

Diplomarbeit

**Die Rolle von neural cell adhesion molecule bei
Multipler Sklerose**

eingereicht von

Sabine Fritzenwallner

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

**Ass.-Prof. Priv.-Doz. Dr.med.univ. Michael Khalil, PhD
Dipl.-Ing. Dr.techn. Christian Langkammer**

Graz, am 12. Mai 2015

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 12. Mai 2015

Sabine Fritzenwallner e.h.

Danksagung

In diesem Rahmen möchte ich mich bei all jenen bedanken, die mir bei der Erstellung dieser Diplomarbeit und darüber hinaus zur Seite standen.

Großer Dank gilt meinem Betreuer Herrn Ass.-Prof. Priv.-Doz. Dr.med.univ. Michael Khalil, PhD für seine ständige, geduldige und großzügige Unterstützung, die mir die Erstellung dieser Diplomarbeit erst ermöglicht hat.

Ebenso bedanke ich mich bei meinem Zweitbetreuer Herrn Dipl.-Ing. Dr.techn. Christian Langkammer für die Zusammenarbeit.

Frau Kerstin Kröll, MSc und dem Team des Liquorlabors der Universitätsklinik für Neurologie möchte ich für ihre Hilfestellung ganz herzlich danken.

Mein größter Dank gilt meinen Eltern, die mich in allen Lebenslagen so großzügig unterstützen und mir immer vollstes Vertrauen entgegen bringen.

Ich danke meiner Schwester Kristina für ihre wertvollen Anregungen und die vielen guten Worte.

Danke an Carina, Johanna und Kathi für die vielen gemeinsamen Stunden, die die letzten Jahre zu einer besonders schönen Zeit gemacht haben.

Besonderer Dank gilt meinem Freund Stefan, der mir in jeder erdenklichen Situation größten Rückhalt gibt und mir immer bedingungslos zur Seite steht.

Inhaltsverzeichnis

Eidesstattliche Erklärung.....	I
Danksagung	II
Inhaltsverzeichnis.....	III
Abkürzungen	V
Abbildungsverzeichnis.....	VII
Tabellenverzeichnis.....	VIII
Zusammenfassung.....	IX
Abstract.....	XI
1 Einleitung.....	1
1.1 Epidemiologie	3
1.1.1 Alter und Geschlecht.....	3
1.1.2 Geografische Verteilung.....	3
1.2 Ätiologie	5
1.2.1 Umweltfaktoren	5
1.2.2 Genetische Faktoren	6
1.3 Pathologie und Pathogenese.....	7
1.3.1 Heterogenität in MS-Plaques	8
1.3.2 Axonale Schädigung und Degeneration	8
1.3.3 Immunzellen im ZNS	10
1.3.4 Mitochondrien und Energiedefizite	11
1.3.5 Eisenmetabolismus bei MS	12
1.3.6 Remyelinisierung.....	13
1.4 Klinik	16
1.4.1 Verlaufsformen.....	17
1.4.2 Definition, Häufigkeit und Rückbildung eines Schubes	20
1.4.3 Bewertung neurologischer Symptomatik	21
1.5 Diagnostik und Differenzialdiagnosen.....	23
1.5.1 Diagnosekriterien	23
1.5.2 Liquoranalyse.....	25
1.5.3 Magnetresonanztomographie.....	27
1.5.4 Differenzialdiagnosen.....	29

1.6 Therapie.....	30
1.6.1 Therapie des akuten Schubes.....	30
1.6.2 Verlaufsmodifizierende Therapie.....	30
1.6.3 Symptomatische Therapie.....	37
1.7 Biomarker und die Rolle von neural cell adhesion molecule bei Multipler Sklerose.....	38
1.7.1 Neural cell adhesion molecule	40
1.7.2 Biomarker für Eisendysregulation bei MS	41
1.8 Ableitung der Fragestellung	42
2 Material und Methoden.....	43
2.1 Studienkohorte.....	43
2.2 Liquoranalyse	45
2.3 Magnetresonanztomographie	47
2.4 Statistische Auswertung.....	47
3 Ergebnisse	48
3.1 Vergleich der NCAM-Werte zwischen der CIS/MS-Gruppe und den Kontrollgruppen	48
3.2 Korrelation der NCAM-Werte mit klinischen Parametern	52
3.3 Liquor- und Laborparameter in Korrelation mit NCAM	53
3.4 Korrelation der NCAM-Werte mit Transferrin im Liquor	54
3.5 Korrelation der NCAM-Werte mit MRT-T2-Läsionslast	55
4 Diskussion.....	56
5 Literaturverzeichnis	65

Abkürzungen

3T	3 Tesla
APCs	Antigen Presenting Cells, Antigenpräsentierende Zellen
BDNF	Brain-derived neurotrophic factor
ca.	circa
CIS	Clinically Isolated Syndrome, Klinisch Isoliertes Syndrom
CSF	Cerebrospinal fluid
CT	Computertomographie
DIS	Dissemination in Space, Räumliche Dissemination
DIT	Dissemination in Time, Zeitliche Dissemination
EAE	Experimentelle Autoimmune Enzephalomyelitis
EBV	Epstein Barr Virus
EDSS	Expanded Disability Status Scale
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
etc.	et cetera
FDA	US Food and Drug Administration
FLAIR	Fluid-Attenuated-Inversion-Recovery
FS	Funktionssystem
GWAS	Genome-Wide Association Study
IgA	Immunglobulin A
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
INF	Interferon
LP	Lumbalpunktion
m	Meter
mm	Millimeter
ms	Millisekunden
MHC	Major Histocompatibility Complex, Haupthistokompatibilitätskomplex
MLF	Fasciculus longitudinalis medialis
MPRAGE	Magnetization Prepared Rapid Gradient Echo
MRI	Magnetic Resonance Imaging

MRT	Magnetresonanztomographie
MRZ	Masern-Röteln-Zoster
MS	Multiple Sklerose
MSSS	Multiple Sclerosis Severity Score
NAWM	Normal Appearing White Matter, Normal Erscheinende Weiße Hirnsubstanz
NCAM	Neural Cell Adhesion Molecule
OKB	Oligoklonale Banden
OPC	Oligodendrocyte Precursor Cell
p.o.	per os
PD	Protonendichte
PPMS	Primär progrediente Multiple Sklerose
PRMS	Progredient schubförmige Multiple Sklerose
Qalb	Albuminquotient
RIS	Radiologisch Isoliertes Syndrom
RRMS	Schubförmig remittierende (relapsing remitting) Multiple Sklerose
s.c.	subcutan
SPMS	Sekundär progrediente Multiple Sklerose
ZNS	Zentrales Nervensystem

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Remyelinisierung im Zentralen Nervensystem (Crawford et al. 2013)	13
Abbildung 2: Verlaufsformen der MS; nach Lublin & Reingold 1996 und Lublin et al. 2014	19
Abbildung 3: Stufentherapieschema der Deutschen Gesellschaft für Neurologie (DGN/KKNMS Leitlinie zur Diagnose und Therapie der MS 2014)	31
Abbildung 4: Vergleich der NCAM-Werte im Liquor (ng/ml) zwischen CIS und MS.	48
Abbildung 5: Vergleich der NCAM-Werte im Liquor (ng/ml) zwischen den einzelnen Kontrollgruppen.....	49
Abbildung 6: Vergleich der NCAM-Werte im Liquor (ng/ml) zwischen nicht-aktiver CIS/MS und aktiver CIS/MS.	50
Abbildung 7: Vergleich der NCAM-Werte im Liquor (ng/ml) zwischen nicht-aktiver CIS/MS, aktiver CIS/MS und den beiden Kontrollgruppen.	51
Abbildung 8: Korrelation der NCAM-Werte (ng/ml) bei aktiver CIS/MS mit dem Albuminquotienten (mg/dl).	53
Abbildung 9: Korrelation der NCAM-Werte (ng/ml) bei nicht-aktiver CIS/MS mit Transferrinwerten (mg/dl) im Liquor.	54
Abbildung 10: Keine Korrelation der NCAM-Werte (ng/ml) bei nicht-aktiver CIS/MS mit der T2-Läsionslast (cm ³).	55
Abbildung 11: Keine Korrelation der NCAM-Werte (ng/ml) bei aktiver CIS/MS mit der T2-Läsionslast (cm ³).	55
Abbildung 12: Balance zwischen schädlichen und trophischen Eigenschaften von Eisen (Stephenson et al. 2014)	61
Abbildung 13: Eisenhaltige Enzyme und deren Rolle bei Remyelinisierung sowie die Konsequenzen eines Eisenmangels (Stephenson et al. 2014)	62

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Expanded Disability Status Scale (EDSS); nach Kurtzke 1983	22
Tabelle 2: Revidierte McDonald-Diagnosekriterien 2010; nach Polman et al. 2011	24
Tabelle 3: MS-typisches Liquormarker-Profil aus Schmidt & Hoffmann 2012, S. 119	25
Tabelle 4: MS-typische MRT-Befunde aus Sailer et al. 2008, S. 996	28
Tabelle 5: Differenzialdiagnosen der MS aus Schmidt & Hoffmann 2012, S. 80 ..	29
Tabelle 6: Klinische und demographische Daten der Studienkohorte	44
Tabelle 7: Liquorparameter der Patientinnen und Patienten mit CIS/MS sowie der Kontrollgruppe	46

Zusammenfassung

Hintergrund: Multiple Sklerose (MS) ist eine chronische neurologische Erkrankung, die durch Inflammation und Neurodegeneration gekennzeichnet ist. Daneben finden Reparaturvorgänge statt, die in unterschiedlichem Ausmaß zu Remyelinisierung führen können. Neural cell adhesion molecule (NCAM) könnte für diesen Prozess eine wichtige Rolle spielen. Bei MS wurden wiederholt reduzierte NCAM-Werte im Liquor nachgewiesen. Rezente Studien weisen außerdem auf eine Dysregulation des Eisenmetabolismus bei MS hin, wobei durch oxidativen Stress Neurodegeneration gefördert werden könnte. Nichts desto trotz sind adäquate Eisenkonzentrationen für Reparaturvorgänge unabdingbar.

Zielsetzung: Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Frage, ob sich NCAM im Liquor bei Personen in einem frühen Stadium von MS von Kontrollpersonen mit verschiedenen nichtentzündlichen neurologischen Krankheitsbildern unterscheidet und inwiefern Krankheitsaktivität hierfür eine Rolle spielt. Es wurde bislang nicht untersucht, ob bei MS ein Zusammenhang zwischen NCAM und Eisenmetabolismusmarkern im Kontext klinischer und magnetresonanztomographischer Variablen besteht. Daher wurden mögliche Korrelationen von NCAM mit klinischen Parametern und Routineliquorparametern, mit Parametern der Magnetresonanztomographie (MRT) sowie mit Transferrin im Liquor überprüft.

Methoden: NCAM wurde mittels Luminex Testkit in Liquorproben von 69 Personen mit CIS ($N=55$) oder MS ($N=14$) in einem frühen Krankheitsstadium bestimmt. Die PatientInnen wurden einer klinischen Untersuchung und einer 3T MRT-Aufnahme unterzogen. Die Liquorproben von 72 Personen mit nichtentzündlichen neurologischen Erkrankungen dienten als Kontrollen. Transferrin im Liquor wurde mittels Nephelometrie bestimmt.

Ergebnisse: Im Vergleich zu nicht-aktiver CIS/MS konnten bei aktiver CIS/MS signifikant niedrigere NCAM-Werte nachgewiesen werden ($p<0,001$). In Abhängigkeit der Krankheitsaktivität konnten signifikante Unterschiede zu unterschiedlichen Kontrollgruppen gezeigt werden ($p<0,001$). Bei aktivem Krankheitsverlauf korrelierte NCAM mit mehreren Liquor- und Laborparametern, bei nicht-aktivem Krankheitsverlauf mit Transferrin im Liquor ($r=0,4$, $p<0,05$).

Interpretation: Die vorliegende Studie zeigt, dass veränderte NCAM-Werte auch in frühen Phasen von MS vorkommen und stark von der Krankheitsaktivität abhängig sind. Des Weiteren unterliegen auch Korrelationen der NCAM-Werte mit anderen Liquor-, Labor- oder Eisenparametern der Krankheitsaktivität.

Abstract

Background: Multiple Sclerosis (MS) is a chronic neurological disease characterized by inflammation and neurodegeneration. Mainly in early phases of MS, regeneration leads to remyelination. Neural cell adhesion molecule (NCAM) could play an important role in neuronal repair. Reduced NCAM levels in cerebrospinal fluid (CSF) of patients with MS have been reported consistently. Besides NCAM, several other markers including biomarkers of iron metabolism as transferrin could be important for remyelination. Although excess of iron might have toxic effects and induce neurodegeneration, adequate amounts are necessary for myelination.

Objective: This study investigates if CSF NCAM levels in a group of persons with early MS differ from those of controls with non-inflammatory neurological diseases. A dependence of CSF NCAM levels on disease activity is further analyzed. It is not yet clear, if NCAM is related to other parameters of the disease and markers of iron metabolism. We therefore examined a correlation of NCAM with clinical and other CSF parameters, with magnetic resonance imaging (MRI) measures and CSF transferrin.

Methods: We analyzed NCAM in CSF of 69 patients with CIS ($N=55$) or MS ($N=14$) with a Luminex testkit. Patients underwent clinical examination and 3T MRI. CSF samples of 72 persons with different non-inflammatory neurological diseases served as controls. CSF transferrin levels were determined by nephelometry.

Results: Significantly lower CSF NCAM levels were found in patients with active CIS/MS compared to patients with non-active CIS/MS ($p<0.001$). Depending on disease activity, we found significantly altered NCAM levels compared to control groups ($p<0.001$). In active disease NCAM correlated with various CSF or laboratory parameters, in non-active disease with CSF transferrin ($r=0.4$, $p<0.05$).

Conclusion: This study provides evidence for altered CSF NCAM levels in early stages of MS and for dependence of NCAM on disease activity. It is further shown that correlations of NCAM with various CSF-, laboratory- and iron parameters depend on disease activity as well.

1 Einleitung

Multiple Sklerose (MS) ist eine chronisch entzündliche Erkrankung, die durch fokale demyelinisierende Läsionen des zentralen Nervensystems (ZNS) gekennzeichnet ist. Kürzlich durchgeführte neuropathologische Studien konnten jedoch zeigen, dass das Spektrum der Gewebeschädigung viel breiter ist. Neben den oben genannten fokale demyelinisierenden Herden finden sich auch pathologische Veränderungen des Kortex sowie eine diffuse Schädigung der außerhalb der MS-Läsionen gelegenen sogenannten *normal erscheinenden Hirnsubstanz* (NAWM) (Lassmann et al. 2007).

Daneben finden Reparaturvorgänge statt, die schlussendlich zur Remyelinisierung führen. In kürzlich publizierten neuropathologischen Studien konnte gezeigt werden, dass Remyelinisierung bei bis zu 40% der MS-Läsionen nachgewiesen werden kann, wobei jedoch eine große interindividuelle Variabilität besteht (Barkhof et al. 2009; van den Elskamp et al. 2010; Watzlawik et al. 2010).

Bis dato gibt es nur sehr beschränkte Möglichkeiten, neuronale Regeneration in vivo nachzuweisen. Neural cell adhesion molecule (NCAM) gilt als potentieller Biomarker für Remyelinisierung und Reparaturvorgänge (Katsavos & Anagnostouli 2013).

NCAM ist ein Glykoprotein und gehört zur Superfamilie der Immunglobuline (Berezin et al. 2000; Kiss et al. 2001; Massaro 2002). Große Bedeutung wird NCAM hinsichtlich neuronaler Reparatur- und Regenerationsvorgänge beigemessen (Kiryushko et al. 2004; Kiss et al. 2001; Massaro 2002).

Erniedrigte NCAM-Werte im Liquor konnten bei MS wiederholt nachgewiesen werden (Gnanapavan et al. 2010; Gnanapavan et al. 2013; Massaro 1998).

Um Einsicht in das Krankheitsbild der Multiplen Sklerose zu erhalten, werden in der Einleitung der Diplomarbeit Epidemiologie, Ätiologie, Pathologie und Pathogenese, Klinik, Diagnostik und Therapie der Erkrankung behandelt.

Weiters findet sich ein kurzer Überblick über verschiedene Biomarker, die für die MS von Bedeutung sein könnten, sowie über die Rolle von NCAM bei MS.

Der Hauptteil der vorliegenden Arbeit beschäftigt sich mit der Frage, inwiefern sich die NCAM-Werte einer Gruppe von CIS- und MS-Patientinnen und -Patienten von Kontrollpersonen mit verschiedenen nichtentzündlichen neurologischen Krankheitsbildern unterscheiden. Der Fokus liegt hierbei auf Veränderungen der NCAM-Werte in frühen Krankheitsphasen.

Um aussagekräftigere Ergebnisse zu erzielen, wurde bei der Analyse der Daten zwischen aktiver und nicht-aktiver CIS/MS unterschieden, sowie die Kontrollgruppe anhand standardisierter Richtlinien (Teunissen et al. 2013) definiert.

Darüber hinaus wurde ein möglicher Zusammenhang von NCAM im Liquor mit anderen Parametern der Erkrankung geprüft. So untersuchten wir eine mögliche Korrelation der NCAM-Werte mit klinischen Parametern sowie mit Routineliquor- und Laborparametern.

Es ist bis dato unbekannt, ob Veränderungen der NCAM-Werte im Liquor mit messbaren Veränderungen in der Magnetresonanztomographie einhergehen. Auch dieser Fragestellung widmet sich die vorliegende Arbeit.

Eisen stellt ein wichtiges Element für den physiologischen neuronalen Metabolismus dar. Findet sich jedoch zu viel Eisen im Gehirn, kann es über Eisen-induzierten oxidativen Stress zu toxischen Effekten kommen, welche wiederum zu Neurodegeneration führen (Zecca et al. 2004). Dennoch wird Eisen in letzter Zeit vermehrt auch eine Beteiligung an Remyelinisierungs- und Reparaturvorgängen zugesprochen (Stephenson et al. 2014).

In Vorarbeiten der hiesigen Arbeitsgruppe wurden Eisenmetabolismusmarker in Blut und Liquor untersucht, wobei bei Patientinnen und Patienten mit CIS/MS signifikant reduzierte Transferrinwerte im Liquor nachgewiesen werden konnten (Khalil et al. 2014).

Um einen potentiellen Konnex von Markern für Eisendysregulation mit Regenerationsmarkern zu untersuchen, wurde eine mögliche Korrelation der NCAM-Werte im Liquor mit Transferrin im Liquor überprüft.

1.1 Epidemiologie

1.1.1 Alter und Geschlecht

Multiple Sklerose ist die häufigste chronisch entzündliche neurologische Erkrankung im jungen Erwachsenenalter. Bei einem Großteil der Betroffenen manifestiert sich die MS zwischen dem 20. und 40. Lebensjahr (Sadovnick et al. 1997), nur selten tritt die Erkrankung bereits vor dem 10. Lebensjahr (Pohl et al. 2007) oder jenseits des 60. Lebensjahres (Hooge & Redekop 1992) auf.

Frauen sind häufiger betroffen als Männer. Der Frauenanteil hat sich im Laufe der letzten Dekaden kontinuierlich erhöht: Lag das Verhältnis von Frauen zu Männern im Jahr 1955 bei etwa 1,4, so ist es bis zum Jahr 2000 auf etwa 2,3 gestiegen (Alonso & Hernan 2008).

Die Ursachen für diesen Unterschied in der Geschlechterverteilung sind unklar, könnten aber zumindest in mancher Hinsicht darin begründet sein, dass die Zahl rauchender Frauen zugenommen hat und Rauchen als Risikofaktor für die MS gilt (Ascherio & Munger 2007a).

1.1.2 Geografische Verteilung

Die Verteilung der MS variiert weltweit erheblich und basiert auf den Daten vieler epidemiologischer Untersuchungen:

Hohe Prävalenzraten und somit ein hohes Erkrankungsrisiko finden sich in Ländern mit mehr als 30 Fällen pro 100.000 Einwohnerinnen und Einwohnern, in Ländern mit mittlerer Prävalenz treten 5 bis 29 Fälle pro 100.000 Einwohnerinnen und Einwohnern auf und in solchen mit niedriger Prävalenz weniger als 5 MS-Fälle pro 100.000 Einwohnerinnen und Einwohnern (Kurtzke 1966).

Zu den Regionen mit hohen Prävalenzraten zählen der Großteil Europas, Israel, Kanada, nördliche Teile der USA, Südostaustralien, Neuseeland sowie das östliche Russland. Länder mit mittleren Prävalenzraten umfassen die südlichen Teile der USA, den Großteil Australiens, Südafrika, den südlichen Mittelmeerraum, Teile Russlands mit Sibirien, die Ukraine und Teile Südamerikas sowie der

Karibik. Restliche Gebiete Asiens, Afrikas und des nördlichen Südamerikas zählen zu den Regionen mit niedrigem Erkrankungsrisiko (Kurtzke 2000).

In Europa finden sich die höchsten Prävalenzraten in Skandinavien (74 bis 165 pro 100.000), Großbritannien und Irland (103 bis 216 pro 100.000) sowie auf Sardinien (140 pro 100.000) (Pugliatti et al. 2006).

Die Prävalenzrate in Österreich ist vergleichbar mit jener anderer zentraleuropäischer Staaten und wird mit 98,5 pro 100.000 Einwohnerinnen und Einwohnern beziffert (Baumhackl et al. 2002).

Einige Studien berichten über das Auftreten der MS in Form von *Clustern* (Donnan et al. 2005; Hader et al. 1990; Riise et al. 1991). Innerhalb dieser Cluster ist die MS in einem bestimmten Zeitraum besonders häufig aufgetreten.

Weiters wurde epidemisches Auftreten von MS auf den Färöer-Inseln (Kurtzke & Hyllested 1979) und in Island (Kurtzke et al. 1982) beschrieben.

Mehrere Migrationsstudien aus Israel (Alter et al. 1966), Südafrika (Dean & Kurtzke 1971) oder England (Dean & Elian 1997) belegen eine Abhängigkeit des Erkrankungsrisikos vom Lebensalter der Migrantinnen und Migranten zum Zeitpunkt der Migration.

Das Erkrankungsrisiko von Personen, die aus einem Hochrisikogebiet in ein Niedrigrisikogebiet übersiedeln, reduziert sich maßgeblich, vorausgesetzt sie immigrieren vor ihrem 15. Lebensjahr. Diejenigen, die zum Zeitpunkt der Migration älter als 15 Jahre sind, haben, verglichen mit der Bevölkerung des Ziellandes, weiterhin ein erhöhtes Erkrankungsrisiko (Dean & Kurtzke 1971).

Bei Migration aus einem Niedrigrisiko- in ein Hochrisikogebiet präsentiert sich gleiches Bild: Migrantinnen und Migranten aus Indien und Pakistan beispielsweise, welche vor ihrem 15. Lebensjahr nach England immigrieren, haben ein höheres Erkrankungsrisiko als solche, die nach dem 15. Lebensjahr einwandern (Dean & Elian 1997).

1.2 Ätiologie

Die Ursache der MS ist weitgehend unbekannt, es wird jedoch Umweltfaktoren sowie genetischen Faktoren entscheidende Relevanz beigemessen (Wingerchuk et al. 2001), auf deren Basis autoimmunologische Prozesse getriggert werden.

1.2.1 Umweltfaktoren

Umweltfaktoren, denen für die Ätiologie der MS eine wichtige Rolle zugeschrieben werden, sind unter anderem Vitamin D–Mangel (Ascherio et al. 2010; Hayes et al. 1997) und Rauchen (Riise et al. 2003; Salzer et al. 2013).

Bedeutung erlangte weiters die sogenannte Infektionshypothese: zahlreiche Viren wie z.B. Humanes Herpesvirus 6 (Challoner et al. 1995; Soldan et al. 1997) und Epstein-Barr-Virus (Nielsen et al. 2007; Thacker et al. 2006), aber auch bakterielle Erreger wie z.B. *Chlamydia pneumoniae* (Sriram et al. 1998; Sriram et al. 1999) sind mit der Entstehung der MS assoziiert worden.

Ascherio und Munger behandelten in einem Review die Rolle verschiedener Infektionen in der Ätiologie der MS und kamen zu dem Schluss, dass nur eine Infektion mit dem Epstein-Barr-Virus (EBV) als hoher Risikofaktor gewertet werden kann, wenngleich der Einfluss anderer Erreger nicht auszuschließen ist. Da mehr als 95% aller Erwachsenen seropositiv für EBV sind, ist der Zusammenhang zwischen der MS und der so ubiquitär vorkommenden Infektion jedoch sehr schwierig darzulegen (Ascherio & Munger 2007b).

Eine EBV-Infektion kommt demnach kaum als alleinige Ursache für die MS infrage, das Lebensalter bei Primärinfektion sowie die Immunantwort der Infizierten könnten dabei jedoch eine Rolle spielen (Nielsen et al. 2007; Thacker et al. 2006): Anhand einer Metaanalyse wurde gezeigt, dass das Risiko eine MS zu entwickeln bei Nichtinfizierten nahezu Null beträgt, ein intermediäres Risiko für Personen besteht, welche sich in früher Kindheit mit EBV infizieren und das höchste Risiko für diejenigen gilt, die sich erst während der Jugend oder im Erwachsenenalter mit dem Virus infizieren (Thacker et al. 2006).

1.2.2 Genetische Faktoren

Ebers et al. konnten keinen Umweltfaktor identifizieren, der familiäre Häufung der MS erklären könnte und kamen zu dem Schluss, dass diese genetisch bedingt ist (Ebers et al. 1995).

Im Rahmen einer großen kanadischen Zwillingsstudie konnte gezeigt werden, dass die Konkordanzrate monozygoter Zwillinge (30,8%) um ein Vielfaches höher ist als diejenige dizygoter Zwillinge (4,7%) (Sadovnick et al. 1993).

Der genaue Vererbungsmodus der MS ist nicht bekannt, er folgt aber nicht den Mendel'schen Regeln und ist nicht mitochondrieller Natur. Erstgradig Verwandte einer MS-Patientin oder eines MS-Patienten haben ein Risiko von 1 bis 4%, ebenfalls an MS zu erkranken; dies bedeutet eine 10- bis 40-fach erhöhte Erkrankungswahrscheinlichkeit als in der Allgemeinbevölkerung üblich (Wingerchuk et al. 2001).

Der Haplotyp HLA-DRB1*1501-DQB1*602 (HLA-DR15) im Haupthistokompatibilitätskomplex (MHC) auf Chromosom 6 gilt als vorherrschender genetischer Risikofaktor, insbesondere in der nordeuropäischen Bevölkerung (Australia and New Zealand Multiple Sclerosis Genetics Consortium 2009).

Im Rahmen mehrerer genome-wide association studies (GWAS) konnten im Laufe der letzten Jahre weitere mit MS assoziierte Gene identifiziert werden, darunter IL7R und IL2RA (International Multiple Sclerosis Genetics Consortium 2007), CLEC16A (KIAA0350), CD58 (LFA3) (Rubio et al. 2008), EVI5 (Hoppenbrouwers et al. 2008), CD226 (International Multiple Sclerosis Genetics Consortium 2009), KIF1B (Aulchenko et al. 2008), TYK2 (Ban et al. 2009), CD6, TNFRSF1A und IRF8 (De Jager et al. 2009).

Es existieren jedoch noch viele weitere Suszeptibilitätsgene. In einer weit angelegten GWAS aus 2011 (International Multiple Sclerosis Genetics Consortium 2011) konnten nahezu alle bisher vermuteten Assoziationen erneut bestätigt und mindestens 29 neue Suszeptibilitätsgene gefunden werden.

1.3 Pathologie und Pathogenese

Plaques, die eine Schädigung der weißen Substanz darstellen, gelten als pathologisch bezeichnend für die MS. Als Plaque gilt ein umschriebenes Areal, welches durch einen Verlust von Myelinscheiden (Demyelinisierung) gekennzeichnet ist. Das Axongerüst bleibt dabei größtenteils bestehen. Plaques können in der gesamten weißen Substanz vorhanden sein, finden sich jedoch am häufigsten periventrikulär, im Bereich der Sehnerven, im Hirnstamm, im Kleinhirn und im Rückenmark. In Abhängigkeit ihres Stadiums beinhalten sie variable Anteile an Immunzellen und immunreaktiven Substanzen (Wingerchuk et al. 2001).

MS-Plaques können als aktiv oder inaktiv klassifiziert werden: Aktive Plaques umfassen einerseits frühe aktive Läsionen (early active lesions), die durch ausgeprägte T-Zell- und Makrophageninfiltration gekennzeichnet sind; hierbei beinhalten die Makrophagen verschiedene Abbauprodukte, die Myelinscheiden zeigen einen Zerfallsprozess. Andererseits gibt es späte aktive Läsionen (late active lesions), in denen das Myelin bereits vollständig zerstört und von den Axonen abgelöst ist. In inaktiven Plaques mit aktiver Randzone (inactive lesions with active border) zeigt eine Läsion noch Zeichen einer Entzündungsreaktion und Makrophageninfiltration, wohingegen inaktive Plaques (inactive lesions) keine Zeichen einer Myelindestruktion an ihrer Randzone zeigen. Einige solcher Läsionen beinhalten zwar T-Zellen und Makrophagen, jedoch in viel geringerer Zahl als aktive Plaques (Kornek et al. 2000).

Jüngere neuropathologische Studien konnten jedoch zeigen, dass das Spektrum der Gewebeschädigung breiter als bisher angenommen ist. Neben oben genannter Plaques der weißen Substanz finden sich auch Veränderungen im Kortex und in der tiefen grauen Substanz sowie eine diffuse Schädigung der NAWM (Lassmann et al. 2007).

1.3.1 Heterogenität in MS-Plaques

Anhand einer Analyse aktiv demyelinisierender MS-Läsionen konnten bei Erkrankten verschiedene Muster der Demyelinisierung festgestellt werden. Obwohl alle Läsionen durch ein entzündliches Infiltrat mit T-Lymphozyten und Makrophagen gekennzeichnet waren, ließen sich anhand folgender Merkmale vier Typen voneinander unterscheiden: Verteilung des Verlustes an Myelinproteinen, Geographie und Ausdehnung der Plaques, Art der Oligodendrozytenschädigung sowie Nachweis der Ablagerung von Immunglobulinen und aktiviertem Komplement. Die Muster der Gewebeschädigung innerhalb der Läsionen einer Person zeigten sich homogen, während sie sich bei verschiedenen Personen jedoch voneinander unterschieden (Lucchinetti et al. 2000).

Diese Ergebnisse wurden jedoch nicht durchwegs bestätigt. Breij et al. beschrieben ein homogenes immunpathologisches Erscheinungsbild aller in ihrer Studie untersuchten aktiv demyelinisierenden Läsionen (Breij et al. 2008).

In einer anderen Studie wurden beispielsweise Typ 3-Plaques als ein sehr frühes Stadium der meisten oder sogar aller Läsionen, die für die akute Exazerbation der Erkrankung verantwortlich sind, beschrieben (Barnett & Prineas 2004).

1.3.2 Axonale Schädigung und Degeneration

Die Degeneration von Axonen und Neuronen gilt als wesentlicher Bestandteil der Pathologie der MS und vermeint das hauptsächlichste Korrelat der neurologischen Defizite der Betroffenen darzustellen (Lassmann 2010).

Viele Studien konnten einen Zusammenhang von axonalen Schäden in frühen Stadien der Erkrankung mit akuten entzündlichen Vorgängen demonstrieren:

In einer Studie wurde eine Vielzahl geschädigter Axone innerhalb aktiver MS-Plaques sowie am Rand aktiver chronischer Läsionen nachgewiesen. Diese räumliche Nähe zu entzündlichen, demyelinisierenden Arealen ließ die Autorinnen und Autoren darauf schließen, dass axonale Schädigung bei MS mit inflammatorischem Geschehen assoziiert ist (Ferguson et al. 1997).

Eine weitere Studie zeigte ebenso konsistent vorhandene Axonschäden in MS-Läsionen: Hierbei nahm man Transsektionen der Axone, gekennzeichnet durch Auftreibungen an deren Enden, als pathologisches Korrelat der irreversiblen neurologischen Defizite der Erkrankung an (Trapp et al. 1998).

Auch andere Arbeiten bestätigten das Auftreten weitreichender Axonschädigung vor allem während der Entstehung einer Plaque, im Rahmen aktiver Demyelinisierungsvorgänge kommt es dann ebenso zu Axonschädigung in periläsionalen Arealen sowie in der NAWM. Auch in inaktiven Plaques finden sich geschädigte Axone, wenn auch in geringerem Ausmaß (Kornek et al. 2000).

Kutzelnigg et al. gelang der Nachweis diffuser Schädigung der NAWM sowie kortikaler Demyelinisierung hauptsächlich bei Patientinnen und Patienten mit primär und sekundär progredienter MS (Kutzelnigg et al. 2005); in einer weiteren Studie konnte jedoch gezeigt werden, dass kortikale Demyelinisierungsvorgänge auch häufig im Frühstadium einer MS vorkommen, sich im Verlauf aber grundlegend unterscheiden. Ebenso konnte eine klare Assoziation kortikaler Demyelinisierung zu einer Entzündung der Meningen festgestellt werden (Lucchinetti et al. 2011).

Die genannten Veränderungen, die sich als diffuser Axonschaden mit Aktivierung von Mikroglia widerspiegeln, treten vor dem Hintergrund einer globalen Entzündungsreaktion im Gehirn und in den Meningen auf. Die MS beginnt demnach als eine fokal begrenzte, entzündliche Erkrankung des ZNS, die zur Entstehung demyelinisierter Plaques in der weißen Hirnsubstanz führt; wird die Erkrankung jedoch chronisch, kommt es im gesamten Gehirn zu einer Entzündungsreaktion, die dann mit langsam voranschreitenden Axonschäden in der NAWM und kortikaler Demyelinisierung einhergeht (Kutzelnigg et al. 2005).

In einem Review wurde darüber berichtet, dass sich der entzündliche Prozess bei progredienter MS möglicherweise hinter einer geschlossenen oder wiederhergestellten Blut-Hirn-Schranke abspielen könnte. Fortschreitende Chronifizierung der Erkrankung würde dabei eine Kompartimentisierung der inflammatorischen Reaktion innerhalb des ZNS bedingen (Lassmann et al. 2007). Eine Ursache hierfür könnten die bei chronisch progredienter MS häufig vorkommenden ektopen Lymphoidfollikel (Ansammlungen von T-Zellen, B-Zellen, APCs, Antigenen) in den Meningen darstellen. Solche Ansammlungen von

Immunzellen sind auch bei anderen Erkrankungen häufig mit chronischen Entzündungen assoziiert und dienen als Ort für T-Zell-Reaktivierung, Sequestrierung und Präsentation von Autoantigenen sowie für Antikörperproduktion (Russi & Brown 2015).

1.3.3 Immunzellen im ZNS

Immunologische Prozesse wirken zumindest im anfänglichen Verlauf der Erkrankung bei der Entstehung von Gewebeschäden und den darauf folgenden neurologischen Defiziten maßgebend mit (Krumbholz & Meinl 2012).

Es gilt als gesichert, dass autoimmunen T-Zellen eine entscheidende Rolle für die ersten Schritte der Entstehung einer neuen MS-Läsion zukommt (McFarland & Martin 2007). Vor oder spätestens bei klinischer Erstmanifestation kommt es zur Einwanderung von Immunzellen aus der Blutbahn in das ZNS (Krumbholz & Meinl 2012). Treten T-Zellen in das ZNS ein, triggern sie eine Kaskade an Entzündungsreaktionen, die in der Beteiligung weiterer Immunzellen resultiert (Krumbholz et al. 2006). Die wesentlichen Bestandteile eines solchen Immunzellinfiltrates bilden Makrophagen und Mikroglia, T-Zellen und B-Lymphozyten, sowie Zytokine und Chemokine, Antikörper, Komplement und andere toxische Substanzen. Die massive Infiltration des Gehirns oder Rückenmarks mit ebengenannten Komponenten des Immunsystems und die darauf folgende Gewebeschädigung konnten sowohl bei der MS als auch bei ihrem Tiermodell, der Experimentellen Autoimmunen Enzephalomyelitis (EAE), für klinisches Schubgeschehen verantwortlich gemacht werden (Brück 2005).

Dysregulation der Blut-Hirn-Schranke und die transendotheliale Migration aktivierter Leukozyten sind mitunter die ersten Abnormitäten, die bei der MS beobachtet werden. Parallel dazu kommt es zur Ausschüttung inflammatorischer Zytokine/Chemokine (Minagar & Alexander 2003). In einer Studie konnte gezeigt werden, dass eine Störung der Blut-Hirn-Schranke typischen MRT-Veränderungen bzw. der klinischen Manifestation einer neuen Läsion vorausgeht (Kermode et al. 1990).

Immunreaktionen gegen Autoantigene, im Speziellen gegen Myelinproteine, wird große Bedeutung in der Immunpathogenese der MS beigemessen:

Interaktionen zwischen aktiven CD4⁺ T-Zellen und Myelinantigenen führen zu einer massiven Entzündungsreaktion und unterstützen die darauf folgende Proliferation von T- und B-Zellen sowie die Aktivierung von Makrophagen. Dies wiederum hält die Sekretion inflammatorischer Mediatoren, wie Zytokine/Chemokine, aufrecht (Minagar & Alexander 2003).

Erkenntnisse der letzten Jahre weisen jedoch immer mehr darauf hin, dass auch CD8⁺ T-Zellen, B-Zellen und Antikörpern eine wichtige Rolle in der Immunpathogenese der MS zukommt (Disanto et al. 2012; Friese & Fugger 2009; Krumbholz et al. 2012; Storch et al. 1998).

1.3.4 Mitochondrien und Energiedefizite

Ergebnisse einiger Studien deuten darauf hin, dass mitochondriale Defekte und daraus resultierende Energiedefizite zur Entstehung axonaler Degeneration beitragen (Dutta et al. 2006; Haider et al. 2011; Mahad et al. 2008; Trapp & Stys 2009). Mitochondriale Defekte könnten über ATP-Mangel, gestörte Calciumregulation, erhöhte Produktion reaktiver Sauerstoffspezies sowie über eine Modulation von Natriumkanälen, der Na⁺/K⁺-ATPase und der Na⁺/Ca²⁺-Austauscher zu axonaler Dysfunktion und Degeneration führen (Mahad et al. 2008).

Eine wesentliche Ursache stellt die Imbalance zwischen Energiebedarf der Axone und reduzierter Energiebereitstellung dar. Dieser Zustand wird als *virtual hypoxia* bezeichnet. Über längere Zeit führt ein solcher Zustand, in Kombination mit einer Reduktion der axonalen Na⁺/K⁺-ATPase, zu chronischer Nekrose und irreversibler Degeneration von Axonen. Die Myelinisierung von Axonen gewährleistet somit nicht nur eine rasche Nervenleitgeschwindigkeit, sondern ermöglicht auch die Einsparung von Energie. Auch wenn der Verlust von Myelin alleine nicht unbedingt ausreicht, um axonale Destruktion hervorzurufen, macht er Axone anfälliger für degenerative Prozesse, indem sich der Energiebedarf im Rahmen der Reizweiterleitung wesentlich erhöht (Trapp & Stys 2009).

1.3.5 Eisenmetabolismus bei MS

Verschiedene Studien weisen auf eine mögliche Dysregulation des Eisenstoffwechsels bei MS hin (Stephenson et al. 2014). Eisen stellt ein wichtiges Element für den physiologischen neuronalen Metabolismus dar (Zecca et al. 2004). Im Rahmen des physiologischen Alterungsprozesses kommt es zur Ablagerung von nicht an Hämoglobin gebundenes (Non-Häm) Eisen im Gehirn, größtenteils in die Basalganglien (Hallgren & Sourander 1958). Findet sich jedoch zu viel Eisen im Gehirn, kann es über Eisen-induzierten oxidativen Stress zu toxischen Effekten kommen, welche wiederum zu Neurodegeneration führen (Zecca et al. 2004).

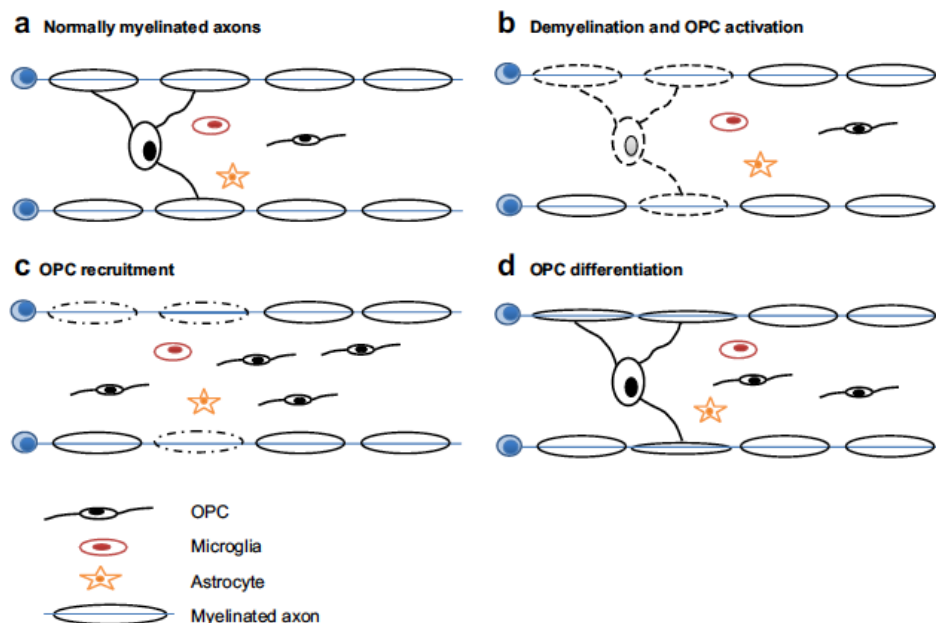
Erhöhte Eisenablagerung konnte bei MS wiederholt festgestellt werden (Khalil et al. 2011). Hierbei kommt es einerseits zu einer Anhäufung von Eisen in der grauen Substanz und andererseits zu einer Verminderung desselben in der NAMW. Eine solche Akkumulation von Eisen bringt über verschiedene Mechanismen (oxidativer Stress, erhöhte proinflammatorische Zytokinlevel, Glutamattoxizität, gestörte DNA-Reparatur) zytotoxische Konsequenzen mit sich (Stephenson et al. 2014).

Anhand einer aktuellen Studie konnte gezeigt werden, dass die Eisenhomöostase im Gehirn schon in einem sehr frühen Stadium der Erkrankung verändert ist. Sowohl bei CIS- als auch bei MS-Patientinnen und -Patienten wurden gegenüber Kontrollpersonen signifikant erniedrigte Transferrinwerte im Liquor nachgewiesen. Die genauen Ursachen hierfür sind nicht bekannt, es lässt sich jedoch vermuten, dass die erniedrigten Werte des Eisentransportproteins Transferrin in gewisser Weise in Relation zur erhöhten Eisenablagerung in die Basalganglien der Erkrankten stehen (Khalil et al. 2014).

Eisen dient als Kofaktor für eine Vielzahl an Enzymen, die an der Aufrechterhaltung der Funktion von Oligodendrozyten und Myelin beteiligt sind. Inwiefern eine Veränderung des Eisenmetabolismus auch für Reparaturvorgänge bei MS von Bedeutung sein könnte, ist weitgehend unbekannt: Da es bei MS zu einer umfassenden Schädigung von Oligodendrozyten und Myelin kommt, könnte Eisen in diesem Zusammenhang eine tragende Rolle zukommen (Stephenson et al. 2014).

1.3.6 Remyelinisierung

Unter allen Organsystemen gilt das ZNS als eines der am wenigsten erfolgreichen hinsichtlich Reparaturvorgänge. Vollständig differenzierte Neurone sind nicht in der Lage sich zu reproduzieren. Somit ist Neurogenese im erwachsenen ZNS nur beschränkt möglich und der Verlust von Neuronen kann nicht ausreichend ersetzt werden. Im Kontrast hierzu steht allerdings der Verlust von Oligodendrozyten: Oligodendrozyten sind Gliazellen, die der Formation und Aufrechterhaltung der Myelinscheiden dienen. Als Antwort auf eine Destruktion oder den Tod von Oligodendrozyten proliferieren lokale Oligodendrozyten-Vorläufer-Zellen (oligodendrocyte precursor cells, OPCs), die dann an den Ort der Schädigung wandern, um dort zu reifen Oligodendrozyten differenzieren. Sie ersetzen so den Bereich der zerstörten Myelinscheide. Dieser Prozess nennt sich Remyelinisierung (Abbildung 1) (Crawford et al. 2013).



(a) Normal myelination. Axons are myelinated by oligodendrocytes; one oligodendrocyte can myelinate many internodes (here only one oligodendrocyte cell body is shown for clarity). Microglia, astrocytes and OPCs are also present in normal white matter. (b) Demyelination and OPC activation. Oligodendrocyte death leads to demyelination of the relevant internodes. Local astrocytes and microglia recognize the disturbance and release inflammatory mediators that, in turn, activate OPCs. (c) OPC recruitment. OPCs migrate into the area and proliferate to ensure rapid repopulation of the lesion. (d) OPC differentiation. OPCs differentiate into mature oligodendrocytes and generate a new myelin sheath. The new sheath is typically shorter and thinner, but is sufficient to allow full functional recovery.

Abbildung 1: Remyelinisierung im Zentralen Nervensystem (Crawford et al. 2013)

Reprinted from Journal of Comparative Pathology, Vol number 149, A.H. Crawford, C. Chambers, R.J.M. Franklin, Remyelination: The True Regeneration of the Central Nervous System, 242-254, Copyright 2013, with permission from Elsevier

Eine erfolgreiche Remyelinisierung stellt mitunter eine der wichtigsten Komponenten in der Verhinderung neuronaler Degeneration dar. Es gibt zwei Arten nicht-remyelinisierender Läsionen: einerseits solche mit insuffizienten OPCs, bei denen die Rekrutierung oder das Überleben der OPCs fehlschlägt; andererseits solche, in denen OPCs zwar präsent, aber vermutlich nicht in der Lage sind, Myelin auszubilden (Lubetzki et al. 2005).

Unter normalen Umständen kann eine erfolgreiche Remyelinisierung eine komplette Reparatur und funktionelle Wiederherstellung bewirken. Remyelinisierungsvorgänge können aber auch fehlschlagen, ihr Erfolg lässt mit zunehmendem Alter nach. Der dauerhafte Verlust von Myelinscheiden resultiert dann in funktionellen Defiziten und irreversibler Axonschädigung (Crawford et al. 2013).

In einer Studie wurde in neu aufgetretenen Plaques die Zerstörung von Oligodendrozyten und Myelin beobachtet. Diese Vorgänge endeten in vielen Läsionen jedoch nach wenigen Wochen wieder, worauf dann die Repopulation einer Plaque mit Oligodendrozyten sowie häufig auch Remyelinisierungsvorgänge folgten. Dies ließ erkennen, dass ebengenannte Remyelinisierungsvorgänge grundsätzlich in neuen Läsionen stattfinden, es sei denn, sie werden durch immer wiederkehrende Aktivität unterbunden. Remyelinisierte Areale (shadow plaques) wurden als Resultat einer nur einmalig vorhergegangenen Episode fokaler Demyelinisierung beschrieben (Prineas et al. 1993).

Sogenannte shadow plaques charakterisieren sich jedoch durch blasse und ungewöhnlich dünn erscheinende Myelinscheiden (Kornek et al. 2000).

Ein Areal der Remyelinisierung zeigt sich als begrenzter Bereich mit verminderter Myelindichte, verglichen mit der den Bereich umgebenden NAWM. Diese Areale sind von der NAWM scharf abgegrenzt und zentrieren sich meist um eine kleine oder mittelgroße Vene. Die Dicke der Myelinscheiden ist innerhalb der gesamten Läsion verringert, die Ranvier'schen Schnürringe sind erweitert, die Internodien verkürzt. Kennzeichnend ist das Fehlen von Makrophagen mit Myelinabbauprodukten sowie das Vorhandensein nur weniger perivaskulärer Entzündungsinfiltrate (Patrikios et al. 2006).

Auch die anatomische Lokalisation einer Läsion könnte das Ausmaß der Remyelinisierung mitbestimmen (Goldschmidt et al. 2009; Patrikios et al. 2006). Patrikios et al. fanden in subkortikalen Arealen und in der tiefen weißen Hirnsubstanz ausgeprägtere Remyelinisierungsvorgänge als in der periventrikulären Region (Patrikios et al. 2006).

In einer anderen Studie konnte mittels MRT Remyelinisierung in über 40% aller Läsionen nachgewiesen werden, wovon mehr als die Hälfte vollständig remyelinisiert waren (Barkhof et al. 2003).

Weiters konnte gezeigt werden, dass akute Läsionen nur wenige remyelinisierte Areale enthalten, während bei chronischer Erkrankung Größe und Anzahl an shadow plaques und shadow plaque areas (Areale unvollständiger Remyelinisierung) von Person zu Person variieren. Bei 20% der Fälle fand man umfassende Remyelinisierungen von 60 bis 96% aller Läsionen. Patientinnen und Patienten, die in höherem Alter verstarben, zeigten eine größere Zahl an shadow plaques oder shadow plaque areas, weiters fand man eine Korrelation zwischen dem Ausmaß der Remyelinisierung und der Krankheitsdauer (Patrikios et al. 2006).

1.4 Klinik

MS gilt als die häufigste demyelinisierende Erkrankung des jungen Erwachsenenalters (Sadovnick et al. 1997).

Bei 85% der betroffenen Erwachsenen erfolgt die Erstmanifestation als sogenanntes Klinisch Isoliertes Syndrom (CIS) des Sehnervs, Hirnstammes oder Rückenmarks. Nur 30 bis 70% der Patientinnen und Patienten mit CIS entwickeln im weiteren Laufe eine MS (Miller et al. 2005).

Hohe Wahrscheinlichkeit (60 bis 80%) für die Entwicklung einer MS besteht, wenn mittels MRT Läsionen nachgewiesen werden, die klinisch still verlaufen. Ist die MRT-Untersuchung bis auf das Vorhandensein der symptomatischen Läsion unauffällig, ist diese Wahrscheinlichkeit geringer (20%) (Miller et al. 2012).

Auch CIS, die sich als Optikusneuritis oder Sensibilitätsstörungen präsentieren, gehen mit einem niedrigeren Risiko einer MS-Manifestation einher (Miller et al. 2005).

Als typische Symptome gelten Sensibilitätsstörungen (Taubheit, Kribbeln), Sehstörungen (Doppelbilder, Optikusneuritis), spastische Paresen, Fatigue und Kraftlosigkeit, Ataxie und Intentionstremor sowie Blasen- und Darmstörungen (Sadovnick et al. 1997).

Oft kommt es im Verlauf der Krankheit zu einer Wandlung der Symptomatik. Daten aus dem deutschen MS-Register zeigen, dass bei einer Erkrankungsdauer von bis zu 2 Jahren Fatigue, Sensibilitätsstörungen, Paresen und Sehstörungen überwiegen, wohingegen Spastizität, Blasenstörungen, Ataxien und Schmerzen wesentlich seltener auftreten. Diese Symptome äußern sich vor allem bei Betroffenen ab 15-jähriger Krankheitsdauer (Stuke et al. 2009).

1.4.1 Verlaufsformen

Der klinische Verlauf der MS ist äußerst variabel. Die Erkrankung kann innerhalb weniger Monate zum Tode führen oder so mild verlaufen, dass sie nur zufällig im Rahmen einer Autopsie festgestellt wird (Sadovnick et al. 1997).

Lublin und Reingold definierten anhand einer internationalen Umfrage bei Klinikerinnen und Klinikern folgende vier Verlaufsformen: schubförmig remittierend, primär chronisch progredient, sekundär chronisch progredient und progredient schubförmig (Abbildung 2).

- Der schubförmig remittierende Verlauf (RRMS) zeichnet sich durch klar definierte Krankheitsschübe aus, die entweder vollständig remittieren oder eine Folgeerscheinung hinterlassen; in der Zeit zwischen zwei Krankheitsschüben kommt es zu keiner Verschlechterung der Erkrankung.
- Der primär chronisch progrediente Verlauf (PPMS) ist durch eine Verschlechterung von Krankheitsbeginn an gekennzeichnet, mit oder ohne gelegentlichen Plateaus und zeitweiligen leichten Verbesserungen.
- Der sekundär chronisch progrediente Verlauf (SPMS) charakterisiert sich durch initial schubförmig remittierenden Verlauf, gefolgt von progredienter Verschlechterung mit oder ohne gelegentlich auftretenden Schüben, Plateaus oder Remissionen.
- Der progredient schubförmige Verlauf (PRMS) zeigt kontinuierliche Progression von Beginn an, es gibt deutliche Schübe mit oder ohne vollständige Remission.

(Lublin & Reingold 1996)

Eine Überarbeitung dieser Kriterien aus dem Jahr 2013 umfasst im Wesentlichen folgende Änderungen:

- Klinisch Isoliertes Syndrom (CIS): wird neu als Verlaufsform der MS gewertet.
- Radiologisch Isoliertes Syndrom (RIS): Beim RIS können trotz fehlender klinischer Zeichen oder Symptome entzündliche, demyelinisierte Läsionen mittels Bildgebung nachgewiesen werden. Es empfiehlt sich prospektive Beobachtung einer Patientin oder eines Patienten mit entsprechenden radiologischen Veränderungen, das RIS wird jedoch nicht als eigenständiger MS-Phänotyp erwogen.
- Progredient schubförmiger Verlauf (PRMS): wird nicht als eigenständige Form beibehalten, da ein solcher Verlauf nun als primär progredienter Verlauf mit vorhandener Krankheitsaktivität (Schübe, Remissionen) gilt.
- RRMS, PPMS, SPMS: Diese Verlaufsformen werden trotz einiger Modifikationen (Bewertung der Krankheitsaktivität, Beurteilung der Behinderungsprogression) im Wesentlichen so beibehalten wie in den Kriterien aus 1996 beschrieben.

(Lublin et al. 2014)

Der zu Beginn am häufigsten beobachtete Verlaufstyp ist der schubförmig remittierende, der mit fortschreitender Krankheitsdauer in die sekundär chronisch progrediente Verlaufsform übergehen kann. Dazu kommt es bei 30 bis 40% der Betroffenen nach 10 bis 15 Jahren Krankheitsdauer (Weinshenker et al. 1989).

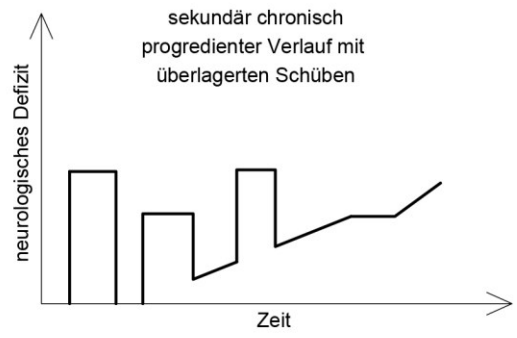
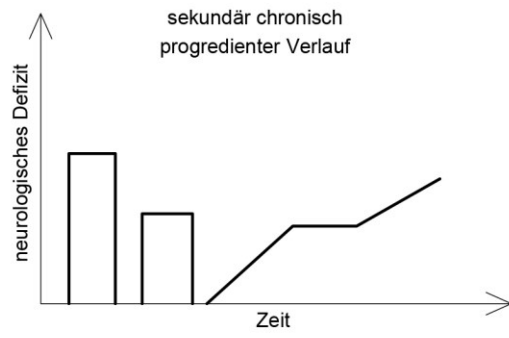
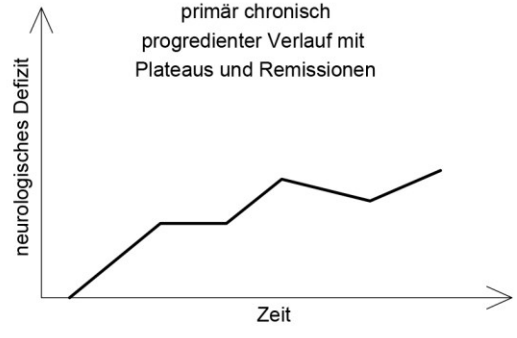
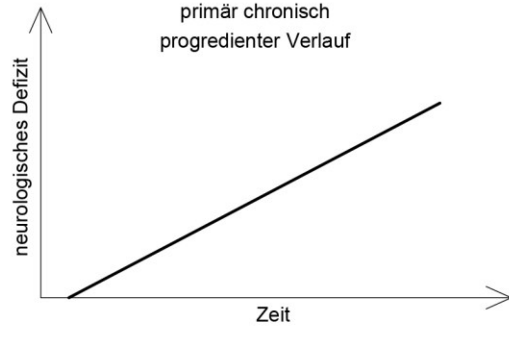
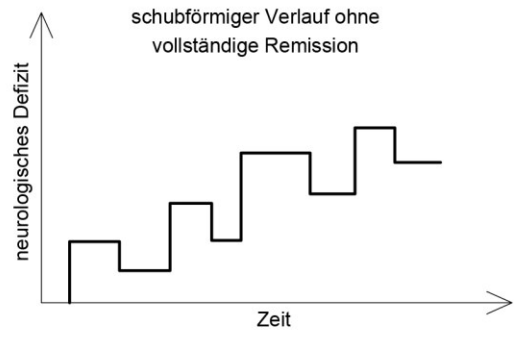
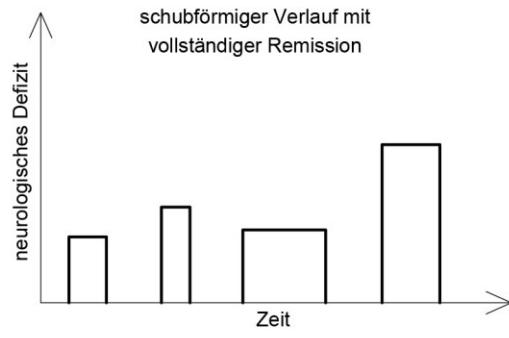


Abbildung 2: Verlaufsformen der MS; nach Lublin & Reingold 1996 und Lublin et al. 2014

1.4.2 Definition, Häufigkeit und Rückbildung eines Schubes

Als Schub gelten subjektiv wahrgenommene oder objektiv beobachtete Zeichen und Symptome eines akuten inflammatorisch-demyelinisierenden Ereignisses des ZNS. Diese Symptome können aktuell oder in der Vergangenheit aufgetreten sein und müssen eine Dauer von mindestens 24 Stunden, bei Abwesenheit von Fieber oder Infektion, aufweisen (Polman et al. 2011).

Pro erkrankter Person beträgt die Schubrate, in Abhängigkeit verschiedener Faktoren wie z.B. Zeit seit Beginn der Erkrankung, zwischen 0,14 und 1,1 pro Jahr, durchschnittlich liegt sie bei 0,5 pro Patientin oder Patient und Jahr. Dies bedeutet, dass Betroffene durchschnittlich jedes 2. Jahr ein schubförmiges Krankheitsgeschehen erleben. Nach 1 bis 2 Monaten entwickelt sich der Großteil der Schübe wieder zurück. Eine Symptomatik, die länger als ein halbes Jahr anhält, bleibt meist bestehen; bei 10% der Fälle kann es jedoch auch nach 6 Monaten noch zu einer Verbesserung kommen (Flachenecker & Zettl 2012).

Laut einer Studie hängt die Häufigkeit des Auftretens von Schüben vom Alter der Erkrankten ab und kommt bei jungen Patientinnen und Patienten öfter vor (Tremlett et al. 2009).

1.4.3 Bewertung neurologischer Symptomatik

Kurtzke definierte 1983 die *Expanded Disability Status Scale* (EDSS) (Tabelle 1), welche bis heute den Standard in der Bewertung der neurologischen Symptomatik darstellt. Die Skala beginnt bei 0,0 und erhöht sich ab 1,0 um je 0,5 Punkte bis zum Höchstwert von 10,0. Sie umfasst 8 Funktionssysteme (FS) (Pyramidenbahn, Kleinhirn, Hirnstamm, Sensibilität, Blase und Mastdarm, Visus, zerebrale Funktion und andere), die von 0 für normal bis 5 oder 6 für maximale Beeinträchtigung bewertet werden. Bis 3,5 beschreibt die Skala uneingeschränkt Gehfähige und wird anhand der Einschränkungen in den Funktionssystemen determiniert. Ab 4,0 bezieht sie sich auf das Gehvermögen der Erkrankten und wird durch die Einschränkung der Gehfähigkeit definiert (Kurtzke 1983).

0,0	normale neurologische Untersuchung (Grad 0 in allen FS)
1,0	keine Behinderung, minimale Abweichung in einem FS (Grad 1)
1,5	keine Behinderung, minimale Abweichung in mehr als einem FS (Grad 1)
2,0	minimale Behinderung in einem FS (Grad 2, andere 0 oder 1)
2,5	minimale Behinderung in zwei FS (Grad 2, andere 0 oder 1)
3,0	mäßige Behinderung in einem FS (Grad 3, andere 0 oder 1) oder leichte Behinderung in drei oder vier FS (Grad 2, andere 0 oder 1); voll gehfähig
3,5	voll gehfähig, jedoch mäßige Behinderung in einem FS (Grad 3) und leichte Behinderung in einem oder zwei FS (Grad 2) <i>oder</i> mäßige Behinderung in zwei FS (Grad 3) <i>oder</i> leichte Behinderung in fünf FS (Grad 2) (andere 0 oder 1)
4,0	gehfähig ohne Hilfe oder Rast für 500 m, trotz relativ schwerer Behinderung ca. 12 Stunden pro Tag auf
4,5	gehfähig ohne Hilfe für 300 m, den meisten Tag auf, voll arbeitsfähig, eventuell gewisse Einschränkung der Aktivität, minimale Unterstützung nötig, relativ schwere Behinderung
5,0	gehfähig ohne Hilfe oder Rast für 200 m, Behinderung beeinträchtigt tägliche Aktivität wie z.B. ganztägige Arbeit ohne spezielle Vorkehrungen
5,5	gehfähig ohne Hilfe oder Rast für 100 m, Behinderung macht normale tägliche Aktivität unmöglich

6,0	intermittierende oder auf einer Seite konstante Gehhilfe (Krücke, Stock, Schiene) nötig, um 100 m mit oder ohne Rast gehen zu können
6,5	konstant beidseitige Gehhilfe nötig, um 20 m ohne Rast gehen zu können
7,0	unfähig, mehr als 5 m trotz Hilfe gehen zu können; weitgehend auf Rollstuhl angewiesen; fährt den Rollstuhl selbstständig und kann alleine ein- und aussteigen; sitzt ca. 12 Stunden pro Tag im Rollstuhl
7,5	unfähig, mehr als ein paar Schritte zu gehen und auf den Rollstuhl angewiesen; Hilfe beim Ein- und Aussteigen nötig; fährt den Rollstuhl selbst, kann aber nicht den ganzen Tag in ihm verbringen und benötigt eventuell Elektrorollstuhl
8,0	weitgehend an Bett, Stuhl oder Rollstuhl gebunden, kann aber große Teile des Tages außerhalb des Bettes verbringen; pflegt sich selbstständig, kann die Arme gut benutzen
8,5	den Großteil des Tages ans Bett gebunden, Selbstpflege teilweise möglich, einige Funktionen der Arme erhalten
9,0	vollständig ans Bett gebunden, kann essen und kommunizieren
9,5	komplett hilflos und bettlägerig, unfähig zu kommunizieren, zu essen und zu schlucken
10,0	Tod infolge MS

Tabelle 1: Expanded Disability Status Scale (EDSS); nach Kurtzke 1983

Neben der EDSS gibt es weitere Scores, die zur Bewertung der neurologischen Symptomatik herangezogen werden können. Erwähnenswert ist hier der *Multiple Sclerosis Severity Score* (MSSS), der eine Skala von 1 bis 10 darstellt, in der Behinderungsgrad und Krankheitsdauer einer Patientin oder eines Patienten in Relation zur EDSS gesetzt werden. Mithilfe des MSSS lässt sich nach nur einmaliger Beurteilung einer Patientin oder eines Patienten eine Aussage zur Krankheitsprogression treffen (Roxburgh et al. 2005).

1.5 Diagnostik und Differenzialdiagnosen

1.5.1 Diagnosekriterien

Die Schumacher-Kriterien aus 1965 legten die Diagnose der MS anhand klinischer Merkmale fest (Schumacher et al. 1965), die Poser-Kriterien aus 1983 umfassten neben klinischer Gesichtspunkte auch Werte aus der Liquoranalyse (Poser et al. 1983). Aufgrund zunehmenden Einflusses der Magnetresonanztomographie wurden 2001 (McDonald et al. 2001) und in überarbeiteten Fassungen 2005 (Polman et al. 2005) und 2010 (Polman et al. 2011) neue Diagnosekriterien, die auch die Ergebnisse der MRT-Untersuchungen umfassten, veröffentlicht (Tabelle 2): Anhand dieser McDonald-Kriterien kann die Diagnose schon nach dem ersten Krankheitsschub gestellt werden, sofern die Kriterien der räumlichen Dissemination (DIS) (Swanton et al. 2006; Swanton et al. 2007) und der zeitlichen Dissemination (DIT) (Montalban et al. 2010) erfüllt sind.

Klinische Befunde	Weitere für die Diagnose MS benötigte Befunde
<p>≥2 Schübe; objektiver klinischer Nachweis von ≥2 Läsionen <i>oder</i> objektiver klinischer Nachweis einer Läsion und gesicherter Nachweis eines vorhergegangenen Schubes</p>	keine
<p>≥2 Schübe; objektiver klinischer Nachweis einer Läsion</p>	<p>DIS, belegt durch: ≥1 T2-Läsion in mindestens 2 von 4 MS-typischen Regionen des ZNS (periventrikulär, juxtakortikal, infratentorial, Rückenmark) <i>oder</i> Abwarten eines klinischen Schubes, der durch eine Läsion an einer anderen Stelle verursacht ist</p>
<p>1 Schub; objektiver klinischer Nachweis von ≥2 Läsionen</p>	<p>DIT, belegt durch: zeitgleiches Vorhandensein asymptomatischer Gadolinium-aufnehmender und nicht-aufnehmender Läsionen <i>oder</i> neue T2- und/oder Gadolinium-aufnehmende Läsion(en) im Kontroll-MRT, ungeachtet der Zeit seit dem baseline-scan <i>oder</i> Abwarten eines 2. klinischen Schubes</p>

<p>1 Schub; objektiver klinischer Nachweis einer Läsion (CIS)</p>	<p>räumliche und zeitliche Dissemination, belegt durch: DIS: ≥ 1 T2-Läsion in mindestens 2 von 4 MS-typischen Regionen des ZNS (periventrikulär, juxtakortikal, infratentorial, Rückenmark) <i>oder</i> Abwarten eines klinischen Schubes, der durch eine Läsion an einer anderen Stelle verursacht ist DIT: zeitgleiches Vorhandensein asymptomatischer Gadolinium-aufnehmender und nicht-aufnehmender Läsionen <i>oder</i> neue T2- und/oder Gadolinium-aufnehmende Läsion(en) im Kontroll-MRT, ungeachtet der Zeit seit dem baseline-scan <i>oder</i> Abwarten eines 2. klinischen Schubes</p>
<p>Schleichende neurologische Progression mit Verdacht auf MS (PPMS)</p>	<p>1 Jahr Krankheitsprogression (retro- oder prospektiv) und 2 der 3 folgenden Kriterien: 1. Nachweis einer DIS anhand ≥ 1 T2-Läsion in MS-charakteristischen Gehirnregionen (periventrikulär, juxtakortikal, infratentorial) 2. Nachweis einer DIS anhand ≥ 2 T2-Läsionen im Rückenmark 3. Nachweis MS-typischer Liquorveränderung (oligoklonale Banden und/oder erhöhter IgG-Index)</p>

Tabelle 2: Revidierte McDonald-Diagnosekriterien 2010; nach Polman et al. 2011

Sind die Kriterien erfüllt und gibt es keine bessere Erklärung für die klinische Symptomatik, wird die Diagnose MS gestellt. Wenn die klinische Symptomatik zwar verdächtig ist, die Kriterien aber nicht vollends erfüllt werden, lautet die Diagnose *mögliche MS*. Gibt es eine Diagnose, die die Symptomatik besser erklärt, so lautet die Diagnose *keine MS* (Polman et al. 2011).

1.5.2 Liquoranalyse

Die Anzahl an Leukozyten in normalem Liquor ist $<5/\mu\text{l}$. Laut Andersson et al. zeigen rund 50% der Patientinnen und Patienten mit klinisch gesicherter MS eine normale Zellzahl im Liquor. Bei nur 1% der Erkrankten ist eine Zellzahl von mehr als $35/\mu\text{l}$ nachweisbar. So hohe Zellzahlen gelten bei der MS als unüblich, daher sollten in solchen Fällen andere Differenzialdiagnosen in Erwägung gezogen werden (Andersson et al. 1994).

Tabelle 3 gibt einen Überblick über charakteristische Veränderungen verschiedener Liquormarker bei MS:

Liquormarker	bei Gesunden	bei MS-Patienten	Häufigkeit des Nachweises bei MS-Patienten (%)
Zellzahl ($/\mu\text{l}$)	<5	normal bis 35	94
Aktivierte B-Zellen (%)	$<0,1$	$>0,1$	79
Albuminquotient ($\times 10^{-3}$)	<8	<8 oder normal	88
IgG-Synthese im Quotientendiagramm (mg/l)	0	>0	73
Oligoklonale IgG-Banden	nicht nachweisbar	nachweisbar	98
MRZ-Reaktion	$<1,5$	$\geq 1,5$	94

Tabelle 3: MS-typisches Liquormarker-Profil aus Schmidt & Hoffmann 2012, S. 119

Die Aktivierung von B-Zellen in Form der Produktion oligoklonaler Banden gilt als die konsistenteste immunologisch nachweisbare Veränderung bei Personen mit MS (Disanto et al. 2012).

Laut Deisenhammer et al. können oligoklonale Banden bei 95% aller Betroffenen gefunden werden, der Nachweis intrathekaler IgG-Antikörper ist aber trotz seiner Häufigkeit ein für die MS unspezifischer Befund, da eine Vielzahl anderer neurologischer Erkrankungen ebenso eine hohe Inzidenz für das Vorhandensein oligoklonaler Banden zeigt. Die lokale Synthese oligoklonaler Banden ist demnach

nicht diagnostisch für die MS und muss immer im klinischen Kontext betrachtet werden (Deisenhammer et al. 2006).

Der Nachweis oligoklonaler Banden im Liquor ist vor allem dann von geringer diagnostischer Spezifität, sobald andere inflammatorische Ursachen Berücksichtigung in der Differenzialdiagnose finden. Dies könnte als Argument dienen, oligoklonale Banden nicht länger als Ersatzkriterium für unspezifische MRT-Läsionen, welche die Eigenschaften der DIS nicht erfüllen, zu werten (Petzold 2013).

Der Name MRZ-Reaktion resultiert aus dem sehr häufigen und für die MS relativ typischen Nachweis der intrathekalen Synthese von IgG-Antikörpern gegen verschiedene neurotrope Krankheitserreger, in erster Linie gegen Masern-, Röteln- und Varicella-Zoster-Viren. Das Vorhandensein solcher Antikörper geht jedoch nicht mit einer gleichzeitigen Viruspersistenz im ZNS einher (Schmidt et al. 2012).

Anhand einer Studie konnte die prognostische Relevanz der MRZ-Reaktion hervorgehoben werden. Der Nachweis einer positiven MRZ-Reaktion gelang signifikant häufiger bei jenen CIS-Patientinnen und -Patienten, die im Laufe der 2-jährigen Studie eine MS entwickelten. Für CIS- Patientinnen und -Patienten mit 2 oder mehreren T2-hyperintensiven Läsionen und einer positiven MRZ-Reaktion besteht dabei das höchste Risiko für die Entwicklung einer MS. Diese Personen sollten nach Einschätzung der Autorinnen und Autoren schon früh eine immunmodulatorische Therapie erhalten (Brettschneider et al. 2009).

1.5.3 Magnetresonanztomographie

Seit 2001 fließen die Ergebnisse der MRT-Untersuchungen in die Diagnosekriterien der MS mit ein (McDonald et al. 2001). Bereits in den frühen 1980er Jahren wurde deutlich, dass diese Methode in Hinblick auf die Darstellung von MS-Läsionen der Computertomographie (CT) überlegen ist (Young et al. 1981).

Die Magnetresonanztomographie ist ein hochsensitives Verfahren, um makroskopische Gewebeschädigung bei Personen mit MS mittels Bildgebung nachzuweisen (Filippi & Rocca 2011).

MS-Plaques sind als hyperintense Läsionen in der FLAIR (Fluid-Attenuated-Inversion-Recovery)-Sequenz, der T2- oder Protonendichte (PD)-gewichteten MRT-Aufnahme nachweisbar. Das pathologische Korrelat (Entzündung, Demyelinisierung, Axonschädigung, Gliose) lässt sich hierbei jedoch nicht genau zuordnen. MS-Plaques sind meist rund oder ovoid und variieren in ihrer Größe von einigen Millimetern bis zu über einem Zentimeter (Filippi et al. 2012). Meist sind sie periventrikulär, im Corpus callosum, subkortikal oder in den infratentorialen Hirnregionen lokalisiert (Fazekas et al. 1999).

Studien konnten nur eine geringe, wenn auch signifikante, Korrelation der T2-Läsionslast zum Behinderungsgrad, gemessen anhand des EDSS, feststellen (Filippi et al. 1995; Li et al. 2006). Nicht alle Studien bestätigen dies: Thompson et al. konnten in ihrer Studie keine solche Korrelation feststellen (Thompson et al. 1990).

Da in der T2-gewichteten Aufnahme auch der Liquor hyperintens dargestellt ist, lassen sich periventrikuläre Läsionen oft nur schlecht abgrenzen. Dies gelingt jedoch vor allem in der FLAIR-Sequenz (Freitag et al. 2000).

In der T1-gewichteten Aufnahme stellen sich MS-Plaques im Rahmen der akuten Entzündung meist hypointens, als sogenannte black holes, zum umliegenden Hirngewebe dar (Filippi et al. 2012). In dieser Aufnahme kann man anhand einer Anreicherung der Läsion mit Gadolinium zwischen aktiven und nicht-aktiven Läsionen unterscheiden. Die Kontrastmittelaufnahme erfolgt als Konsequenz einer

gesteigerten Permeabilität der Blut-Hirn-Schranke und weist auf eine stattfindende Entzündung hin (Filippi & Rocca 2011).

Histopathologische Studien konnten eine Assoziation der in T1 gemessenen hypointensen Läsionen zu Gewebeschädigung und Axonverlust feststellen (van Walderveen et al. 1998).

In einer Studie konnte gezeigt werden, dass die in T1 gemessene Läsionslast besser als die in T2 gemessene Läsionslast mit klinischen Parametern korreliert (Truyen et al. 1996).

Folgende Tabelle zeigt für die Erkrankung typische MRT-Befunde:

Lokalisation	
zerebral	spinal
<ul style="list-style-type: none"> • periventrikuläre Lokalisation • aber auch subkortikale Läsionen, beziehen U-Fasern mit ein • Balkenläsionen häufig • infratentorielle Läsionen • Hirnstamm/Cerebellum (z.B. MLF, Trigeminafasern, Kleinhirnstiele) 	<ul style="list-style-type: none"> • insbesondere im Halsmark • Ausdehnung in der Regel geringer als 2 Wirbelkörpersegmente • nur selten kompletter Querschnitt betroffen
Läsions-Charakteristika	
<ul style="list-style-type: none"> • ovoide Läsionen meist entlang dem Verlauf der Parenchymvenen („Dawson Fingers“) 	<ul style="list-style-type: none"> • überwiegend fokal abgegrenzt • kann im akuten Stadium gelegentlich mit Schwellung des Myelons einhergehen • diffuse T2-hyperintense Veränderungen

Tabelle 4: MS-typische MRT-Befunde aus Sailer et al. 2008, S. 996

1.5.4 Differenzialdiagnosen

Es gibt eine Vielzahl möglicher Diagnosen, die ausgeschlossen werden müssen, um die Diagnose MS stellen zu können.

Folgende Tabelle gibt einen Überblick über die wichtigsten Differenzialdiagnosen:

Vaskulitiden/ Rheumatoide Arthritis/ Kollagenosen	Primäre Angiitis des ZNS, Panarteriitis nodosa, Wegener-Granulomatose, Churg-Strauss-Syndrom, Morbus Behçet, Medikamenteninduzierte Vaskulitiden, Rheumatoide Arthritis, SLE, Sjörgen-Syndrom
Erregerbedingte Erkrankungen des ZNS	Neuroborreliose, Neurolues, HIV-Infektion, Tuberkulose, Mb. Whipple
Leukodystrophien	X-chromosomale Adrenoleukodystrophie und -myeloneuropathie, Metachromatische Leukodystrophie, Globoidzellige Leukodystrophie, Adulte Polyglukosankörperchen-Erkrankung, CADASIL-Syndrom
Vitamin B12-Mangel	
Neurosarkoidose	
Erkrankungen mit dem Leitsymptom einer progredienten spastischen Tetra- oder Paraparese	Spastische Spinalparalyse, Zervikale Myelopathie, Syringomyelie
Primäres ZNS-Lymphom	
Hashimoto-Enzephalopathie	
Susac-Syndrom	
Antiphospholipidsyndrom	

Tabelle 5: Differenzialdiagnosen der MS aus Schmidt & Hoffmann 2012, S. 80

1.6 Therapie

Die Grundpfeiler der MS-Therapie bilden die Schubtherapie, die verlaufsmodifizierende Therapie sowie die symptomatische Therapie (DGN/KKNMS Leitlinie zur Diagnose und Therapie der MS 2014).

1.6.1 Therapie des akuten Schubes

Die Gabe von Glukokortikoiden gilt als erste Wahl in der Therapie eines akuten MS-Schubes. Glukokortikoide greifen direkt in den Entzündungs- und Immunprozess ein und führen zu einer Wiederherstellung der Blut-Hirn-Schranke (DGN/KKNMS Leitlinie zur Diagnose und Therapie der MS 2014).

1.6.2 Verlaufsmodifizierende Therapie

Die verlaufsbeeinflussende Therapie umfasst die Möglichkeiten der Immunmodulation und der Immunsuppression. Man unterscheidet Basistherapeutika und Eskalationstherapeutika, die bei Unverträglichkeit oder Versagen der Basistherapie zum Einsatz kommen (DGN/KKNMS Leitlinie zur Diagnose und Therapie der MS 2014).

Bis vor einigen Jahren gestaltete sich die verlaufsmodifizierende Therapie der RRMS so, dass Beta-Interferone (INF- β) und Glatirameracetat als Basistherapeutika und Natalizumab und Fingolimod als Eskalationstherapeutika zur Verfügung standen (Piehl 2014; Sorensen 2014).

Derzeit sind in Europa jedoch bereits 10 verschiedene Therapeutika zugelassen und dieser Umstand bringt einen Wandel im Therapiemanagement der MS mit sich (Sorensen 2014). Künftig gilt es als wahrscheinlich, dass INF- β und Glatirameracetat zu weiten Teilen durch die kürzlich zugelassenen oralen Basistherapeutika Dimethylfumarat und Teriflunomid ersetzt werden (Piehl 2014; Sorensen 2014). Da ein erheblicher Anteil der Patientinnen und Patienten mit CIS zu klinisch gesicherter MS konvertiert, sollte eine verlaufsmodifizierende Therapie bereits zu diesem Zeitpunkt erwogen werden (Piehl 2014).

Als Eskalationstherapeutika werden Natalizumab, Fingolimod, Alemtuzumab und Mitoxantron in zweiter Linie bei Personen verwendet, die nicht adäquat auf eine Basistherapie antworten. Alemtuzumab ist für die aktive RRMS zugelassen und könnte, wie Natalizumab und Fingolimod, auch als Therapeutikum erster Wahl bei Patientinnen und Patienten mit sehr aktiver RRMS verwendet werden (Sorensen 2014).

Folgende Abbildung zeigt das Stufentherapieschema der MS der Deutschen Gesellschaft für Neurologie:

Indikation		CIS ¹	RRMS ¹			SPMS ¹	
Verlaufsmodifizierende Therapie	(Hoch-) aktive Verlaufsform ²		1. Wahl - Alemtuzumab - Fingolimod - Natalizumab	2. Wahl - Mitoxantron (- Cyclophosphamid) ³	3. Wahl - Experimentelle Verfahren	mit aufgesetzten Schüben	ohne aufgesetzte Schübe
	Milde/moderate Verlaufsform ²	- Glatirameracetat - Interferon-β 1a im - Interferon-β 1a sc - Interferon-β 1b sc	- Dimethylfumarat - Glatirameracetat - Interferon-β 1a im - Interferon-β 1a sc - Interferon-β 1b sc - Teriflunomid (- Azathioprin) ³ (- IVig) ⁴			- Interferon-β 1a sc - Interferon-β 1b sc - Mitoxantron (- Cyclophosphamid) ³	- Mitoxantron (- Cyclophosphamid) ³
Schub-therapie		2. Wahl - Plasmaseparation					
		1. Wahl - Methylprednisolonpuls					

¹Substanzen in alphabetischer Reihenfolge; die hier gewählte Darstellung impliziert KEINE Überlegenheit einer Substanz gegenüber einer anderen innerhalb einer Indikationsgruppe (dargestellt innerhalb eines Kastens)

²Bei Versagen einer verlaufsmodifizierenden Therapie bei milder/moderater Verlaufsform einer MS werden diese Patienten wie eine aktive MS behandelt

³Zugelassen wenn Interferon-β nicht möglich oder unter Azathioprin-Therapie stabiler Verlauf erreicht

⁴Ersatz nur postpartal im Einzelfall gerechtfertigt, insbesondere vor dem Hintergrund fehlender Behandlungsalternativen

⁵Zugelassen für hochaktive verlaufende Autoimmunerkrankheiten, somit lediglich nur für fulminante Fälle als Ausweichtherapie vorgesehen, idealerweise nur an ausgewiesenen MS-Zentren

Abbildung 3: Stufentherapieschema der Deutschen Gesellschaft für Neurologie (DGN/KKNMS Leitlinie zur Diagnose und Therapie der MS 2014)

Im nachfolgenden Text werden die wichtigsten Therapeutika kurz beschrieben:

INF- β stellt seit 1993 die Hauptsäule in der Therapie der RRMS dar. Es wird intramuskulär (IFN- β 1a) oder subkutan (IFN- β 1a, IFN- β 1b) einmal oder mehrmals wöchentlich appliziert (Sorensen 2014).

1993 konnte die Wirksamkeit von subkutan appliziertem IFN- β 1b gegenüber einem Placebo hinsichtlich der signifikanten Reduktion der jährlichen Schubrate nachgewiesen werden (The IFNB Multiple Sclerosis Study Group 1993).

Der Effekt eines oral eingenommenen IFN- β 1a wurde untersucht, es konnte aber keine Wirkung festgestellt werden (Polman et al. 2003).

Eine Studie konnte zeigen, dass bereits Erkrankte mit einem erstmalig aufgetretenen demyelinisierenden Ereignis und nachweisbaren Veränderungen in der MRT von einer Behandlung mit Beta-Interferonen profitieren (Jacobs et al. 2000). Das Ansprechen auf eine INF- β Therapie variiert stark, etwa 30% der Behandelten zeigen eine exzellente Antwort (Sorensen 2014).

Glatirameracetat ist eine Mischung aus Polypeptiden vier verschiedener Aminosäuren. Es wird täglich subkutan appliziert (Sorensen 2014).

Anhand einer Placebo-kontrollierten Studie konnte die Wirksamkeit einer täglichen s.c. Applikation von Glatirameracetat hinsichtlich der Reduktion der jährlichen Schubrate um 29% und einer langsameren Krankheitsprogression, gemessen anhand der EDSS, nachgewiesen werden (Johnson et al. 1995).

Ähnlich den INF- β ist auch hier die Antwort auf die Therapie sehr variabel und etwa 30% sprechen hervorragend darauf an (Sorensen 2014).

Es existieren drei aktuellere Studien (BECOME, REGARD und BEYOND), in denen der Effekt von Glatirameracetat mit jenem verschiedener INF- β -Präparate verglichen wurde: in allen drei Studien konnten keine signifikanten Wirkungsunterschiede in Bezug auf die jeweils untersuchten primären Studienendpunkte (BECOME: Zahl aktiver Läsionen im MRT, REGARD: Zeitraum bis zum ersten Schub über eine Dauer von 96 Wochen, BEYOND: Schubrisiko über 2 Jahre) nachgewiesen werden (Cadavid et al. 2009; Mikol et al. 2008; O'Connor et al. 2009).

Teriflunomid ist ein selektiv wirkendes, immunsupprimierendes Therapeutikum mit antiinflammatorischen Eigenschaften, welches seine Wirkung durch Blockierung des mitochondrialen Enzyms Dihydroorotatedehydrogenase entfaltet. Weiters scheint es auch Einfluss auf die Zytokinproduktion, die Expression von Zelloberflächenmolekülen und die Zellmigration zu nehmen. Teriflunomid ist der aktive Metabolit von Leflunomid, einem Medikament, das für die Behandlung der Rheumatoiden Arthritis zugelassen ist. Es wird einmal täglich oral eingenommen (Piehl 2014).

In der TEMSO-Studie erhielten Patientinnen oder Patienten über eine Dauer von 108 Wochen einmal täglich entweder Teriflunomid als Tablette (7 mg oder 14 mg) oder Placebo. Es konnte bei beiden Dosierungen eine signifikante Reduktion der jährlichen Schubrate um 31,2% bzw. 31,5% nachgewiesen werden. Teriflunomid reduzierte weiters die Zahl der mittels MRT gemessenen Läsionen und wirkte sich in der höheren Dosierung positiv auf das Fortschreiten der Behinderungsprogression aus (O'Connor et al. 2011).

Eine Studie mit ähnlichem Design, die TOWER-Studie, zeigte bei Einnahme von 14 mg Teriflunomid ebenso eine Reduktion der jährlichen Schubrate (Confavreux et al. 2014).

Teriflunomid ist von der FDA als teratogen (*Pregnancy Category X*) eingestuft, bei Frauen im gebärfähigen Alter muss vor Beginn der Therapie eine Schwangerschaft ausgeschlossen werden und während der Behandlung eine effektive Kontrazeption gegeben sein (US Food and Drug Administration 2012).

Dimethylfumarat ist ein Methylester der Fumarsäure, einem Zwischenprodukt des Citratzyklus. Es wird zweimal täglich oral eingenommen (Piehl 2014). Es schützt neuronale Zellen vor oxidativem Stress und reduziert die Produktion proinflammatorischer Zytokine (Albrecht et al. 2012).

In der DEFINE-Studie erhielten Patientinnen und Patienten entweder 240 mg Dimethylfumarat zwei- oder dreimal täglich oder Placebo. Bei beiden Dosierungen lag die Anzahl an Personen, die über 2 Jahre hinweg einen Krankheitsschub hatten, signifikant niedriger als in der Gruppe mit Placebo (27% bei zweimal täglicher Einnahme, 26% bei dreimal täglicher Einnahme, 46% bei Placebo). Die jährliche Schubrate konnte bei den Personen, die Dimethylfumarat erhielten, um 53% bzw. 48% gesenkt werden. Es konnten weiters eine signifikante Reduktion

Gadolinium-aufnehmender Läsionen bzw. neuer oder sich vergrößernder T2-hyperintenser Läsionen sowie eine positive Auswirkung auf die Behinderungsprogression festgestellt werden (Gold et al. 2012).

Natalizumab ist ein humanisierter monoklonaler Antikörper, der gegen α 4-Integrine gerichtet ist und die Migration von Lymphozyten über die Blut-Hirn-Schranke unterbindet. Natalizumab wird alle vier Wochen intravenös verabreicht (Sorensen 2014).

In der AFFIRM-Studie verglich man eine Natalizumab-Monotherapie mit einem Placebo. Natalizumab reduzierte das Risiko einer Behinderungsprogression über 2 Jahre um 42%, über 1 Jahr hinweg konnte eine Reduktion der Schubrate um 68% nachgewiesen werden. Es fand sich weiters eine Reduktion der Gadolinium-aufnehmenden Läsionen von über 90% (Polman et al. 2006).

Im Rahmen der SENTINEL-Studie wurden Patientinnen oder Patienten zusätzlich zu einer Therapie mit IFN- β 1a entweder mit Natalizumab oder Placebo behandelt, es konnten hierbei die Ergebnisse der AFFIRM-Studie im Wesentlichen bestätigt werden: die Schubrate konnte um 53% gesenkt werden, die Anzahl an Gadolinium-aufnehmenden Läsionen um 89%. Als schwere Nebenwirkung traten 2 Fälle von Progressiver Multifokaler Leukenzephalopathie (PML) auf (Rudick et al. 2006). Weitere Studien bestätigten das erhöhte Risiko der Entstehung einer PML unter Therapie mit Natalizumab, weshalb die Zulassung auf eine Monotherapie bei Patientinnen und Patienten, die im Rahmen einer Basistherapie weitere Krankheitsaktivität aufweisen, beschränkt ist (Piehl 2014).

Fingolimod wurde als erstes orales Therapeutikum für die RRMS zugelassen. Es ist ein Derivat des Pilzes *Isaria sinclairii* und ein strukturelles Analogon von Sphingosin und wirkt als Antagonist am Sphingosin-1-Phosphat-Rezeptor. Ähnlich wie Natalizumab wirkt es auf den Lymphozytentransport, wird jedoch einmal täglich p.o. eingenommen (Piehl 2014).

In der FREEDOMS-Studie, in der Fingolimod mit einer Dosierung von 1,25 mg oder 0,5 mg über 2 Jahre gegen Placebo getestet wurde, konnte eine Reduktion der jährlichen Schubrate von 54% (0,5 mg) bis 60% (1,25 mg) nachgewiesen werden, weiters konnten eine Verlangsamung der Behinderungsprogression sowie

mittels MRT eine geringere Anzahl MS-typischer Läsionen festgestellt werden (Kappos et al. 2010).

Die TRANSFORMS-Studie verglich über ein Jahr hinweg Fingolimod in gleichen Dosen wie in der FREEDOMS-Studie mit wöchentlich i.m. appliziertem INF- β 1a. Die Schubrate war auch hier in beiden Fingolimod-Gruppen signifikant niedriger als in der INF- β -Gruppe, ebenso die Anzahl der Läsionen in der MRT. Es konnte jedoch kein Unterschied hinsichtlich der Behinderungsprogression erkannt werden (Cohen et al. 2010).

Alemtuzumab ist ein humanisierter monoklonaler Antikörper, der gegen CD52, ein an verschiedenen Subtypen von Lymphozyten exprimiertes Antigen, gerichtet ist (Piehl 2014). Dies hat eine lang anhaltende Verminderung von Lymphozyten und Monozyten zur Folge. Es wird in einem ersten Zyklus über 5 Tage und in einem zweiten Zyklus 12 Monate später über 3 Tage intravenös appliziert (Sorensen 2014). Alemtuzumab wurde unter Compston et al. ursprünglich als Campath-1H an der University of Cambridge entwickelt (Moreau et al. 1996).

Bereits in den 1990er-Jahren wurde die Wirksamkeit von Alemtuzumab auf die entzündliche Aktivität belegt (Coles et al. 1999).

In die CARE-MS I-Studie wurden nur RRMS-Patientinnen und -Patienten mit einer Krankheitsdauer unter 5 Jahren, die zuvor noch keine MS-spezifische Therapie erhalten haben, eingeschlossen. Alemtuzumab wurde mit INF- β 1a verglichen: 78% der Patientinnen und Patienten der Alemtuzumab-Gruppe und nur 59% der INF- β -Gruppe blieben über 2 Jahre schubfrei. Bei 18% der Patientinnen und Patienten, die mit Alemtuzumab behandelt wurden, traten schilddrüsenassoziierte Nebenwirkungen auf, 2 Personen entwickelten ein papilläres Schilddrüsenkarzinom (Cohen et al. 2012).

In die CARE-MS II-Studie wurden auch bereits Vortherapierte mit einer Erkrankungsdauer kürzer als 10 Jahre eingeschlossen, hierbei blieben 65% der Patientinnen und Patientin der Alemtuzumab-Gruppe und 47% der INF- β -Gruppe über 2 Jahre hinweg schubfrei (Coles et al. 2012).

Mitoxantron ist ein immunsupprimierendes Zytostatikum, das in der Krebstherapie etabliert ist (Piehl 2014). Es wird in dreimonatigen Intervallen intravenös verabreicht. Es kommt unter anderem zu chemotherapieinduzierter, reversibler Knochenmarkssuppression und Nausea (Sorensen 2014).

2002 wurde eine Studie publiziert, die Personen mit schubförmig progredienter und sekundär chronisch progredienter MS einschloss. Die Patientinnen und Patienten erhielten alle 3 Monate Mitoxantron in einer Dosierung von 5 mg/m² oder 12 mg/m² oder Placebo für 2 Jahre. Mitoxantron zeigte dabei eine signifikante Wirksamkeit hinsichtlich Behinderungsprogression und klinischem Schubgeschehen (Hartung et al. 2002).

Die Etablierung der eben beschriebenen verlaufsbeeinflussenden Medikamente eröffnet neue Wege im Management der MS und ermöglicht neue Therapieoptionen und –möglichkeiten. Nichts desto trotz ergibt sich aufgrund der vielfältigeren Möglichkeiten der Behandlung auch die Herausforderung, die richtige Therapie für jede Patientin oder jeden Patienten zu finden. Um die Entscheidung für ein bestimmtes Medikament zu treffen, bedarf es vor allem einer Abwägung des Risikos gegenüber des Nutzens einer bestimmten Therapieform auf individueller Basis der Patientinnen und Patienten. Neben der Interpretation klinischer Befunde braucht es demnach auch Befunde aus der Bildgebung sowie die Berücksichtigung verschiedener Biomarker, um sich ein vollständigeres Bild der Erkrankung machen zu können (Piehl 2014).

1.6.3 Symptomatische Therapie

Die symptomatische Therapie gilt als wichtiger Grundpfeiler eines umfassenden Therapieschemas. Hierbei kommen sowohl die medikamentöse Behandlung häufiger Symptome wie Spastizität und Muskelschwäche, Störungen der Sensibilität, Schmerzen etc., als auch nicht-medikamentöse Methoden wie Ergo-, Physio-, Logo- oder Psychotherapie zum Tragen. Ziel dieser Maßnahmen ist es im Wesentlichen, eine Steigerung der Lebensqualität der Betroffenen zu erreichen (DGN/KKNMS Leitlinie zur Diagnose und Therapie der MS 2014).

Anhand einer Studie zur Feststellung der Effekte einer kombinierten Bewegungstherapie auf die Länge der bewältigbaren Wegstrecke, die Körperhaltung, die Lebensqualität und Fatigue konnte festgestellt werden, dass Bewegung einen signifikanten Einfluss auf die Besserung MS-typischer Symptome bewirkt. Weiters konnten auf lange Sicht signifikante Unterschiede in der Lebensqualität zwischen der Interventionsgruppe und der Kontrollgruppe nachgewiesen werden. Als wichtigstes Resultat dieser Untersuchung gilt insbesondere, dass die Beendigung der körperlichen Übungen die Rückkehr der Symptome und Einschränkungen wesentlich begünstigt (Sangelaji et al. 2014).

1.7 Biomarker und die Rolle von neural cell adhesion molecule bei Multipler Sklerose

Biomarker sind definiert als ein Merkmal, welches objektiv gemessen und evaluiert werden kann und als Indikator für einen normalen biologischen oder pathologischen Prozess oder für das pharmakologische Ansprechen auf therapeutische Interventionen dient. Das Finden zuverlässiger Biomarker gilt als wesentlich, um die Pathogenese der Erkrankung besser verstehen zu können und zukünftige Therapiestrategien erarbeiten zu können (Bielekova & Martin 2004).

Biomarker, die in Körperflüssigkeiten messbar sind, können in 4 Kategorien unterteilt werden: prädiktive Marker, diagnostische Marker, Marker für Krankheitsaktivität und Marker für Therapieerfolg (Comabella & Montalban 2014). In einem aktuellen Review wurden Biomarker in drei Subgruppen unterteilt: *genetic/immunogenetic* (spezifiziert mittels Genomforschung und immungenetischer Verfahren), *laboratorial* (alle Biomarker, die in Körperflüssigkeiten messbar sind) und *imaging* (darstellbar mittels bildgebender Verfahren). Neural cell adhesion molecule (NCAM) ist ein Labormarker und zählt, so wie auch BDNF und Nogo-A, zu den Biomarkern für Remyelinisierung und Reparaturvorgänge. Biomarker können im Blut, im Urin, in der Tränenflüssigkeit, im Sputum, im Liquor cerebrospinalis und mittels bildgebender Verfahren nachgewiesen werden (Katsavos & Anagnostouli 2013).

Da für die vorliegende Diplomarbeit Liquorproben untersucht wurden, werden im nächsten Absatz kurz die Eigenschaften der Liquoruntersuchung thematisiert.

Da MS-Läsionen nur selten biopsiert werden, gilt die Entnahme von Liquor cerebrospinalis, aufgrund seiner Nähe zu den pathologischen Arealen, als die Methode, die am ehesten eine Beurteilung der Veränderungen erlaubt (Giovannoni 2006).

Diese Annahme ist jedoch nicht unumstritten, da es als unsicher gilt, ob der Liquor im Lumbalsack die Produktion von Entzündungsmarkern in der supratentoriellen Region, wo sich die meisten Läsionen finden, akkurat wiedergibt (Bielekova & Martin 2004).

Ebenso zeigt die Liquorproduktion Schwankungen im Tagesverlauf. Während die geringste Menge um 18 Uhr produziert wird (12 ± 7 ml/h), erreicht sie ihr Maximum um 2 Uhr (42 ± 2 ml/h) (Giovannoni & Thompson 1998).

Weiters gilt es die Invasivität des Eingriffes zu beachten. Als großer Vorteil der Lumbalpunktion gilt jedoch, dass die Marker nicht dem biologischen Abbau in der Leber oder der renalen Ausscheidung unterliegen (Bielekova & Martin 2004).

Obwohl eine Vielzahl an verschiedenen Biomarkern als Kandidaten für die MS in Betracht gezogen wurden und werden, findet sich nur eine beschränkte Anzahl validierter Biomarker und eine noch kleinere Zahl (7) jener, die derzeit in der klinischen Praxis Verwendung finden. Ein validierter Biomarker zeichnet sich insofern aus, als dass eine klare Assoziation des Markers zur Erkrankung nachweisbar ist (Comabella & Montalban 2014).

1.7.1 Neural cell adhesion molecule

NCAM ist ein Glykoprotein und gehört zur Superfamilie der Immunglobuline (Berezin et al. 2000; Kiss et al. 2001; Massaro 2002). Es ist in der grauen und weißen Substanz eines gesunden Gehirns, aber auch in der NAWM von MS-Erkrankten weit verbreitet. NCAM kommt hauptsächlich membrangebunden vor, es existiert aber auch eine lösliche Form, die ein normaler Bestandteil des menschlichen Blutes und Liquors ist (Massaro 2002). Die genaue Funktion von löslichem NCAM ist noch ungeklärt (Massaro 2002; Secher 2010).

Große Bedeutung wird NCAM hinsichtlich neuronaler Reparatur- und Regenerationsvorgänge beigemessen (Kiryushko et al. 2004; Kiss et al. 2001; Massaro 2002). NCAM beeinflusst Zell-Zell-Interaktionen wie die Zellmigration, das Auswachsen von Neuriten, die Formation von Synapsen im Gehirn, die Synaptogenese und hat Auswirkung auf Lern- und Merkprozesse sowie Nervenregeneration (Stoenica et al. 2006; Weledji & Assob 2014).

Gnanapavan et al. beschrieben veränderte NCAM-Werte im Liquor bei mehreren neurologischen Krankheitsbildern. Signifikante Reduktion der NCAM-Werte im Vergleich zu den Kontrollen konnten bei MS, Alzheimer und Meningitis festgestellt werden. Dies führte zur Annahme, dass die niedrigen Werte bei diesen Erkrankungen einen ausgeprägten neuronalen Schaden oder ein verringertes Potential für endogene Reparaturvorgänge reflektieren (Gnanapavan et al. 2010). In einer weiteren Studie konnten wiederholt erniedrigte Werte bei MS-Patientinnen und -Patienten nachgewiesen werden (Gnanapavan et al. 2013).

In der Studie aus 2010 fanden sich, verglichen mit den Kontrollen (412 ± 109 ng/ml), die niedrigsten Werte bei SPMS (193 ± 97 ng/ml), gefolgt von RRMS (259 ± 87 ng/ml), PPMS (284 ± 32 ng/ml) und CIS (393 ± 83 ng/ml) (Gnanapavan et al. 2010). Die Studie aus 2013 bestätigte diese Ergebnisse im Wesentlichen. NCAM korrelierte weder mit Alter noch Geschlecht, es konnte jedoch eine signifikante Assoziation zum EDSS-Wert nachgewiesen werden: je niedriger der NCAM-Wert, desto höher der EDSS. Dies ließ darauf schließen, dass das Fortschreiten der Erkrankung als eine direkte oder indirekte Folge eines NCAM-Mangels gesehen werden kann (Gnanapavan et al. 2013).

1.7.2 Biomarker für Eisendysregulation bei MS

Bei MS geben hauptsächlich die Magnetresonanztomographie sowie histopathologische Studien Hinweis auf eine Eisendysregulation, speziell auf eine Akkumulation von Eisen (Khalil et al. 2011; Langkammer et al. 2013; Ropele et al. 2011). In mehreren Studien konnte erhöhte Eisenablagerung im Gehirn, vor allem in der tiefen grauen Substanz, bei Personen mit MS nachgewiesen werden (Ropele et al. 2011; Stephenson et al. 2014).

Einige Information kann jedoch auch aus der Analyse von Eisen sowie Proteinen des Eisenmetabolismus in Liquor oder Blut gewonnen werden (Khalil et al. 2011; Stephenson et al. 2014).

Eine aktuelle Studie beschäftigte sich mit der Frage, ob erhöhte Eisenablagerung in die Basalganglien mit Veränderungen des Eisenmetabolismus im Liquor und Serum in Zusammenhang stehen. Hierfür wurden Ferritin, Transferrin und der lösliche Transferrinrezeptor im Serum sowie Ferritin und Transferrin im Liquor bei einer Gruppe von CIS/MS-Patientinnen und Patienten analysiert. Transferrin im Liquor zeigte sich im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant erniedrigt. Dies gibt Hinweise darauf, dass veränderte Transferrinwerte in Relation zu erhöhter Eisenablagerung im Gehirn stehen könnten (Khalil et al. 2014).

1.8 Ableitung der Fragestellung

Der bisherige Teil der Arbeit sollte einen Einblick in das Krankheitsbild der MS gewährleisten sowie einen Überblick über die Rolle verschiedener Biomarker bei MS verschaffen.

In Anlehnung an verschiedene Studien, in denen bei Personen mit MS veränderte NCAM-Werte im Liquor nachgewiesen wurden, beschäftigt sich die vorliegende Arbeit mit der Frage, ob sich die NCAM-Werte im Liquor einer Gruppe von Patientinnen und Patienten mit CIS/MS von den Werten verschiedener Kontrollgruppen mit nicht-entzündlichen neurologischen Krankheitsbildern unterscheiden und ob Krankheitsaktivität hierfür eine Rolle spielt.

Zu diesem Zweck wurde die Studienkohorte in verschiedene Gruppen geteilt und Unterschiede zwischen den jeweils gemessenen NCAM-Konzentrationen berechnet.

Als weitere Zielsetzung dieser Studie gilt die Klärung der Frage, ob NCAM-Werte in Zusammenhang mit anderen Parametern der Erkrankung stehen.

Hierfür wurden Korrelationen der NCAM-Werte mit verschiedenen Liquor- und Laborparametern, mit klinischen Daten, MRT-Daten sowie mit Transferrin im Liquor berechnet (siehe Kapitel 1 Einleitung).

2 Material und Methoden

2.1 Studienkohorte

Die Studienkohorte umfasste insgesamt 141 Personen, davon 69 mit CIS/MS (52 Frauen und 17 Männer) und 72 Kontrollen (49 Frauen und 23 Männer).

Die CIS/MS-Gruppe gliederte sich in 55 Personen (41 Frauen und 14 Männer) mit CIS und 14 Personen (11 Frauen und 3 Männer) mit RRMS. Es wurden eine diagnostische Lumbalpunktion (LP), eine ausführliche klinische Untersuchung sowie eine 3T MRT-Aufnahme des Gehirns durchgeführt. Weiters wurden das Alter zum Zeitpunkt der LP, das Alter bei Krankheitsbeginn, die Dauer der Erkrankung, der EDSS-Wert zum Zeitpunkt der LP, das Auftreten eines Schubes zum Zeitpunkt der LP sowie die Therapie zum Zeitpunkt der LP erhoben. Keine der Personen erhielt eine MS-spezifische Therapie.

Patientinnen und Patienten, deren Liquor während eines Schubes entnommen wurde, wurden als aktiv (37) klassifiziert, klinisch stabile Patientinnen und Patienten als nicht-aktiv (32). Von den Personen mit aktivem Krankheitsverlauf erhielten 28 zum Zeitpunkt der LP eine Kortisonstoßtherapie.

Die EDSS-Werte bei der nächsten Routineuntersuchung nach der LP sowie bei der letzten Routineuntersuchung (Stand August 2014) wurden bei allen Patientinnen und Patienten erhoben.

Das durchschnittliche Alter der Patientinnen und Patienten der CIS/MS-Gruppe lag zum Zeitpunkt der LP bei $32,2 \pm 9,1$ (Mittelwert \pm Standardabweichung) Jahren.

Die Kontrollgruppe wurde nach standardisierten Richtlinien definiert. Diese Richtlinie empfiehlt die Aufteilung der Kontrollen in unterschiedliche Subgruppen neurologischer Erkrankungen. Dieser Schritt soll die Vergleichbarkeit mit anderen Studien verbessern und eine höhere Qualität von MS-Biomarkerstudien gewährleisten (Teunissen et al. 2013).

Die Kontrollgruppe setzte sich aus 35 Personen (23 Frauen und 12 Männer) mit Kopfschmerzen, 21 Personen (14 Frauen und 7 Männer) mit Sensibilitätsstörungen und 16 Personen (12 Frauen und 4 Männer) mit Paresen von peripheren oder kranialen Nerven zusammen.

Das durchschnittliche Alter der Patientinnen und Patienten der Kontrollgruppe lag zum Zeitpunkt der LP bei $34,4 \pm 10,9$ (Mittelwert \pm Standardabweichung) Jahren.

Die Daten zur Studienkohorte (Tabelle 6) wurden aus dem Krankenhausinformationssystem MEDOCS sowie der Datenbank Archimed der Universitätsklinik für Neurologie erhoben. Die Studie wurde von der Ethikkommission der Medizinischen Universität Graz bewilligt. Alle Teilnehmerinnen und Teilnehmer gaben ihr schriftliches Einverständnis.

Tabelle 6 gibt einen Überblick über die klinischen und demographischen Daten der Studienteilnehmerinnen und –teilnehmer.

	CIS/MS <i>N=55/N=14</i>	Kontrollen <i>N=72</i>	p-Wert
<i>N</i> weiblich (%)	52 (75,4)	49 (68,1)	n.s.
Alter bei LP (Jahre) ^a	32,2 (9,1)	34,4 (10,9)	n.s.
Alter bei Krankheitsbeginn (Jahre) ^a	31,5 (9,6)	n.a.	n.a.
Krankheitsdauer bei LP (Jahre) ^b	0,1 (0,0-0,3)	n.a.	n.a.
EDSS bei LP ^b	2,0 (1,0-2,5)	n.a.	n.a.
Hämoglobin (g/dl) ^a	14,0 (1,3)	14,3 (1,4)	n.s.
C-reaktives Protein (mg/l) ^b	1,2 (1,0-3,9)	1,7 (1,0-4,4)	n.s.
T2-Läsionslast (cm ³) ^b	1,2 (0,5-3,9)	n.a.	n.a.

CIS: klinisch isoliertes Syndrom, MS: Multiple Sklerose, *N*: Anzahl der PatientInnen, LP: Lumbalpunktion, EDSS: Expanded Disability Status Scale, n.a.: nicht anwendbar, n.s.: nicht signifikant. Ergebnisse gegeben als ^aMittelwert (Standardabweichung) oder ^bMedian (Interquartilsabstand).

Tabelle 6: Klinische und demographische Daten der Studienkohorte

2.2 Liquoranalyse

Alle Liquorproben entstammen dem Liquorlabor der Universitätsklinik für Neurologie. Den Patientinnen und Patienten wurden die Proben mittels Lumbalpunktion entnommen. Nach diagnostischer Aufarbeitung des Liquors wurde überschüssiges Material bis zur weiteren Verwendung, unter Berücksichtigung standardisierter Richtlinien (Teunissen et al. 2009), bei -80 °C eingefroren.

Die Analyse der Liquorproben wurde von technisch versiertem Personal vorgenommen. Die NCAM-Werte wurden mittels eines kommerziell erhältlichen Luminex Testkit (MILLIPLEX™ MAP, Millipore, Billerica, MA, USA) bestimmt.

Die Routineliquoranalyse umfasste jene Daten, die der Tabelle 7 zu entnehmen sind. Transferrin im Liquor sowie die Albumin- und Immunglobulinkonzentrationen wurden mittels Nephelometrie mit einem Beckman Coulter Image 800 Analysegerät (Beckman Coulter Inc., Brea, USA) bestimmt. Die Integrität der Blut-Liquor-Schranke wurde anhand der Berechnung der CSF/Serum Ratio für Albumin (Qalb) überprüft (Felgenhauer et al. 1976). Die intrathekale IgG-Produktion wurde quantitativ mittels Berechnung des IgG-Index (Referenzwert <0,7) (Link & Tibbling 1977) und qualitativ mittels Überprüfung auf Vorhandensein oligklonaler Banden (OKB) durch isoelektrische Fokussierung und Immunblotting ermittelt (Andersson et al. 1994).

	CIS/MS N=69	Kontrollen N=72	p-Wert
Zellzahl N/ μ l ^b [Ref. \leq 4]	8,0 (4,0-17,0)	2,0 (1,0-2,0)	<0,001
Eiweiß (mg/dl) ^b [Ref. \leq 45]	35,0 (31,0-46,0)	31,5 (26,5-36,0)	<0,001
Q _{alb} ^b	4,9 (4,1-6,9)	5,0 (4,2-5,8)	n.s.
IgG-Index ^b [Ref. \leq 0,7]	0,8 (0,6-1,3)	0,5 (0,5-0,5)	<0,001
Laktat (mmol/l) ^b [Ref. \leq 2,1]	1,6 (1,5-1,8)	1,5 (1,4-1,7)	=0,001
IgA-Index ^b	0,4 (0,3-0,5)	0,3 (0,2-0,3)	<0,001
IgM-Index ^b	0,2 (0,1-0,3)	0,1 (0,1-0,1)	<0,001
OKB positiv N ^a (%)	67 (97,1)	n.e.	n.a.
NCAM (ng/ml) ^b	38,7 (31,1-48,2)	43,7 (31,8-54,5)	n.s.
Transferrin (mg/dl) ^b	2,1 (1,8-2,7)	2,9 (2,3-3,5)	<0,001

CIS: klinisch isoliertes Syndrom, MS: Multiple Sklerose, N: Anzahl der PatientInnen, Q_{alb}: Albuminquotient, Ig: Immunglobulin, OKB: Oligoklonale Banden, n.e.: nicht erhoben, n.s.: nicht signifikant. Ergebnisse gegeben als ^aAnzahl oder ^bMedian (Interquartilsabstand).

Tabelle 7: Liquorparameter der Patientinnen und Patienten mit CIS/MS sowie der Kontrollgruppe

2.3 Magnetresonanztomographie

Wie bereits beschrieben (Khalil et al. 2009), wurde die MRT mit einem 3 Tesla-Gerät (Siemens Trim Trio, Siemens Healthcare, Erlangen, Deutschland) unter der Verwendung einer Kopfspule mit zwölf Empfangselementen durchgeführt.

Alle Bildanalysen wurden von erfahrenen Technikerinnen und Technikern vorgenommen.

Das MRT-Protokoll beinhaltete eine FLAIR-Sequenz zur Läsionsdetektion (TR/TE/TI = 9000 ms/69 ms/2500 ms, Auflösung = $0.9 \times 0.9 \times 3$ mm³, Aufnahmedauer = 4 Minuten 22 Sekunden) sowie eine T1-gewichtete 3D-MPRAGE-Sequenz mit 1 mm isotroper Auflösung (TR/TE/TI/FA = 1900 ms/2.19 ms/900 ms/9°, Aufnahmedauer = 6 Minuten).

Die T2-Läsionslast wurde in den FLAIR Bildern mittels Multiplikation der Fläche der Läsionen mit der Dicke der Scheiben errechnet (Khalil et al. 2009).

2.4 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mithilfe des Statistikprogramms SPSS 22.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA) und GraphPad Prism 5 (GraphPad, San Diego, USA).

Das Vorliegen einer Normalverteilung der Daten wurde mittels Kolmogorov-Smirnov-Test überprüft, Gruppenunterschiede wurden mittels Mann-Whitney U-Test oder abhängigem t-Test ermittelt. Der Exakte Test nach Fisher wurde zur Analyse von Kontingenztabellen verwendet. Bei Vergleich von mehr als 2 Gruppen wurde der Kruskal-Wallis-Test angewandt, die p-Werte wurden mittels Dunn's Multiple Comparison-Test für multiples Testen korrigiert.

Mithilfe der Spearman-Korrelation wurde der Zusammenhang der NCAM-Werte mit Liquor- und Laborparametern, mit klinischen Daten, mit dem Transferrinwert und der T2-Läsionslast ermittelt. Ein p-Wert <0,05 wurde als signifikant angenommen.

3 Ergebnisse

3.1 Vergleich der NCAM-Werte zwischen der CIS/MS-Gruppe und den Kontrollgruppen

Da bezüglich der NCAM-Werte zwischen CIS und MS kein signifikanter Unterschied feststellbar war (Abbildung 4), wurden für die Auswertung der Ergebnisse alle Patientinnen und Patienten mit CIS oder MS zu einer CIS/MS-Gruppe zusammengefasst.

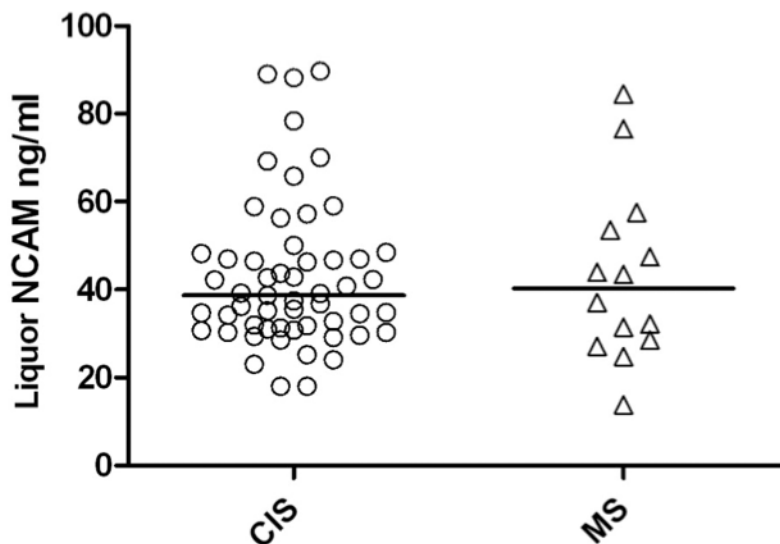


Abbildung 4: Vergleich der NCAM-Werte im Liquor (ng/ml) zwischen CIS und MS.

Die horizontale Linie repräsentiert den Median. CIS: klinisch isoliertes Syndrom, MS: Multiple Sklerose.

Bei Vergleich der NCAM-Werte innerhalb der einzelnen Kontrollgruppen konnten signifikante Unterschiede festgestellt werden. Die Gruppe mit Sensibilitätsstörungen zeigte gegenüber der Kopfschmerzgruppe signifikant erniedrigte Werte ($p < 0,005$), ebenso gegenüber der Gruppe mit Paresen, wenn auch nicht signifikant (Abbildung 5).

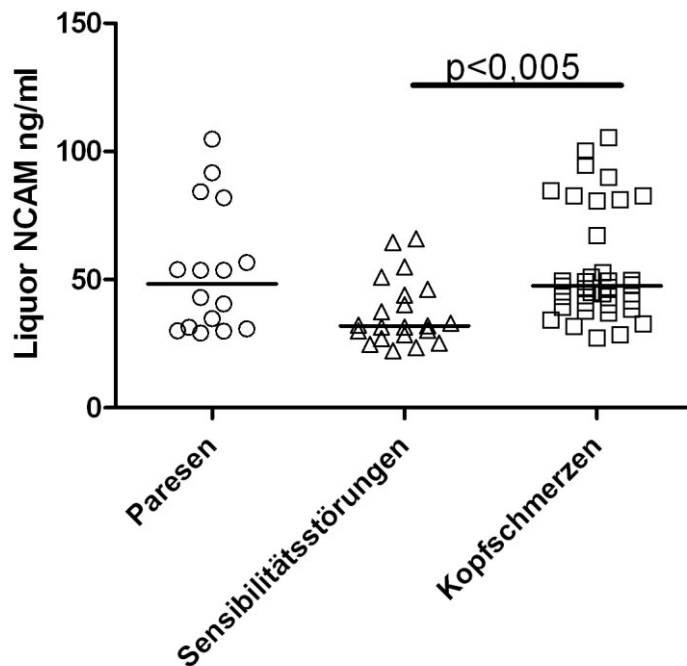


Abbildung 5: Vergleich der NCAM-Werte im Liquor (ng/ml) zwischen den einzelnen Kontrollgruppen.

Die p-Werte wurden für multiples Testen korrigiert. Die horizontale Linie repräsentiert den Median.

Aus diesem Grund wurde für die folgende Auswertung der Ergebnisse die Gruppe der Sensibilitätsstörungen als eigene Kontrollgruppe belassen und die Gruppen Paresen und Kopfschmerzen zu einer Kontrollgruppe zusammengefasst.

Um zu untersuchen, inwieweit Krankheitsaktivität Einfluss auf NCAM-Werte hat, wurde die CIS/MS-Gruppe anschließend in folgende Subgruppen geteilt: die erste umfasst die Patientinnen und Patienten mit klinisch nicht-aktiver Erkrankung (N=32), die zweite die Patientinnen und Patienten mit klinisch aktiver Erkrankung (N=37).

Hierbei zeigten sich die NCAM-Werte bei aktiver CIS/MS signifikant niedriger (p<0,001) (Abbildung 6).

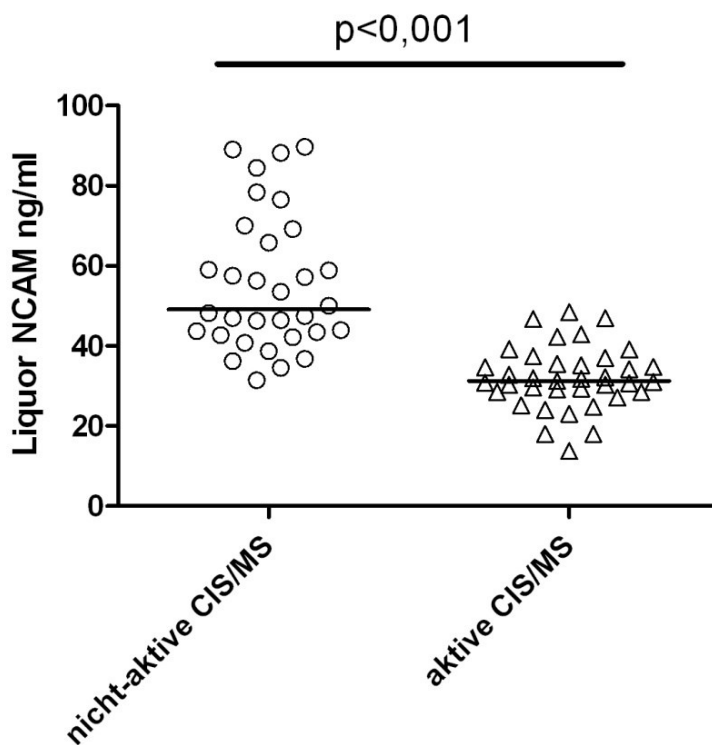


Abbildung 6: Vergleich der NCAM-Werte im Liquor (ng/ml) zwischen nicht-aktiver CIS/MS und aktiver CIS/MS.

Die horizontale Linie repräsentiert den Median. CIS: klinisch isoliertes Syndrom, MS: Multiple Sklerose.

Im Rahmen weiterer Analysen wurden die NCAM-Werte bei nicht-aktivem sowie bei aktivem Krankheitsverlauf mit jenen der beiden Kontrollgruppen verglichen:

Die Gruppe mit Sensibilitätsstörungen zeigte signifikant niedrigere NCAM-Werte ($p < 0,001$) als die Gruppe mit nicht-aktiver CIS/MS. Zwischen aktiver CIS/MS und Sensibilitätsstörungen konnte kein signifikanter Unterschied gezeigt werden.

Die NCAM-Werte in der Gruppe mit aktiver CIS/MS waren gegenüber der Paresen/Kopfschmerzen-Gruppe signifikant erniedrigt ($p < 0,001$), gegenüber der Gruppe mit Sensibilitätsstörungen konnte kein signifikanter Unterschied nachgewiesen werden (Abbildung 7).

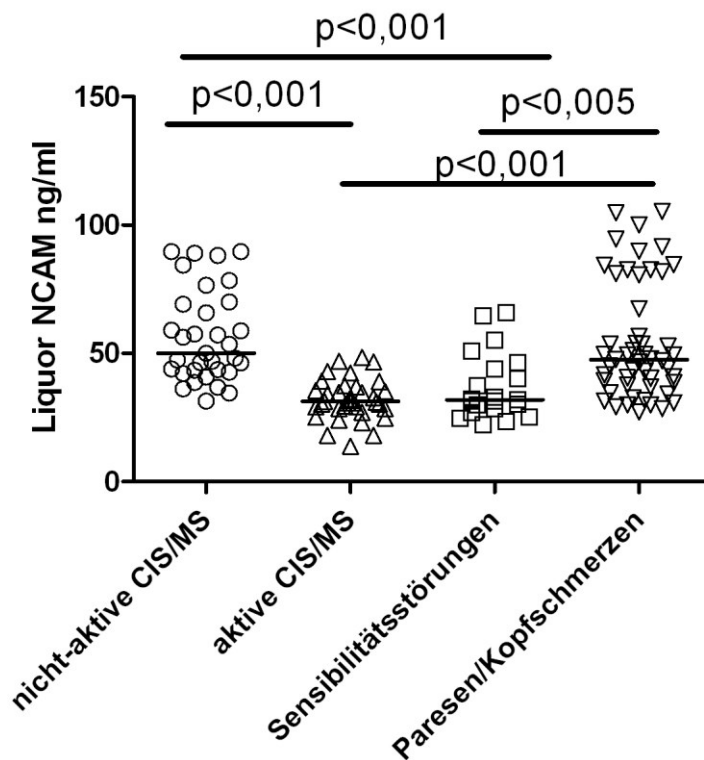


Abbildung 7: Vergleich der NCAM-Werte im Liquor (ng/ml) zwischen nicht-aktiver CIS/MS, aktiver CIS/MS und den beiden Kontrollgruppen.

Die p-Werte wurden für multiples Testen korrigiert. Die horizontale Linie repräsentiert den Median. CIS: klinisch isoliertes Syndrom, MS: Multiple Sklerose.

Auch bei der Berechnung von Korrelationen der NCAM-Werte mit anderen Parametern der Erkrankung wurde die Aufteilung in nicht-aktive sowie aktive CIS/MS beibehalten.

3.2 Korrelation der NCAM-Werte mit klinischen Parametern

Bei der nicht-parametrischen Korrelation der NCAM-Werte mit den erhobenen klinischen Daten (Alter zu Krankheitsbeginn, Alter bei Lumbalpunktion, EDSS bei Lumbalpunktion) zeigten sich weder bei nicht-aktivem noch bei aktivem Krankheitsverlauf signifikante Zusammenhänge.

3.3 Liquor- und Laborparameter in Korrelation mit NCAM

Bei der nicht-parametrischen Korrelation der NCAM-Werte mit den erhobenen Daten ergaben sich folgende Zusammenhänge:

Bei nicht-aktivem Krankheitsverlauf zeigte sich keinerlei Korrelation der NCAM-Werte mit den Liquorwerten. Ebenfalls gab es keine Korrelation mit den Hämoglobinwerten und der Höhe des C-reaktiven Proteins (Tabelle 6).

Bei aktivem Krankheitsverlauf korrelierten die NCAM-Werte mit Laktat im Liquor ($r=-0,4$, $p<0,05$), mit Eiweiß im Liquor ($r=0,4$, $p<0,05$) und mit dem Albuminquotienten ($r=0,5$, $p<0,005$) (Abbildung 8). NCAM korrelierte weiters mit dem Hämoglobinwert ($r=0,4$, $p<0,05$). Für die übrigen Variablen gab es keine signifikanten Korrelationen

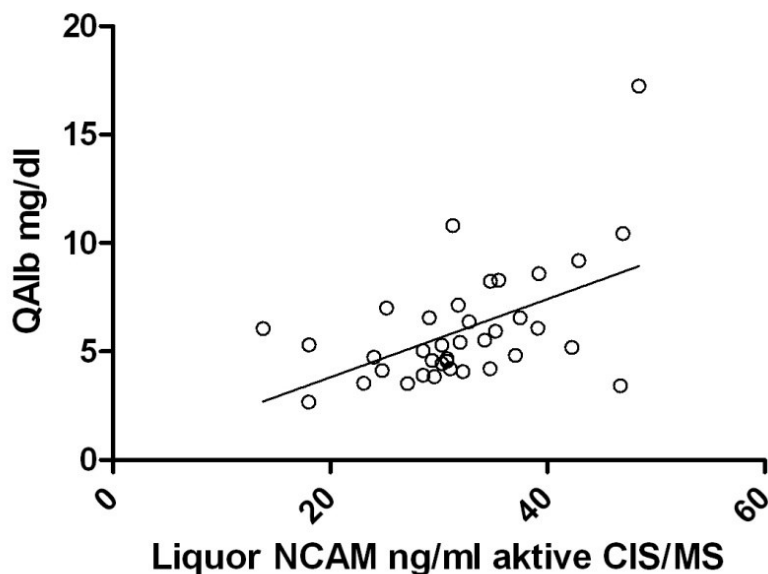


Abbildung 8: Korrelation der NCAM-Werte (ng/ml) bei aktiver CIS/MS mit dem Albuminquotienten (mg/dl) ($r=0,5$, $p<0,005$).

CIS: klinisch isoliertes Syndrom, MS: Multiple Sklerose, QAlb: Albuminquotient

3.4 Korrelation der NCAM-Werte mit Transferrin im Liquor

Bei nicht-aktiver CIS/MS korrelierte NCAM mit Transferrin im Liquor ($r=0,4$ $p<0,05$) (Abbildung 9), bei aktiver Erkrankung gab es keine signifikante Korrelation.

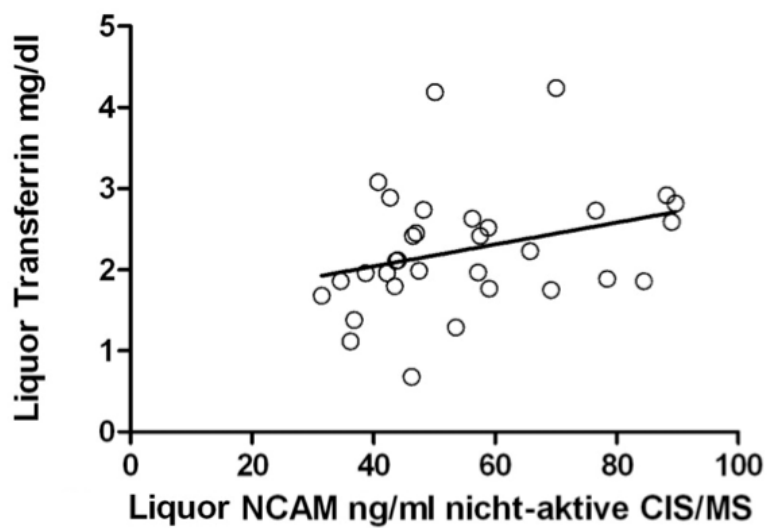


Abbildung 9: Korrelation der NCAM-Werte (ng/ml) bei nicht-aktiver CIS/MS mit Transferrinwerten (mg/dl) im Liquor ($r=0,4$, $p<0,05$).

CIS: klinisch isoliertes Syndrom, MS: Multiple Sklerose.

3.5 Korrelation der NCAM-Werte mit MRT-T2-Läsionslast

Bei der Überprüfung einer möglichen Korrelation von NCAM mit der T2-Läsionslast zeigte sich weder bei nicht-aktivem (Abbildung 10) noch bei aktivem Krankheitsverlauf (Abbildung 11) ein signifikanter Zusammenhang.

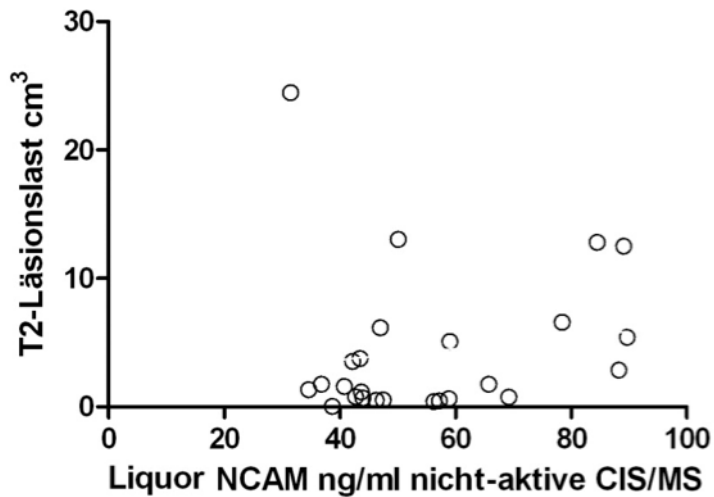


Abbildung 10: Keine Korrelation der NCAM-Werte (ng/ml) bei nicht-aktiver CIS/MS mit der T2-Läsionslast (cm³).

CIS: klinisch isoliertes Syndrom, MS: Multiple Sklerose.

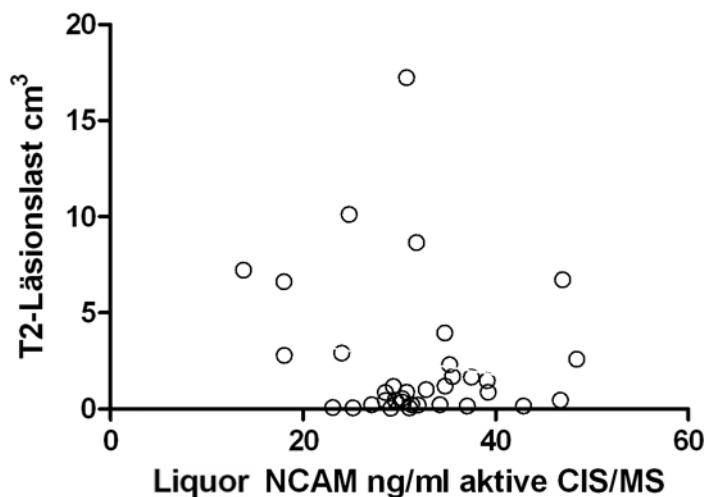


Abbildung 11: Keine Korrelation der NCAM-Werte (ng/ml) bei aktiver CIS/MS mit der T2-Läsionslast (cm³).

CIS: klinisch isoliertes Syndrom, MS: Multiple Sklerose.

4 Diskussion

Erniedrigte NCAM-Werte im Liquor wurden bei Patientinnen und Patienten mit MS wiederholt nachgewiesen (Gnanapavan et al. 2010; Gnanapavan et al. 2013; Massaro 1998). Diese Ergebnisse beschränken sich allerdings nicht nur auf MS. Bei Vergleich mit Kontrollgruppen konnten ebenso bei Alzheimer und Meningitis erniedrigte NCAM-Werte festgestellt werden (Gnanapavan et al. 2010).

Ziel der vorliegenden Studie war es, veränderte NCAM-Werte im Liquor bei Patientinnen und Patienten mit CIS/MS nachzuweisen und diese in Zusammenhang mit Klinik und Bildgebung, Labor- und Liquorparameter zu bringen. Diese Studie konzentriert sich auf NCAM-Veränderungen in einem frühen Krankheitsstadium, daher wurden hauptsächlich Patientinnen und Patienten mit CIS ($N=55$) oder einer frühen Form von RRMS ($N=14$) eingeschlossen.

NCAM ist ein Glykoprotein aus der Superfamilie der Immunglobuline (Berezin et al. 2000; Kiss et al. 2001; Massaro 2002). Es bindet an eine Vielzahl anderer Zelladhäsionsproteine und vermittelt Adhäsion, Führung und Differenzierung während der neuronalen Entwicklung (Weledji & Assob 2014). NCAM beeinflusst Zell-Zell-Interaktionen wie die Zellmigration, das Auswachsen von Neuriten, die Formation von Synapsen im Gehirn, die Synaptogenese und hat Auswirkung auf Lern- und Merkprozesse sowie Nervenregeneration (Stoenica et al. 2006; Weledji & Assob 2014). Neben den hauptsächlich vorkommenden membrangebundenen Formen von NCAM existiert auch eine lösliche Form: lösliches NCAM ist ein normaler Bestandteil des menschlichen Blutes und Liquors (Massaro 2002). Seine Funktion in Körperflüssigkeiten ist jedoch nicht vollständig geklärt (Massaro 2002; Secher 2010).

Als eines der Hauptergebnisse dieser Studie gilt der Nachweis eines signifikanten Unterschiedes der NCAM-Konzentration zwischen nicht-aktiver und aktiver CIS/MS. So zeigten Patientinnen und Patienten in einem aktiven Krankheitsstadium (Lumbalpunktion während eines klinischen Schubgeschehens) signifikant niedrigere NCAM-Werte als jene Patientinnen und Patienten, die sich zum Zeitpunkt der Entnahme des Liquors in Remission befanden.

Auch im Tiermodell der MS, der Experimentellen Autoimmunen Enzephalitis, konnte ein signifikanter Abfall der NCAM-Werte am Höhepunkt der aktiven Krankheitsphase nachgewiesen werden. Nicht nur bei EAE, sondern auch bei MS konnten in derselben Studie bei aktiver Erkrankung niedrigere NCAM-Werte festgestellt werden, wenngleich der Unterschied hier keine Signifikanz erreichte (Gnanapavan et al. 2013).

Im Rahmen der aktiven Krankheitsphase treten T-Zellen in das ZNS ein und triggern eine Kaskade an Entzündungsreaktionen, die in der Beteiligung weiterer Immunzellen resultiert (Krumbholz et al. 2006). Die massive Infiltration des Gehirns oder Rückenmarks mit solchen Komponenten des Immunsystems und die darauf folgende Gewebeschädigung konnten sowohl bei der MS als auch bei der EAE für klinisches Schubgeschehen verantwortlich gemacht werden (Brück 2005). Reduzierte NCAM-Level könnten vermindertes neuronales Wachstum sowie ein herabgesetztes Potential für endogene Reparaturvorgänge reflektieren; die vorliegenden Ergebnisse bestärken die Annahme, dass niedrige NCAM-Werte gewissermaßen das Ausmaß der neuronalen Schädigung widerspiegeln (Gnanapavan et al. 2010).

Im Rahmen einer früheren Studie wurden hingegen bei Personen mit nicht-aktiver Erkrankung niedrigere NCAM-Werte nachgewiesen (Massaro 1998). Die vorliegende Studie ist jedoch die erste, die sich auf frühe Krankheitsphasen fokussiert. Die Ergebnisse anderer Studien könnten demnach darin begründet sein, dass keine so hohe Anzahl an Patientinnen und Patienten mit kurzer Erkrankungsdauer und relativ mildem Erkrankungsverlauf untersucht wurden.

Inwiefern sich die NCAM-Werte nach einem Schub wieder erhöhen und eine eventuelle Regeneration anzeigen, lässt sich mit der vorliegenden Studie nicht beantworten. In einer früheren Studie wurde im Rahmen einer relativ kurzen Verlaufsbeobachtung von vier Wochen ein Konzentrationsanstieg von NCAM nach

einem Schubgeschehen beobachtet: Von 60 Patientinnen und Patienten mit aktiver MS wurden 26 mit Steroiden therapiert, die Übrigen erhielten keine Schubtherapie. Vier Wochen nach Behandlung konnten bei den Personen mit Steroidtherapie deutlich höhere NCAM-Werte gemessen werden. Im Gegensatz dazu konnte bei zehn Patientinnen und Patienten mit nicht-aktiver MS und gleichem Behandlungsregime keine wesentliche Änderung der NCAM-Werte erreicht werden. Demnach müssen laut dem Autor zwei Bedingungen gemeinsam erfüllt sein, um einen Anstieg von NCAM im Liquor zu beobachten: die Patientinnen und Patienten müssen sich in einer akuten Krankheitsphase befinden und einer Steroidbehandlung unterzogen werden (Massaro 2002).

In unserer Studie konnte kein signifikanter Unterschied der NCAM-Werte zwischen CIS und MS gezeigt werden. In Studien aus 2010 und 2013 wurde eine Reduktion der NCAM-Werte bei RRMS gegenüber CIS nachgewiesen (Gnanapavan et al. 2010; Gnanapavan et al. 2013). Es wurde bereits bei der Erstellung der Studienkohorte darauf geachtet, eine möglichst homogene CIS/MS-Gruppe mit vergleichbarer Krankheitsdauer und vergleichbarem Krankheitsverlauf zu wählen. Die direkte Vergleichbarkeit mit den genannten Arbeiten ist außerdem nur eingeschränkt möglich, da in unsere Studie eine höhere Anzahl an Personen mit CIS sowie eine geringere Anzahl an Personen mit RRMS eingeschlossen wurde.

Vergleicht man die NCAM-Werte der vorliegenden Studie mit denen bereits publizierter (Gnanapavan et al. 2010; Gnanapavan et al. 2013), so fallen die wesentlich niedrigeren NCAM-Werte (ng/ml) auf. In der CIS/MS-Gruppe wurden mediane NCAM-Werte von 38,7 ng/ml gemessen, in der gesamten Kontrollgruppe Werte von 43,7 ng/ml. Massaro gibt als Normalwert für NCAM im Liquor 460-1060 ng/ml an (Massaro 2002). Auch in den Studien von Gnanapavan et al. 2010 und Gnanapavan et al. 2013 finden sich bei CIS und RRMS deutlich höhere Werte. Die NCAM-Werte wurden in unserer Studie mittels eines Luminex Testkits (MILLIPLEX™ MAP, Millipore, Billerica, MA, USA) bestimmt, während im Rahmen der Studien von Gnanapavan et al. die Messungen mittels ELISA durchgeführt wurden. Die unterschiedlich verwendeten Testsysteme könnten zum Teil als Ursache für oben beschriebene Konzentrationsunterschiede in Betracht gezogen werden.

Die Auswahl der Kontrollgruppen ist ein wichtiges Kriterium bei der Durchführung einer Biomarkerstudie. Um den Anforderungen an eine geeignete Auswahl von Kontrollgruppen gerecht zu werden, hielten wir uns bei der Festlegung der Kontrollgruppen an standardisierte Richtlinien, die bessere Qualität und Vergleichbarkeit einer MS-Biomarkerstudie gewährleisten sollen. Diese Richtlinie empfiehlt eine Unterteilung verschiedener neurologischer Krankheitsbilder in sechs Subgruppen, wovon zwei für diese Studie relevant waren: die Gruppe der symptomatischen Kontrollen, die sowohl die Kopfschmerzgruppe als auch die Gruppe mit Sensibilitätsstörungen umfasst sowie die Kontrollgruppe der nicht-entzündlichen neurologischen Krankheitsbilder, die Paresen peripherer oder kranialer Nerven einschließt (Teunissen et al. 2013).

Obwohl Sensibilitätsstörungen und Kopfschmerzen derselben Gruppe zugehörig sind, konnte hinsichtlich der NCAM-Werte ein signifikanter Unterschied zwischen diesen beiden Gruppen nachgewiesen werden. Da in der Gruppe der Sensibilitätsstörungen niedrigere NCAM-Werte als in den beiden anderen Gruppen gemessen werden konnten, führten wir diese Gruppe fortan als eigenständige Kontrollgruppe, während Paresen und Kopfschmerzen zu einer gemeinsamen Kontrollgruppe zusammengefügt wurden.

Die vorliegenden Ergebnisse bestärken das genannte Paper hinsichtlich der Wichtigkeit der Homogenisierung von Kontrollgruppen, zeigen aber auch, dass zumindest bei gewissen Fragestellungen noch genauer differenziert gehört, um die Kontrollgruppen so einheitlich wie möglich zu halten.

Wie bereits erwähnt, lassen die Ergebnisse der vorliegenden Studie deutlich erkennen, dass NCAM-Werte stark von der Krankheitsaktivität abhängig sind. Dies bestätigt sich auch beim Vergleich mit den Kontrollgruppen. Bei aktiver CIS/MS zeigt sich eine signifikante Reduktion der NCAM-Werte im Vergleich mit der Gruppe mit Paresen/Kopfschmerzen, während es zu den Sensibilitätsstörungen keinen signifikanten Unterschied gibt. Bei nicht-aktiver Erkrankung liegen die NCAM-Werte signifikant höher als in der Gruppe mit Sensibilitätsstörungen, wohingegen Paresen/Kopfschmerzen ähnliche Werte zeigen.

Ein weiteres interessantes Ergebnis unserer Studie ist die Korrelation der NCAM-Werte mit Transferrin im Liquor bei nicht-aktiver CIS/MS. Niedrigere NCAM-Werte korrelierten mit niedrigeren Transferrinwerten. Unlängst wurde reduziertes Transferrin im Liquor bei CIS/MS-Patientinnen und -Patienten in einer frühen Krankheitsphase nachgewiesen. Die Autorinnen und Autoren sahen dies als mögliche Konsequenz eines Überschusses an freiem Eisen (Khalil et al. 2014).

Einer gestörten Regulation des Eisenmetabolismus und der daraus resultierenden Zytotoxizität wird bei der MS zunehmend eine Rolle zugeschrieben (Stephenson et al. 2014). Erhöhte Eisenablagerung im Gehirn konnte bei MS wiederholt nachgewiesen werden (Khalil et al. 2011). Die Ursachen hierfür sind jedoch noch ungeklärt (Khalil et al. 2014). Es stellt sich die Frage, ob die erhöhte Eisenablagerung ein Epiphänomen der Erkrankung darstellt und inwiefern dies mit einer Schädigung des Gehirns assoziiert ist.

Eisen stellt jedoch ein wichtiges Element für den physiologischen neuronalen Metabolismus dar. Zu viel Eisen im Gehirn kann wiederum über oxidativen Stress zu toxischen Effekten und daraus resultierender Neurodegeneration führen (Zecca et al. 2004).

Bei MS findet sich eine Anhäufung von Eisen in der grauen Substanz bei gleichzeitiger Verminderung desselben in der NAWM (Stephenson et al. 2014). Das Ausmaß der Eisenablagerung in der NAWM verringert sich mit zunehmender Erkrankungsdauer (Hametner et al. 2013).

Obwohl ein Überangebot an freiem Eisen zytotoxische Effekte entfalten kann, sind dennoch adäquate Konzentrationen von Eisen für die normale Zellfunktion und -reparatur von großer Bedeutung. Somit müssen Eisenwerte stets zwischen zu hohen und zu niedrigen Grenzen balanciert werden. Normale Eisenwerte werden unter anderem zur Synthese und Aufrechterhaltung von Myelin benötigt, was darauf hinweist, dass Eisen für die Aktivität und Integrität von Oligodendrozyten bedeutsam ist; es könnte demnach eine wichtige Voraussetzung für Myelinisierungsvorgänge darstellen (Abbildung 12) (Stephenson et al. 2014).

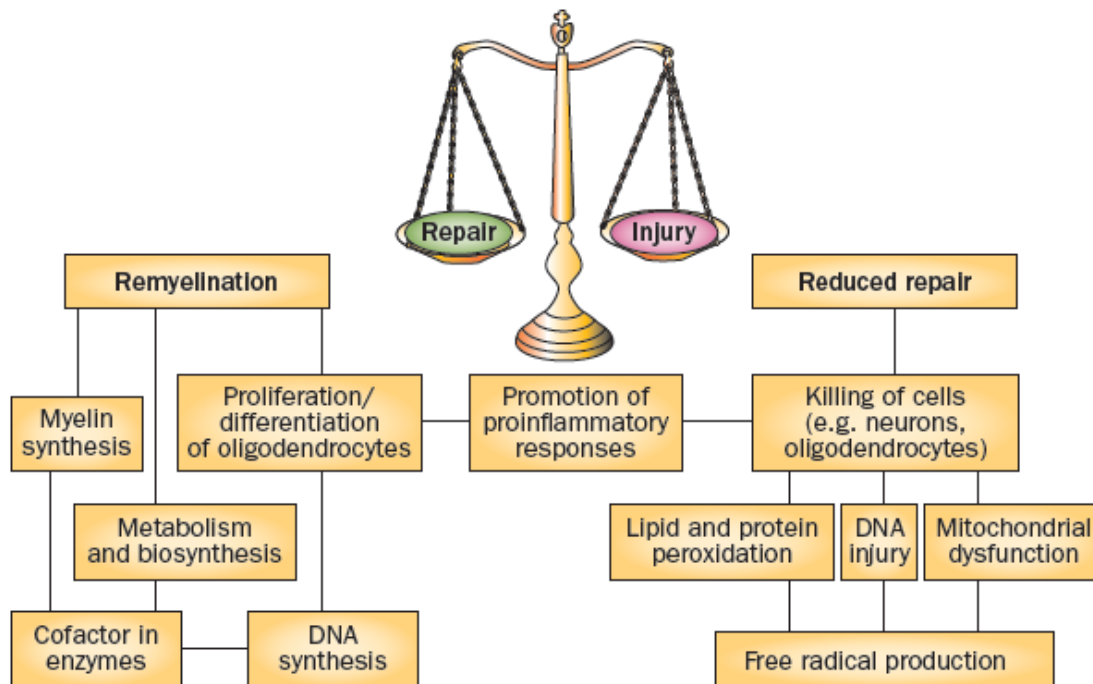


Abbildung 12: Balance zwischen schädlichen und trophischen Eigenschaften von Eisen (Stephenson et al. 2014)

Reprinted by permission from Macmillan Publishers Ltd: Nature Reviews Neurology, Vol number 10, Erin Stephenson, Nabeela Nathoo, Yasamin Mahjoub, Jeff F. Dunn, V.Wee Yong, Iron in multiple sclerosis: roles in neurodegeneration and repair, copyright 2014

Nach einem demyelinisierenden Ereignis kann es zur Wiederherstellung der Myelinscheide durch Remyelinisierung kommen. Hierbei proliferieren lokale Oligodendrozyten-Vorläufer-Zellen (OPCs) als Antwort auf Schädigung oder Destruktion von Oligodendrozyten, die dann an den Ort des Defekts wandern, um dort zu reifen Oligodendrozyten zu differenzieren (Crawford et al. 2013).

An diesen Vorgängen sind eisenhaltige Enzyme beteiligt (Abbildung 13). Demnach könnte das Eisen in Oligodendrozyten einen wichtigen Einfluss auf Remyelinisierung und die daraus resultierende Wiederherstellung von Neuronen haben. Eisenarme Oligodendrozyten und herabgesetzte Verfügbarkeit von Eisen führen zu reduzierter OPC-Proliferation und Oligodendrozytendifferenzierung sowie zu reduzierter Remyelinisierung. Eine Dysregulation oder Anhäufung von Eisen kann wiederum zur Produktion von Hydroxylradikalen und damit einhergehender Schädigung führen (Stephenson et al. 2014).

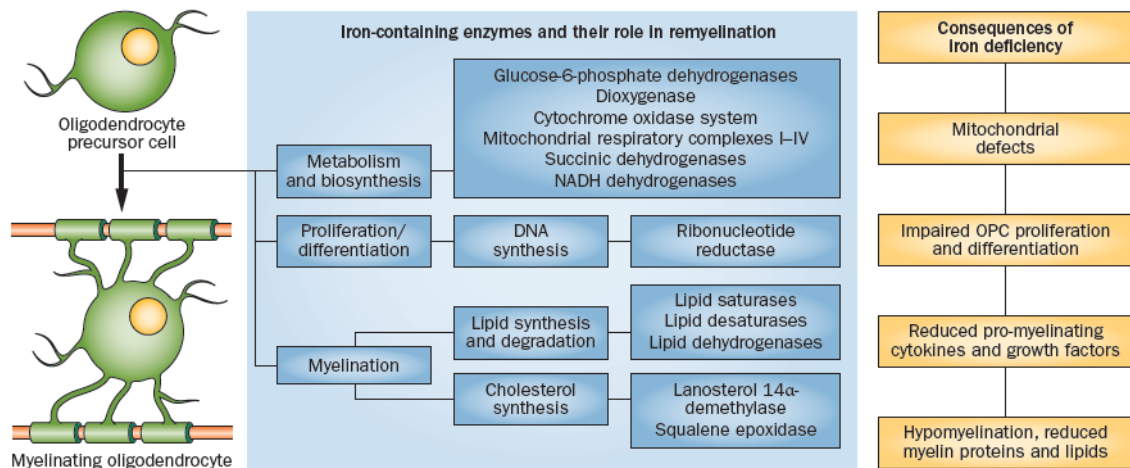


Abbildung 13: Eisenhaltige Enzyme und deren Rolle bei Remyelinisierung sowie die Konsequenzen eines Eisenmangels (Stephenson et al. 2014)

Reprinted by permission from Macmillan Publishers Ltd: Nature Reviews Neurology, Vol number 10, Erin Stephenson, Nabeela Nathoo, Yasamin Mahjoub, Jeff F. Dunn, V. Wee Yong, Iron in multiple sclerosis: roles in neurodegeneration and repair, copyright 2014

Im Gehirn einer oder eines MS-Erkrankten kommt es zu immer wiederkehrenden Schädigungen und darauf folgende Reparaturvorgänge. Es werden noch weitere Arbeiten benötigt um zu untersuchen, inwiefern eine Störung der Eisenhomöostase vor allem im chronisch erkrankten Gehirn das Fortschreiten der Erkrankung und das Potential für Remyelinisierungsvorgänge beeinflusst.

In einer aktuellen Studie konnte eine Korrelation höherer Transferrin- und Ferritinwerte im Liquor mit niedrigeren EDSS-Werten nachgewiesen werden (Khalil et al. 2014).

Es konnte nur bei nicht-aktiver CIS/MS eine Korrelation von NCAM mit Transferrin im Liquor festgestellt werden. Eisen könnte nach dem Ende einer immunologischen Attacke für die Regeneration wichtig sein und über verschiedene Faktoren auch einen direkten oder indirekten Anstieg von NCAM bewirken.

Unsere Ergebnisse unterstützen demnach die Hypothese, dass Eisen im Gehirn neben schädlichen ebenso positive Auswirkungen vermitteln könnte (Stephenson et al. 2014).

Bei der Korrelation der Ergebnisse mit klinischen Parametern konnte weder bei aktivem noch bei nicht-aktivem Krankheitsverlauf ein Zusammenhang festgestellt werden.

In einer aktuellen Studie konnte eine negative Korrelation der NCAM-Werte zum EDSS-Wert demonstriert werden: je höher der EDSS-Wert, desto niedriger der NCAM-Wert. Hierbei wurden jedoch ebenso Personen mit SPMS und PPMS in die Studie eingeschlossen (Gnanapavan et al. 2013). Eine progrediente Verlaufsform kennzeichnet sich durch anhaltende Zunahme der Beeinträchtigungen, dies wiederum definiert sich über eine Verschlechterung des EDSS-Wertes, die über x Monate anhält (Lublin et al. 2014). Da in der genannten Studie (Gnanapavan et al. 2013) die niedrigsten NCAM-Werte bei Personen mit SPMS gemessen wurden und diese Verlaufsform höhere EDSS-Werte erwarten lässt, kann sich die negative Korrelation möglicherweise dadurch erklären.

Es bestand weder bei nicht-aktiver noch bei aktiver CIS/MS eine Korrelation der NCAM-Werte zu den klinischen Parametern Alter zu Krankheitsbeginn und Alter bei Lumbalpunktion.

Bei der Korrelation mit Liquor- und Laborparametern konnte ein Zusammenhang von NCAM mit dem Albuminquotienten festgestellt werden. Diese Korrelation bestand allerdings nur bei aktiver Verlaufsform. Lösliches NCAM ist Bestandteil des Serums (Massaro 2002) und erhöhte NCAM-Werte im Serum sind mitunter auch bei Personen mit Krebserkrankungen beschrieben worden (Zoltowska et al. 2001). Demzufolge kann man nicht sicher ausschließen, dass erhöhte Konzentrationen von NCAM im Liquor zum Teil durch passiven Transfer von Serum-NCAM in den Liquor bedingt sind. Eine andere aktuelle Studie konnte keine solche Korrelation von NCAM mit dem Albuminquotienten feststellen (Gnanapavan et al. 2010).

Als abschließende Fragestellung dieser Diplomarbeit versuchten wir zu klären, ob NCAM mit Parametern der Magnetresonanztomographie korreliert und ob veränderte NCAM-Werte mittels Bildgebung nachweisbar sind.

Wir untersuchten hierfür einen möglichen Zusammenhang der NCAM-Werte bei nicht-aktivem sowie bei aktivem Krankheitsverlauf mit der T2-Läsionslast, konnten aber in keinem der beiden Fälle eine signifikante Korrelation nachweisen.

Die T2-Läsionslast war bei den Patientinnen und Patienten generell eher gering, da sich die Patientinnen und Patienten noch in einem frühen Krankheitsstadium befanden.

Es gibt in der Literatur bisher noch keine Studie, die sich der genannten Fragestellung widmet. Weitere Studien sollten follow-up-MRT-Aufnahmen in Zusammenhang mit den NCAM-Werten bringen, um zu überprüfen, ob veränderte NCAM-Werte auf längere Sicht mit Veränderungen in der T2-Läsionslast, sowie mit anderen Variablen, wie zum Beispiel der Ausbildung von Hirnatrophie, in Assoziation gebracht werden können.

Zusammenfassend konnte anhand dieser Studie gezeigt werden, dass veränderte NCAM-Werte bei Multipler Sklerose auch schon in frühen Phasen der Erkrankung vorkommen und diese stark von der Krankheitsaktivität abhängig sind. Weiters ließ sich feststellen, dass auch Korrelationen der NCAM-Werte mit anderen Liquor- oder Laborparametern sowie mit Markern der Eisenmetabolismus der Krankheitsaktivität unterliegen.

Es werden weitere Studien mit follow-up-Design benötigt, um offen gebliebene Fragen zur Rolle von NCAM bei Multipler Sklerose zu klären.

Der Fokus dieser Arbeit richtete sich auf Veränderungen von NCAM in einem frühen Krankheitsstadium. Zukünftige Studien sollten jedoch auch Patientinnen und Patienten mit fortgeschrittener Erkrankung und progredienter Verlaufsform untersuchen, um die Rolle von NCAM sowie die Auswirkungen einer Dysregulation desselben besser verstehen zu können.

5 Literaturverzeichnis

Albrecht P, Bouchachia I, Goebels N, Henke N, Hofstetter HH, Issberner A, et al. (2012) Effects of dimethyl fumarate on neuroprotection and immunomodulation. *J Neuroinflammation*. 9:163.

Alonso A, Hernan MA (2008) Temporal trends in the incidence of multiple sclerosis: a systematic review. *Neurology*. 71(2):129-35.

Alter M, Leibowitz U, Speer J (1966) Risk of multiple sclerosis related to age at immigration to Israel. *Arch Neurol*. 15(3):234-7.

Andersson M, Alvarez-Cermeno J, Bernardi G, Cogato I, Fredman P, Frederiksen J, et al. (1994) Cerebrospinal fluid in the diagnosis of multiple sclerosis: a consensus report. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 57(8):897-902.

Ascherio A, Munger KL (2007a) Environmental risk factors for multiple sclerosis. Part II: Noninfectious factors. *Ann Neurol*. 61(6):504-13.

Ascherio A, Munger KL (2007b) Environmental risk factors for multiple sclerosis. Part I: the role of infection. *Ann Neurol*. 61(4):288-99.

Ascherio A, Munger KL, Simon KC (2010) Vitamin D and multiple sclerosis. *Lancet Neurol*. 9(6):599-612.

Aulchenko YS, Hoppenbrouwers IA, Ramagopalan SV, Broer L, Jafari N, Hillert J, et al. (2008) Genetic variation in the KIF1B locus influences susceptibility to multiple sclerosis. *Nat Genet*. 40(12):1402-3.

Australia and New Zealand Multiple Sclerosis Genetics Consortium (ANZgene) (2009) Genome-wide association study identifies new multiple sclerosis susceptibility loci on chromosomes 12 and 20. *Nat Genet*. 41(7):824-8.

Ban M, Goris A, Lorentzen ÅR, Baker A, Mihalova T, Ingram G, et al. (2009) Replication analysis identifies TYK2 as a multiple sclerosis susceptibility factor. *Eur J Hum Genet*. 17(10):1309-13.

Barkhof F, Brück W, De Groot CJ, Bergers E, Hulshof S, Geurts J, et al. (2003) Remyelinated lesions in multiple sclerosis: magnetic resonance image appearance. *Arch Neurol*. 60(8):1073-81.

Barkhof F, Calabresi PA, Miller DH, Reingold SC (2009) Imaging outcomes for neuroprotection and repair in multiple sclerosis trials. *Nat Rev Neurol*. 5(5):256-66.

Barnett MH, Prineas JW (2004) Relapsing and remitting multiple sclerosis: pathology of the newly forming lesion. *Ann Neurol*. 55(4):458-68.

Baumhackl U, Eibl G, Ganzinger U, Hartung HP, Mamoli B, Pfeiffer KP, et al. (2002) Prevalence of multiple sclerosis in Austria. Results of a nationwide survey. *Neuroepidemiology*. 21(5):226-34.

Berezin V, Bock E, Poulsen FM (2000) The neural cell adhesion molecule. *Curr Opin Drug Discov Devel*. 3(5):605-9.

Bielekova B, Martin R (2004) Development of biomarkers in multiple sclerosis. *Brain*. 127(Pt 7):1463-78.

Breij EC, Brink BP, Veerhuis R, Van den Berg C, Vloet R, Yan R, et al. (2008) Homogeneity of active demyelinating lesions in established multiple sclerosis. *Ann Neurol*. 63(1):16-25.

Brettschneider J, Tumani H, Kiechle U, Muche R, Richards G, Lehmsiek V, et al. (2009) IgG antibodies against measles, rubella, and varicella zoster virus predict conversion to multiple sclerosis in clinically isolated syndrome. *PLoS One*. 4(11):e7638.

Brück W (2005) The pathology of multiple sclerosis is the result of focal inflammatory demyelination with axonal damage. *J Neurol*. 252(5):v3-9.

Cadavid D, Wolansky LJ, Skurnick J, Lincoln J, Cheriyan J, Szczepanowski K, et al. (2009) Efficacy of treatment of MS with IFNbeta-1b or glatiramer acetate by monthly brain MRI in the BECOME study. *Neurology*. 72(23):1976-83.

Challoner PB, Smith KT, Parker JD, MacLeod DL, Coulter SN, Rose TM, et al. (1995) Plaque-associated expression of human herpesvirus 6 in multiple sclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 92(16):7440-4.

Cohen JA, Barkhof F, Comi G, Hartung H, Khatri BO, Montalban X, et al. (2010) Oral fingolimod or intramuscular interferon for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med*. 362(5):402-15.

Cohen JA, Coles AJ, Arnold DL, Confavreux C, Fox EJ, Hartung HP, et al. (2012) Alemtuzumab versus interferon beta 1a as first-line treatment for patients with relapsing-remitting multiple sclerosis: a randomised controlled phase 3 trial. *Lancet*. 380(9856):1819-28.

Coles AJ, Twyman CL, Arnold DL, Cohen JA, Confavreux C, Fox EJ, et al. (2012) Alemtuzumab for patients with relapsing multiple sclerosis after disease-modifying therapy: a randomised controlled phase 3 trial. *Lancet*. 380(9856):1829-39.

Coles AJ, Wing MG, Molyneux P, Paolillo A, Davie CM, Hale G, et al. (1999) Monoclonal antibody treatment exposes three mechanisms underlying the clinical course of multiple sclerosis. *Ann Neurol*. 46(3):296-304.

Comabella M, Montalban X (2014) Body fluid biomarkers in multiple sclerosis. *Lancet Neurol*. 13(1):113-26.

Confavreux C, O'Connor P, Comi G, Freedman MS, Miller AE, Olsson TP, et al. (2014) Oral teriflunomide for patients with relapsing multiple sclerosis (TOWER): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Neurol.* 13(3):247-56.

Crawford A, Chambers C, Franklin R (2013) Remyelination: the true regeneration of the central nervous system. *J Comp Pathol.* 149(2-3):242-54.

De Jager PL, Jia X, Wang J, de Bakker PI, Ottoboni L, Aggarwal NT, et al. (2009) Meta-analysis of genome scans and replication identify CD6, IRF8 and TNFRSF1A as new multiple sclerosis susceptibility loci. *Nat Genet.* 41(7):776-82.

Dean G, Elian M (1997) Age at immigration to England of Asian and Caribbean immigrants and the risk of developing multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 63(5):565-8.

Dean G, Kurtzke JF (1971) On the risk of multiple sclerosis according to age at immigration to South Africa. *Br Med J.* 3(5777):725-9.

Deisenhammer F, Bartos A, Egg R, Gilhus N, Giovannoni G, Rauer S, et al. (2006) Guidelines on routine cerebrospinal fluid analysis. Report from an EFNS task force. *Eur J Neurol.* 13(9):913-22.

DGN/KKNMS Leitlinie zur Diagnose und Therapie der MS (2014) [Internet]. [updated 23.04.2014]. URL: http://www.dmsg.de/dokumentearchiv/dgnkknms_msll_20140423.pdf.

Disanto G, Morahan JM, Barnett MH, Giovannoni G, Ramagopalan SV (2012) The evidence for a role of B cells in multiple sclerosis. *Neurology.* 78(11):823-32.

Donnan PT, Parratt JD, Wilson SV, Forbes RB, O'Riordan JI, Swingler RJ (2005) Multiple sclerosis in Tayside, Scotland: detection of clusters using a spatial scan statistic. *Mult Scler.* 11(4):403-8.

Dutta R, McDonough J, Yin X, Peterson J, Chang A, Torres T, et al. (2006) Mitochondrial dysfunction as a cause of axonal degeneration in multiple sclerosis patients. *Ann Neurol.* 59(3):478-89.

Ebers GC, Sadovnick AD, Risch NJ (1995) A genetic basis for familial aggregation in multiple sclerosis. Canadian Collaborative Study Group. *Nature.* 377(6545):150-1.

Fazekas F, Barkhof F, Filippi M, Grossman RI, Li DK, McDonald WI, et al. (1999) The contribution of magnetic resonance imaging to the diagnosis of multiple sclerosis. *Neurology.* 53(3):448-56.

Felgenhauer K, Schliep G, Rapic N (1976) Evaluation of the blood-CSF barrier by protein gradients and the humoral immune response within the central nervous system. *J Neurol Sci.* 30(1):113-28.

Ferguson B, Matyszak MK, Esiri MM, Perry VH (1997) Axonal damage in acute multiple sclerosis lesions. *Brain*. 120 (Pt 3):393-9.

Filippi M, Paty DW, Kappos L, Barkhof F, Compston DA, Thompson AJ, et al. (1995) Correlations between changes in disability and T2-weighted brain MRI activity in multiple sclerosis: a follow-up study. *Neurology*. 45(2):255-60.

Filippi M, Rocca MA (2011) MR imaging of multiple sclerosis. *Radiology*. 259(3):659-81.

Filippi M, Rocca MA, Barkhof F, Brück W, Chen JT, Comi G, et al. (2012) Association between pathological and MRI findings in multiple sclerosis. *Lancet Neurol*. 11(4):349-60.

Flachenecker P, Zettl UK (2012) Krankheitsverlauf und Prognose. In: Schmidt RM, Hoffmann FA, Hrsg. *Multiple Sklerose*. 5. Auflage. München: Elsevier Urban&Fischer, S. 59-67.

Freitag P, Kappos L, Radü EW (2000) Stellenwert der Magnetresonanztomographie bei Diagnose und Krankheitsmonitoring der Multiplen Sklerose. *Schweiz Arch Neurol Psychiatr*. 151(2):47-56.

Friese MA, Fugger L (2009) Pathogenic CD8(+) T cells in multiple sclerosis. *Ann Neurol*. 66(2):132-41.

Giovannoni G (2006) Multiple sclerosis cerebrospinal fluid biomarkers. *Dis Markers*. 22(4):187-96.

Giovannoni G, Thompson EJ (1998) Urinary markers of disease activity in multiple sclerosis. *Mult Scler*. 4(3):247-53.

Gnanapavan S, Grant D, Illes-Toth E, Lakdawala N, Keir G, Giovannoni G (2010) Neural cell adhesion molecule—Description of a CSF ELISA method and evidence of reduced levels in selected neurological disorders. *J Neuroimmunol*. 225(1-2):118-22.

Gnanapavan S, Ho P, Heywood W, Jackson S, Grant D, Rantell K, et al. (2013) Progression in multiple sclerosis is associated with low endogenous NCAM. *J Neurochem*. 125(5):766-73.

Gold R, Kappos L, Arnold DL, Bar-Or A, Giovannoni G, Selmaj K, et al. (2012) Placebo-controlled phase 3 study of oral BG-12 for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med*. 367(12):1098-107.

Goldschmidt T, Antel J, König FB, Brück W, Kuhlmann T (2009) Remyelination capacity of the MS brain decreases with disease chronicity. *Neurology*. 72(22):1914-21.

Hader WJ, Irvine DG, Schiefer HB (1990) A cluster-focus of multiple sclerosis at Henribourg, Saskatchewan. *Can J Neurol Sci*. 17(4):391-4.

- Haider L, Fischer MT, Frischer JM, Bauer J, Höftberger R, Botond G, et al. (2011) Oxidative damage in multiple sclerosis lesions. *Brain*. 134(Pt 7):1914-24.
- Hallgren B, Sourander P (1958) The effect of age on the non-haemin iron in the human brain. *J Neurochem*. 3(1):41-51.
- Hametner S, Wimmer I, Haider L, Pfeifenbring S, Brück W, Lassmann H (2013) Iron and neurodegeneration in the multiple sclerosis brain. *Ann Neurol*. 74(6):848-61.
- Hartung H, Gonsette R, König N, Kwiecinski H, Guseo A, Morrissey SP, et al. (2002) Mitoxantrone in progressive multiple sclerosis: a placebo-controlled, double-blind, randomised, multicentre trial. *Lancet*. 360(9350):2018-25.
- Hayes CE, Cantorna MT, DeLuca HF (1997) Vitamin D and multiple sclerosis. *Proc Soc Exp Biol Med*. 216(1):21-7.
- Hooge JP, Redekop WK (1992) Multiple sclerosis with very late onset. *Neurology*. 42(10):1907-10.
- Hoppenbrouwers I, Aulchenko Y, Ebers GC, Ramagopalan S, Oostra B, Van Duijn C, et al. (2008) *EVI5* is a risk gene for multiple sclerosis. *Genes Immun*. 9(4):334-7.
- International Multiple Sclerosis Genetics Consortium (IMSGC) (2009) The expanding genetic overlap between multiple sclerosis and type 1 diabetes. *Genes Immun*. 10(1):11-4.
- International Multiple Sclerosis Genetics Consortium (IMSGC), Hafler DA, Compston A, Sawcer S, Lander ES, Daly MJ, et al. (2007) Risk alleles for multiple sclerosis identified by a genome-wide study. *N Engl J Med*. 357(9):851-62.
- International Multiple Sclerosis Genetics Consortium (IMSGC), Wellcome Trust Case Control Consortium 2, Sawcer S, Hellenthal G, Pirinen M, Spencer CC, et al. (2011) Genetic risk and a primary role for cell-mediated immune mechanisms in multiple sclerosis. *Nature*. 476(7359):214-9.
- Jacobs LD, Beck RW, Simon JH, Kinkel RP, Brownschidle CM, Murray TJ, et al. (2000) Intramuscular interferon beta-1a therapy initiated during a first demyelinating event in multiple sclerosis. *N Engl J Med*. 343(13):898-904.
- Johnson KP, Brooks BR, Cohen JA, Ford CC, Goldstein J, Lisak RP, et al. (1995) Copolymer 1 reduces relapse rate and improves disability in relapsing-remitting multiple sclerosis: results of a phase III multicenter, double-blind placebo-controlled trial. The Copolymer 1 Multiple Sclerosis Study Group. *Neurology*. 45(7):1268-76.
- Kappos L, Radue EW, O'Connor P, Polman C, Hohlfeld R, Calabresi P, et al. (2010) A placebo-controlled trial of oral fingolimod in relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med*. 362(5):387-401.

Katsavos S, Anagnostouli M (2013) Biomarkers in multiple sclerosis: an up-to-date overview. *Mult Scler Int.* 2013:340508.

Kermode AG, Thompson AJ, Tofts P, MacManus DG, Kendall BE, Kingsley DP, et al. (1990) Breakdown of the blood-brain barrier precedes symptoms and other MRI signs of new lesions in multiple sclerosis. Pathogenetic and clinical implications. *Brain.* 113 (Pt 5):1477-89.

Khalil M, Enzinger C, Langkammer C, Tscherner M, Wallner-Blazek M, Jehna M, et al. (2009) Quantitative assessment of brain iron by R(2)* relaxometry in patients with clinically isolated syndrome and relapsing-remitting multiple sclerosis. *Mult Scler.* 15(9):1048-54.

Khalil M, Riedlbauer B, Langkammer C, Enzinger C, Ropele S, Stojakovic T, et al. (2014) Cerebrospinal fluid transferrin levels are reduced in patients with early multiple sclerosis. *Mult Scler.* 20(12):1569-77.

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

Kiryushko D, Berezin V, Bock E (2004) Regulators of neurite outgrowth: role of cell adhesion molecules. *Ann N Y Acad Sci.* 1014:140-54.

Kiss JZ, Troncoso E, Djebbara Z, Vutskits L, Muller D (2001) The role of neural cell adhesion molecules in plasticity and repair. *Brain Res Brain Res Rev.* 36(2-3):175-84.

Kornek B, Storch MK, Weissert R, Wallstroem E, Stefferl A, Olsson T, et al. (2000) Multiple sclerosis and chronic autoimmune encephalomyelitis: a comparative quantitative study of axonal injury in active, inactive, and remyelinated lesions. *Am J Pathol.* 157(1):267-76.

Krumbholz M, Derfuss T, Hohlfeld R, Meinl E (2012) B cells and antibodies in multiple sclerosis pathogenesis and therapy. *Nat Rev Neurol.* 8(11):613-23.

Krumbholz M, Meinl E (2012) Immunpathogenese. In: Schmidt RM, Hoffmann FA, Hrsg. *Multiple Sklerose.* 5. Auflage. München: Elsevier Urban&Fischer, S. 37-47.

Krumbholz M, Theil D, Cepok S, Hemmer B, Kivisakk P, Ransohoff RM, et al. (2006) Chemokines in multiple sclerosis: CXCL12 and CXCL13 up-regulation is differentially linked to CNS immune cell recruitment. *Brain.* 129(Pt 1):200-11.

Kurtzke JF (1966) An epidemiologic approach to multiple sclerosis. *Arch Neurol.* 14(2):213-22.

Kurtzke JF (1983) Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology.* 33(11):1444-52.

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

- Kurtzke JF, Gudmundsson KR, Bergmann S (1982) Multiple sclerosis in Iceland: 1. Evidence of a postwar epidemic. *Neurology*. 32(2):143-50.
- Kurtzke JF, Hyllested K (1979) Multiple sclerosis in the Faroe Islands: I. Clinical and epidemiological features. *Ann Neurol*. 5(1):6-21.
- Kutzelnigg A, Lucchinetti CF, Stadelmann C, Brück W, Rauschka H, Bergmann M, et al. (2005) Cortical demyelination and diffuse white matter injury in multiple sclerosis. *Brain*. 128(Pt 11):2705-12.
- Langkammer C, Liu T, Khalil M, Enzinger C, Jehna M, Fuchs S, et al. (2013) Quantitative susceptibility mapping in multiple sclerosis. *Radiology*. 267(2):551-9.
- Lassmann H (2010) Axonal and neuronal pathology in multiple sclerosis: what have we learnt from animal models. *Exp Neurol*. 225(1):2-8.
- Lassmann H, Brück W, Lucchinetti CF (2007) The immunopathology of multiple sclerosis: an overview. *Brain Pathol*. 17(2):210-8.
- Li DK, Held U, Petkau J, Daumer M, Barkhof F, Fazekas F, et al. (2006) MRI T2 lesion burden in multiple sclerosis: a plateauing relationship with clinical disability. *Neurology*. 66(9):1384-9.
- Link H, Tibbling G (1977) Principles of albumin and IgG analyses in neurological disorders. III. Evaluation of IgG synthesis within the central nervous system in multiple sclerosis. *Scand J Clin Lab Invest*. 37(5):397-401.
- Lubetzki C, Williams A, Stankoff B (2005) Promoting repair in multiple sclerosis: problems and prospects. *Curr Opin Neurol*. 18(3):237-44.
- Lublin FD, Reingold SC (1996) 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*. 46(4):907-11.
- Lublin FD, Reingold SC, Cohen JA, Cutter GR, Sorensen PS, Thompson AJ, et al. (2014) Defining the clinical course of multiple sclerosis: The 2013 revisions. *Neurology*. 83(3): 278–86.
- Lucchinetti C, Brück W, Parisi J, Scheithauer B, Rodriguez M, Lassman H (2000) Heterogeneity of multiple sclerosis lesions: implications for the pathogenesis of demyelination. *Ann Neurol*. 47(6):707-17.
- Lucchinetti CF, Popescu BF, Bunyan RF, Moll NM, Roemer SF, Lassmann H, et al. (2011) Inflammatory cortical demyelination in early multiple sclerosis. *N Engl J Med*. 365(23):2188-97.
- Mahad D, Lassmann H, Turnbull D (2008) Review: mitochondria and disease progression in multiple sclerosis. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 34(6):577-89.

Massaro AR (1998) Are there indicators of remyelination in blood or CSF of multiple sclerosis patients? *Mult Scler.* 4(3):228-31.

Massaro AR (2002) The role of NCAM in remyelination. *Neurol Sci.* 22(6):429-35.

McDonald WI, Compston A, Edan G, Goodkin D, Hartung H, Lublin FD, et al. (2001) Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. *Ann Neurol.* 50(1):121-7.

McFarland HF, Martin R (2007) Multiple sclerosis: a complicated picture of autoimmunity. *Nat Immunol.* 8(9):913-9.

Mikol DD, Barkhof F, Chang P, Coyle PK, Jeffery DR, Schwid SR, et al. (2008) Comparison of subcutaneous interferon beta-1a with glatiramer acetate in patients with relapsing multiple sclerosis (the REbif vs Glatiramer Acetate in Relapsing MS Disease [REGARD] study): a multicentre, randomised, parallel, open-label trial. *Lancet Neurol.* 7(10):903-14.

Miller D, Barkhof F, Montalban X, Thompson A, Filippi M (2005) Clinically isolated syndromes suggestive of multiple sclerosis, part I: natural history, pathogenesis, diagnosis, and prognosis. *Lancet Neurol.* 4(5):281-8.

Miller DH, Chard DT, Ciccarelli O (2012) Clinically isolated syndromes. *Lancet Neurol.* 11(2):157-69.

Minagar A, Alexander JS (2003) Blood-brain barrier disruption in multiple sclerosis. *Mult Scler.* 9(6):540-9.

Montalban X, Tintoré M, Swanton J, Barkhof F, Fazekas F, Filippi M, et al. (2010) MRI criteria for MS in patients with clinically isolated syndromes. *Neurology.* 74(5):427-34.

Moreau T, Coles A, Wing M, Thorpe J, Miller D, Moseley I, et al. (1996) CAMPATH-1H in multiple sclerosis. *Mult Scler.* 1(6):357-65.

Nielsen TR, Rostgaard K, Nielsen NM, Koch-Henriksen N, Haahr S, Sørensen PS, et al. (2007) Multiple sclerosis after infectious mononucleosis. *Arch Neurol.* 64(1):72-5.

O'Connor P, Filippi M, Arnason B, Comi G, Cook S, Goodin D, et al. (2009) 250 microg or 500 microg interferon beta-1b versus 20 mg glatiramer acetate in relapsing-remitting multiple sclerosis: a prospective, randomised, multicentre study. *Lancet Neurol.* 8(10):889-97.

O'Connor P, Wolinsky JS, Confavreux C, Comi G, Kappos L, Olsson TP, et al. (2011) Randomized trial of oral teriflunomide for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med.* 365(14):1293-303.

Patrikios P, Stadelmann C, Kutzelnigg A, Rauschka H, Schmidbauer M, Laursen H, et al. (2006) Remyelination is extensive in a subset of multiple sclerosis patients. *Brain*. 129(Pt 12):3165-72.

Petzold A (2013) Intrathecal oligoclonal IgG synthesis in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol*. 262(1-2):1-10.

Piehl F (2014) A changing treatment landscape for multiple sclerosis: challenges and opportunities. *J Intern Med*. 275(4):364-81.

Pohl D, Hennemuth I, Von Kries R, Hanefeld F (2007) Paediatric multiple sclerosis and acute disseminated encephalomyelitis in Germany: results of a nationwide survey. *Eur J Pediatr*. 166(5):405-12.

Polman C, Barkhof F, Kappos L, Pozzilli C, Sandbrink R, Dahlke F, et al. (2003) Oral interferon beta-1a in relapsing-remitting multiple sclerosis: a double-blind randomized study. *Mult Scler*. 9(4):342-8.

Polman CH, O'Connor PW, Havrdova E, Hutchinson M, Kappos L, Miller DH, et al. (2006) A randomized, placebo-controlled trial of natalizumab for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med*. 354(9):899-910.

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

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

Poser CM, Paty DW, Scheinberg L, McDonald WI, Davis FA, Ebers GC, et al. (1983) New diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines for research protocols. *Ann Neurol*. 13(3):227-31.

Prineas J, Barnard R, Kwon E, Sharer L, Cho E (1993) Multiple sclerosis: Remyelination of nascent lesions: Remyelination of nascent lesions. *Ann Neurol*. 33(2):137-51.

Pugliatti M, Rosati G, Carton H, Riise T, Drulovic J, Vécsei L, et al. (2006) The epidemiology of multiple sclerosis in Europe. *Eur J Neurol*. 13(7):700-22.

Riise T, Gronning M, Klauber MR, Barrett-Connor E, Nyland H, Albrektsen G (1991) Clustering of residence of multiple sclerosis patients at age 13 to 20 years in Hordaland, Norway. *Am J Epidemiol*. 133(9):932-9.

Riise T, Nortvedt MW, Ascherio A (2003) Smoking is a risk factor for multiple sclerosis. *Neurology*. 61(8):1122-4.

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

Roxburgh RH, Seaman SR, Masterman T, Hensiek AE, Sawcer SJ, Vukusic S, et al. (2005) Multiple Sclerosis Severity Score: using disability and disease duration to rate disease severity. *Neurology*. 64(7):1144-51.

Rubio JP, Stankovich J, Field J, Tubridy N, Marriott M, Chapman C, et al. (2008) Replication of KIAA0350, IL2RA, RPL5 and CD58 as multiple sclerosis susceptibility genes in Australians. *Genes Immun*. 9(7):624-30.

Rudick RA, Stuart WH, Calabresi PA, Confavreux C, Galetta SL, Radue E, et al. (2006) Natalizumab plus interferon beta-1a for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med*. 354(9):911-23.

Russi AE, Brown MA (2015) The meninges: new therapeutic targets for multiple sclerosis. *Transl Res*. 165(2):255-69.

Sadovnick A, Armstrong H, Rice G, Bulman D, Hashimoto L, Party D, et al. (1993) A population-based study of multiple sclerosis in twins: Update. *Ann Neurol*. 33(3):281-5.

Sadovnick AD, Dyment D, Ebers GC (1997) Genetic epidemiology of multiple sclerosis. *Epidemiol Rev*. 19(1):99-106.

Sailer M, Fazekas F, Gass A, Kappos L, Radue E, Rieckmann P, et al. (2008) Zerebrale und spinale MRT-Untersuchung bei Patienten mit klinisch isoliertem Syndrom oder gesicherter Multipler Sklerose. *Rofo*. 180(11):994-1001.

Salzer J, Hallmans G, Nystrom M, Stenlund H, Wadell G, Sundstrom P (2013) Smoking as a risk factor for multiple sclerosis. *Mult Scler*. 19(8):1022-7.

Sangelaji B, Nabavi SM, Estebarsari F, Banshi MR, Rashidian H, Jamshidi E, et al. (2014) Effect of Combination Exercise Therapy on Walking Distance, Postural Balance, Fatigue and Quality of Life in Multiple Sclerosis Patients: A Clinical Trial Study. *Iran Red Crescent Med J*. 16(6):e17173.

Schmidt RM, Hoffmann FA, Hrsg (2012) Multiple Sklerose. 5. Auflage. München: Elsevier Urban&Fischer.

Schmidt RM, Linke E, Zimmermann K (2012) Liquor- und Blutuntersuchungen. In: Schmidt RM, Hoffmann FA, Hrsg. Multiple Sklerose. 5. Auflage. München: Elsevier Urban&Fischer, S. 109-127.

Schumacher GA, Beebe G, Kibler RF, Kurland LT, Kurtzke JF, McDowell F, et al. (1965) Problems of experimental trials of therapy in multiple sclerosis: report by the panel on the evaluation of experimental trials of therapy in multiple sclerosis. *Ann N Y Acad Sci*. 122:552-68.

Secher T (2010) Soluble NCAM. *Adv Exp Med Biol.* 663:227-42

Soldan SS, Berti R, Salem N, Secchiero P, Flamand L, Calabresi PA, et al. (1997) Association of human herpes virus 6 (HHV-6) with multiple sclerosis: increased IgM response to HHV-6 early antigen and detection of serum HHV-6 DNA. *Nat Med.* 3(12):1394-7.

Sorensen PS (2014) New management algorithms in multiple sclerosis. *Curr Opin Neurol.* 27(3):246-59.

Sriram S, Mitchell W, Stratton C (1998) Multiple sclerosis associated with Chlamydia pneumoniae infection of the CNS. *Neurology.* 50(2):571-2.

Sriram S, Stratton CW, Yao S, Tharp A, Ding L, Bannan JD, et al. (1999) Chlamydia pneumoniae infection of the central nervous system in multiple sclerosis. *Ann Neurol.* 46(1):6-14.

Stephenson E, Nathoo N, Mahjoub Y, Dunn JF, Yong VW (2014) Iron in multiple sclerosis: roles in neurodegeneration and repair. *Nat Rev Neurol.* 10(8):459-68.

Stoenica L, Senkov O, Gerardy-Schahn R, Weinhold B, Schachner M, Dityatev A (2006) In vivo synaptic plasticity in the dentate gyrus of mice deficient in the neural cell adhesion molecule NCAM or its polysialic acid. *Eur J Neurosci.* 23(9):2255-64.

Storch MK, Piddlesden S, Haltia M, Iivanainen M, Morgan P, Lassmann H (1998) Multiple sclerosis: in situ evidence for antibody- and complement-mediated demyelination. *Ann Neurol.* 43(4):465-71.

Stuke K, Flachenecker P, Zettl UK, Elias WG, Freidel M, Haas J, et al. (2009) Symptomatology of MS: results from the German MS Registry. *J Neurol.* 256(11):1932-5.

Swanton JK, Fernando K, Dalton CM, Miszkiel KA, Thompson AJ, Plant GT, et al. (2006) Modification of MRI criteria for multiple sclerosis in patients with clinically isolated syndromes. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 77(7):830-3.

Swanton JK, Rovira A, Tintore M, Altmann DR, Barkhof F, Filippi M, et al. (2007) MRI criteria for multiple sclerosis in patients presenting with clinically isolated syndromes: a multicentre retrospective study. *Lancet Neurol.* 6(8):677-86.

Teunissen C, Menge T, Altintas A, Alvarez-Cermeno JC, Bertolotto A, Berven FS, et al. (2013) Consensus definitions and application guidelines for control groups in cerebrospinal fluid biomarker studies in multiple sclerosis. *Mult Scler.* 19(13):1802-9.

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

Thacker EL, Mirzaei F, Ascherio A (2006) Infectious mononucleosis and risk for multiple sclerosis: A meta-analysis. *Ann Neurol.* 59(3):499-503.

The IFNB Multiple Sclerosis Study Group (1993) Interferon beta-1b is effective in relapsing-remitting multiple sclerosis. I. Clinical results of a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Neurology.* 43(4):655-61.

Thompson AJ, Kermode AG, MacManus DG, Kendall BE, Kingsley DP, Moseley IF, et al. (1990) Patterns of disease activity in multiple sclerosis: clinical and magnetic resonance imaging study. *BMJ.* 300(6725):631-4.

Trapp BD, Peterson J, Ransohoff RM, Rudick R, Mörk S, Bö L (1998) Axonal transection in the lesions of multiple sclerosis. *N Engl J Med.* 338(5):278-85.

Trapp BD, Stys PK (2009) Virtual hypoxia and chronic necrosis of demyelinated axons in multiple sclerosis. *Lancet Neurol.* 8(3):280-91.

Tremlett H, Yousefi M, Devonshire V, Rieckmann P, Zhao Y, UBC Neurologists (2009) Impact of multiple sclerosis relapses on progression diminishes with time. *Neurology.* 73(20):1616-23.

Truyen L, van Waesberghe JH, van Walderveen MA, van Oosten BW, Polman CH, Hommes OR, et al. (1996) Accumulation of hypointense lesions ("black holes") on T1 spin-echo MRI correlates with disease progression in multiple sclerosis. *Neurology.* 47(6):1469-76.

US Food and Drug Administration (2012) [Internet]. [updated 18.09.2012; zitiert 29.04.2015]. URL: <http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm319277.htm>.

van den Elskamp IJ, Knol DL, Vrenken H, Karas G, Meijerman A, Filippi M, et al. (2010) Lesional magnetization transfer ratio: a feasible outcome for remyelinating treatment trials in multiple sclerosis. *Mult Scler.* 16(6):660-9.

van Walderveen MA, Kamphorst W, Scheltens P, van Waesberghe JH, Ravid R, Valk J, et al. (1998) Histopathologic correlate of hypointense lesions on T1-weighted spin-echo MRI in multiple sclerosis. *Neurology.* 50(5):1282-8.

Watzlawik J, Warrington AE, Rodriguez M (2010) Importance of oligodendrocyte protection, BBB breakdown and inflammation for remyelination. *Expert Rev Neurother.* 10(3):441-57.

Weinshenker BG, Bass B, Rice GP, Noseworthy J, Carriere W, Baskerville J, et al. (1989) The natural history of multiple sclerosis: a geographically based study. I. Clinical course and disability. *Brain.* 112 (Pt 1):133-46.

Weledji EP, Assob JC (2014) The ubiquitous neural cell adhesion molecule (N-CAM). *Ann Med Surg (Lond).* 3(3):77-81.

Wingerchuk DM, Lucchinetti CF, Noseworthy JH (2001) Multiple sclerosis: current pathophysiological concepts. *Lab Invest.* 81(3):263-81.

Young I, Hall A, Pallis C, Bydder G, Legg N, Steiner R (1981) Nuclear magnetic resonance imaging of the brain in multiple sclerosis. *Lancet.* 2(8255):1063-6.

Zecca L, Youdim MB, Riederer P, Connor JR, Crichton RR (2004) Iron, brain ageing and neurodegenerative disorders. *Nat Rev Neurosci.* 5(11):863-73.

Zoltowska A, Stepinski J, Lewko B, Serkies K, Zamorska B, Roszkiewicz A, et al. (2001) Neural cell adhesion molecule in breast, colon and lung carcinomas. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 49(2):171-4.