

Diplomarbeit

**Liquor und Serum Biomarker des
Eisenmetabolismus in Relation zu Gehirn MRI
Parameter für Eisenablagerung und
Gewebedestruktion bei Multipler Sklerose**

eingereicht von

Bettina Riedlbauer

Geb.Dat.: 02.10.1987

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktorin der gesamten Heilkunde

(Dr. med. univ.)

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt an der

Universitätsklinik für Neurologie

unter der Anleitung von

Dr. med. univ. Michael Khalil PhD

Ao. Univ.-Prof. Dr. med. univ. Gudrun Reiter

Dipl.-Ing. Dr. techn. Christian Langkammer

Ort, Datum

(Unterschrift)

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

Unterschrift

Danksagungen

An dieser Stelle möchte ich mich ganz herzlich bei allen Personen bedanken, die mich bei der Erstellung dieser Diplomarbeit unterstützt haben.

Ich bedanke mich bei Frau **Univ.-Prof. Dr. Reiter** für die Möglichkeit der Erstellung dieser Arbeit. Ein besonderer Dank gilt Herrn **Dr. Khalil PhD** für die sehr gute Betreuung und ständige Unterstützung. Ohne seine Hilfe wäre die Erstellung der Diplomarbeit nicht möglich gewesen. Bei Herrn **Dipl.-Ing. Dr. Langkammer** möchte ich mich recht herzlich für die Bereitstellung und Auswertung der MRT Ergebnisse bedanken.

Ein weiterer Dank gilt Frau **Kröll** und dem gesamten Team des Liquorlabors der Universitätsklinik für Neurologie.

Meinen lieben **Eltern** gebührt mein allergrößter Dank weit über diese Diplomarbeit hinaus. Sie haben mich nicht nur während des gesamten Studiums unterstützt und gefördert, sondern sind mir auch in jeder Lebenslage zur Seite gestanden. Ich möchte mich auch noch bei meinen **Großeltern** und **Freunden** für die stetige Unterstützung bedanken.

Zusammenfassung

Hintergrund: Aus vor allem Magnetresonanztomographie (MRT) Studien geht hervor, dass Multiple Sklerose (MS) Patienten im Laufe ihrer Krankheit vermehrt Eisen im Gehirn ablagern. Bis dato ist nicht klar, ob solche Veränderungen Biomarker des Eisenmetabolismus in Körperflüssigkeiten auch betreffen und ob diese mit MRT Ergebnissen korrelieren.

Zielsetzung: Das Ziel der Studie war es, zu untersuchen, ob es bei Patienten mit klinisch isoliertem Syndrom (CIS) und MS im Vergleich zu Patienten mit anderen nicht-entzündlichen neurologischen Erkrankungen Veränderungen in Bezug auf diese Biomarker gibt. Ein weiteres Ziel war es, zu testen, ob vermehrte Gehirneisenablagerungen, gemessen durch R2* MRT Aufnahmen und die T2 Läsionslast mit diesen Biomarkern korrelieren.

Methoden: Die Kohorte umfasste 74 nicht-anämische CIS/MS Patienten (CIS: 60, MS: 14) und 68 Kontrollen. Keiner der Patienten erhielt zum Zeitpunkt der Lumbalpunktion eine MS-spezifische immunmodulatorische Therapie. Bei allen Patienten wurde aus dem Serum Ferritin, Transferrin und der lösliche Transferrinrezeptor und aus dem Liquor Ferritin und Transferrin mittels Nephelometrie bestimmt. Die Transferrinsättigung im Serum wurde mittels Transferrin und Ferritin im Serum errechnet. Bei den CIS/MS Patienten wurden 3 Tesla MRT Untersuchungen zur Bestimmung des Gehirneisengehaltes (R2* Relaxometrie) und der T2 Läsionslast durchgeführt.

Ergebnisse: Transferrin im Liquor war in der CIS/MS Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant erniedrigt ($p < 0,001$). Höhere Transferrin ($r = -0,3$, $p < 0,05$) und Ferritin ($r = -0,4$, $p < 0,005$) Werte korrelierten mit niedrigeren EDSS Werten. Bei den restlichen Parametern bestand kein signifikanter Unterschied im Vergleich der beiden Gruppen. Die Korrelation von Transferrin mit den R2* Werten und der T2 Läsionslast zeigte keine Signifikanz.

Interpretation: Unsere Ergebnisse zeigen, dass Transferrin im Liquor in frühen Phasen der MS verringert ist und ein Zusammenhang mit dem Behinderungsgrad besteht. Es werden jedoch noch longitudinale Studien benötigt, um herauszufinden, ob Transferrin im Liquor als Prädiktor einer vermehrten Eisenablagerung gemessen durch MRT gesehen werden kann.

Abstract

Background: Abnormally high iron deposition mainly evidenced by magnet resonance imaging (MRI) techniques has been found in the brain of multiple sclerosis (MS) patients. So far it is not clear, if there are also alterations in biomarkers of the iron metabolism in body fluids and if they correlate with the MRI findings.

Objective: The main goal of this study was to test for differences of the biomarkers of the iron metabolism of patients with clinically isolated syndrome (CIS) and MS compared to controls. Another goal was to investigate if abnormally high iron depositions from R2* MRI findings and the T2 lesion load correlate with these biomarkers of the iron metabolism.

Methods: We studied 74 patients with CIS/MS (CIS: 60, MS: 14) and 68 controls with non-inflammatory neurological diseases. Patients did not receive MS-specific immunomodulatory therapy at the time of lumbar puncture. We measured serum levels of ferritin, transferrin and soluble transferrin receptor and liquor levels of ferritin and transferrin with a nephelometer. The serum transferrin saturation was calculated from serum ferritin and transferrin levels. Patients underwent MRI at 3 Tesla to determine brain iron levels (R2*-relaxometry) and the T2 lesion load.

Results: Liquor transferrin levels were significantly reduced in CIS/MS compared to the controls ($p < 0,001$). Higher transferrin ($r = -0,3$, $p < 0,05$) and ferritin levels ($r = -0,4$, $p < 0,005$) in the liquor correlated with lower EDSS values. There were no significant differences comparing CIS/MS patients with the control group regarding the other parameters. There was no correlation between liquor transferrin and R2* MRI findings and the T2 lesion load.

Conclusion: We conclude that liquor transferrin is lower in early phases of MS and that there is some relation to physical disability. Further longitudinal studies are required to investigate if liquor transferrin levels are predictive for developing abnormally high iron deposition in the brain as measured by MRI.

Inhaltsverzeichnis

| | |
|---|------|
| Danksagungen | ii |
| Zusammenfassung | iii |
| Abstract | iv |
| Inhaltsverzeichnis | v |
| Glossar und Abkürzungen | vii |
| Abbildungsverzeichnis | viii |
| Tabellenverzeichnis | ix |
| 1 Einleitung | 1 |
| 1.1 Epidemiologie | 3 |
| 1.2 Ätiologie | 4 |
| 1.3 Pathogenese | 6 |
| 1.3.1 Histopathologie und Immunpathogenese | 6 |
| 1.3.2 Axonschäden und Neurodegeneration | 7 |
| 1.4 Klinik und Verlaufsformen | 10 |
| 1.4.1 Symptomatik | 10 |
| 1.4.2 Verlaufsformen | 10 |
| 1.5 Diagnostik | 13 |
| 1.5.1 Klinisch neurologische Untersuchung | 15 |
| 1.5.2 Evozierte Potenziale | 17 |
| 1.5.3 Magnetresonanztomographie | 17 |
| 1.5.4 Liquoruntersuchung | 17 |
| 1.6 Differentialdiagnosen | 19 |
| 1.7 Therapie | 20 |
| 1.8 Eisen und Neurodegeneration bei MS | 23 |
| 1.8.1 Histopathologische und pathologische Aspekte von erhöhtem Eisen | 24 |

| | | |
|-------|---|----|
| 1.8.2 | Biomarker | 26 |
| 1.8.3 | Eisenmessung mittels Magnetresonanztomographie | 26 |
| 1.8.4 | Eisenmessung im Liquor und Serum | 30 |
| 1.9 | Ableitung der Fragestellung | 31 |
| 2 | Material und Methoden | 32 |
| 2.1 | Patienten | 32 |
| 2.2 | Methoden | 34 |
| 2.2.1 | Liquor- und Serumanalyse..... | 34 |
| 2.2.2 | Magnetresonanztomographie | 34 |
| 2.3 | Statistische Analyse | 36 |
| 3 | Ergebnisse | 37 |
| 3.1 | Vergleich der Liquor-/Serummarker zwischen der MS-Gruppe und der Kontrollgruppe | 37 |
| 3.2 | Korrelation der Liquor-/Serummarker mit klinischen und weiteren Laborvariablen | 40 |
| 3.3 | Korrelation der Liquor-/Serummarker mit MRI R2* Werten (Eisenablagerung) in den Basalganglien und T2 Läsionslast | 41 |
| 4 | Diskussion..... | 42 |
| 5 | Literaturverzeichnis | 52 |
| 6 | Curriculum vitae | 62 |

Anmerkung: Aus Gründen der leichteren Lesbarkeit wurde auf eine geschlechterspezifische Differenzierung verzichtet. Es findet die gebräuchliche maskuline Bezeichnung Anwendung. Sinngemäß werden jedoch stets beide Geschlechter erfasst.

Glossar und Abkürzungen

| | |
|----------------|---|
| AMS | Akute MS |
| ASI | Antikörper Synthese Indizes |
| CCSVI | Chronische cerebrospinale venöse Insuffizienz |
| CIS | Klinisch isoliertes Syndrom |
| DMT1 | Divalenter Metall Transporter 1 |
| EAE | Experimentelle autoimmune Enzephalopathie |
| EBV | Epstein Barr Virus |
| EDSS | Expanded Disability Status Scale |
| FLAIR Sequenz | Fluid-Attenuated Inversion Recovery Sequenz |
| FLASH Sequenz | Fast Low Angle Shot Sequenz |
| FS | Funktionelles System |
| HHV 6 | Humane Herpes Virus 6 |
| IgA | Immunglobulin A |
| IgG | Immunglobulin G |
| IgM | Immunglobulin M |
| IVIg | Intravenöse Immunglobuline |
| MHC | Hapthistokompatibilitätskomplex |
| MPRAGE Sequenz | Magnetization Prepared Rapid Acquisition Gradient Echo Sequenz |
| MRI | Magnet Resonance Imaging |
| MRT | Magnetresonanztomographie |
| MS | Multiple Sklerose |
| NAWM | Normal erscheinende weiße Substanz |
| PPMS | Primär progrediente MS |
| RRMS | Schubhaft-remittierende MS (relapsing-remitting) |
| SPMS | Sekundär progrediente MS |
| ZNS | Zentrales Nervensystem |

Abbildungsverzeichnis

| | |
|--|----|
| Abbildung 1. Verlaufsformen der MS modifiziert nach Lublin & Reingold 1996.... | 12 |
| Abbildung 2. Therapieschema der MS nach der Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Neurologie 2012 | 22 |
| Abbildung 3. Fenton Reaktion und Haber-Weiss-Reaktion | 25 |
| Abbildung 4. Echo einer Multiecho-FLASH-Serie und korrespondierende R2* Aufnahme | 28 |
| Abbildung 5. R2* MRT Aufnahme einer 39 Jahre alten MS Patientin mit CIS und einem 42 Jahre alten Patienten mit RRMS | 29 |
| Abbildung 6. Transferrin im Liquor (mg/dl) bei CIS/MS Patienten im Vergleich zur Kontrollgruppe | 38 |
| Abbildung 7. Transferrin im Liquor (mg/dL) im Vergleich mit den einzelnen Kontrollgruppen | 39 |
| Abbildung 8. Korrelation von höheren Liquor Transferrinwerten mit niedrigeren EDSS Werten..... | 40 |
| Abbildung 9. Korrelation von höheren Liquor Ferritinwerten mit niedrigeren EDSS Werten..... | 41 |

Tabellenverzeichnis

| | |
|--|----|
| Tabelle 1. McDonald Kriterien Stand 2010 (Polman et al., 2011)..... | 14 |
| Tabelle 2. Expanded Disability Status Scale (EDSS) (Kurtzke, 1983)..... | 16 |
| Tabelle 3. Differentialdiagnosen (Noseworthy et al., 2000)..... | 19 |
| Tabelle 4. Klinische, demographische und MRT Daten..... | 33 |
| Tabelle 5. Vergleich Liquor-/Serummarker der CIS/MS Gruppe mit der Kontrollgruppe | 37 |

1 Einleitung

MS ist die häufigste entzündliche demyelinisierende Erkrankung des zentralen Nervensystems (ZNS). Das Haupterkrankungsalter liegt bei etwa 30 Jahren. Bei etwa 70 Prozent der Patienten manifestieren sich typische Symptome zwischen dem 20. und 40. Lebensjahr. Frauen sind häufiger betroffen als Männer. Die weltweite Inzidenz und Prävalenz der MS variieren stark. Dabei spielen genetische und geographische Faktoren wahrscheinlich eine Rolle (Rejdak et al., 2010).

Aus früheren Studien geht hervor, dass bei MS Patienten im Verlauf ihrer Krankheit eine vermehrte Eisenablagerung im Gehirn zu beobachten ist. Diese Ergebnisse stammen am häufigsten von magnetresonanztomographischen und histopathologischen Untersuchungen (Stankiewicz et al., 2007). Daneben existieren noch einige Informationen aus Analysen von Eisen und Eisen gebundenen Proteinen im Liquor und im Blut (Khalil et al., 2011a). Eisen spielt als Kofaktor für viele Proteine, welche für die Funktion von neuronalem Gewebe von Bedeutung sind, eine entscheidende Rolle im physiologischen neuronalen Metabolismus. Erhöhte Konzentrationen an reaktivem Eisen können jedoch oxidativen Stress hervorrufen, welcher zur Neurodegeneration im Gehirn führen kann (Zecca et al., 2004).

Bis jetzt ist jedoch nicht genau geklärt, ob Alterationen der Parameter des Eisenmetabolismus im Liquor cerebrospinalis und im Serum von MS Patienten vorkommen. Des Weiteren gibt es noch keine Daten darüber, ob ein Zusammenhang zwischen den im Liquor beziehungsweise Serum gemessenen Eisenwerten und den mittels MRT bestimmten erhöhten Eisenablagerungen im Gehirn besteht.

Diese Diplomarbeit widmete sich der Fragestellung, ob es Unterschiede zwischen der im Liquor und Serum gemessenen beziehungsweise errechneten Biomarkern (Ferritin, Transferrin, löslicher Transferrinrezeptor, Transferrinsättigung) bei CIS beziehungsweise MS Patienten und Patienten mit anderen neurologischen Erkrankungen gibt. Des Weiteren wurde untersucht, ob es Zusammenhänge zwischen diesen Biomarkern des Eisenstoffwechsels und den Ergebnissen der Eisenablagerungen mittels MRT gemessen und der T2 Läsionslast gibt.

Um einen Einblick in die Komplexität des Krankheitsbildes der MS zu gewinnen, wurde auf die Epidemiologie, die Ätiologie, die Pathogenese, die Klinik mit den verschiedenen Verlaufsformen, die Diagnostik, die Differentialdiagnosen und die Therapie der MS eingegangen. Der Hauptteil der Diplomarbeit fokussierte sich jedoch auf die Bedeutung und Messung von Eisen in Liquor- beziehungsweise Serumuntersuchungen und MRT Untersuchungen bei Patienten mit CIS beziehungsweise MS.

1.1 Epidemiologie

Die Prävalenz von MS weltweit variiert erheblich (Kurtzke, 2000). In Österreich beträgt sie 98,5 pro 100.000 Einwohner und ist somit ähnlich der Prävalenz anderer zentraleuropäischer Länder (Baumhackl et al., 2002).

Kurtzke unterteilte in den sechziger Jahren erstmals Länder entsprechend ihrer Prävalenzen (Kurtzke, 1966). In Ländern mit hoher Prävalenz treten mehr als 30 MS Fälle pro 100.000 Einwohner, in Ländern mit mittlerer Prävalenz 5 bis 29 MS Fälle pro 100.000 Einwohner und in Ländern mit niedriger Prävalenz weniger als 5 MS Fälle pro 100.000 Einwohner auf. Große Teile Europas, Israel, Kanada, die nördliche USA, Südost-Australien, Neuseeland und östliche Teile Russlands zählen zu den Hochrisikogebieten. Länder mit mittlerer Prävalenz sind der Süden der USA, große Teile Australiens, Südafrika, der südliche Mittelmeerraum, Russland bis Sibirien, die Ukraine und Teile Lateinamerikas. Zu den Ländern mit niedriger Prävalenz zählen Teile Asiens, Afrika und der nördliche Teil von Südamerika (Kurtzke, 2000).

1.2 Ätiologie

Die Ätiologie der MS ist nicht bekannt, es wird jedoch ein Zusammenspiel von genetischen Einflüssen und Umweltfaktoren angenommen (Compston & Coles, 2002).

Geografie und Migration

Aus mehreren Studien über Immigranten aus Afrika (Dean & Kurtzke, 1971), Israel (Alter et al., 1962), Hawaii (Detels et al., 1977) und England (Elian & Nightingale, 1990) geht hervor, dass der Umzug von Gebieten mit hohem MS Risiko in Gebiete mit niedrigerem Risiko mit einem reduzierten Risiko MS zu entwickeln verbunden ist. Umgekehrt steigt das Risiko einer MS Erkrankung bei einem Umzug in Hochrisikogebiete im Vergleich zur jeweiligen Bevölkerung an (Compston & Coles, 2008). Dabei spielt das Alter beim Umzug eine entscheidende Rolle. Migranten, die aus einem Hochrisikogebiet stammen und ein Gebiet mit niedrigerem Risiko auswandern, verringern ihr Risiko an MS zu erkranken, vorausgesetzt sie sind beim Umzug maximal 15 Jahre alt. Migranten, die aus einem Niedrigrisikogebiet in ein Hochrisikogebiet auswandern, erhöhen ihr Risiko an MS zu erkranken ab einem Alter von 11 Jahren beim Umzug (Kurtzke, 2000).

Genetik

Es ist gesichert, dass genetische Einflüsse in Zusammenhang mit MS stehen (Noseworthy et al., 2000). Das Risiko für Verwandte ersten Grades MS zu entwickeln beträgt 3-5%. Somit ist das Risiko 30-50fach höher als das der Gesamtbevölkerung, welches bei etwa 0,1% liegt (Sadovnick & Baird, 1988). Eine Zwillingsstudie von Sadovnick et al. konnte zeigen, dass die Konkordanzrate von monozygoten Zwillingen bei 30,8%, bei dizygoten Zwillingen aber nur bei 4,7% liegt. Diese unterschiedlichen Konkordanzraten lassen vermuten, dass mindestens zwei oder mehrere Gene für die Disposition verantwortlich sind (Sadovnick et al., 1993).

Infektionshypothese

In verschiedenen Studien wurde untersucht ob Pathogene wie Chlamydia pneumoniae, das Humane Herpes Virus 6 (HHV 6) und das Epstein Barr Virus

(EBV) in Zusammenhang mit MS stehen. Die folgenden Ergebnisse werden diskutiert:

Es existieren mehrere Studien, in denen ein Befall mit *Chlamydia pneumoniae* bei MS Patienten nachgewiesen wurde. Im Gegensatz dazu, gibt es jedoch auch viele Studien, die gegen eine entscheidende Rolle von *Chlamydia pneumoniae* in der Pathogenese der MS sprechen. Contini et al. befassten sich in ihrem Review mit den jeweiligen Studien und kamen zu dem Entschluss, dass eine Infektion mit *Chlamydia pneumoniae* wahrscheinlich keinen Auslösefaktor für eine MS Erkrankung darstellt (Contini et al., 2010).

Obwohl das HHV 6 in post mortem Läsionen von MS Patienten nachgewiesen wurde und eine Erhöhung der Virus-DNA und anderer HHV 6 Marker im Serum von MS Patienten gefunden wurden, konnte keine dieser Studien zeigen, dass das HHV 6 der Grund für eine MS ist. Es konnte durch keine Studie ausgeschlossen werden, dass die beobachteten Veränderungen im Bezug auf das HHV 6 bei MS Patienten nicht eine Konsequenz der MS Erkrankung selbst sind (Ascherio & Munger, 2007).

Ascherio & Munger diskutierten in ihrem Review den Zusammenhang zwischen EBV und MS. Es gibt viele Hinweise darauf, dass eine EBV Infektion einen wichtigen Faktor in der Pathogenese der MS darstellt. Einer davon ist, dass MS sehr selten bei EBV negativen Patienten zu finden ist. Eine Infektion im Erwachsenen- beziehungsweise jungen Erwachsenenalter, die sich als infektiöse Mononukleose manifestiert, stellt ein zwei- bis dreifach höheres Risiko an einer MS zu erkranken dar, als eine EBV Infektion im Kindesalter. Ergebnisse vieler Studien zeigen, dass eine erhöhte Antikörperkonzentration gegen EBV einer MS vorausgeht. Es gibt jedoch noch einige Faktoren die noch nicht geklärt sind und vermuten lassen, dass Kofaktoren zusätzlich eine Rolle spielen (Ascherio & Munger, 2010).

Weitere Risikofaktoren die im Zusammenhang mit der Entstehung von MS in Diskussion stehen sind Vitamin D Mangel, Rauchen, Diäten und Sexualhormone (Ascherio & Munger, 2007).

1.3 Pathogenese

Es wurde angenommen, dass die grundlegenden pathophysiologischen Mechanismen bei MS direkt durch entzündliche Attacken gegen Bestandteile des ZNS und eine daraus resultierende fokale Demyelinisierung der weißen Substanz hervorgerufen wird. Neuere Untersuchungen jedoch zeigen, dass mehrere Vorgänge in die Pathogenese mit eingeschlossen sind. Diese Pathomechanismen betreffen neben der weißen Substanz auch den Cortex, Areale der tiefen grauen Hirnsubstanz, das normal erscheinende Hirngewebe sowie die Axone. Die pathologischen Mechanismen, die zu den Gewebeschäden bei MS führen, weisen eine Heterogenität unter den Patienten auf und sind vom Stadium der Krankheit abhängig (Lassmann et al., 2007).

1.3.1 Histopathologie und Immunpathogenese

Durch die chronische Entzündung bei MS kommt es zu demyelinisierenden Plaques, auch als MS-Plaques bezeichnet, im ZNS (Noseworthy et al., 2000).

Die histologische Zusammensetzung dieser Plaques wurde durch immunhistochemische und molekularbiologische Methoden untersucht. Dabei fanden Luccinetti et al. vier verschiedene Muster, basierend auf dem Verlust von Myelin, der Geographie und Ausbreitung der Plaques, der Zerstörung von Oligodendrozyten und dem immunpathologischen Nachweis von Komplementaktivierung. Des Weiteren wurde nachgewiesen, dass die Plaques in ihrer Zusammensetzung zwischen verschiedenen Patienten heterogen sind, jedoch homogen innerhalb einer aktiven Läsion eines Patienten (Luccinetti et al., 2000).

Diese Hypothese wird jedoch von manchen Autoren angezweifelt (Lassman et al., 2007; Breij et al., 2008). Breij et al. fanden in ihrer Studie nur ein homogenes Muster der Demyelinisierung in aktiven demyelinisierenden Läsion bei Patienten mit gesicherter MS. Eine Heterogenität der Läsionen bei verschiedenen Patienten konnte nicht gefunden werden (Breij et al., 2008).

Eine Studie von Kutzelnigg et al. zeigte, dass nicht nur wie angenommen fokal demyelinisierende Plaques in der weißen Substanz für die klinischen Defizite verantwortlich sind, sondern auch Pathologien in der normal erscheinenden weißen Substanz (NAWM) und im Cortex zu finden sind. Bei der Schädigung dieser Areale scheinen eine diffuse Entzündung und Aktivierung von Mikroglia eine wesentliche Rolle zu spielen. Diese Vorgänge könnten wiederum zu diffusen Verlusten von Axonen mit sekundärer Demyelinisierung führen. Aus der Studie ging hervor, dass die diffuse Schädigung von NAWM und die kortikale Demyelinisierung vor allem bei Patienten mit primär oder sekundär progressivem Krankheitsverlauf auftreten. Neue, entzündliche und demyelinisierende Läsionen in der weißen Substanz kamen hauptsächlich bei Patienten mit akuter und schubhaft-remittierender Form der MS vor. Diese Ergebnisse lassen vermuten, dass MS mit einer fokalen Entzündung im ZNS beginnt, welche sich in Form von demyelinisierenden Plaques in der weißen Hirnsubstanz äußert. Mit fortschreitender Chronifizierung jedoch breitet sich die Entzündung im gesamten Gehirn aus und kann mit langsam progressivem Axonschaden und kortikaler Demyelinisierung assoziiert werden (Kutzelnigg et al., 2005).

Welche Mechanismen genau zur Schädigung der NAWM führen sind bis dato noch nicht genau geklärt. Neben einer chronischen Aktivierung von Mikroglia durch eventuell entzündliche Prozesse könnte auch eine Schädigung der Mitochondrien, ausgelöst durch oxidativen Stress, zur Schädigung und zum Verlust der Axone führen (Dutta et al., 2006; Lassmann et al., 2007).

1.3.2 Axonschäden und Neurodegeneration

Mittlerweile ist bekannt, dass Axone und Neuronen in der Pathogenese der MS eine wichtige Rolle spielen. Der axonale Schaden und der daraus resultierende Verlust an Axonen scheint hauptverantwortlich für die neurologischen Defizite bei MS Patienten zu sein (Kornek & Lassmann, 1999; Lassmann, 2010). Axonschäden und Axonverluste sind in allen demyelinisierenden Läsionen vorhanden, die Ausdehnung ist jedoch variabel. Untersuchungen zeigen, dass in chronischen Läsionen eine Reduktion der Axondichte durchschnittlich in 60-70% der Läsionen vorkommt (Bjartmar et al., 2000).

Axonschäden kommen nicht nur in den MS Läsionen vor, sondern auch in der NAWM (Kutzelnigg et al., 2005; Frischer et al., 2009). Die Schädigung der Axone kann zum Teil durch die sekundäre Wallersche Degeneration der Axone in den Läsionen der weißen Substanz erklärt werden (Evangelou et al., 2000; Lassmann, 2010).

Aktuelle Studien zeigen, dass die Schädigungen der Axone in der NAWM hauptsächlich durch eine diffuse Entzündung zu Stande kommen (Frischer et al., 2009). Somit könnte eine Entzündung der Hauptauslöser der axonalen Schädigung bei MS Patienten sein (Lassmann, 2010). Des Weiteren wird angenommen, dass der Verlust an Axonen in der NAWM durch ähnliche Mechanismen wie der Verlust innerhalb der Läsionen ausgelöst werden könnte (Frischer et al., 2009; Lassmann, 2010).

Axonschäden und Verluste treten auch in den Läsionen von Tiermodellen mit experimenteller autoimmuner Enzephalopathie (EAE) auf. Das Ausmaß des Axonschadens hängt davon ab, welches Tier gewählt wird und wie die EAE induziert wird. Die Studien widerspiegeln die Axonschäden, die bei MS vorkommen, in der Regel sehr gut. Sie involvieren Mechanismen wie adaptive Immunität, hervorgerufen durch T-Lymphozyten und Antikörper sowie Immunität ausgelöst durch aktivierte Makrophagen und Mikroglia (Lassmann, 2010). Diese Mechanismen werden im folgenden Abschnitt kurz beschrieben:

T-Zellen spielen eine wichtige Rolle in der Pathogenese der MS. Axonaler und neuronaler Schäden könnte durch auf den Haupthistokompatibilitätskomplex (MHC) Klasse I eingeschränkte T-Zellen verursacht werden (Lassman, 2010). Klasse I MHC Moleküle sind nötig für die Antigen Präsentation für CD8+ zytotoxische T-Zellen (Neumann et al., 1995). Diese Zellen dominieren die entzündlichen Infiltrate bei MS Patienten in allen Stadien der Krankheit. Es scheint, dass sie eine große Rolle in der Pathogenese spielen könnten (Babbe et al., 2000).

Modelle von experimenteller autoimmuner Enzephalopathie behandeln auch auf Klasse II MHC beschränkte Th-1 oder Th-17 Zellen (Aranami & Yamamura, 2008). Bei einer nur durch CD4+ T-Zellen medierten EAE kommt es bei den meisten Tieren zu einer Entzündung mit geringfügigem Gewebeschaden (Ben Nun et al., 1981). Generell kann gesagt werden, dass bei diesen Modellen die T-Zellen

gegen Myelin Antigene, vor allem gegen das Myelin Oligodendrozyten Glykoprotein, reagieren (Breithaupt et al., 2003). In einer neueren Studie wurde gezeigt, dass eine Immunisierung von Biozzi Mäusen mit Neurofilament zu einer EAE führt, dabei traten jedoch schlimmere Axonpathologien und Schäden in der grauen Substanz auf (Huizinga et al., 2008).

Es ist erwiesen, dass Autoantikörper sobald sie ihre Zielzellen im ZNS erreichen Schaden an diesen nehmen (Lington et al., 1988). Somit können Autoantikörper gegen Moleküle an der Oberfläche von Neuronen und Axonen als potentielle Auslöser von axonalem oder neuronalem Schaden gesehen werden (Lassmann, 2010).

In MS Läsionen kann der auftretende axonale Schaden stark mit Makrophagen und Mikroglia assoziiert werden (Ferguson et al., 1997; Trapp et al., 1998). Aktivierte Makrophagen und Mikroglia produzieren toxische Moleküle, welche eventuell Axonschäden hervorrufen. Für die Axonschäden scheinen dabei Sauerstoffradikale und Stickoxide eine wesentliche Rolle zu spielen (Lassmann, 2010).

Daten aus mehreren Studien lassen vermuten, dass eine mitochondriale Dysfunktion und daraus resultierende Defekte in der Energiebereitstellung in der Pathogenese der MS eine entscheidende Rolle spielen (Lassman, 2010). Energiedefizite haben fatale Folgen für Axone (Mahad et al., 2008; Trapp & Stys, 2009). Sie führen zur Aktivierung von proteolytischen Enzymen, welche axoplasmatische Inhalte zerstören und zum Tod von Axonen führen (Trapp & Stys., 2009). Dabei sind jedoch nicht alle Axone gleich betroffen. Dünnere Axone, welche das Hauptziel für Neurodegeneration bei MS sind, sind viel verwundbarer als dickere Axone (Stys., 2005).

1.4 Klinik und Verlaufsformen

1.4.1 Symptomatik

Die Symptome der MS präsentieren sich vielseitig. Typisch für den schubförmigen MS Typ, der häufigsten Verlaufsform, sind Sensibilitätsstörungen, eine unilaterale Optikusneuritis, Doppelbilder, Schwäche in den Extremitäten, Ungeschicklichkeit, Gangataxien sowie neurogene Blasen- und Darmfunktionsstörungen.

Patienten mit primär progressiver Verlaufsform präsentieren sich zu Beginn häufig mit einer chronisch progressiven Myelopathie. Diese Form verschlechtert sich fortlaufend und es kann zu einer Tetraparese, kognitiven Einschränkungen, einem Hirnstamm-Syndrom sowie zu Kleinhirn-, Blasen-, Darm- und Sexualfunktionsstörungen kommen (Noseworthy et al., 2000).

Neben den oben genannten eher unspezifischen Symptomen gibt es noch das Lhermitte Phänomen und das Uhthoff Phänomen, welche eher krankheitstypisch für MS sind. Beim Lhermitte Phänomen kommt es zu einem elektrisierenden Gefühl entlang des Rückens bei Beugung des Nackens. Unter Uhthoff Phänomen versteht man eine vorübergehende Verschlechterung der Symptome bei Anstieg der Körpertemperatur, hervorgerufen durch zum Beispiel körperliche Betätigung oder ein heißes Bad (Compston & Coles, 2008).

1.4.2 Verlaufsformen

Die MS kann in vier Verlaufsformen eingeteilt werden (MS Leitlinie, 2012):

- Klinisch isoliertes Syndrom (CIS)
- Schubförmige MS (relapsing-remitting MS, RRMS)
- Primär progrediente MS (PPMS)
- Sekundär progrediente MS (SPMS)

Etwa 85% der jungen Erwachsenen präsentieren sich anfangs mit einem klinisch isolierten Syndrom (Miller et al., 2005). Das CIS umfasst die ersten klinischen Symptome, die stark auf eine beginnende MS hindeuten. Typischerweise sind der Nervus opticus, das Rückenmark oder der Hirnstamm betroffen (Miller et al.,

2012). Als häufige Symptome gelten Sensibilitätsstörungen, Gangstörungen und eine einseitige Optikusneuritis (Weinshenker, 1998).

Bei etwa 80% der Patienten präsentiert sich die MS anfangs mit einem schubförmigen Verlauf (Noseworthy et al., 2000). RRMS wird definiert als eine Episode mit akuter Verschlechterung neurologischer Funktionen, gefolgt von einer Rückbildung der Symptome mit variablem Ausmaß. Zwischen diesen Episoden sind die Patienten stabil und es kommt zu keiner Krankheitsprogression (Lublin & Reingold, 1996).

Die sekundär progressive Form der MS entwickelt sich nach 10 Jahren bei etwa 40% der Patienten. Nach 25 Jahren kann man bei etwa 80% von einer Entwicklung in eine SPMS ausgehen (Weinshenker et al., 1989). Unter SPMS versteht man eine anfängliche RRMS gefolgt von einer Krankheitsprogression mit oder ohne gelegentliche Schübe. Dieser Krankheitsverlauf kann als Spätform der RRMS bezeichnet werden (Lublin & Reingold, 1996).

Bei der primär progressiven Verlaufsform kommt es zu einer Progression der neurologischen Symptomatik von Beginn an. Eventuell kann es zu Plateauphasen und kurzzeitiger Verbesserung der Symptome kommen (Lublin & Reingold, 1996). PPMS betrifft in etwa 10 bis 15% aller MS Patienten (Thompson et al., 2000).

Die Abbildung 1 zeigt die verschiedenen Verlaufsformen modifiziert nach Lublin & Reingold.

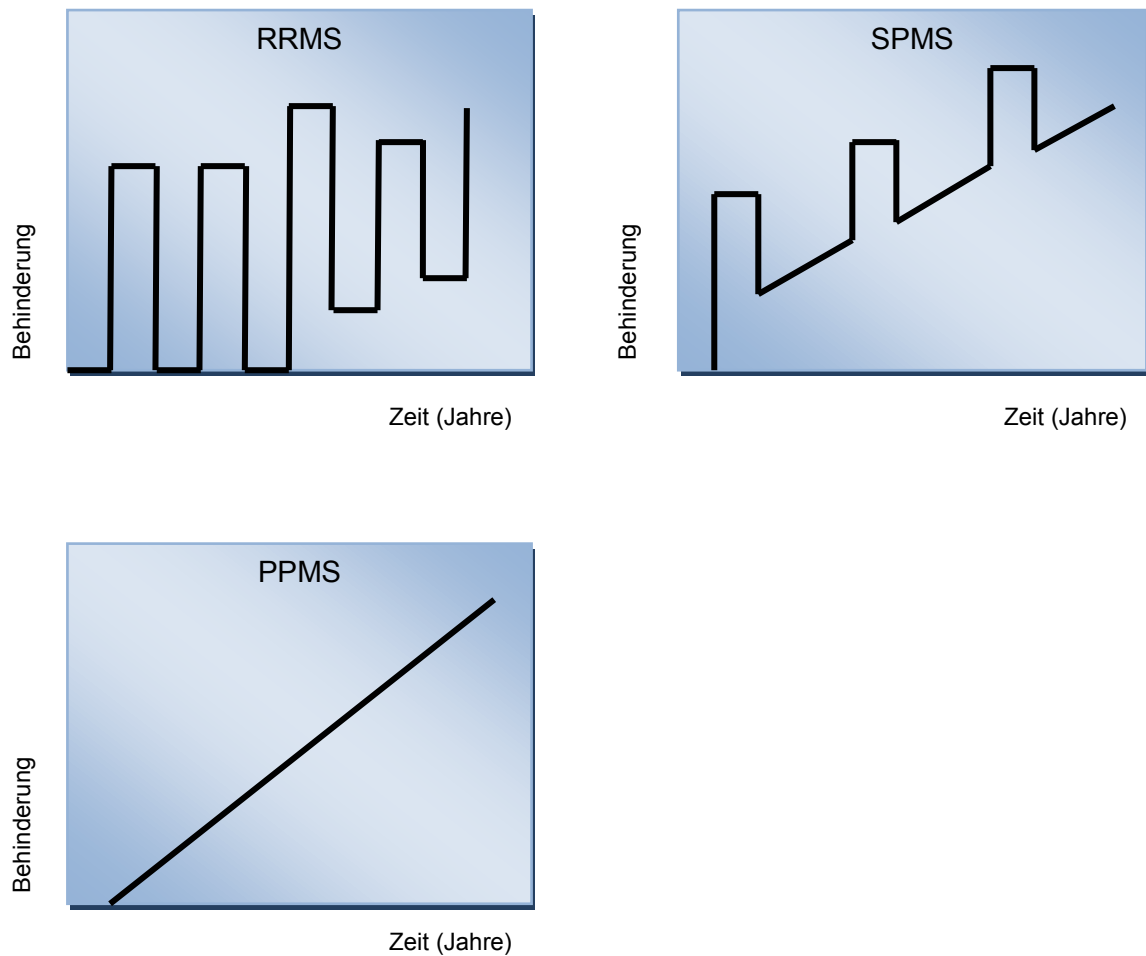


Abbildung 1. Verlaufsformen der MS modifiziert nach Lublin & Reingold 1996

Eine Beobachtungsstudie von Confavreux et al. lässt vermuten, dass bestimmte klinische Variablen auf die Zeitspanne zwischen Beginn der MS bis zur irreversiblen Behinderung hinweisen. Zu diesen Variablen zählen das Geschlecht, das Alter, anfängliche Symptome, der Krankheitsverlauf, Ausmaß der Rückbildung des ersten Schubes, die Zeit zwischen Beginn der MS und zweitem Schub, Anzahl an Schüben in den ersten 5 Jahren und die Zeit zwischen Beginn bis zum Erreichen eines Wertes von 4 auf der Expanded Disability Status Scale (EDSS) von Kurtzke. Diese wird zur Quantifizierung des Schweregrades der Behinderung bei MS Patienten herangezogen. Ist ein EDSS Wert von 4 erreicht, haben diese Parameter keine voraussagende Bedeutung mehr (Confavreux et al., 2003).

1.5 Diagnostik

MS ist eine klinische Diagnose, die eine detaillierte Patientenanamnese, eine ausführliche neurologische Untersuchung und paraklinische Untersuchungen erfordert. Zu den paraklinischen Untersuchungen zählen die MRT, Liquoruntersuchungen, evozierte Potenziale und Blut-Tests zum Ausschluss anderer Diagnosen (Lublin, 2002).

Definition eines Schubes

Ein Schub wird definiert als neu auftretende oder reaktivierte klinische Ausfälle und Symptome, die vom Patienten berichtet werden oder durch eine neurologische Untersuchung objektiviert werden können und mindestens 24 Stunden andauern. Diese Ausfälle dürfen nicht durch Änderungen der Körpertemperatur oder durch Infektionen erklärbar sein und der Abstand zu einem vorausgegangen Schub muss mindestens 30 Tage betragen (MS Leitlinie, 2012).

Die 1982 erschienenen Diagnosekriterien nach Poser wurden 2001 von den sogenannten „McDonald Kriterien“ abgelöst (McDonald et al., 2001). Diese wurden im Jahr 2005 (Polman et al., 2005) und im Jahr 2010 (Polman et al., 2011) nochmals revidiert. Die heute gültigen McDonald Kriterien sind in Tabelle 1 dargestellt.

| Klinische Präsentation | Objektivierbare klinische Läsionen | Zusätzlich notwendige Untersuchungen |
|-------------------------------|---|---|
| ≥ 2 Schübe | ≥ 2 Läsionen | Keine |
| ≥ 2 Schübe | 1 Läsion | Räumliche Dissemination im MRT durch: ≥ 1 Läsion in zumindest 2 von 4 MS-typischen ZNS Regionen (periventrikulär, juxtakortikal, infratentorial oder spinal) oder ein weiterer Schub |
| 1 Schub | ≥ 2 Läsionen | Zeitliche Dissemination im MRT durch: |

| | | |
|---|----------------|--|
| | | gleichzeitiges Auftreten von asymptomatischen Gadolinium-aufnehmenden und nicht-aufnehmenden Läsionen oder eine neue T2 und/oder Gadolinium-aufnehmende Läsion in Kontroll-MRT's oder ein zweiter klinischer Schub |
| 1 Schub | 1 Läsion (CIS) | Räumliche Dissemination im MRT durch: ≥ 1 Läsion in zumindest 2 von 4 MS-typischen ZNS Regionen (periventrikulär, juxtakortikal, infratentorial oder spinal) oder ein weiterer klinischer Schub und zeitliche Dissemination im MRT durch: gleichzeitiges Auftreten von asymptomatischen Gadolinium-aufnehmenden und nicht-aufnehmenden Läsionen oder eine neue T2 und/oder Gadolinium-aufnehmende Läsion in Kontroll-MRT's oder ein zweiter klinischer Schub |
| Neurologische Progressionen mit Verdacht auf primär progrediente MS | | 1 Jahr progredienter Verlauf und 2 der folgenden Kriterien: ≥ 1 T2 Läsion in MS-typischen Regionen (periventrikulär, juxtakortikal, infratentorial oder spinal) ≥ 2 spinale Läsionen Positiver Liquorbefund (Nachweis oligoklonaler Banden und/oder erhöhter Immunglobulin G Index) |

Tabelle 1. McDonald Kriterien Stand 2010 (Polman et al., 2011)

Die Kriterien für die räumliche Dissemination basieren auf den Artikeln von Swanton et al., 2006 und 2007, die für die zeitliche Dissemination auf Montalban et al., 2010.

Sofern diese Kriterien erfüllt sind und keine bessere Erklärung für die klinischen Symptome bestehen, kann die Diagnose „Multiple Sklerose“ gestellt werden. Sind die Kriterien nicht vollständig erfüllt spricht man von einer „möglichen Multiplen Sklerose“ und bei Auftreten einer anderen wahrscheinlichen Diagnose von „keiner Multiplen Sklerose“ (Polman et al., 2011).

1.5.1 Klinisch neurologische Untersuchung

Die detaillierte klinisch-neurologische Untersuchung stellt die Basis für die Diagnostik der MS dar. Zur Quantifizierung des Schweregrades der Behinderung wird seit 1983 die Expanded Disability Status Scale (EDSS) von Kurtzke verwendet (Kurtzke, 1983). Die in Tabelle 2 dargestellte Skala umfasst Werte von 0 bis 10. Die Ziffer 0 steht für einen normalen neurologischen Befund, die Ziffer 10 für den Tod durch MS. Werte bis 4 beziehen sich auf 8 funktionelle Systeme (FS) des Patienten: Motorik, Kleinhirn, Hirnstamm, Sensibilität, Blase und Mastdarm, Visus, mentale Funktionen und andere. Die Funktion dieser Systeme wird von 0 bis 6 bewertet, wobei 0 einer normalen Funktionen und 6 einer maximalen Behinderung beziehungsweise einem Funktionsverlust entspricht. Ab einem EDSS Wert von 4 bezieht sich die Skala auf die Gehfähigkeit des Patienten.

| Wert | Beschreibung |
|------|--|
| 0.0 | Normale neurologische Untersuchung |
| 1.0 | Keine Behinderung, minimale Symptome in einem FS |
| 1.5 | Keine Behinderung, minimale Symptome in mehr als einem FS (mehr als 1 FS Grad1) |
| 2.0 | Minimale Behinderung in einem FS (ein FS Grad 2) |
| 2.5 | Minimale Behinderung in zwei FS (zwei FS Grad 2) |
| 3.0 | Mäßige Behinderung in einem FS (ein FS Grad 3) oder leichte Behinderung in drei oder vier FS (drei oder vier FS Grad 2) bei uneingeschränkter Gehfähigkeit |
| 3.5 | Uneingeschränkte Gehfähigkeit aber mäßige Behinderung in einem FS (ein FS Grad 3) und ein oder zwei FS (Grad 2) oder zwei FS (Grad 3) oder fünf FS (Grad |

| | |
|------|--|
| | 2) |
| 4.0 | Gefähig ohne Hilfe oder Pause für 500m, selbständig, ungefähr 12 Stunden am Tag wach trotz relativ schwerer Behinderung in einem FS Grad 4 oder Kombinationen geringerer Grade, die die Grenzen der vorherigen Stufen überschreiten |
| 4.5 | Gefähig ohne Hilfe oder Pause für 300m, die meiste Zeit des Tages wach, voll arbeitsfähig, eventuell mit geringen Einschränkungen oder auf geringe Hilfe angewiesen, relativ schwere Behinderung in einem FS Grad 4 oder Kombinationen geringerer Grade, die die Grenzen der vorherigen Stufen überschreiten |
| 5.0 | Gefähig ohne Hilfe oder Pause für 200m, Ausführung täglicher Aktivitäten ist eingeschränkt |
| 5.5 | Gefähig ohne Hilfe oder Pause für 100m, Behinderung schließt tägliche Aktivitäten aus |
| 6.0 | Wechselnde oder einseitige konstante Gehhilfe nötig um 100m zu gehen |
| 6.5 | Konstante beidseitige Gehilfe nötig um 20m zu gehen |
| 7.0 | Unfähig trotz Hilfe 5m zu gehen, auf einen Rollstuhl angewiesen, kann sich im Standardrollstuhl alleine fortbewegen, etwa 12 Stunden am Tag wach |
| 7.5 | Unfähig mehrere Schritte zu gehen, auf den Rollstuhl angewiesen, braucht eventuell Hilfe bei Ein- und Ausstieg und der Fortbewegung, kann nicht den ganzen Tag im Standardrollstuhl sitzen, benötigt eventuell einen Elektro-Rollstuhl |
| 8.0 | Meist im Bett liegend oder im Rollstuhl sitzend, jedoch größtenteils am Tag außerhalb des Bettes, Körperpflege möglich, Funktion der Arme erhalten |
| 8.5 | Größtenteils im Bett liegend, Körperpflege zum Teil möglich, Funktion der Arme ist eingeschränkt |
| 9.0 | Hilflos und bettlägerig, kann kommunizieren und essen |
| 9.5 | Völlig hilflos und bettlägerig, kann nicht kommunizieren oder essen, Schluckstörung |
| 10.0 | Tod durch MS |

Tabelle 2. Expanded Disability Status Scale (EDSS) (Kurtzke, 1983)

1.5.2 Evozierte Potenziale

Demyelinisierung verzögert die Latenz visuell, akustisch, motorisch und somatosensibel evozierter Potenziale. Sie haben jedoch seit Einsetzen der MRT an Bedeutung verloren und spielen eher als Zusatzuntersuchung bei diagnostisch schwierigen Patienten eine Rolle (Compston & Coles, 2002). Es konnte jedoch gezeigt werden, dass evozierte Potenziale als Marker des Krankheitsverlaufes eine Bedeutung haben, da sie funktionell relevante Veränderungen bereits in frühen Phasen der MS erfassen können (Schlaeger et al., 2012).

1.5.3 Magnetresonanztomographie

Die MRT Untersuchung ist ein wesentlicher Bestandteil der MS Diagnostik (McDonald et al., 2001; Polman et al., 2011). Als Standardverfahren kann die T2-gewichtete Aufnahme gesehen werden. Typische MS Plaques können als hyperintense Areale von der weißen Substanz differenziert werden. Dies resultiert aus veränderten Relaxationszeiten der Plaques im Vergleich zum Marklager. Durch Aufnahmen mit Gadolinium-haltigem Kontrastmittel kann die diagnostische Sicherheit in T1-gewichteten MRT Aufnahmen verbessert werden (Pretorius & Quaghebeur, 2003).

Die MS Plaques findet man typischerweise im periventrikulärem Marklager, der Balkenregion sowie im infratentoriellen und cortiko-subkortikalem Bereich (Fazekas et al., 1999).

1.5.4 Liquoruntersuchung

Neben der MRT Untersuchung spielt die Liquoruntersuchung eine unterstützende Rolle in der Diagnostik. Nach dem Quotienten-Schema werden Albumin, Immunglobulin G (IgG), Immunglobulin A (IgA) und Immunglobulin M (IgM) bestimmt. Des Weiteren beinhaltet die Liquor-Diagnostik eine Zytologie und den Nachweis von oligoklonalen IgG-Banden. Bei Bedarf werden die Antikörper-Synthese-Indizes (ASI) für Masern, Röteln und Zoster Viren sowie bei Verdacht auf eine Borreliose der ASI für Borrelien bestimmt (MS Leitlinie, 2012). Eine Erhöhung der virusspezifischen Antikörper der drei genannten Arten von Viren

können bei etwa 80% der MS Patienten nachgewiesen werden (Felgenhauer et al., 1985).

Eine erhöhte intrathekale Immunglobulinsynthese, nachgewiesen mittels IgG Index, ist der häufigste Befund bei MS Patienten. Dabei sollte jedoch beachtet werden, dass es auch bei anderen chronisch-entzündlichen Erkrankungen des ZNS zu einer erhöhten IgG-Synthese kommen kann (Correale & de los Milagros Bassani Molinas, 2002). Der Nachweis oligoklonaler Banden erfolgt mittels isoelektrischer Fokussierung. Die Sensitivität dieses Tests in Bezug auf die Diagnose liegt bei 95% (McLean et al., 1990).

1.6 Differentialdiagnosen

Die Differentialdiagnosen zur MS sind in Tabelle 3 aufgelistet. Mit einem Stern (*) gekennzeichnete Erkrankungen sind nur für die progressive Myelopathie und die primär progressive Form der MS relevant (Noseworthy et al., 2000).

| | |
|--|--|
| Metabolische Erkrankungen | Störungen im Vitamin B12 Stoffwechsel*, Leukodystrophien |
| Autoimmunerkrankungen | Sjögren's Syndrom, Systematischer Lupus erythematodes, Behcet's Krankheit, Sarkoidose, chronische inflammatorische demyelinisierende Polyradikulopathie assoziiert mit Demyelinisierung des ZNS, Antiphospholipid-Antikörper-Syndrom |
| Infektionen | Humanes Immundefizienz- und Humanes T-lymphotropes 1 Virus assoziierte Myelopathie*, Lyme Krankheit, meningovaskuläre Syphilis, Eales' Krankheit |
| Gefäßerkrankungen | Spinale-durale arteriovenöse Fistel*, kavernöses Hämangiom, ZNS Vaskulitis, zerebrale autosomal dominante Arteriopathie mit subkortikalen Infarkten und Leukenzephalopathie |
| Genetische Syndrome | Hereditäre Ataxie und hereditäre Paraplegie*, mitochondriale Zytopathien |
| Läsionen der Fossa posterior und des Rückenmarks | Arnold-Chiari Malformation, nonhereditäre Ataxie, spondylotische und andere Myelopathien * |
| Psychiatrische Erkrankungen | Konversionsstörung, Simulation |
| Neoplastische Erkrankungen | Tumore des Rückenmarks*, ZNS Lymphome, paraneoplastische Erkrankungen |
| Varianten der Multiplen Sklerose | Optische Neuritis, isoliertes Hirnstammsyndrom, transverse Myelitis, akute disseminierende Encephalomyelitis, Marburg Erkrankung, Neuromyelitis optica |

Tabelle 3. Differentialdiagnosen (Noseworthy et al., 2000)

1.7 Therapie

Es konnte durch Studien (CHAMPS-Studie, ETOMS-Studie, BENEFIT-Studie) gezeigt werden, dass durch eine frühe krankheitsmodifizierte Therapie ein positiver Effekt auf klinische und magnetresonanztomographische Resultate erzielt werden kann und somit eine früher Therapiebeginn indiziert ist (Jacobs et al., 2000; Comi et al., 2001; Kappos et al., 2007).

Der derzeitige Stufentherapieplan der Deutschen Gesellschaft für Neurologie umfasst eine Schubtherapie bei Bedarf, eine Basistherapie und eine Eskalationstherapie (MS Leitlinie, 2012). Dieser Stufentherapieplan wird in Abbildung 2 dargestellt und im folgenden Text genau erläutert.

Schubtherapie

Die Therapie des akuten Schubes mit Glukokortikoidpräparaten (Methylprednisolon) kann laut der Multiplen Sklerose Therapie Konsensus Gruppe als standardisiertes Vorgehen bei CIS, RRMS und SPMS angesehen werden (MS Leitlinie, 2012). Als zweite Wahl bei trotz Glukokortikoidtherapie andauernden Symptomen gilt die Plasmaseparation (Keegan et al., 2005).

Basistherapie

Die Basistherapie für CIS und RRMS Patienten umfasst Glatirameracetat oder Interferon-beta 1a intramuskulär, 1a subkutan oder 1b subkutan.

Die immunmodulatorische Therapie mit Glatirameracetat ist für CIS Patienten mit hohem Risiko auf eine klinisch gesicherte MS und ambulante Patienten mit RRMS zugelassen (MS Leitlinie, 2012).

Der genaue immunmodulatorische und antiinflammatorische Wirkmechanismus von Interferon-beta ist bis dato noch nicht genau bekannt, es wird jedoch eine Wirkung auf T-Zellen, Inhibierung der Leukozytenmigration über die Blut-Hirn-Schranke, Zytokin Modulation und eine potentielle antivirale Aktivität vermutet (Dhib-Jalbut & Marks, 2010). Die Zulassung für die Therapie von RRMS Patienten mit den 3 rekombinanten Interferon-beta Präparaten erfolgte nachdem die Wirksamkeit in Studien der Klasse-I-Evidenz nachgewiesen werden konnte. Diese Präparate dürfen auch für CIS Patienten angewandt werden (MS Leitlinie, 2012).

Weitere Therapieoptionen bei RRMS sind Azathioprin und intravenöse Immunglobuline (IVIg). Azathioprin darf jedoch nur gegeben werden wenn die Therapie mit Interferon-beta nicht möglich ist oder dadurch ein stabiler Verlauf erzielt werden kann. Studien zur Wirkung von IVIg zeigen, dass es eine positive Wirkung auf die Schubrate gibt (Sorensen et al., 2002). Jedoch sind diese Daten im Vergleich zu Studien anderer Medikamente weniger deutlich und deshalb sollten IVIg nur bei fehlender Wirksamkeit anderer Medikamente oder Unverträglichkeiten angewendet werden (Fazekas et al., 2008).

Als Basistherapie zur Behandlung von SPMS mit aufgesetzten Schüben ist Interferon-beta 1a subkutan und Interferon-beta 1b subkutan zugelassen (Kappos et al., 2004). Als weiteres Therapeutikum kann auch noch Mitoxantron sowohl bei Verlauf mit aufgesetzten Schüben als auch ohne aufgesetzte Schübe verabreicht werden. Cyclophosphamid kann bei fulminanten Fällen als Ausweichtherapie verabreicht werden (MS Leitlinie, 2012).

Eskalationstherapie

Als erste Wahl zur Eskalationstherapie werden die Immunmodulatoren Fingolimod und Natalizumab angewandt. Sie werden als Monopräparat bei der hochaktiven RRMS eingesetzt. Des Weiteren können sie auch bei Therapie-naiven Patienten angewandt werden.

Als zweite Wahl gilt Mitoxantron und eventuell Cyclophosphamid, jedoch wiederum nur bei fulminanten Verläufen (MS Leitlinie, 2012).

Neben den hier genannten Medikamenten gibt es noch viele Weitere die derzeit in Testung sind. Das würde jedoch über den Rahmen der Diplomarbeit hinausgehen und kann bei Interesse unter www.clinicaltrials.gov nachgelesen werden.

| Indikation | RRMS ¹ | | | SPMS ¹ | |
|--------------------------|--|---|--|---|---|
| | CIS ¹ | 1. Wahl - Fingolimod ⁴ - Natalizumab ⁴ | 2. Wahl - Mitoxantron (- Cyclophosphamid) ⁵ | mit aufgesetzten Schüben | ohne aufgesetzte Schübe |
| Eskalations- therapie | | | | | |
| Basistherapie | - Glatirameracetat - Interferon-β 1a i.m. - Interferon-β 1a s.c. - Interferon-β 1b s.c. | - Glatirameracetat - Interferon-β 1a i.m. - Interferon-β 1a s.c. - Interferon-β 1b s.c. (- Azathioprin) ² (- IVIg) ³ | | - Interferon-β 1a s.c. - Interferon-β 1b s.c. - Mitoxantron (- Cyclophosphamid) ⁵ | - Mitoxantron (- Cyclophosphamid) ⁵ |
| Schub- therapie | 2. Wahl | - Plasmaseparation | | | |
| | 1. Wahl | - Methylprednisolonpuls | | | |

¹ Substanzen in alphabetischer Reihenfolge. Die hier gewählte Darstellung impliziert keine Überlegenheit einer Substanz gegenüber einer anderen innerhalb einer Indikationsgruppe.

² Zugelassen, wenn Interferon-beta nicht möglich ist oder unter Azathioprin-Therapie ein stabiler Verlauf erreicht wird.

³ Einsatz nur postpartal im Einzelfall gerechtfertigt, insbesondere vor dem Hintergrund fehlender Behandlungsalternativen.

⁴ Fingolimod und Natalizumab haben neben der Zulassung zur Eskalationstherapie auch eine Zulassung zur Behandlung Therapie-naiver Patienten bei mindestens 2 behindernden Schüben mit Krankheitsprogression binnen der letzten 12 Monate und mindestens einer Gadolinium-aufnehmenden Läsion beziehungsweise einer signifikanten Zunahme der T2-Läsionen in der MRT.

⁵ Zugelassen für bedrohlich verlaufende Autoimmunkrankheiten, somit lediglich nur für fulminante Fälle als Ausweichtherapie vorzusehen, idealerweise nur an ausgewiesenen MS-Zentren.

CIS: Klinisch isoliertes Syndrom, RRMS: schubhaft remittierende MS, SPMS: sekundär progrediente MS, i.m.: intramuskulär, s.c.: subkutan

Abbildung 2. Therapieschema der MS nach der Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Neurologie 2012

1.8 Eisen und Neurodegeneration bei MS

Eisen spielt eine wichtige Rolle im physiologischen neuronalen Metabolismus. Es ist ein wichtiger Kofaktor für Proteine, die zur Aufrechterhaltung einer physiologischen Funktion des Hirngewebes benötigt werden. Des Weiteren spielt es eine Rolle im Sauerstoff- und Elektronentransport sowie bei metabolischen Prozessen. Ist jedoch zu viel Eisen im Gehirn vorhanden, kann dadurch oxidativer Stress hervorgerufen werden, welcher zur Neurodegeneration führen kann (Zecca et al., 2004).

Im Gehirn wird Eisen vor allem in Form von Ferritin und Hämosiderin gespeichert. Diese wirken als Puffer gegen Eisenmangel oder Eisenüberschuss (Bothwell, 1995). Hallgren & Sourander konnten zeigen, dass an Ferritin gebundenes Eisen im Zuge des normalen Alterungsvorganges akkumuliert. Die höchsten Ferritin Konzentrationen sind dabei in den Basalganglien zu beobachten (Hallgren & Sourander, 1958). Vermehrte Eisenablagerung kann bei verschiedenen chronischen neurologischen Erkrankungen inklusive MS beobachtet werden (Stankiewicz et al., 2007).

Diese erhöhten Eisenablagerungen in Gehirnen von MS Patienten wurden vor allem durch MRT und histopathologische Studien gezeigt (Stankiewicz et al., 2007). Es gibt nur wenige Informationen über Veränderungen von Eisen selbst und von Eisen-abhängigen Proteinen im Liquor und im Blut (Khalil et al., 2011a).

Bis dato ist noch nicht klar, ob erhöhte Eisenablagerungen im Gehirn von MS Patienten ein Epiphänomen darstellen oder in die Pathologie der MS involviert sind (Zecca et al., 2004).

1.8.1 Histopathologische und pathologische Aspekte von erhöhtem Eisen

In mehreren Studien wurden Eisenablagerungen in verschiedenen Gehirnregionen von MS Patienten nachgewiesen. Craelius et al. fanden in ihrer Autopsie-basierenden Studie Eisenablagerungen in der Umgebung der typischen demyelinisierenden Plaques. Des Weiteren zeigten ihre Untersuchungen Ablagerungen in der myelinisierten weißen Substanz und innerhalb von Blutgefäßen in der grauen Substanz. Diese waren jeweils in der Nähe der Läsionen (Craelius et al., 1982). Drayer et al. fanden Eisen im Putamen und im Thalamus (Drayer et al., 1987). LeVine untersuchte Gehirne von MS Patienten postmortal und konnte dabei Eisenansammlungen in Makrophagen und in der Mikroglia nachweisen (LeVine, 1997). Petzold et al. beschrieben in ihrer Studie Ablagerungen in der NAWM (Petzold et al., 2002).

Der exakte Mechanismus, warum sich Eisen im Gehirn von MS Patienten anreichert ist noch nicht genau geklärt. Eine Möglichkeit wäre ein gestörter Eisentransport vom Gehirn ins Blut. Dieser Transport ist von eigenen Transportproteinen abhängig (Moos et al., 2007). Transferrin ist ein Betaglobulin, das Eisen bindet und hauptsächlich in der Leber synthetisiert wird. Es reguliert die Eisenabsorption, die Speicherung und dessen Nutzung (de Jong et al., 1990). Die häufigste Aufnahme von Eisen erfolgt über Transferrinrezeptoren, die auf den endothelialen Zellen im Gehirn sitzen. Diese Rezeptoren binden das Eisen und gelangen über Endozytose ins Gehirn. Andere Transportproteine, wie der divalente Metall Transporter (DMT 1) und Laktotferrin Rezeptoren, könnten auch in den Eisentransport über die Blut-Hirn-Schranke involviert sein (Ke & Qian, 2007).

Die in Abbildung 3 dargestellte Fenton Reaktion (Wardman & Candeias, 1996) zeigt welche toxischen Effekte akkumuliertes Eisen auf Axone haben kann. Freies oder wenig gebundenes Eisen reagiert mit Wasserstoffperoxid, welches durch die Superoxiddismutase entstanden ist (Halliwell, 2006). Superoxide können auch über die Haber-Weiss-Reaktion (Kehrer, 2000) mit dreifach positiv geladenem Eisen reagieren und dabei zweifach positiv geladenes Eisen produzieren, welches wiederum über die Fenton Reaktion reagieren kann (Kell, 2009). Die entstehenden hochreaktiven Hydroxylradikale reagieren mit anderen Molekülen und es kommt zu weiteren freien Radikalen. Dieser oxidative Stress führt zur Lipid- und

Proteinperoxidation, zur mitochondrialen Dysfunktion, zu erhöhtem intrazellulärem Eisen und schlussendlich zum Untergang und Tod von Neuronen (Gutteridge, 1992; Halliwell, 2006).

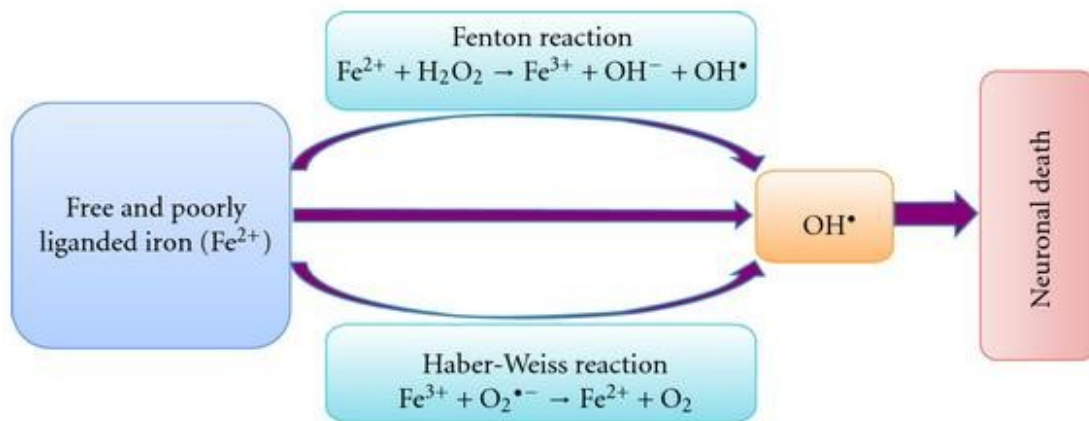


Abbildung 3. Fenton Reaktion und Haber-Weiss-Reaktion

Reprinted from Multiple Sclerosis International Volume 2011 (2011), Article ID 606807, 6 pages doi:10.1155/2011/606807.

Copyright © 2011 Michael Khalil et al.; <http://creativecommons.org/licenses/by/3.0/>.

Eine weitere Theorie, die bezüglich der Eisenablagerung bei MS Patienten diskutiert wird, ist die Theorie der chronischen cerebrospinalen venösen Insuffizienz (CCSVI). Diese Theorie basiert auf der Annahme, dass es durch Fehlbildungen in den Venen des Gehirnes zu einem verminderten venösen Abfluss und somit zu einer Extravasation von Erythrozyten mit folgender Eisenablagerung kommen könnte. Dies könnte eine Entzündung und den damit verbundenen Gewebeschaden auslösen (Zamboni, 2006; Singh & Zamboni, 2009). Diese Theorie wird derzeit jedoch noch stark diskutiert und es existieren bereits einige Studien, die diese Hypothese als falsch erwiesen haben (Worthington et al., 2010; Doepp et al., 2010; Khan et al., 2010; Baretto et al., 2012; Leone et al., 2013).

1.8.2 Biomarker

Die MS ist, wie im Einführungsteil bereits erwähnt, eine sehr heterogene Erkrankung. Das zeigt sich unter anderem in der Erscheinung des Krankheitsbildes, der Prognose und dem Ansprechen auf verschiedene Therapiemöglichkeiten. Daher ist es wichtig Biomarker zu entwickeln, um Therapiemöglichkeiten zu optimieren und ein besseres Verständnis für die Pathogenese der MS zu erlangen. Als Biomarker versteht man einen objektiv gemessenen und ausgewerteten Indikator normaler biologischer Vorgänge, pathologischer Prozesse oder pharmakologischer Reaktionen auf eine therapeutische Intervention (Bielekova & Martin, 2004).

In den folgenden Kapiteln wird auf die Bedeutung von Biomarkern für die MRT und die Biomarker des Eisenstoffwechsels im Liquor und Serum eingegangen.

1.8.3 Eisenmessung mittels Magnetresonanztomographie

Die MRT Untersuchung ist bis dato die wichtigste Untersuchungen um Eisenablagerungen im Gehirn zu bestimmen. Generell konnte in verschiedenen Studien nachgewiesen werden, dass MS Patienten hypointense Signale, hervorgerufen durch eine erhöhte Eisenakkumulation, in T2 gewichteten MRT Aufnahmen zeigen. Diese erhöhte Akkumulation ist vor allem in der tiefen grauen Substanz des Gehirnes nachweisbar (Stankiewicz et al., 2007).

Drayer et al. zeigten in einer der ersten Studien eine reduzierte Signalintensität im Thalamus und im Putamen bei MRT Aufnahmen von MS Patienten (Drayer et al., 1987). Eine weitere Studie von Grimaud et al. konnte ebenfalls eine reduzierte Signalintensität in den Basalganglien nachweisen (Grimaud et al., 1995). Bakhsi et al. fanden eine Korrelation der T2 Hypointensitäten in der grauen Substanz mit dem klinischen Verlauf und der körperlichen Behinderung (Bakhsi et al., 2002). Der Zusammenhang zwischen den Hypointensitäten und der körperlichen Behinderung zeigte sich auch in anderen Studien (Tjoa et al., 2005; Zhang, 2007). Des Weiteren wurde eine Korrelation zwischen den T2 Hypointensitäten und der Gehirnatrophie bei MS Patienten gefunden (Bakhsi et al., 2001; Bakhsi et al., 2002; Bermel et al., 2005). Brass et al. zeigten in ihrer Studie, dass T2 Hypointensitäten mit der kognitiven Beeinträchtigung bei MS Patienten assoziiert

werden können (Brass et al., 2006). Die Studie von Ceccarelli et al., in die nur CIS Patienten mit eingeschlossen wurden, zeigte nur geringe Signalveränderungen in den T2 gewichteten MRT Aufnahmen (Ceccarelli et al., 2010).

Bei den zuvor aufgezählten Studien wurden die Eisenkonzentrationen nur visuell durch die reduzierte Signalintensität der T2 gewichteten Aufnahmen beziehungsweise durch semiquantitative Methoden (Bakhsi et al., 2002; Tjoa et al., 2005; Brass et al., 2006) erfasst. In den letzten Jahren wurden jedoch Methoden entwickelt, die es möglich machen die Eisenkonzentrationen auch quantitativ zu bestimmen und somit genauere Ergebnisse zu erzielen. Diese Techniken umfassen die Darstellung der Relaxationszeiten, der Gradientenecho-Phasen Bildgebung, Verwendung der magnetischer Korrelationszeiten, die suszeptibilitätsgewichtete Bildgebung und die Darstellung der direkten Sättigung (Ropele et al., 2011).

Kürzlich wurde zur Bestimmung der Eisenakkumulation die Darstellung der Relaxationsrate $R2^*$ validiert (Langkammer et al., 2010). $R2$ und $R2^*$ sind die Inverse von den Relaxationszeiten $T2$ und $T2^*$ und sind bei der Anwesenheit von nicht-Häm-Eisen erhöht (Stankiewicz et al., 2007). Langkammer et al. untersuchten die Gehirne von sieben Männern ohne neurologische Krankheiten oder Hirnschädigungen postmortal mittels eines 3 Tesla MRTs. Die Eisenkonzentrationen wurden anschließend mittels induktiv gekoppelter Plasma-Massenspektrometrie bestimmt und mit den Relaxationsraten $R2$ und $R2^*$ korreliert. Diese Studie konnte zeigen, dass $R2$ und $R2^*$ zur Bestimmung von Eisenkonzentrationen verwendet werden können. $R2^*$ stellt dabei die empfindlichere Methode dar und kann auch für die weiße Hirnsubstanz herangezogen werden (Langkammer et al., 2010). Abbildung 4 zeigt ein Bild einer $R2^*$ MRT Aufnahme (Khalil et al., 2009). Ein Vorteil dieser Methode ist, dass diese $R2^*$ Aufnahmen über konventionell erhältliche Magneten mit angemessenen Scanzeiten und der Möglichkeit der gesamten Darstellung des Gehirnes gemacht werden können (Ropele et al., 2011).

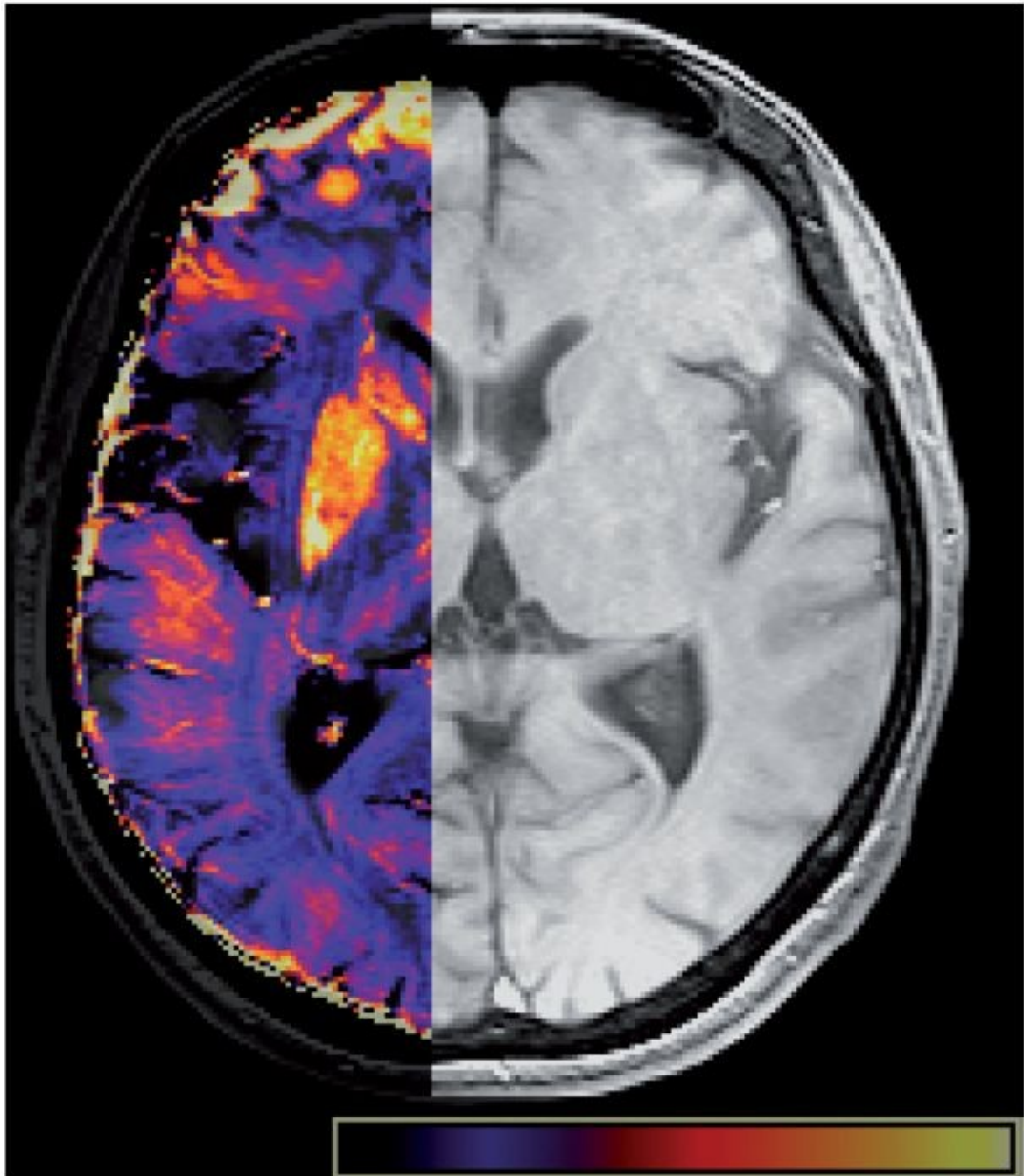


Abbildung 4. Echo einer Multiecho-FLASH-Serie und korrespondierende R2* Aufnahme, die höhere Relaxationsrate im Putamen steht für eine höhere Eisenkonzentration

Reprinted from Multiple Sclerosis Journal, 15(9):1048-54, Sep/2009 by SAGE Publications Ltd./SAGE Publications, Inc., All rights reserved. © The Author(s), 2009. doi 10.1177/1352458509106609.

Basierend auf der Studie von Langkammer et al. folgten Studien zur Messung von Eisenablagerungen mittels R2* Relaxometrie bei MS Patienten.

Eine Studie von Khalil et al. konnte zeigen, dass MS Patienten eine erhöhte R2* Relaxationsrate in den Basalganglien mit Berücksichtigung des Alters aufweisen.

Diese war bei den Patienten mit schubförmigem Verlauf signifikant höher als bei Patienten mit CIS. Diese erhöhte Relaxationsrate lässt auf eine erhöhte Eisenkonzentration in den Basalganglien schließen. Diese wird mit der Krankheitsdauer und der Gehirnatrophie assoziiert (Khalil et al., 2009).

Es folgte eine weitere Studie basierend auf $R2^*$ gewichteten MRT Aufnahmen. Diese konnte zeigen, dass Patienten mit fortgeschrittener MS erhöhte Eisenkonzentrationen im Gehirn im Vergleich zu Patienten mit CIS aufweisen. Des Weiteren wurde nachgewiesen, dass bei CIS Patienten die Konzentration an Eisen im Gehirn im Vergleich zur Kontrollgruppe nicht erhöht ist. Das weist darauf hin, dass eine erhöhte Eisenanreicherung der Entwicklung von MS nicht vorangeht (Khalil et al., 2011b).

Die Abbildung 5 zeigt eine $R2^*$ gewichtete MRT Aufnahme einer 39-jährigen Patientin mit CIS und einem 42-jährigen Patienten mit RRMS. Der höhere Eisengehalt in den Basalganglien wird durch hellere Signalintensitäten dargestellt.

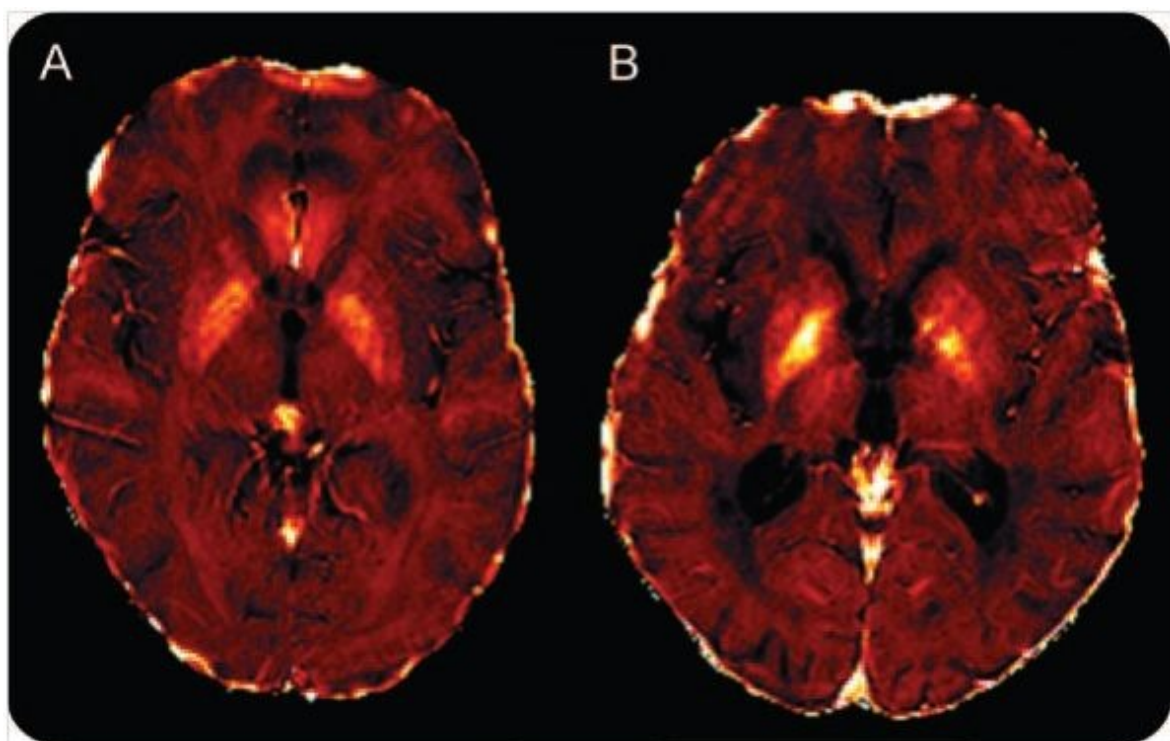


Abbildung 5. $R2^*$ MRT Aufnahme einer 39 Jahre alten MS Patientin mit CIS (A) und einem 42 Jahre alten Patienten mit RRMS (B)

Reprinted with permission from *Neurology*, 1;77(18):1691-7, Nov/2011 by Wolters Kluwer Health, All rights reserved. © AAN Enterpris, Inc. Doi 10.1212/WNL.0b013e318236ef0e.

1.8.4 Eisenmessung im Liquor und im Serum

Bis dato gibt es noch relativ wenige Informationen bezüglich dem möglichen Zusammenhang zwischen den Biomarkern Ferritin, Transferrin, dem löslichen Transferrinrezeptor und der Transferrinsättigung und der Pathogenese von MS. Diese stammen aus folgenden Studien:

LeVine et al. zeigten erstmals, dass der Ferritin-Gehalt in Liquorproben von MS Patienten mit aktiver chronisch progressiver Form im Vergleich zum Ferritin-Gehalt bei gesunden Vergleichspersonen erhöht ist (LeVine et al., 1999).

Die Studie von Zeman et al. ergab Unterschiede in der Transferrin Menge innerhalb der verschiedenen Subgruppen RRMS, SPMS und PPMS. Das gemessene Transferrin im Serum war etwas niedriger und wich in der primär progressiven Verlaufsform signifikant häufiger von der Norm ab als bei SPMS oder RRMS Patienten in Remission. Der Transferrinindex war bei der primär progressiven Form signifikant höher als bei SPMS oder RRMS. Transferrin im Liquor wich bei Patienten mit kurzer Krankheitsdauer (0-2 Jahre) häufiger von der Norm ab und korrelierte mit dem Alter (Zeman et al., 2000).

Petzold et al. fanden in ihrer Studie einen erhöhten Gehalt an Ferritin im Liquor bei Patienten mit sekundär progressiver Verlaufsform im Vergleich zu einer Kontrollgruppe. Der Ferritin Gehalt der RRMS Gruppe war ähnlich dem der Kontrollgruppe (Petzold et al., 2002).

Sfagos et al. zeigten in ihrer Studie, dass der lösliche Transferrinrezeptor im Serum bei MS Patienten im Vergleich zu einer Kontrollgruppe deutlich erhöht ist. Der Ferritin Gehalt im Serum war jedoch nur bei Patienten mit chronisch aktivem Verlauf erhöht (Sfagos et al., 2005).

Rejdak et al. fanden bei Patienten mit RRMS einen ähnlichen Ferritin-Gehalt im Liquor wie in der Kontrollgruppe (Rejdak et al., 2008).

Die Studie von Abo-Krysha & Rashed ergab einen erhöhten löslichen Transferrinrezeptor Gehalt bei MS Patienten im Vergleich zur Kontrollgruppe (Abo-Krysha & Rashed, 2008).

Worthington et al. wiesen einen erhöhten Gehalt an Ferritin im Liquor bei Patienten mit SPMS nach (Worthington et al., 2010).

Da Costa et al. fanden erhöhte Ferritinwerte im Serum, welche mit dem männlichen Geschlecht und dem schubhaft progressiven Typ der MS assoziiert wurden (Da Costa et al., 2011).

1.9 Ableitung der Fragestellung

Die bisherige Einleitung sollte einen Überblick über das Krankheitsbild der MS verschaffen. Des Weiteren sollte sie dazu dienen, einen Einblick über die mögliche Rolle des Eisens bei MS zu erlangen.

Basierend auf den Ergebnissen verschiedener Studien, die belegen, dass bei MS Patienten eine erhöhte Eisenablagerung vor allem in den Stammganglien messbar ist, leitete sich die Fragestellung ab, ob die Werte der Eisenstoffwechselfparameter im Liquor und Blut bei MS Patienten sich von den Werten der nicht-inflammatorischen Kontrollen unterscheiden und ob es einen Zusammenhang zwischen diesen Werten und Eisenablagerungen gemessen im MRT ($R2^*$ -Relaxometrie) und der T2 Läsionslast gibt.

Die vorliegende Studie untersuchte, wie sich die Biomarker Ferritin, Transferrin der lösliche Transferrinrezeptor und die Transferrinsättigung bei Patienten mit CIS/MS im Vergleich zu Patienten mit anderen neurologischen Erkrankungen verhalten. Diese Ergebnisse wurden anschließend mit den Ergebnissen aus einer Eisenmessung im Gehirn durch $R2^*$ MRT-Aufnahmen und mit der T2 Läsionslast verglichen.

2 Material und Methoden

2.1 Patienten

Die Studienkohorte umfasste insgesamt 142 Patienten. Davon waren 74 nicht-anämische Patienten mit MS beziehungsweise mit CIS (54 Frauen, 20 Männer) und 68 Patienten (45 Frauen, 23 Männer) in der Kontrollgruppe mit anderen nicht-inflammatorischen neurologischen Krankheitsbildern. Zum Zeitpunkt der Lumbalpunktion hatten in der CIS/MS-Gruppe 60 Patienten ein CIS und 14 Patienten eine gesicherte MS mit nicht progredientem Verlauf.

In der CIS/MS Gruppe wurden folgende klinische Daten erhoben:

- Alter zum Zeitpunkt der Lumbalpunktion/Serumentnahme
- Alter zu Krankheitsbeginn
- Krankheitsdauer zum Zeitpunkt der Lumbalpunktion/Serumentnahme
- EDSS Wert zum Zeitpunkt der Lumbalpunktion/Serumentnahme
- R2* Werte in den Basalganglien
- T2 Läsionslast
- Zeitdifferenz der Lumbalpunktion zur MRT Untersuchung

Das durchschnittliche Alter bei der Lumbalpunktion lag bei $32,6 \pm 9,3$ (Mittelwert \pm Standardabweichung) Jahren. Keiner der Patienten in der CIS/MS Kohorte erhielt zu diesem Zeitpunkt eine MS-spezifische medikamentöse Therapie.

Die Kontrollgruppe setzte sich aus 68 Patienten zusammen. Die Kontrollgruppe wurde nach internationalen Richtlinien erstellt. Diese Konsensusrichtlinien wurden erstellt, um weniger Variationen bei einzelnen Kontrollgruppen zu erhalten. Bei der Erstellung der Gruppen wurde das Augenmerk auf die Definition verschiedener Kontrollgruppen mit unterschiedlichen neurologischen Krankheiten und somit einem einheitlichen Patientengut gelegt. Durch diese Definitionen sollte der Vergleich mit anderen Studien zu Biomarkern erleichtert und verbessert werden (Teunissen et al., 2013). Von den 68 Patienten litten zum Zeitpunkt der Lumbalpunktion 33 Patienten (22 Frauen, 11 Männer) an Kopfschmerzen, 21 Patienten (14 Frauen, 7 Männer) an sensiblen Missempfindungen und 14 Patienten (9 Frauen, 5 Männer) an Paresen von kranialen oder peripheren

Nerven. Das durchschnittliche Alter zum Zeitpunkt der Lumbalpunktion lag bei $34,3 \pm 10,9$ (Mittelwert \pm Standardabweichung) Jahren. Bezüglich der Geschlechterverteilung wurde das Verhältnis 2:1 im Bezug Frauen zu Männern gewählt. Dies entspricht der typischen Verteilung bei MS.

Die Daten wurden prospektiv von Patienten aus dem Krankenhausinformationssystem MEDOCS und der wissenschaftlichen Datenbank Archimed der Universitätsklinik für Neurologie erhoben und zum Zeitpunkt der Analyse aus den Datenbanken exportiert und analysiert.

Die Studie wurde von der Ethik Kommission der Medizinischen Universität Graz genehmigt. Alle Teilnehmer gaben ihr schriftliches Einverständnis.

| | CIS/MS | Kontrollen | P |
|---|------------------|-------------|----|
| N | 74 | 68 | |
| N weiblich (%) | 54 (73,0) | 45 (66,2) | ns |
| Alter bei LP ^a (Jahre) | 32,6 (9,3) | 34,3 (10,9) | ns |
| Alter bei Krankheitsbeginn ^a | 31,9 (9,7) | NA | NA |
| Krankheitsdauer ^b (Jahre) | 0,1 (0,0-0,3) | NA | NA |
| EDSS bei LP ^b | 2,0 (1,0-3,0) | NA | NA |
| Patienten mit MS Therapie (%) | 0 (0,0) | NA | NA |
| R2* Basalganglien (s ⁻¹) ^a | 27,5 (25,8-30,0) | NA | NA |
| T2 Läsionslast (cm ³) ^a | 1,4 (0,5-5,6) | NA | NA |
| Zeitdifferenz LP zu MRT (Jahre) ^a | 1,3 (0,3-2,1) | NA | NA |

N: Anzahl der Patienten, CIS: klinisch isoliertes Syndrom, MS: Multiple Sklerose, LP: Lumbalpunktion, EDSS: Expanded Disability Status Scale, MRT: Magnetresonanztomographie, NA: nicht anwendbar, ns: nicht signifikant, Ergebnisse als Anzahl (%), ^aMittelwert (Standardabweichung), ^bMedian (Interquartilsabstand)

Tabelle 4. Klinische, demographische und MRT Daten

2.2 Methoden

2.2.1 Liquor- und Serumanalyse

Die Liquor- und Serumproben wurden aus dem Liquorlabor der Universitätsklinik für Neurologie herangezogen. Die Proben wurden bei den jeweiligen Patienten mittels Lumbalpunktion beziehungsweise Blutabnahme aus der Vene gewonnen. Überschüssiger Liquor und Serum wurden unter Einhaltung internationaler Richtlinien (Teunissen et al., 2009) bei -80° Celsius bis zur wissenschaftlichen Analyse eingefroren.

Serum Transferrin-, Ferritin- und lösliche Transferrinrezeptorwerte sowie Liquor Ferritin- und Transferrinwerte wurden mittels Nephelometrie (Beckman Coulter Image 800) bestimmt. Die Bestimmung des löslichen Transferrinrezeptors erfolgte durch Immunnephelometrie mit einem BN II Gerät (Siemens Healthcare Diagnostics, Marburg, Deutschland). Die Transferrinsättigung wurde aus Serum Transferrin und Ferritin berechnet.

2.2.2 Magnetresonanztomographie

Die MRT wurde, wie bereits vorbeschrieben (Khalil et al., 2009), mit einem 3.0 Tesla Gerät (Siemens Tim Trio, Siemens Healthcare, Erlangen, Germany) durchgeführt. Dabei wurde eine Kopfspule mit zwölf Empfangselementen verwendet. Die strukturelle Bildgebung inkludierte eine Fluid-Attenuated Inversion Recovery (FLAIR) Sequenz (TR/TE/TI = 9000/70 ms/2500 ms, Auflösung = $0.9 \times 0.9\text{mm}^2$, Schichtdicke = 3mm) eine T1-gewichtete 3D Magnetization Prepared Rapid Acquisition Gradient Echo (MPRAGE) Sequenz mit 1mm isotroper Auflösung (TR/TE/TI/FA = 1.9 s/2.19ms/0.9s/9°). Die $R2^*$ Relaxationszeiten wurden mit einer dreidimensionalen Fast Low Angle Shot (FLASH) Sequenz (TR/FA = 86ms/20°) mit zwölf Echos in gleichmäßigen Abständen gemessen (Echoabstand von 4.92ms, Auflösung = $0.9 \times 0.9\text{mm}^2$, Schichtdicke = 4mm, Aufnahme des gesamten Gehirnes).

Regionale $R2^*$ Messung: Zur Kompensation des bipolaren Gradientenecho Readouts wurden alle späteren Echos der FLASH Frequenz linear auf das erste Echo registriert. Anschließend wurden aus diesen Daten die $R2^*$

Relaxationsratenbilder durch Anpassung an eine Exponentialkurve und unter Berücksichtigung des nicht-Gauß'schen Bildrauschen mit einem quadratischen Ansatz der Fehlerminimierung nach St Pierre (St Pierre, 2003) berechnet.

Die Basalganglien wurden auf Basis des hochauflösenden MPAGE Scan vollautomatisch unter Verwendung von FIRST segmentiert. FIRST ist ein Segmentations- und Erfassungsalgorithmus, welcher auf verformbaren Modellen der Neuroimagingsoftware FSL basiert (Smith et al., 2004). Die Bilder der Strukturen wurden mit einem Pixel erodiert um Überlappungen der verschiedenen Regionen zu vermeiden und den Sitz der Regionen im R2* Datensatz zu definieren. Anschließend wurden die mittleren R2* Werte und die Standardabweichungen der Struktur berechnet.

T2 Läsionslast: Die MS Läsionen wurden semi-automatisch mit Hilfe des Programmes DISPImage erstellt. Die T2 Läsionslast wurde durch Multiplikation der Fläche aller Läsionen durch die Dicke der Scheiben berechnet.

2.3 Statistische Analyse

Die statistische Auswertung wurde mit dem Statistikprogramm SPSS 18.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA) erhoben.

Die Daten wurden auf das Vorliegen einer Normalverteilung mit Hilfe des Kolmogorov-Smirnov Tests überprüft.

Bei nichtparametrischer Datenverteilung wurde für Gruppenvergleiche der Mann-Whitney U-Test herangezogen. Der Chi-Quadrat Test wurde zum Vergleich von Frequenzen zwischen zwei Gruppen angewandt.

Beim Gruppenvergleich mit mehr als zwei Gruppen wurden alle angegebenen p-Werte mittels des Kruskal-Wallis-Tests mit dem posthoc Dunn's Multiple Comparison Test für multiples Testen korrigiert.

Der Zusammenhang zwischen den klinischen Variablen, den Routinelaborparametern, den Liquorroutineparametern, der regionalen Eisenablagerung im Gehirn und den Eisenparametern wurde mittels nichtparametrischer Spearman-Korrelationen errechnet.

Die Korrelation der Eisenparameter im Liquor mit den EDSS Werten wurde mittels der partiellen Korrelation, nach Korrektur für das Alter, errechnet.

3 Ergebnisse

3.1 Vergleich der Liquor-/Serummarker zwischen der MS-Gruppe und der Kontrollgruppe

Im Vergleich der beiden Gruppen mittels nichtparametrischer Testung zeigte sich Transferrin im Liquor ($p < 0,001$, siehe Abbildung 6) in der CIS/MS-Gruppe signifikant erniedrigt (siehe Tabelle 5). Das Ergebnis blieb auch beim alleinigen Vergleich der CIS Patienten mit der Kontrollgruppe signifikant ($p < 0,001$).

Bei den restlichen Parametern Ferritin im Serum, Transferrin im Serum, Ferritin im Liquor, dem löslichen Transferrinrezeptor, der Transferrinsättigung, Hämoglobin und dem C-reaktiven Protein bestand kein signifikanter Unterschied.

Der Transferrin Index ($p < 0,001$) und der Ferritin Index ($p < 0,05$) zeigten sich in der CIS/MS Gruppe signifikant erniedrigt.

| | CIS/MS | Kontrollen | P |
|--|------------------------|------------------------|--------|
| N | 74 | 68 | |
| Ferritin Serum ng/ml | 55,65 (21,20-105,00) | 46,75 (25,80-81,00) | ns |
| Transferrin Serum mg/dl | 330,50 (294,00-410,00) | 339,00 (309,50-391,00) | ns |
| Ferritin Liquor ng/ml | 12,55 (8,20-15,80) | 13,70 (10,65-16,35) | ns |
| Transferrin Liquor mg/dl | 2,12 (1,77-2,71) | 2,91 (2,30-3,58) | <0,001 |
| Löslicher Transferrinrezeptor mg/dl | 1,01 (0,85-1,25) | 1,10 (0,93-1,35) | ns |
| Transferrinsättigung % | 11,84 (5,04-24,14) | 9,24 (5,35-17,97) | ns |
| Hb g/dl | 13,90 (13,20-14,50) | 14,50 (13,40-15,25) | ns |
| CRP mg/dl | 1,00 (0,60-3,30) | 1,55 (1,00-4,20) | ns |

N: Anzahl der Patienten, CIS: Klinisch isoliertes Syndrom, MS: Multiple Sklerose, Hb: Hämoglobin, CRP: C-reaktives Protein, ns: nicht signifikant, Ergebnisse als Anzahl oder Median (Interquartilsabstand), Normwerte: Ferritin Serum (30-150 ng/ml), Transferrin Serum (200-360 mg/dl), löslicher Transferrinrezeptor (0,8-1,8 mg/dl), Transferrinsättigung (16-45%), Hb (Frauen: 12,0-15,3 g/dl, Männer: 13,0-17,5 g/dl), CRP (-5.0 mg/dl)

Tabelle 5. Vergleich Liquor-/Serummarker der CIS/MS Gruppe mit der Kontrollgruppe

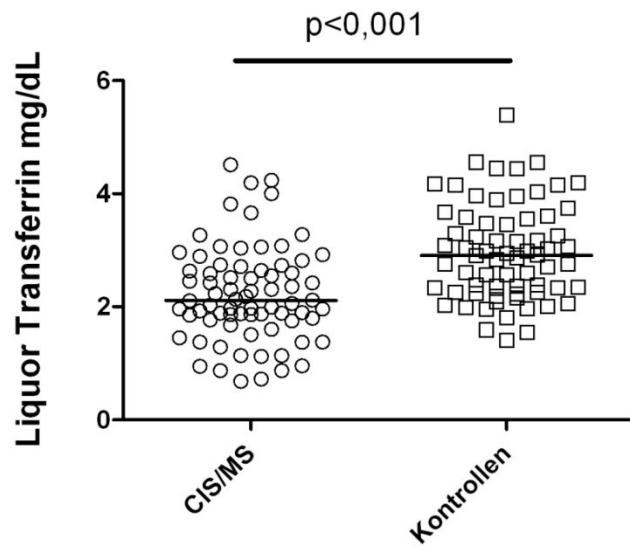


Abbildung 6. Transferrin im Liquor (mg/dl) bei CIS/MS Patienten im Vergleich zur Kontrollgruppe. CIS/MS Patienten hatten signifikant verminderte Liquor Transferrinwerte. CIS: Klinisch isoliertes Syndrom, MS: Multiple Sklerose

Die Kontrollgruppe setzte sich aus Patienten mit Kopfschmerzen, Missempfindungen und Paresen von Hirnnerven oder des peripheren Nervensystems zusammen. Bezüglich der Transferrinwerte im Liquor bestand kein signifikanter Unterschied beim Vergleich der Kontrollpatienten untereinander. Signifikante Unterschiede zeigten sich jedoch beim Vergleich der MS-Gruppe mit jeder einzelnen Kontrollgruppe (Abbildung 7).

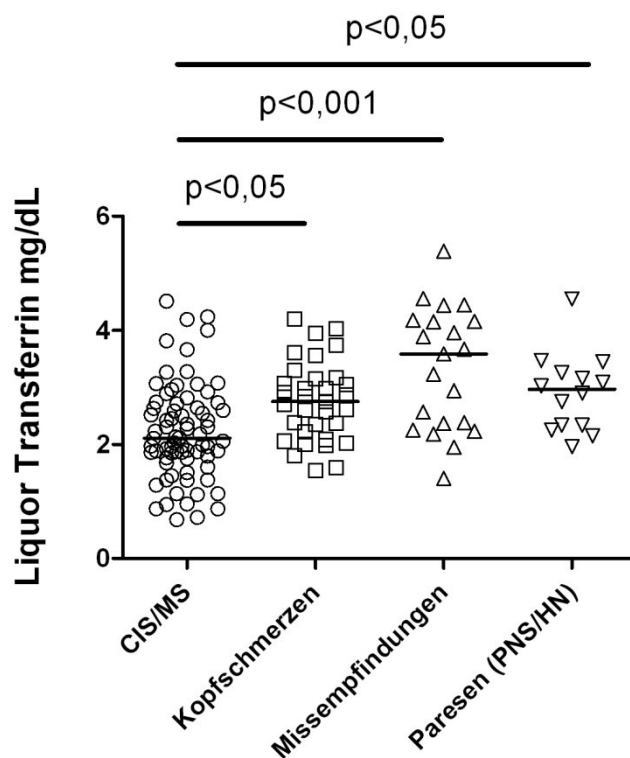


Abbildung 7. Transferrin im Liquor (mg/dL) im Vergleich mit den einzelnen Kontrollgruppen. Kein signifikanter Unterschied zwischen den einzelnen Kontrollgruppen. Signifikant erniedrigte Transferrinwerte in der CIS/MS Gruppe im Vergleich zu jeder einzelnen Kontrollgruppe. Alle angegebenen p-Werte wurden für multiples Testen korrigiert. CIS: Klinisch isoliertes Syndrom, MS: Multiple Sklerose, PNS: peripheres Nervensystem, HN: Hirnnerven

3.2 Korrelation der Liquor-/Serummarker mit klinischen und weiteren Laborvariablen

Bei der nichtparametrischen Korrelation der Liquor-/Serummarker untereinander und mit den klinisch erhobenen Variablen (Alter zum Zeitpunkt der Lumbalpunktion, Alter zum Erkrankungsbeginn, Erkrankungsdauer, EDSS Wert zum Zeitpunkt der Lumbalpunktion) ergaben sich folgende signifikanten Zusammenhänge:

Das Alter zum Zeitpunkt der Lumbalpunktion korrelierte mit Transferrin im Liquor ($r=0,2$, $p<0,05$), mit Ferritin im Liquor ($r=0,2$, $p<0,01$), mit Ferritin im Serum ($r=0,2$, $p<0,05$) und der Transferrinsättigung im Serum ($r=0,2$, $p<0,01$).

Sowohl Transferrin im Liquor ($r=-0,3$, $p<0,05$) als auch Ferritin im Liquor ($r=-0,3$, $p<0,05$) korrelierten mit den EDSS Werten zum Zeitpunkt der Lumbalpunktion (Abbildung 8-9). Beide Korrelationen blieben nach Korrektur für das Alter signifikant, Transferrin im Liquor ($r=-0,3$, $p<0,05$), Ferritin im Liquor ($r=-0,4$, $p<0,005$). Die Werte Transferrin und Ferritin im Liquor zeigten keine signifikante Korrelation mit den Variablen Krankheitsdauer und Alter zu Beginn der MS-Erkrankung.

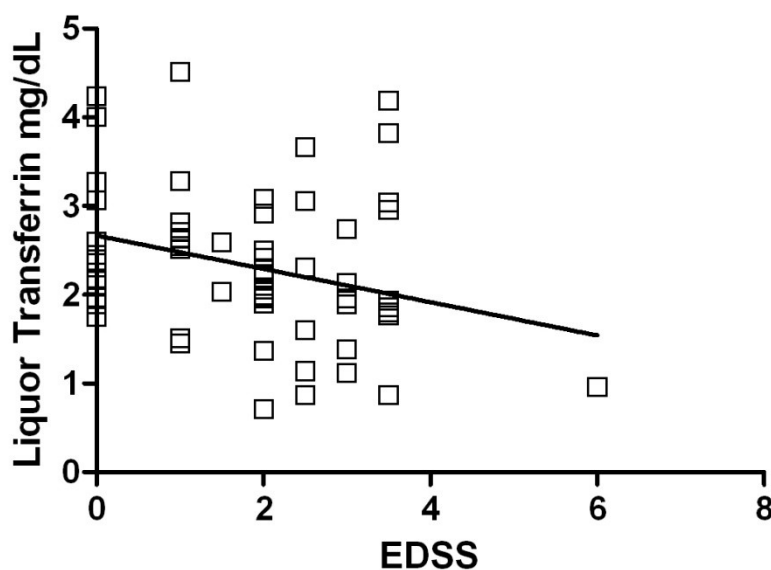


Abbildung 8. Korrelation von höheren Liquor Transferrinwerten mit niedrigeren EDSS Werten ($r=-0,3$, $p<0,05$)

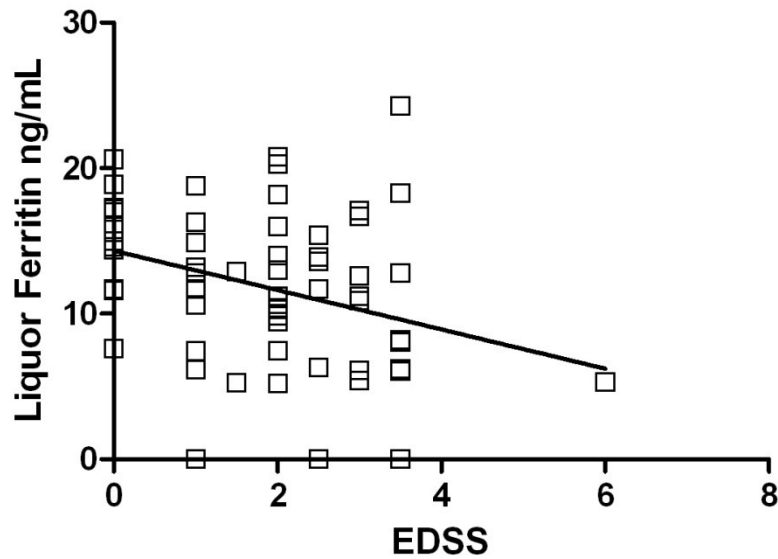


Abbildung 9. Korrelation von höheren Liquor Ferritinwerten mit niedrigeren EDSS Werten ($r=-0,4$, $p<0,005$)

3.3 Korrelation der Liquor-/Serummarker mit MRI R2* Werten (Eisenablagerung) in den Basalganglien und T2 Läsionslast

Bei CIS/MS Patienten zeigte die nichtparametrische Korrelation von Transferrin im Liquor mit MRI R2* Werten, als Maß für die Eisenablagerung im Bereich der Basalganglien, keine signifikanten Zusammenhänge.

Die Korrelation von Transferrin im Liquor mit der T2 Läsionslast zeigte ebenfalls keine Signifikanz.

4 Diskussion

Forschungsergebnisse zeigen, dass bei MS Patienten im Laufe ihrer Krankheit vermehrt Eisen im Gehirn abgelagert wird. Diese vermehrte Ablagerung kann vor allem in den Stammganglien beobachtet werden (Stankiewicz et al., 2007; Khalil et al., 2009). Eisen spielt als Kofaktor für viele Proteine, welche für die Funktion von neuronalem Gewebe von Bedeutung sind, eine entscheidende Rolle. Erhöhte Konzentrationen an reaktivem Eisen können jedoch oxidativen Stress hervorrufen, welcher zur Neurodegeneration führen kann (Zecca et al., 2004).

Bisher basiert die Evidenz für erhöhte Eisenablagerung bei MS vor allem auf bildgebenden und neuropathologischen Studien (Khalil et al., 2011a). In den letzten Jahren wurde es durch technische Weiterentwicklung möglich den Eisengehalt in zerebralen Strukturen genau zu quantifizieren. Neben anderen MRT Methoden stellt die R2* Relaxometrie eine interessante und hilfreiche Methode zur Quantifizierung von Eisen im Gehirn dar (Ropele et al., 2011). In einer rezenten Studie wurde gezeigt, dass die Eisenablagerung im Bereich der Basalganglien, gemessen mittels R2* Relaxometrie, bei MS Patienten erhöht ist. Diese erhöhte Ablagerung konnte mit der Krankheitsdauer und der Gehirnatrophie bei MS Patienten assoziiert werden. Im Gegensatz dazu konnte in der Gruppe der CIS Patienten keine erhöhte Eisenablagerung festgestellt werden (Khalil et al., 2009; Khalil et al., 2011b).

Es gibt bisher nur wenige Untersuchungen bei MS Patienten, die mögliche Alterationen des Eisenmetabolismus in Körperflüssigkeiten, wie Liquor und Serum, untersucht haben (Khalil et al., 2011a). Bis dato gibt es noch keine Studie in der medizinischen Literatur, die sich mit der Assoziation von Eisenparametern im Liquor beziehungsweise Serum mit magnetomographischer Bildgebung der Eisenablagerung (wie zum Beispiel der R2* Relaxometrie) bei MS Patienten beschäftigt hat.

Wie bereits erwähnt, konnten erhöhte Eisenablagerungen erst bei Patienten mit gesicherter MS in der MRT festgestellt werden (Khalil et al., 2009; Khalil et al., 2011b). Wir stellten uns die Frage, ob es auf der Proteinebene im Liquor und Serum Unterschiede im Eisenstoffwechsel bei CIS und MS Patienten im Vergleich zu einer Kontrollgruppe gibt und ob etwaige Unterschiede auch nur beim alleinigen

Vergleich der CIS Gruppe mit der Kontrollgruppe bestehen bleiben. Diese Information wäre insofern von Bedeutung, da eine Störung beziehungsweise Alteration im Eisenstoffwechsel einer vermehrten Eisenablagerung, die mittels MRT gemessen werden könnte, vorausgehen könnte.

Basierend auf diesem Hintergrund beschäftigte sich die Studie mit der Frage, ob es Alterationen von Liquor und Serum Markern des Eisenstoffwechsels bei CIS/MS Patienten im Vergleich zu Kontrollpatienten gibt und ob diese Veränderungen mit klinisch erhobenen Variablen in Zusammenhang gebracht werden können.

In einem weiteren Schritt wurde geprüft, ob es einen Zusammenhang zwischen den Biomarkern des Eisenstoffwechsels zwischen Liquor beziehungsweise Serum und $R2^*$ Aufnahmen beziehungsweise der T2 Läsionslast aus MRT Untersuchungen gibt.

Das Hauptergebnis unserer Studie ist, dass wir erniedrigte Transferrinwerte im Liquor der CIS/MS Gruppe im Vergleich mit der gesamten Kontrollgruppe nachweisen konnten. Der signifikante Unterschied von Transferrin im Liquor konnte durch einen Vergleich mit den jeweiligen Untergruppen der Kontrollgruppe, bei der sich jeweils ein signifikanter Unterschied zeigte, verdeutlicht werden. Ein weiteres signifikantes Ergebnis zeigte sich bei der Korrelation mit klinisch erhobenen Variablen, bei der sowohl Transferrin als auch Ferritin im Liquor mit den EDSS Werten zum Zeitpunkt der Lumbalpunktion korrelierten.

Neben der signifikanten Verringerung von Transferrin im Liquor der CIS/MS Patienten zeigte sich auch beim alleinigen Vergleich der CIS Patienten mit der Kontrollgruppe dieser signifikante Unterschied. Dies deutet darauf hin, dass bereits in frühen Krankheitsphasen der MS, noch bevor eine erhöhte Eisenakkumulation mittels R2* Relaxometrie in den Basalganglien detektiert werden kann, Veränderungen des Eisenmetabolismus im Liquor stattfinden.

Transferrin bindet Eisen und ist für die Regulation der Eisenabsorption, der Speicherung und dessen Nutzung zuständig (De Jong et al., 1990). Im Gehirn wird Transferrin hauptsächlich in den Oligodendrozyten synthetisiert und gespeichert (Bloch et al., 1985). Die messenger RNA für Transferrin wurde auch im Plexus choroideus gefunden (Connor et al., 1992).

Transferrin im Liquor wurde bei MS Patienten bisher in nur wenigen Studien untersucht. Eine Studie von LeVine et al., bei der ebenfalls die Transferrin Werte mittels Nephelometrie von MS Patienten ermittelt und mit einer Kontrollgruppe verglichen wurden, konnte im Gegensatz zu unserer Studie keine signifikanten Unterschiede feststellen (LeVine et al., 1999). Eine Studie von Zeman et al. konnte zeigen, dass es innerhalb der verschiedenen Verlaufsformen bei MS Patienten Unterschiede in der gemessenen Menge an Transferrin gibt und die Evaluation dieser Werte zur Differenzierung zwischen diesen Verlaufsformen dienen könnte (Zeman et al., 2000). Transferrin wurde aufgrund dieser Ergebnisse eine mögliche Rolle in der Pathogenese der MS zugesprochen.

In einigen rezenten proteomics basierten Studien, in denen das Proteinprofil im Liquor und Serum von MS Patienten untersucht wurde, zeigte sich Transferrin im Liquor im Vergleich zu Kontrollpatienten unterschiedlich reguliert. Eine Studie von Tumani et al. zeigte eine Down-Regulation von Transferrin im Liquor bei CIS Patienten, die innerhalb von zwei Jahren in eine RRMS Verlaufsform übergangen im Vergleich zu CIS Patienten, bei der die Verlaufsform stabil blieb (Tumani et al., 2009). Eine Studie von Pulinx et al. zeigte keine signifikanten Unterschiede im Bezug auf das Gesamttransferrin im Liquor im Vergleich CIS mit MS Patienten und einer Kontrollgruppe (Pulinx et al., 2012). Harris et al. konnten in ihrer Studie signifikant unterschiedliche Mengen an Transferrin im Liquor bei MS Patienten im Vergleich mit einer Kontrollgruppe feststellen (Harris et al., 2010).

Warum Transferrin bei CIS/MS Patienten verringert ist, kann nach derzeitigem Wissenstand nicht genau erklärt werden. Das liegt unter anderem daran, dass die exakten Vorgänge bezüglich des Eisenstoffwechsels im Gehirn bis dato noch nicht genau geklärt sind (Ke & Qian, 2007). Im Gehirn gibt es zwei Barriere-Systeme. Die Blut-Hirn-Schranke trennt die Blutzirkulation von der interstitiellen Flüssigkeit im Gehirn und die Blut-Liquor-Schranke trennt das Blut vom Liquor cerebrospinalis. Zwischen Liquor cerebrospinalis und der interstitiellen Flüssigkeit gibt es keine strukturelle Barriere (Zheng & Monnot, 2012). Der hauptsächliche Transportweg von Eisen ins Gehirn über die Blut-Hirn-Schranke findet wahrscheinlich an Transferrin gebunden über einen Transferrinrezeptor-Komplex statt (Jefferies et al., 1984; Bradbury, 1997). Der Eisen-Transferrin-Komplex kann über Endozytose in das Endothel der Gehirnkapillaren aufgenommen werden. Dort dissoziieren die Moleküle. Die Frage wie genau das intrazelluläre Eisen aus der abluminalen Seite der Endothelzellen ins Gehirn exportiert wird ist noch nicht genau geklärt (Moos et al., 2007; Zheng & Monnot, 2012). Das exportierte Eisen an der abluminalen Seite kann anschließend von Transferrin, das im Gehirn synthetisiert wurde, gebunden werden und somit für Neuronen und Neuroglia über die Expression von Transferrinrezeptoren zur Verfügung stehen (Beard & Connor, 2003; Zheng & Monnot, 2012). Abgesehen von an Transferrin gebundenem Eisen existiert auch noch ungebundenes Eisen im Gehirn (Ueda et al., 1993) und somit gibt es noch andere Transportwege für Eisen über die Blut-Hirn-Schranke. Neben der Aufnahme von Eisen über die Blut-Hirn-Schranke gibt es auch noch den Aufnahmeweg über die Blut-Liquor-Schranke (Zheng & Monnot, 2012). Weitere Transportproteine wie der Divalente Metall Transporter 1 (DMT1) und Laktoferrin werden diskutiert (Mills et al., 2010). Der Abtransport von Eisen aus dem Gehirn geschieht wahrscheinlich über den Liquor cerebrospinalis und somit über die Blut-Liquor-Schranke im Plexus choroideus (Moos et al., 2007; Zheng & Monnot, 2012). Eisen könnte dabei im Liquor an Transferrin gebunden über den Transferrinrezeptor-Komplex oder auch über andere Transporter wie den DMT1 ins Blut abtransportiert werden (Zheng & Monnot, 2012).

Die Ursache für erniedrigte Transferrinwerte im Liquor kann durch die vorliegende Studie nicht genau geklärt werden. Oligodendrozyten speichern eine große Menge an Eisen im Gehirn (Levine, 1991) und synthetisieren und speichern Transferrin (Bloch et al., 1985). Durch die Zerstörung der Oligodendrozyten im Rahmen

autoimmunologischer Prozesse bei MS könnte vermehrt Eisen freigesetzt werden. Durch eine zu geringe Menge an Transferrinproteinen könnte im weiteren Schritt der Abtransport von vermehrt freigesetztem Eisen gestört sein. Das vermehrt freiwerdende Eisen könnte in weiterer Folge über Generierung von Hydroxylradikalen zur Amplifikation der Gewebeschädigung bei MS beitragen. Des Weiteren ist bis jetzt nicht genau geklärt, ob erhöhtes Eisen bei autoimmunologisch vermittelten Erkrankungen, wie der MS, aktiv aus dem peripheren Blutkreislauf ins ZNS transportiert wird und auf diese Weise zur erhöhten Eisendeposition im ZNS führt.

Weitere Möglichkeiten wären eine zu geringe Produktion oder ein vermehrter Abtransport von Transferrin in die Peripherie. Der genaue Grund dafür kann noch nicht erklärt werden. Eine Störung in der Produktion oder des Abtransportes selbst sowie eine Veränderung in der Blut-Liquor-Schranke bei erhöhtem Eisen im Gehirn wären denkbar.

Bei MS kommt es, wie in der Einführung bereits erwähnt, zu Entzündungsreaktionen mit konsekutiver Demyelinisierung und axonaler Destruktion (Noseworthy et al., 2000). Eine Studie von Ritchie et al. konnte verringerte Transferrinwerte bei Entzündungsreaktionen nachweisen (Ritchie et al., 1999). Über die Aktivierung des Neutrophilen-Myeloperoxidase-Systems wäre es möglich, dass Transferrin kein Eisen mehr binden könnte und somit die Gefahr gegeben wäre, dass es durch das überschüssige Eisen zur Bildung von freien Radikalen kommen könnte (Leitner & Connor, 2012).

Insgesamt stellt sich die Frage, ob erniedrigte Transferrinwerte in frühen Stadien der MS eventuell auf eine weiterfolgende vermehrte Eisenablagerung bei MS Patienten hindeuten und somit eine Messung von Transferrin in frühen Stadien der MS für den weiteren Verlauf als prädiktiver Marker von Bedeutung wäre.

Ferritin ist das wichtigste Eisenspeicherprotein im Gehirn und ist in der Lage das Gehirn vor oxidativem Stress, hervorgerufen durch ein Überangebot an Eisen, zu schützen (Connor et al., 1994). Ferritin kann im Gehirn in Oligodendrozyten, Neuronen, Mikroglia und in geringen Mengen in Astrozyten gefunden werden (Zecca et al., 2004).

Bezüglich des Ferritin Gehaltes im Liquor konnte in unserer Studie kein signifikanter Unterschied im Vergleich zur Kontrollgruppe festgestellt werden. Unsere Ergebnisse decken sich mit Ergebnissen anderer publizierter Studien. LeVine et al. zeigten, dass der Ferritin Gehalt im Liquor zwar bei MS Patienten mit aktiver chronisch progressiver Form im Vergleich zu gesunden Personen erhöht ist, jedoch bei Patienten mit RRMS keine signifikanten Unterschiede zeigt (LeVine et al., 1999). Weitere Studien von Petzold et al. und Worthington et al. konnten ebenfalls einen erhöhten Gehalt an Ferritin im Liquor nur bei Patienten mit SPMS nachweisen (Petzold et al., 2002; Worthington et al., 2010). Eine Studie von Rejdak et al. fand ebenso keinen signifikanten Unterschied im Ferritingehalt von Patienten mit RRMS im Vergleich mit einer Kontrollgruppe (Rejdak et al., 2008). Levine et al. erklärten den unterschiedlichen Gehalt an Ferritin in den verschiedenen Verlaufsformen durch eine mögliche Veränderung im Bezug auf die Demyelinisierung und Entzündungsreaktion bei Patienten mit chronisch progressiver Form. Somit könnte eine Erhöhung an Ferritin bei Patienten mit chronisch progressivem Verlauf einen Abwehrmechanismus darstellen. Ferritin könnte zu viel vorhandenes Eisen binden, um dadurch durch Eisen verursachten oxidativen Stress zu vermeiden (LeVine et al., 1999). Die Ergebnisse dieser Studien sind mit den Ergebnissen unserer Studie durchaus vereinbar, da hauptsächlich Patienten mit CIS und MS mit schubförmigem Verlauf eingeschlossen wurden.

Auch im Serum ergaben die Messungen von Transferrin und Ferritin keine signifikanten Unterschiede im Vergleich CIS/MS Patienten zu der Kontrollgruppe. Diese Ergebnisse stimmen mit anderen rezenten Studien überein. Sfagos et al. fanden einen erhöhten Ferritin Gehalt im Serum bei MS Patienten mit chronisch aktivem Verlauf, jedoch vergleichbar mit unserer Studie keine Veränderungen des Ferritin Gehaltes bei Patienten mit RRMS (Sfagos et al., 2005). Eine weitere vergleichbare Studie von Da Costa et al. zeigte erhöhte Ferritinwerte im Serum, die mit dem schubhaft progressiven Verlaufstyp der MS und zusätzlich mit dem männlichen Geschlecht assoziiert wurden (Da Costa et al., 2011).

Der Transferrin Index als auch der Ferritin Index zeigten sich bei den CIS/MS Patienten im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant erniedrigt. Somit konnten wir

ausschließen, dass unsere gemessenen Werte im Liquor nicht nur durch eine Störung der Bluthirnschranke und daraus folgenden erhöhten Index Werten zustande gekommen sind.

Der lösliche Transferrinrezeptor wird in der Routinelabordiagnostik eingesetzt um einen Eisenmangel diagnostizieren zu können (Ferguson et al., 1992; Cook, 1999). In Studien von Sfagos et al. und Abo-Krysha & Rashed konnten erhöhte lösliche Transferrinrezeptor Werte im Serum von MS Patienten nachgewiesen werden. In unserer Studie zeigte der lösliche Transferrinrezeptor keine signifikanten Unterschiede im Vergleich mit der Kontrollgruppe. In den beiden genannten Studien wurden jedoch andere Kohorten (progrediente beziehungsweise aktive MS) im Vergleich zu unserer Studie (CIS beziehungsweise frühe MS) untersucht, weshalb ein direkter Vergleich der Studien nicht möglich ist und somit nicht ausgeschlossen werden kann, dass sich der lösliche Transferrinrezeptor im weiteren Verlauf der MS erhöht. Sfagos et al. fanden erhöhte lösliche Transferrinrezeptor Werte bei aktiven chronisch progressiven und aktiven schubhaft-remittierenden Verlaufsformen (Sfagos et al., 2005). Abo-Krysha & Rashed konnten ebenfalls erhöhte lösliche Transferrinrezeptor Werte sowohl bei Patienten mit aktiver beziehungsweise stabiler chronisch progressiver als auch aktiver schubhaft-remittierender Verlaufsform nachweisen (Abo-Krysha & Rashed, 2008). Die Autoren konkludierten, dass diese Ergebnisse den erhöhten Eisenumsatz darstellen könnten (Sfagos et al., 2005; Abo-Krysha & Rashed, 2008). Der erhöhte lösliche Transferrinrezeptor Wert bei Patienten mit stabiler Verlaufsform könnte durch eine aktive Entzündung mit nicht nachweisbaren oxidativen Schaden hervorgerufen werden (Abo-Krysha & Rashed, 2008).

Im Vergleich mit den klinischen Variablen korrelierten sowohl Transferrin als auch Ferritin im Liquor mit den EDSS Werten zum Zeitpunkt der Lumbalpunktion. Dabei korrelierten höhere Transferrin und Ferritin Werte mit niedrigeren EDSS Werten. Diese Ergebnisse zeigen somit einen möglichen Zusammenhang der Höhe der Transferrin und Ferritin Werte und dem Behinderungsgrad der MS Patienten. Die Assoziation von erniedrigten Transferrin Werten mit den EDSS Werten unterstreicht, dass die Analyse von Transferrin im Liquor bei MS Patienten in

Zukunft eventuell von Bedeutung sein könnte. In diese Richtung werden noch Studien benötigt, die untersuchen ob Transferrin bei MS Patienten als prädiktiver Wert in Bezug auf eine klinische Progression und/oder vermehrte Eisenablagerung im Laufe der Erkrankung herangezogen werden kann.

Eine weitere wichtige Fragestellung dieser Diplomarbeit war es, einen möglichen Zusammenhang zwischen Eisenparametern im Liquor und R2* Relaxometrie Messungen zu analysieren. Des Weiteren wurde untersucht, ob die Eisenparameter mit der T2 Läsionslast als bildgebendes Ausmaß der Krankheitsschwere korrelieren.

Bei der Korrelation der Eisenparameter im Liquor mit MRI R2* Werten der Basalganglien innerhalb der MS Gruppe ergaben sich keine signifikanten Zusammenhänge. Die Korrelation mit der T2 Läsionslast ergab ebenfalls keine signifikanten Ergebnisse. Eine Studie von Worthington et al. konnte eine inverse Korrelation der T2 gewichteten Läsionsvolumina und Ferritin im Liquor zeigen (Worthington et al., 2010).

Die T2 Läsionslast war in der Kohorte unserer Studie eher gering. Somit hatten die Patienten keine ausgeprägte Hirnschädigung. Dadurch könnte die fehlende Korrelation mit der T2 Läsionslast zum Teil bedingt sein. Ob eine mögliche Korrelation mit der MRT T2 Läsionslast besteht, sollte durch eine weitere Studie mit einem Follow-Up Design untersucht werden.

Eine mögliche Erklärung, warum sich in unserer Studie bei der Korrelation mit den MRT Parametern keine signifikanten Ergebnisse zeigten, wäre, dass die biochemischen Parameter des Eisenstoffwechsels meist schneller auf pathophysiologische Veränderungen reagieren und somit eine größere Dynamik aufweisen. Die MRT ist, zum Beispiel im Bezug auf die Eisenablagerung, eine statische Messung und hat somit weniger Dynamik als die Messung der Eisenparameter. Somit wird bei der MRT Messung erst das Ergebnis einer eventuell gestörten Eisenregulation bei MS Patienten sichtbar. Wahrscheinlich ist die vermehrte Eisenablagerung im ZNS von MS Patienten als Epiphänomen der pathophysiologischen Vorgänge dieser Erkrankung zu sehen.

Beim Vergleich der Liquor- beziehungsweise Serumdaten mit MRT Variablen ist des Weiteren zu berücksichtigen, dass die Lumbalpunktion und die MRT

Untersuchung der Patienten nicht am gleichen Tag durchgeführt wurde und eventuell deshalb in dieser Querschnittsuntersuchung kein Zusammenhang gefunden werden konnte. Der zeitliche Abstand der Lumbalpunktion zur MRT Messung lag im Median bei 1,3 Jahren. Ob eine Assoziation zwischen Veränderungen des Eisenmetabolismus im Liquor und der Eisendeposition im Gehirn von MS Patienten besteht, sollte in einer weiteren Studie mit Follow-Up Design untersucht werden, in der die Veränderung der MRT Parameter im Laufe der Zeit zu den Ausgangswerten von Liquor Parametern gesetzt werden kann.

Eine Stärke unserer Studie ist der Vergleich der Eisenparameter beziehungsweise MRT Parameter der CIS/MS Patienten mit denen einer Kontrollgruppe. Die Kontrollgruppe wurde wiederum in einzelne Untergruppen (Kopfschmerzen, Missempfindungen, Paresen von kranialen oder peripheren Nerven) unterteilt. Des Weiteren ist als Stärke unser relativ homogenes Patientengut im Bezug auf die CIS/MS Gruppe zu sehen und dass keiner der Patienten zum Zeitpunkt der Lumbalpunktion eine MS-spezifische Therapie erhalten hat.

Eine Einschränkung unserer Studie ist, dass nur Patienten mit relativ geringer Beeinträchtigung untersucht wurden. Die Rolle von Veränderungen von Eisenparametern im Liquor beziehungsweise Serum bei bereits fortgeschrittener und progredienter MS sollte in Folgestudien untersucht werden.

Durch das Design der vorliegenden Studie im Sinne einer Querschnittsuntersuchung können vorerst keine Aussagen darüber gemacht werden, inwieweit die Eisenparameter im Liquor und Serum prädiktiv für eine Krankheitsprogression sind. Geplant sind weitere Studien mit longitudinalen klinischen und MRT Untersuchungen um dieser Fragestellung nachzugehen.

Zusammengefasst konnten wir in der vorliegenden Studie zeigen, dass Transferrin im Liquor in frühen Phasen der MS verringert ist und ein Zusammenhang mit dem Behinderungsgrad besteht.

Es werden noch longitudinale Studien benötigt, um herauszufinden, ob Transferrin als prädiktiver Wert in Bezug auf eine vermehrte Eisenablagerung im Laufe der MS herangezogen werden kann. Des Weiteren werden noch weitere Studien mit Follow-Up Design benötigt, um einen möglichen Zusammenhang zwischen Liquor-beziehungsweise Serumwerten des Eisenmetabolismus und Ergebnissen aus MRT Untersuchungen ($R2^*$ Werte, T2 Läsionslast) zu untersuchen.

5 Literaturverzeichnis

Abo-Krysha N, Rashed L. The role of iron dysregulation in the pathogenesis of multiple sclerosis: an Egyptian study. *Mult Scler* 2008 Jun;14(5):602-608.

Alter M, Halpern L, Kurland LT, Bornstein B, Leibowitz U, Silberstein J. Multiple sclerosis in Israel. Prevalence among immigrants and native inhabitants. *Arch Neurol* 1962 Oct;7:253-263.

Aranami T, Yamamura T. Th17 Cells and autoimmune encephalomyelitis (EAE/MS). *Allergol Int* 2008 Jun;57(2):115-120.

Ascherio A, Munger KL. 99th Dahlem conference on infection, inflammation and chronic inflammatory disorders: Epstein-Barr virus and multiple sclerosis: epidemiological evidence. *Clin Exp Immunol* 2010 Apr;160(1):120-124.

Ascherio A, Munger KL. Environmental risk factors for multiple sclerosis. Part II: Noninfectious factors. *Ann Neurol* 2007 Jun;61(6):504-513.

Babbe H, Roers A, Waisman A, Lassmann H, Goebels N, Hohlfeld R, et al. Clonal expansions of CD8(+) T cells dominate the T cell infiltrate in active multiple sclerosis lesions as shown by micromanipulation and single cell polymerase chain reaction. *J Exp Med* 2000 Aug 7;192(3):393-404.

Bakshi R, Benedict RH, Bermel RA, Caruthers SD, Puli SR, Tjoa CW, et al. T2 hypointensity in the deep gray matter of patients with multiple sclerosis: a quantitative magnetic resonance imaging study. *Arch Neurol* 2002 Jan;59(1):62-68.

Bakshi R, Dmochowski J, Shaikh ZA, Jacobs L. Gray matter T2 hypointensity is related to plaques and atrophy in the brains of multiple sclerosis patients. *J Neurol Sci* 2001 Mar 15;185(1):19-26.

Barreto AD, Brod SA, Bui TT, Jemelka JR, Kramer LA, Ton K, et al. Chronic cerebrospinal venous insufficiency: Case-control neurosonography results. *Ann Neurol* 2012 Dec 13.

Baumhackl U, Eibl G, Ganzinger U, Hartung HP, Mamoli B, Pfeiffer KP, et al. Prevalence of multiple sclerosis in Austria. Results of a nationwide survey. *Neuroepidemiology* 2002 Sep-Oct;21(5):226-234.

Beard JL, Connor JR. Iron status and neural functioning. *Annu Rev Nutr* 2003;23:41-58.

Ben-Nun A, Wekerle H, Cohen IR. The rapid isolation of clonable antigen-specific T lymphocyte lines capable of mediating autoimmune encephalomyelitis. *Eur J Immunol* 1981 Mar;11(3):195-199.

Bermel RA, Puli SR, Rudick RA, Weinstock-Guttman B, Fisher E, Munschauer FE, 3rd, et al. Prediction of longitudinal brain atrophy in multiple sclerosis by gray

- matter magnetic resonance imaging T2 hypointensity. *Arch Neurol* 2005 Sep;62(9):1371-1376.
- Bielekova B, Martin R. Development of biomarkers in multiple sclerosis. *Brain* 2004 Jul;127(Pt 7):1463-1478.
- Bjartmar C, Kidd G, Mork S, Rudick R, Trapp BD. Neurological disability correlates with spinal cord axonal loss and reduced N-acetyl aspartate in chronic multiple sclerosis patients. *Ann Neurol* 2000 Dec;48(6):893-901.
- Bloch B, Popovici T, Levin MJ, Tuil D, Kahn A. Transferrin gene expression visualized in oligodendrocytes of the rat brain by using in situ hybridization and immunohistochemistry. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1985 Oct;82(19):6706-6710.
- Bothwell TH. Overview and mechanisms of iron regulation. *Nutr Rev* 1995 Sep;53(9):237-245.
- Bradbury MW. Transport of iron in the blood-brain-cerebrospinal fluid system. *J Neurochem* 1997 Aug;69(2):443-454.
- Brass SD, Benedict RH, Weinstock-Guttman B, Munschauer F, Bakshi R. Cognitive impairment is associated with subcortical magnetic resonance imaging grey matter T2 hypointensity in multiple sclerosis. *Mult Scler* 2006 Aug;12(4):437-444.
- Breij EC, Brink BP, Veerhuis R, van den Berg C, Vloet R, Yan R, et al. Homogeneity of active demyelinating lesions in established multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2008 Jan;63(1):16-25.
- Breithaupt C, Schubart A, Zander H, Skerra A, Huber R, Linington C, et al. Structural insights into the antigenicity of myelin oligodendrocyte glycoprotein. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003 Aug 5;100(16):9446-9451.
- Ceccarelli A, Rocca MA, Neema M, Martinelli V, Arora A, Tauhid S, et al. Deep gray matter T2 hypointensity is present in patients with clinically isolated syndromes suggestive of multiple sclerosis. *Mult Scler* 2010 Jan;16(1):39-44.
- Comi G, Filippi M, Barkhof F, Durelli L, Edan G, Fernandez O, et al. Effect of early interferon treatment on conversion to definite multiple sclerosis: a randomised study. *Lancet* 2001 May 19;357(9268):1576-1582.
- Compston A, Coles A. Multiple sclerosis. *Lancet* 2008 Oct 25;372(9648):1502-1517.
- Compston A, Coles A. Multiple sclerosis. *Lancet* 2002 Apr 6;359(9313):1221-1231.
- Confavreux C, Vukusic S, Adeleine P. Early clinical predictors and progression of irreversible disability in multiple sclerosis: an amnesic process. *Brain* 2003 Apr;126(Pt 4):770-782.

Connor JR, Benkovic SA. Iron regulation in the brain: histochemical, biochemical, and molecular considerations. *Ann Neurol* 1992;32 Suppl:S51-61.

Connor JR, Boeshore KL, Benkovic SA, Menzies SL. Isoforms of ferritin have a specific cellular distribution in the brain. *J Neurosci Res* 1994 Mar 1;37(4):461-465.

Contini C, Seraceni S, Cultrera R, Castellazzi M, Granieri E, Fainardi E. Chlamydophila pneumoniae Infection and Its Role in Neurological Disorders. *Interdiscip Perspect Infect Dis* 2010;2010:273573.

Cook JD. The measurement of serum transferrin receptor. *Am J Med Sci* 1999 Oct;318(4):269-276.

Correale J, de los Milagros Bassani Molinas, M. Oligoclonal bands and antibody responses in multiple sclerosis. *J Neurol* 2002 Apr;249(4):375-389.

Craelius W, Migdal MW, Luessenhop CP, Sugar A, Mihalakis I. Iron deposits surrounding multiple sclerosis plaques. *Arch Pathol Lab Med* 1982 Aug;106(8):397-399.

Da Costa R, Szyper-Kravitz M, Szekanecz Z, Csepány T, Danko K, Shapira Y, et al. Ferritin and prolactin levels in multiple sclerosis. *Isr Med Assoc J* 2011 Feb;13(2):91-95.

de Jong G, van Dijk JP, van Eijk HG. The biology of transferrin. *Clin Chim Acta* 1990 Sep;190(1-2):1-46.

Dean G, Kurtzke JF. On the risk of multiple sclerosis according to age at immigration to South Africa. *Br Med J* 1971 Sep 25;3(5777):725-729.

Detels R, Visscher BR, Malmgren RM, Coulson AH, Lucia MV, Dudley JP. Evidence for lower susceptibility to multiple sclerosis in Japanese-Americans. *Am J Epidemiol* 1977 Apr;105(4):303-310.

Dhib-Jalbut S, Marks S. Interferon-beta mechanisms of action in multiple sclerosis. *Neurology* 2010 Jan 5;74 Suppl 1:S17-24.

Doepp F, Paul F, Valdueza JM, Schmierer K, Schreiber SJ. No cerebrocervical venous congestion in patients with multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2010 Aug;68(2):173-183.

Drayer B, Burger P, Hurwitz B, Dawson D, Cain J. Reduced signal intensity on MR images of thalamus and putamen in multiple sclerosis: increased iron content? *AJR Am J Roentgenol* 1987 Aug;149(2):357-363.

Drayer BP, Burger P, Hurwitz B, Dawson D, Cain J, Leong J, et al. Magnetic resonance imaging in multiple sclerosis: decreased signal in thalamus and putamen. *Ann Neurol* 1987 Oct;22(4):546-550.

Dutta R, McDonough J, Yin X, Peterson J, Chang A, Torres T, et al. Mitochondrial dysfunction as a cause of axonal degeneration in multiple sclerosis patients. *Ann Neurol* 2006 Mar;59(3):478-489.

Elian M, Nightingale S, Dean G. Multiple sclerosis among United Kingdom-born children of immigrants from the Indian subcontinent, Africa and the West Indies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1990 Oct;53(10):906-911.

Evangelou N, Konz D, Esiri MM, Smith S, Palace J, Matthews PM. Regional axonal loss in the corpus callosum correlates with cerebral white matter lesion volume and distribution in multiple sclerosis. *Brain* 2000 Sep;123 (Pt 9)(Pt 9):1845-1849.

Fazekas F, Barkhof F, Filippi M, Grossman RI, Li DK, McDonald WI, et al. The contribution of magnetic resonance imaging to the diagnosis of multiple sclerosis. *Neurology* 1999 Aug 11;53(3):448-456.

Fazekas F, Lublin FD, Li D, Freedman MS, Hartung HP, Rieckmann P, et al. Intravenous immunoglobulin in relapsing-remitting multiple sclerosis: a dose-finding trial. *Neurology* 2008 Jul 22;71(4):265-271.

Felgenhauer K, Schadlich HJ, Nekić M, Ackermann R. Cerebrospinal fluid virus antibodies. A diagnostic indicator for multiple sclerosis? *J Neurol Sci* 1985 Dec;71(2-3):291-299.

Ferguson B, Matyszak MK, Esiri MM, Perry VH. Axonal damage in acute multiple sclerosis lesions. *Brain* 1997 Mar;120 (Pt 3)(Pt 3):393-399.

Ferguson BJ, Skikne BS, Simpson KM, Baynes RD, Cook JD. Serum transferrin receptor distinguishes the anemia of chronic disease from iron deficiency anemia. *J Lab Clin Med* 1992 Apr;119(4):385-390.

Frischer JM, Bramow S, Dal-Bianco A, Lucchinetti CF, Rauschka H, Schmidbauer M, et al. The relation between inflammation and neurodegeneration in multiple sclerosis brains. *Brain* 2009 May;132(Pt 5):1175-1189.

Grimaud J, Millar J, Thorpe JW, Moseley IF, McDonald WI, Miller DH. Signal intensity on MRI of basal ganglia in multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1995 Sep;59(3):306-308.

Gutteridge JM. Iron and oxygen radicals in brain. *Ann Neurol* 1992;32 Suppl:S16-21.

Hallgren B, Sourander P. The effect of age on the non-haemin iron in the human brain. *J Neurochem* 1958 Oct;3(1):41-51.

Halliwel B. Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? *J Neurochem* 2006 Jun;97(6):1634-1658.

Harris VK, Diamanduros A, Good P, Zakin E, Chalivendra V, Sadiq SA. Bri2-23 is a potential cerebrospinal fluid biomarker in multiple sclerosis. *Neurobiol Dis* 2010 Oct;40(1):331-339.

Huizinga R, Gerritsen W, Heijmans N, Amor S. Axonal loss and gray matter pathology as a direct result of autoimmunity to neurofilaments. *Neurobiol Dis* 2008 Dec;32(3):461-470.

Jacobs LD, Beck RW, Simon JH, Kinkel RP, Brownschidle CM, Murray TJ, et al. Intramuscular interferon beta-1a therapy initiated during a first demyelinating event in multiple sclerosis. CHAMPS Study Group. *N Engl J Med* 2000 Sep 28;343(13):898-904.

Jefferies WA, Brandon MR, Hunt SV, Williams AF, Gatter KC, Mason DY. Transferrin receptor on endothelium of brain capillaries. *Nature* 1984 Nov 8-14;312(5990):162-163.

Kappos L, Freedman MS, Polman CH, Edan G, Hartung HP, Miller DH, et al. Effect of early versus delayed interferon beta-1b treatment on disability after a first clinical event suggestive of multiple sclerosis: a 3-year follow-up analysis of the BENEFIT study. *Lancet* 2007 Aug 4;370(9585):389-397.

Kappos L, Weinshenker B, Pozzilli C, Thompson AJ, Dahlke F, Beckmann K, et al. Interferon beta-1b in secondary progressive MS: a combined analysis of the two trials. *Neurology* 2004 Nov 23;63(10):1779-1787.

Ke Y, Qian ZM. Brain iron metabolism: neurobiology and neurochemistry. *Prog Neurobiol* 2007 Oct;83(3):149-173.

Keegan M, Konig F, McClelland R, Bruck W, Morales Y, Bitsch A, et al. Relation between humoral pathological changes in multiple sclerosis and response to therapeutic plasma exchange. *Lancet* 2005 Aug 13-19;366(9485):579-582.

Kehrer JP. The Haber-Weiss reaction and mechanisms of toxicity. *Toxicology* 2000 Aug 14;149(1):43-50.

Kell DB. Iron behaving badly: inappropriate iron chelation as a major contributor to the aetiology of vascular and other progressive inflammatory and degenerative diseases. *BMC Med Genomics* 2009 Jan 8;2:2-8794-2-2.

Khalil M, Enzinger C, Langkammer C, Tscherner M, Wallner-Blazek M, Jehna M, et al. Quantitative assessment of brain iron by R(2)* relaxometry in patients with clinically isolated syndrome and relapsing-remitting multiple sclerosis. *Mult Scler* 2009 Sep;15(9):1048-1054.

Khalil M, Langkammer C, Ropele S, Petrovic K, Wallner-Blazek M, Loitfelder M, et al. Determinants of brain iron in multiple sclerosis: a quantitative 3T MRI study. *Neurology* 2011b Nov 1;77(18):1691-1697.

Khalil M, Teunissen C, Langkammer C. Iron and neurodegeneration in multiple sclerosis. *Mult Scler Int* 2011a;2011:606807.

Khan O, Filippi M, Freedman MS, Barkhof F, Dore-Duffy P, Lassmann H, et al. Chronic cerebrospinal venous insufficiency and multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2010 Mar;67(3):286-290.

Kornek B, Lassmann H. Axonal pathology in multiple sclerosis. A historical note. *Brain Pathol* 1999 Oct;9(4):651-656.

Kurtzke JF. Multiple sclerosis in time and space--geographic clues to cause. *J Neurovirol* 2000 May;6 Suppl 2:S134-40.

Kurtzke JF. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology* 1983 Nov;33(11):1444-1452.

Kurtzke JF. An epidemiologic approach to multiple sclerosis. *Arch Neurol* 1966 Feb;14(2):213-222.

Kutzelnigg A, Lucchinetti CF, Stadelmann C, Bruck W, Rauschka H, Bergmann M, et al. Cortical demyelination and diffuse white matter injury in multiple sclerosis. *Brain* 2005 Nov;128(Pt 11):2705-2712.

Langkammer C, Krebs N, Goessler W, Scheurer E, Ebner F, Yen K, et al. Quantitative MR imaging of brain iron: a postmortem validation study. *Radiology* 2010 Nov;257(2):455-462.

Lassmann H. Axonal and neuronal pathology in multiple sclerosis: what have we learnt from animal models. *Exp Neurol* 2010 Sep;225(1):2-8.

Lassmann H, Bruck W, Lucchinetti CF. The immunopathology of multiple sclerosis: an overview. *Brain Pathol* 2007 Apr;17(2):210-218.

Leitner DF, Connor JR. Functional roles of transferrin in the brain. *Biochim Biophys Acta* 2012 Mar;1820(3):393-402.

Leone MA, Raymkulova O, Naldi P, Lochner P, Bolamperti L, Coppo L, et al. Chronic cerebrospinal venous insufficiency is not associated with multiple sclerosis and its severity: a blind-verified study. *PLoS One* 2013;8(2):e56031.

LeVine SM. Iron deposits in multiple sclerosis and Alzheimer's disease brains. *Brain Res* 1997 Jun 20;760(1-2):298-303.

LeVine SM. Oligodendrocytes and myelin sheaths in normal, quaking and shiverer brains are enriched in iron. *J Neurosci Res* 1991 Jul;29(3):413-419.

LeVine SM, Lynch SG, Ou CN, Wulser MJ, Tam E, Boo N. Ferritin, transferrin and iron concentrations in the cerebrospinal fluid of multiple sclerosis patients. *Brain Res* 1999 Mar 13;821(2):511-515.

Linnington C, Bradl M, Lassmann H, Brunner C, Vass K. Augmentation of demyelination in rat acute allergic encephalomyelitis by circulating mouse monoclonal antibodies directed against a myelin/oligodendrocyte glycoprotein. *Am J Pathol* 1988 Mar;130(3):443-454.

Lublin FD. The diagnosis of multiple sclerosis. *Curr Opin Neurol* 2002 Jun;15(3):253-256.

Lublin FD, Reingold SC. Defining the clinical course of multiple sclerosis: results of an international survey. National Multiple Sclerosis Society (USA) Advisory Committee on Clinical Trials of New Agents in Multiple Sclerosis. *Neurology* 1996 Apr;46(4):907-911.

Lucchinetti C, Bruck W, Parisi J, Scheithauer B, Rodriguez M, Lassmann H. Heterogeneity of multiple sclerosis lesions: implications for the pathogenesis of demyelination. *Ann Neurol* 2000 Jun;47(6):707-717.

Mahad D, Lassmann H, Turnbull D. Review: Mitochondria and disease progression in multiple sclerosis. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2008 Dec;34(6):577-589.

McDonald WI, Compston A, Edan G, Goodkin D, Hartung HP, Lublin FD, et al. Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2001 Jul;50(1):121-127.

McLean BN, Luxton RW, Thompson EJ. A study of immunoglobulin G in the cerebrospinal fluid of 1007 patients with suspected neurological disease using isoelectric focusing and the Log IgG-Index. A comparison and diagnostic applications. *Brain* 1990 Oct;113 (Pt 5)(Pt 5):1269-1289.

Miller D, Barkhof F, Montalban X, Thompson A, Filippi M. Clinically isolated syndromes suggestive of multiple sclerosis, part I: natural history, pathogenesis, diagnosis, and prognosis. *Lancet Neurol* 2005 May;4(5):281-288.

Miller DH, Chard DT, Ciccarelli O. Clinically isolated syndromes. *Lancet Neurol* 2012 Feb;11(2):157-169.

Mills E, Dong XP, Wang F, Xu H. Mechanisms of brain iron transport: insight into neurodegeneration and CNS disorders. *Future Med Chem* 2010 Jan;2(1):51-64.

Montalban X, Tintore M, Swanton J, Barkhof F, Fazekas F, Filippi M, et al. MRI criteria for MS in patients with clinically isolated syndromes. *Neurology* 2010 Feb 2;74(5):427-434.

Moos T, Rosengren Nielsen T, Skjorringe T, Morgan EH. Iron trafficking inside the brain. *J Neurochem* 2007 Dec;103(5):1730-1740.

MS Leitlinie der deutschen Gesellschaft für Neurologie
http://www.dmsg.de/dokumentearchiv/dgnkknms_msll_20120412_final.pdf

Neumann H, Cavalie A, Jenne DE, Wekerle H. Induction of MHC class I genes in neurons. *Science* 1995 Jul 28;269(5223):549-552.

Noseworthy JH, Lucchinetti C, Rodriguez M, Weinshenker BG. Multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2000 Sep 28;343(13):938-952.

Petzold A, Eikelenboom MJ, Gveric D, Keir G, Chapman M, Lazeron RH, et al. Markers for different glial cell responses in multiple sclerosis: clinical and pathological correlations. *Brain* 2002 Jul;125(Pt 7):1462-1473.

Polman CH, Reingold SC, Banwell B, Clanet M, Cohen JA, Filippi M, et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria. *Ann Neurol* 2011 Feb;69(2):292-302.

Polman CH, Reingold SC, Edan G, Filippi M, Hartung HP, Kappos L, et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the "McDonald Criteria". *Ann Neurol* 2005 Dec;58(6):840-846.

Pretorius PM, Quaghebeur G. The role of MRI in the diagnosis of MS. *Clin Radiol* 2003 Jun;58(6):434-448.

Pulinx B, Hupperts RM, Vogt MH, ten Kate J, van Dieijen-Visser MP, Wodzig WK. Detection of differential protein expression in cerebrospinal fluid of patients with multiple sclerosis through two-dimensional differential in gel electrophoresis. *Clin Chem Lab Med* 2012;50(9):1693-1695.

Rejdak K, Jackson S, Giovannoni G. Multiple sclerosis: a practical overview for clinicians. *Br Med Bull* 2010;95:79-104.

Rejdak K, Petzold A, Stelmasiak Z, Giovannoni G. Cerebrospinal fluid brain specific proteins in relation to nitric oxide metabolites during relapse of multiple sclerosis. *Mult Scler* 2008 Jan;14(1):59-66.

Ritchie RF, Palomaki GE, Neveux LM, Navolotskaia O, Ledue TB, Craig WY. Reference distributions for the negative acute-phase serum proteins, albumin, transferrin and transthyretin: a practical, simple and clinically relevant approach in a large cohort. *J Clin Lab Anal* 1999;13(6):273-279.

Ropele S, de Graaf W, Khalil M, Wattjes MP, Langkammer C, Rocca MA, et al. MRI assessment of iron deposition in multiple sclerosis. *J Magn Reson Imaging* 2011 Jul;34(1):13-21.

Sadovnick AD, Armstrong H, Rice GP, Bulman D, Hashimoto L, Paty DW, et al. A population-based study of multiple sclerosis in twins: update. *Ann Neurol* 1993 Mar;33(3):281-285.

Sadovnick AD, Baird PA. The familial nature of multiple sclerosis: age-corrected empiric recurrence risks for children and siblings of patients. *Neurology* 1988 Jun;38(6):990-991.

Schlaeger R, D'Souza M, Schindler C, Grize L, Kappos L, Fuhr P. Combined evoked potentials as markers and predictors of disability in early multiple sclerosis. *Clin Neurophysiol* 2012 Feb;123(2):406-410.

Sfagos C, Makis AC, Chaidos A, Hatzimichael EC, Dalamaga A, Kosma K, et al. Serum ferritin, transferrin and soluble transferrin receptor levels in multiple sclerosis patients. *Mult Scler* 2005 Jun;11(3):272-275.

Singh AV, Zamboni P. Anomalous venous blood flow and iron deposition in multiple sclerosis. *J Cereb Blood Flow Metab* 2009 Dec;29(12):1867-1878.

Smith SM, Jenkinson M, Woolrich MW, Beckmann CF, Behrens TE, Johansen-Berg H, et al. Advances in functional and structural MR image analysis and implementation as FSL. *Neuroimage* 2004;23 Suppl 1:S208-19.

Sorensen PS, Fazekas F, Lee M. Intravenous immunoglobulin G for the treatment of relapsing-remitting multiple sclerosis: a meta-analysis. *Eur J Neurol* 2002 Nov;9(6):557-563.

St Pierre TG. Deferiprone versus desferrioxamine in thalassaemia, and T2* validation and utility. *Lancet* 2003 Jan 11;361(9352):182; author reply 183-4.

Stankiewicz J, Panter SS, Neema M, Arora A, Batt CE, Bakshi R. Iron in chronic brain disorders: imaging and neurotherapeutic implications. *Neurotherapeutics* 2007 Jul;4(3):371-386.

Stys PK. General mechanisms of axonal damage and its prevention. *J Neurol Sci* 2005 Jun 15;233(1-2):3-13.

Swanton JK, Fernando K, Dalton CM, Miszkiewski KA, Thompson AJ, Plant GT, et al. Modification of MRI criteria for multiple sclerosis in patients with clinically isolated syndromes. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2006 Jul;77(7):830-833.

Swanton JK, Rovira A, Tintore M, Altmann DR, Barkhof F, Filippi M, et al. MRI criteria for multiple sclerosis in patients presenting with clinically isolated syndromes: a multicentre retrospective study. *Lancet Neurol* 2007 Aug;6(8):677-686.

Teunissen C, Menge T, Altintas A, Alvarez-Cermeno JC, Bertolotto A, Berven FS, et al. Consensus definitions and application guidelines for control groups in cerebrospinal fluid biomarker studies in multiple sclerosis. *Mult Scler* 2013 May 21.

Teunissen CE, Petzold A, Bennett JL, Berven FS, Brundin L, Comabella M, et al. A consensus protocol for the standardization of cerebrospinal fluid collection and biobanking. *Neurology* 2009 Dec 1;73(22):1914-1922.

Thompson AJ, Montalban X, Barkhof F, Brochet B, Filippi M, Miller DH, et al. Diagnostic criteria for primary progressive multiple sclerosis: a position paper. *Ann Neurol* 2000 Jun;47(6):831-835.

Tjoa CW, Benedict RH, Weinstock-Guttman B, Fabiano AJ, Bakshi R. MRI T2 hypointensity of the dentate nucleus is related to ambulatory impairment in multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 2005 Jul 15;234(1-2):17-24.

Trapp BD, Peterson J, Ransohoff RM, Rudick R, Mork S, Bo L. Axonal transection in the lesions of multiple sclerosis. *N Engl J Med* 1998 Jan 29;338(5):278-285.

Trapp BD, Stys PK. Virtual hypoxia and chronic necrosis of demyelinated axons in multiple sclerosis. *Lancet Neurol* 2009 Mar;8(3):280-291.

Tumani H, Lehmsiek V, Rau D, Guttmann I, Tauscher G, Mogel H, et al. CSF proteome analysis in clinically isolated syndrome (CIS): candidate markers for conversion to definite multiple sclerosis. *Neurosci Lett* 2009 Mar 13;452(2):214-217.

Ueda F, Raja KB, Simpson RJ, Trowbridge IS, Bradbury MW. Rate of ⁵⁹Fe uptake into brain and cerebrospinal fluid and the influence thereon of antibodies against the transferrin receptor. *J Neurochem* 1993 Jan;60(1):106-113.

Wardman P, Candeias LP. Fenton chemistry: an introduction. *Radiat Res* 1996 May;145(5):523-531.

Weinshenker BG. The natural history of multiple sclerosis: update 1998. *Semin Neurol* 1998;18(3):301-307.

Weinshenker BG, Bass B, Rice GP, Noseworthy J, Carriere W, Baskerville J, et al. The natural history of multiple sclerosis: a geographically based study. I. Clinical course and disability. *Brain* 1989 Feb;112 (Pt 1)(Pt 1):133-146.

Worthington V, Killestein J, Eikelenboom MJ, Teunissen CE, Barkhof F, Polman CH, et al. Normal CSF ferritin levels in MS suggest against etiologic role of chronic venous insufficiency. *Neurology* 2010 Nov 2;75(18):1617-1622.

Zamboni P. The big idea: iron-dependent inflammation in venous disease and proposed parallels in multiple sclerosis. *J R Soc Med* 2006 Nov;99(11):589-593.

Zecca L, Youdim MB, Riederer P, Connor JR, Crichton RR. Iron, brain ageing and neurodegenerative disorders. *Nat Rev Neurosci* 2004 Nov;5(11):863-873.

Zeman D, Adam P, Kalistova H, Sobek O, Kelbich P, Andel J, et al. Transferrin in patients with multiple sclerosis: a comparison among various subgroups of multiple sclerosis patients. *Acta Neurol Scand* 2000 Feb;101(2):89-94.

Zhang Y, Zabad R, Wei X, Metz L, Hill M, Mitchell J. Deep grey matter "black T2" on 3 tesla magnetic resonance imaging correlates with disability in multiple sclerosis. *Mult Scler* 2007 Aug;13(7):880-883.

Zheng W, Monnot AD. Regulation of brain iron and copper homeostasis by brain barrier systems: implication in neurodegenerative diseases. *Pharmacol Ther* 2012 Feb;133(2):177-188.

6 Curriculum vitae

Bettina RIEDLBAUER

Holunderweg 10

4061 Pasching

Tel.: 0660/5081461

E-Mail: bettina.riedlbauer@gmail.com



Geburtstag: 2. Oktober 1987

Geburtsort: Linz

Ausbildung:

| | |
|-------------|---|
| Seit 2007 | Studium der Humanmedizin an der Medizinischen Universität Graz |
| 2006 – 2007 | Akademie für Ergotherapie, Linz |
| 2002 – 2006 | Adalbert Stifter Gymnasium, Linz (Naturwissenschaftlicher Zweig) |
| 1998 – 2002 | Körner Gymnasium, Linz |
| 1994 – 1998 | Übungsvolksschule, Linz |

Vertiefte Ausbildungen und spezielle Studienmodule (Auswahl):

| | |
|----------|--|
| WS 11/12 | Neuromuskuläre Erkrankungen: Diagnostik, Fallbeispiele, Behandlung |
| WS 11/12 | Elektrophysiologische Diagnostik bei neuromuskulären Erkrankungen (EMG, NLG, EP, MEP) |
| WS 11/12 | Laser in der Dermatologie |
| SS 11 | EKG-Seminar |
| WS 10/11 | Modernste Methoden zur Messung der Body Composition |
| WS 10/11 | Chirurgische Operationslehre |

| | |
|----------|--|
| WS 10/11 | Basic Medical English |
| WS 09/10 | Einführung in die Akupunktur |
| WS 08/09 | Physiologische Grundlagen der Systemdiagnostik und Elektroakupunktur nach Voll (EAV) |

Praktische Ausbildung im Rahmen der 16-wöchigen Pflichtfamulatur:

| | |
|------|---|
| 2012 | Abteilung für Innere Medizin, Tuen Mun Hospital Hong Kong |
| 2011 | Abteilung Neurologie, Landesnervenklinik Wagner-Jauregg Linz |
| 2011 | Abteilung Unfall- und Wiederherstellungschirurgie, Charité Virchow-Klinikum Berlin |
| 2010 | Abteilung für Plastische Chirurgie, KH Barmherzige Schwestern Linz |
| 2009 | Abteilung für Orthopädie, KH Barmherzige Schwestern Linz |

Computer und Sprachen:

Microsoft Office (Word, Excel, Powerpoint)
SPSS 18 (Grundlagen)

Englisch: Fließend (8 Jahre AHS)
Italienisch: Grundlagen (2 Jahre AHS)

Persönliche Interessen:

Laufen, Mountainbiken, Lesen, Reisen, Musik