Immune Pathogenesis of Multiple Sclerosis. J Neuroimmune Pharmacol. 2013 Sep;8(4):857-66.

Zadro I, Brinar V, Horvat G, Brinar M.: Clinical relevance of antibodies against myelin oligodendrocyte glycoprotein in different clinical types of multiple sclerosis. Clin Neurol Neurosurg. 2007 Jan;109:23-6.

7.1 Internetquellen

Hübl W, Verfügbar unter:

http://www.med4you.at/laborbefunde/lbef_eiweiss_liquor.htm (Stand 30.03.14).

Max-Planck-Institut/Schorner, Verfügbar unter:

http://www.neuro.mpg.de/373946/research_report_412878 (Stand 30.03.14).

Stüve O, Oksenberg J. Multiple Sclerosis Overview (2006), Verfügbar unter:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1316/> (Stand 23.03.2013).