

Diplomarbeit

**Biomarker für klinische und subklinische
Krankheitsaktivität bei Multipler Sklerose**

eingereicht von

Daniela Bachmayer

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

Assoz.-Prof. Priv.-Doz. Dr. med. univ. Michael Khalil, PhD

Priv.-Doz. Dr. med. univ. Thomas Seifert-Held, MBA

Graz, am 09.12.2016

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 09.12.2016

Daniela Bachmayer eh

Danksagungen

Ich möchte mich hiermit bei allen bedanken, die mich während der Erstellung dieser Arbeit und auch darüber hinaus unterstützt haben.

Ich danke meinen Betreuern, insbesondere Herrn Assoz. Prof. Priv.-Doz. Dr. med. univ. Michael Khalil, PhD für die hilfreichen Anregungen und Unterstützung. Bei Margarete Voortman, MSc bedanke ich mich herzlich für ihre Hilfsbereitschaft.

Mein größter Dank gilt meiner gesamten Familie, auf die ich in allen Lebenslagen bauen kann und die immer hinter mir steht. Meinen Eltern danke ich dafür, dass sie mir dieses Studium ermöglicht haben und auch meinen Großeltern möchte ich für ihre Unterstützung danken.

Ein Dankeschön an meine Schwester Christina, die mir in den letzten Monaten immer wieder ihre Wohnung zur Verfügung stellte.

Ganz besonderer Dank gilt meinem Freund Gernot, der mit viel Geduld immer motivierende Worte und ein offenes Ohr für mich hatte.

Nicht zuletzt bin ich dankbar für alle meine Freunde, die mich sowohl durch meine Studienzeit als auch bereits in den Jahren davor begleitet haben und mit denen ich viele besondere Momente verbinde.

Inhaltsverzeichnis

Danksagungen	3
Inhaltsverzeichnis	4
Abkürzungen und Erklärungen	6
Abbildungsverzeichnis	7
Tabellenverzeichnis	7
Zusammenfassung	8
Abstract	10
1. Einleitung	11
1.1 Multiple Sklerose im Allgemeinen	11
1.1.1 Epidemiologie	12
1.1.2 Pathophysiologie	12
1.1.3 Diagnose	14
1.1.4 Klinische Untersuchungen	16
1.1.5 Klinischer Verlauf	23
1.1.6 Therapie	25
1.1.7 NEDA	30
1.2 MS-Biomarker im Allgemeinen	32
1.2.1 Definition	32
1.2.2 Die Entwicklung neuer Biomarker	32
1.2.3 MRI und Eisen	34
1.2.4 Body Fluid Biomarker	37
1.2.5 Eisen und MS	39
1.3 Fragestellung	41
2. Material und Methoden	43

2.1 Studiengenehmigung und Patienteneinverständnis.....	43
2.2 Patienten und Patientinnen mit CIS/MS.....	43
2.3 Kontrollgruppe	44
2.4 Studiendaten.....	44
2.5 Gewinnung und Auswertung des Serums.....	46
2.6 MRI	47
2.7 Studienablauf.....	47
2.8 Statistische Auswertung.....	48
3. Ergebnisse	49
3.1 Demographische Daten	49
3.2 Patienten und Patientinnen mit CIS/MS.....	50
3.3 Gruppenergebnisse zu Serum-Ferritin und Serum-Transferrin.....	52
3.4 Korrelationen von Serum-Ferritin bzw. Serum-Transferrin untereinander...	55
3.5 Korrelationen von Serum-Ferritin bzw. Serum-Transferrin mit klinischen und demographischen Daten.....	57
4. Diskussion	59
Anhang.....	66
Literaturverzeichnis	69

Abkürzungen und Erklärungen

bzw. = beziehungsweise

CDMS = Clinically Definite Multiple Sclerosis; klinisch definierte Multiple Sklerose

CIS = Clinically Isolated Syndrome; klinisch-isoliertes Syndrom

Fe = Ferrum; Eisen

Ft = Ferritin

Gd+ = Gadolinium-aufnehmende Läsionen im MR

Gd- = Läsionen ohne Gadoliniumaufnahme im MR

IgG = Immunglobulin G

JCV = John Cunningham Virus; Auslöser der progressiven multifokalen
Leukenzephalopathie

MR = Magnetresonanz

MRI 1 = Zeitpunkt der ersten MR-Untersuchung, Basisuntersuchung

MRI 2 = Zeitpunkt der zweiten MR-Untersuchung, Referenzuntersuchung

MS = Multiple Sklerose

NMO = Neuromyelitis optica

OCB = oligoklonale Banden

PML = progressive multifokale Leukenzephalopathie

PPMS = primary progressive MS; primär progressive MS

RIS = Radiologically Isolated Syndrome; radiologisch-isoliertes Syndrom

RRMS = relapsing-remitting MS; schubhaft-remittierende Form der MS

SPMS = secondary progressive MS; sekundär progressive MS

Trf = Transferrin

ZNS = Zentrales Nervensystem; Gehirn und Rückenmark

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Entwicklung von Black Holes, gezeigt anhand T1-gewichteter MR-Bilder	18
Abbildung 2: Verlaufsformen der MS	23
Abbildung 3: Therapieschema nach der Deutschen Gesellschaft für Neurologie-Leitlinie Diagnostik und Therapie der Multiplen Sklerose (4).....	25
Abbildung 4: Biomarker-Kategorien	33
Abbildung 5: R2* Mapping	36
Abbildung 6: Fenton-Reaktion	39
Abbildung 7: Studienablauf.....	48
Abbildung 8: Serum-Transferrin MRI 1 bei Gd+ vs. Gd- vs. Kontrollgruppe laut Kruskal-Wallis-Test	52
Abbildung 9: Serum-Transferrin MRI 1 bei CIS/MS vs. Kontrollen	53
Abbildung 10: longitudinale Auswertung des Serum-Ferritin bei CIS/MS	54
Abbildung 11: longitudinale Auswertung des Serum-Transferrin bei CIS/MS	54
Abbildung 12: longitudinale Auswertung des Serum-Ferritin und Serum-Transferrin bei Gd+	55
Abbildung 13: longitudinale Auswertung des Serum-Ferritin und Serum-Transferrin bei Gd-	55
Abbildung 14: Korrelationen von Serum-Ferritin MRI 1 zu Serum-Ferritin MRI 2 (links) bzw. Serum-Transferrin MRI 1 zu Serum-Transferrin MRI 2 (rechts).....	56
Abbildung 15: Korrelation von Serum-Ferritin zu Serum-Transferrin bei MRI 1 (links) und MRI 2 (rechts)	57
Abbildung 16: Korrelationen von Serum-Ferritin bei MRI 1 zu Alter bei MRI 1 (links) und Serum-Ferritin bei MRI 2 zu Alter bei MRI 2 (rechts)	58

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Diagnose-Kriterien nach McDonalds 2010 (12)	15
Tabelle 2: Demographische und klinische Daten.....	49
Tabelle 3: Funktionsskala der MS-Symptome nach Kurtzke (26)	66

Zusammenfassung

Hintergrund: Multiple Sklerose (MS) ist eine chronische entzündlich-neurologische Erkrankung, deren wiederkehrende Schübe klinische Krankheitsaktivität repräsentieren. Zusätzlich finden auch subklinische entzündliche Aktivitäten statt, welche bis dato nur mittels MRI festgestellt werden können. Rezente Studien geben Hinweise auf eine potentielle Rolle des Elements Eisen in der Pathophysiologie der MS. Ausgehend von bisherigen Erkenntnissen über die Proteine Transferrin (Trf) und Ferritin (Ft) in Liquor und Serum, wurden deren Serum-Konzentrationen innerhalb einer größeren Studienkohorte gemessen und einer Kontrollgruppe gegenübergestellt. Darüber hinaus wurde ihre Dynamik in longitudinalen Analysen und ihre Korrelationen zu MR-gestützter Krankheitsaktivität untersucht.

Methoden: Die Studienkohorte, bestehend aus Patienten und Patientinnen mit klinisch-isoliertem Syndrom (CIS) (n=31) bzw. MS (n=48), wurde mit Personen mit nicht-entzündlichen neurologischen Erkrankungen (n=30) verglichen. Dabei wurden MR-Untersuchungen an einem 3 Tesla-Gerät mit venöser Blutabnahme und darauffolgender Kontrastmittelgabe durchgeführt, anhand derer die Krankheitsaktivität bestimmt wurde. Klinische und demographische Daten wie Alter, Geschlecht, jährliche Schubrate und EDSS wurden vor jeder Untersuchung erhoben. Die Serum-Ft- und Trf-Konzentrationen wurden mittels Nephelometrie ermittelt, sowie eine diagnostische Liquoranalyse bezüglich Liquor/Serum-Albumin-Quotient, IgG-Index und OCB durchgeführt.

Ergebnisse: Es zeigte sich signifikant erniedrigtes Serum-Trf bei CIS/MS im Vergleich zur Kontrollgruppe ($p=0,009$), welches jedoch in keinem Zusammenhang mit Krankheitsaktivität stand. Die longitudinale Analyse ergab stabile Ft- und Trf-Konzentrationen trotz unterschiedlicher Krankheitsaktivität. Korrelationen des Serum-Ft zum Alter waren nur schwach ausgeprägt, weitere Zusammenhänge mit klinischen und demographischen Daten waren nicht signifikant.

Diskussion: In dieser Studie konnten Hinweise auf Alterationen des Trf im Serum bei MS gefunden werden, jedoch zeigte sich keine Assoziation mit klinischen und

paraklinischen Zeichen der Krankheitsaktivität. Weitere Studien, vor allem unter Berücksichtigung eisenregulatorischer Proteine und progressiver Verlaufsformen, sind erforderlich, um die Rolle der Eisendysregulation bei MS weiter zu erforschen.

Abstract

Background: Multiple sclerosis (MS) is a chronic neurologic inflammatory disease whose relapses represent clinical disease activity. In addition, inflammatory activity may occur subclinical which can to date only be evaluated through MRI. Recent studies suggest that iron plays a potential role in the pathophysiology of MS and there are several findings concerning Ferritin (Ft) and Transferrin (Trf) in liquor and serum of patients with MS. Hence this study compared a sizeable cohort to controls regarding Ft and Trf in serum. It furthermore investigated their dynamics in longitudinal analyses and whether they correlate with MRI-proven disease activity.

Methods: In this study patients with either clinically isolated syndromes (CIS) (n=31) or MS (n=48) were compared to patients with non-inflammatory neurologic diseases (n=30). Each of them received 3 Tesla MRI with venous blood sampling followed by contrast agent administration to determine disease activity. Clinical and demographic data including age, sex, annual relapse rate and EDSS were recorded for every examination. Concentrations of Ft and Trf in serum were ascertained through nephelometry.

Results: Patients with CIS/MS showed significantly reduced serum-Trf compared to controls ($p=0,009$), however correlation to disease activity was not shown. Longitudinal analyses revealed solid Trf and Ft concentrations independent of disease activity. There was only a faintly significant correlation of serum-Ft to age and no other significant correlations to clinical or demographic data was found.

Discussion: This study indicates marginal alterations of Trf in the serum of CIS/MS patients, albeit those changes in concentration were not associated to disease activity. Future studies focusing on iron regulatory proteins and progressive forms of MS will be needed to further elucidate the pathophysiological role of iron in MS.

1. Einleitung

1.1 Multiple Sklerose im Allgemeinen

Multiple Sklerose (MS) ist eine chronisch entzündliche Erkrankung des Zentralen Nervensystems (ZNS), bei der sowohl das Gehirn als auch das Rückenmark von Demyelinisierung und axonalen Schäden betroffen ist.

Gekennzeichnet ist sie durch immer wiederkehrende Krankheitsschübe, ausgelöst durch fokale Entzündungen, die eine typische neurologische Symptomatik aufweisen. Je nach Lokalisation der entzündlichen Läsion können dies motorische, visuelle, sensorische oder vegetative Störungen, Schmerzen oder Fatigue sein.

In frühen Krankheitsphasen bilden sich diese Symptome größtenteils wieder zurück und das Nervengewebe kann sich regenerieren. Die fortschreitende Erkrankung wird durch chronisch progressive Neurodegeneration und ineffiziente Remyelinisierung dominiert, die sich in zunehmender körperlicher Beeinträchtigung äußern. (1,2)

Statistisch gesehen sind mehr Frauen als Männer betroffen und das mediane Alter des Erkrankungsbeginns der schubhaft-remittierenden MS liegt bei 28,7 Jahren. (2,3)

Multiple Sklerose ist eine sehr heterogene Erkrankung, nicht nur in Bezug auf deren Verlaufsform, sondern auch hinsichtlich Symptomen, klinisch-neurologischen Auffälligkeiten und Therapien.

Die Diagnose einer chronischen Erkrankung, die mit zunehmendem Verlauf körperliche Einschränkungen bis hin zur Rollstuhlpflichtigkeit und lebenslange Medikamenteneinnahme bedeutet, verändert das Leben der Betroffenen drastisch. In der Forschung werden die Schwerpunkte daher besonders auf das Verständnis der zugrundeliegenden Pathophysiologie und die Entwicklung individualisierter, früh einsetzbarer Therapien gelegt, um dem Fortschreiten der Erkrankung entgegenzuwirken und den Betroffenen eine bessere Lebensqualität zu ermöglichen.

1.1.1 Epidemiologie

Multiple Sklerose betrifft weltweit ca. 2 Millionen Menschen und die Ursachen dafür sind auf mehrere Faktoren zurückzuführen. (4)

Zum einen spielt die Umwelt eine komplexe Rolle in der Entstehung der Erkrankung. Regionen wie der Norden der USA und Kanada, Nordeuropa und Ost-Australien haben eine höhere Prävalenz als zum Beispiel Afrika oder Indien. Mehrere Studien gaben an, dass Nikotinkonsum, Ernährung, Luftverschmutzung und Toxine das Risiko für MS beeinflussen. Auch Vitamin-D-Mangel, bedingt durch reduzierte Sonneneinstrahlung, wirkt sich auf die Entstehung der Erkrankung aus. (1,5)

Der Einfluss der Genetik auf das Erkrankungsrisiko wurde ebenfalls in Studien gezeigt. Das ans Alter angepasste Risiko eines weißen Nordeuropäers an MS zu erkranken liegt bei 0,3%. Für Kinder von Betroffenen ist es mit 1,83% deutlich erhöht und auch Geschwister von Patienten und Patientinnen weisen mit 3,82% ein höheres Risiko auf. Zu erwähnen ist, dass laut einer Studie weibliche Verwandte stets gefährdeter waren als männliche, allen voran monozygote Zwillinge mit 31%. Mit Zunahme des Grades der Verwandtschaft nimmt das Erkrankungsrisiko für MS ab. (1,6)

1.1.2 Pathophysiologie

Die der MS zugrundeliegende Pathophysiologie ist einerseits durch fokale, entzündlich bedingte Demyelinisierung der Axone des ZNS und andererseits durch diffuse Schädigung der weißen Substanz und des Kortex charakterisiert. (7)

Als Auslöser für die entzündlichen Veränderungen wurden gegen Myelin gerichtete, autoimmunreaktive B- und T-Lymphozyten bei MS-Patienten und Patientinnen festgestellt, die in der Peripherie des Körpers aktiviert werden. Diese Aktivierung führt zu einer Hochregulierung von Adhäsionsmolekülen auf endothelialen Zellen, die es den T-Zellen ermöglicht mit der Blut-Hirn-Schranke zu interagieren und ins ZNS einzudringen. (1,8,9)

Außerhalb des ZNS konnten dysfunktionale regulatorische T-Zellen, deren eigentliche Aufgabe eine Unterdrückung autoimmuner Reaktionen ist, festgestellt

werden. Es gibt Hypothesen, dass diese mangelhafte Immunregulation stärker zur Pathogenese beiträgt als die vermehrte Neubildung autoimmunreaktiver T-Lymphozyten. (8,9)

Aktivierte T-Zellen haben die Fähigkeit, sich in mehrere Subgruppen zu differenzieren und unterschiedliche pro- sowie antiinflammatorische Zytokine zu exprimieren. B-Zellen können sich zu antikörperproduzierenden Plasmazellen differenzieren, die Produktion intrathekaler oligoklonaler Immunglobuline vermitteln oder sich in den Meningen festsetzen, wo sie Follikel bilden.

Mikroglia und Astrozyten tragen durch eine Ausschüttung entzündungsfördernder Stoffe ebenfalls zur Neurodegeneration bei. Astrozyten können zusätzlich gliotische Narben bilden und sind außerdem ein Bestandteil der Blut-Hirn-Schranke, deren Integrität entzündungsbedingt herabgesetzt werden kann. (8,9)

Noch während der demyelinisierenden Phasen der MS kommt es zum Wiederaufbau der Myelinscheiden durch Oligodendrozyten. Ihre Vorläuferzellen, Oligodendrocyte Progenitor Cells, sammeln sich um die jeweiligen Läsionen an, um sich dort zu differenzieren und die Remyelinisierung in die Wege zu leiten. Manche Läsionen können zur Gänze remyelinisiert werden und bilden dann sogenannte Shadow Plaques. Sie erscheinen als scharf umschriebene Gebiete innerhalb der weißen Hirnsubstanz mit reduzierter Dichte an Myelin und Axonen. Inkomplette Remyelinisierung passiert an den Randzonen einer Läsion, wo eine Übergangszone zwischen gesunder weißer Substanz und demyelinisiertem Gewebe gebildet wird. (1,10)

Die Vorgänge der Demyelinisierung und Remyelinisierung finden während der gesamten Erkrankungsdauer statt und beeinflussen sich gegenseitig. In den frühen Phasen der MS dominieren fokale Entzündungen durch das Einschwemmen inflammatorischer Zellen und in den aktiven Läsionen der schubhaft-remittierenden MS sind vermehrt Makrophagen mit Myelin-Abbauprodukten zu finden.

Mit fortschreitender Erkrankung chronifiziert sich der pathophysiologische Prozess und B- und Plasma-Zellen, die in den Meningen haften, sind die Ursache der Neurodegeneration. Bei der sekundären und primär-progressiven Verlaufsform der MS kommt es dabei zu globaler Inflammation und diffusen pathologischen

Veränderungen des gesamten Gehirns, allen voran zu Demyelinisierung im Kortex.

In der sogenannten „normal appearing white matter“ kommt es zu perivaskulären und diffusen Entzündungen, ausgelöst durch T- und B-Zellen, Mikroglia und Astrozyten.

Letztendlich resultieren all diese Vorgänge in einer Abnahme der grauen und weißen Substanz, die sich in Form von Hirnatrophie ermitteln lässt. (7,11)

Die vollständige Pathophysiologie der Multiplen Sklerose ist bis heute noch nicht zur Gänze geklärt und neue Erkenntnisse werden laufend publiziert.

1.1.3 Diagnose

In den Revisionen der McDonalds Kriterien von 2010 sind klinische Schübe der MS als entweder vom Patienten bzw. der Patientin selbst berichtete oder objektiv beobachtete, mindestens 24 Stunden andauernde Symptome definiert, die für ein akutes, entzündliches, demyelinisierendes Ereignis des ZNS kennzeichnend und in Abwesenheit von Fieber und Infektionen aufgetreten sind. (12)

Sind mindestens 30 Tage zwischen einem vorangegangenen Ereignis und dem aktuellen vergangen, kann es als rezidivierender bzw. neu aufgetretener Schub bezeichnet werden. (4)

Die endgültige Diagnose Multiple Sklerose kann nur gestellt werden, wenn mindestens ein bereits stattgefundenener Schub mittels neurologischer Untersuchung oder einer Magnetresonanz-Untersuchung, die eine den Symptomen entsprechende Demyelinisierung im ZNS nachweist, untermauert wird. Die MS-typischen Läsionen müssen eine örtliche und zeitliche Dissemination im MR aufweisen, um die geltenden Diagnosekriterien zu erfüllen. (12)

Örtliche Dissemination ist gegeben, sobald mindestens eine T2-gewichtete Läsion in mindestens zwei der vier MS-typischen Lokalisationen des ZNS zu finden sind. Die Lokalisationen umfassen periventrikuläre, juxtakortikale, infratentorielle und im Rückenmark liegende Bereiche. Eine Anreicherung des Kontrastmittels Gadolinium ist für den Nachweis der örtlichen Dissemination keine Voraussetzung. Die zeitliche Dissemination wurde durch Aktualisierungen der Richtlinien vereinfacht und kann in bestimmten Fällen bereits mit einer MR-Untersuchung

festgestellt werden. Ausschlaggebend dafür ist das zeitgleiche Vorhandensein asymptomatischer kontrastmittelanreichernder und nicht-anreichernder Läsionen in typischen Lokalisationen und die Gewährleistung, dass die Kontrastmittelanreicherung auf pathophysiologische Vorgänge der MS zurückzuführen ist.

Für Patienten und Patientinnen, die nur anreichernde Läsionen oder keine anreichernde Läsion vorweisen, gilt nach wie vor, dass ein zweites MR-Bild angefertigt werden muss, das im Vergleich zum Ausgangsbild neue T2 oder kontrastmittelaufnehmende Läsionen zeigt.

Die Zeitspanne zwischen den beiden MR-Untersuchungen sowie der Zeitpunkt der einmaligen MRT nach Auftreten typischer Symptome spielen laut aktueller Kriterien keine Rolle.

Angewandt werden diese MR-Diagnosen nur bei Patienten und Patientinnen mit diagnostiziertem CIS, also mit einem bereits stattgefundenen typischen klinischen Ereignis. (12–14)

In der nachfolgenden Tabelle 1 sind die, für die jeweilige klinische Präsentation notwendigen, weiterführenden diagnostischen Untersuchungen aufgelistet. (12)

Tabelle 1: Diagnose-Kriterien nach McDonalds 2010 (12)

Klinische Präsentation	Zusätzliche diagnostische Untersuchungen
<p>≥2 klinische Schübe¹</p> <p>≥2 Läsionen mit objektivem klinischem Nachweis²</p> <p>oder</p> <p>1 Läsion mit begründetem Nachweis eines Schubes in der Vorgeschichte³</p>	<p>Keine weiteren diagnostischen Untersuchungen nötig</p> <p>falls negative MR- oder Liquor-Untersuchungen vorliegen, sollten alternative Diagnosen bedacht werden</p>
<p>≥2 klinische Schübe¹</p> <p>1 Läsion mit objektivem klinischem Nachweis²</p>	<p><u>Örtliche Dissemination</u> gegeben durch:</p> <p>≥1 T2-Läsion in ≥2 von 4 MS-Lokalisationen</p> <p>oder</p> <p>ein weiterer Schub¹, der auf eine neue ZNS-Lokalisation hindeutet</p>

<p>1 klinischer Schub¹</p> <p>≥2 Läsionen mit objektivem klinischem Nachweis²</p>	<p><u>Zeitliche Dissemination</u> gegeben durch:</p> <p>asymptomatische Gd-anreichernde und nichtanreichernde Läsionen zeitgleich in einem MR</p> <p>oder</p> <p>eine neue T2- oder Gd-anreichernde Läsion in einem Follow-up MR</p> <p>oder</p> <p>ein zweiter klinischer Schub¹</p>
<p>1 klinischer Schub¹</p> <p>1 Läsion mit objektivem klinischem Nachweis²</p> <p>= CIS (clinically isolated syndrome)</p>	<p>Örtliche Dissemination</p> <p>Zeitliche Dissemination</p>
<p>¹ vom Patienten oder der Patientin selbst berichtete oder objektiv beobachtete, mindestens 24 Stunden andauernde Symptome, kennzeichnend für ein akutes entzündliches demyelinisierendes Geschehen im ZNS, ohne Hinweise auf eine Infektion oder Fieber</p> <p>² Nachweis durch neurologische Untersuchung, Magnetresonanz-Untersuchung oder visuell evozierte Potentiale</p> <p>³ ohne dokumentierte neurologische Untersuchung können Symptome und Krankheitsverläufe mit Verdacht auf ein entzündlich demyelinisierendes Geschehen in der Vorgeschichte als begründeter Nachweis dienen</p> <p>MR=Magnetresonanz, MS=Multiple Sklerose, ZNS=zentrales Nervensystem, Gd=Gadolinium</p>	

1.1.4 Klinische Untersuchungen

Magnetresonanz-Untersuchung

Die Magnetresonanz-Untersuchung ist bis dato die beste bildgebende Methode um morphologische Veränderungen im ZNS festzustellen.

MS-typische Läsionen sind vor allem in der periventrikulären weißen

Hirnschicht, juxtakortikal, im Kleinhirn und im Hirnstamm als runde, ovoide oder

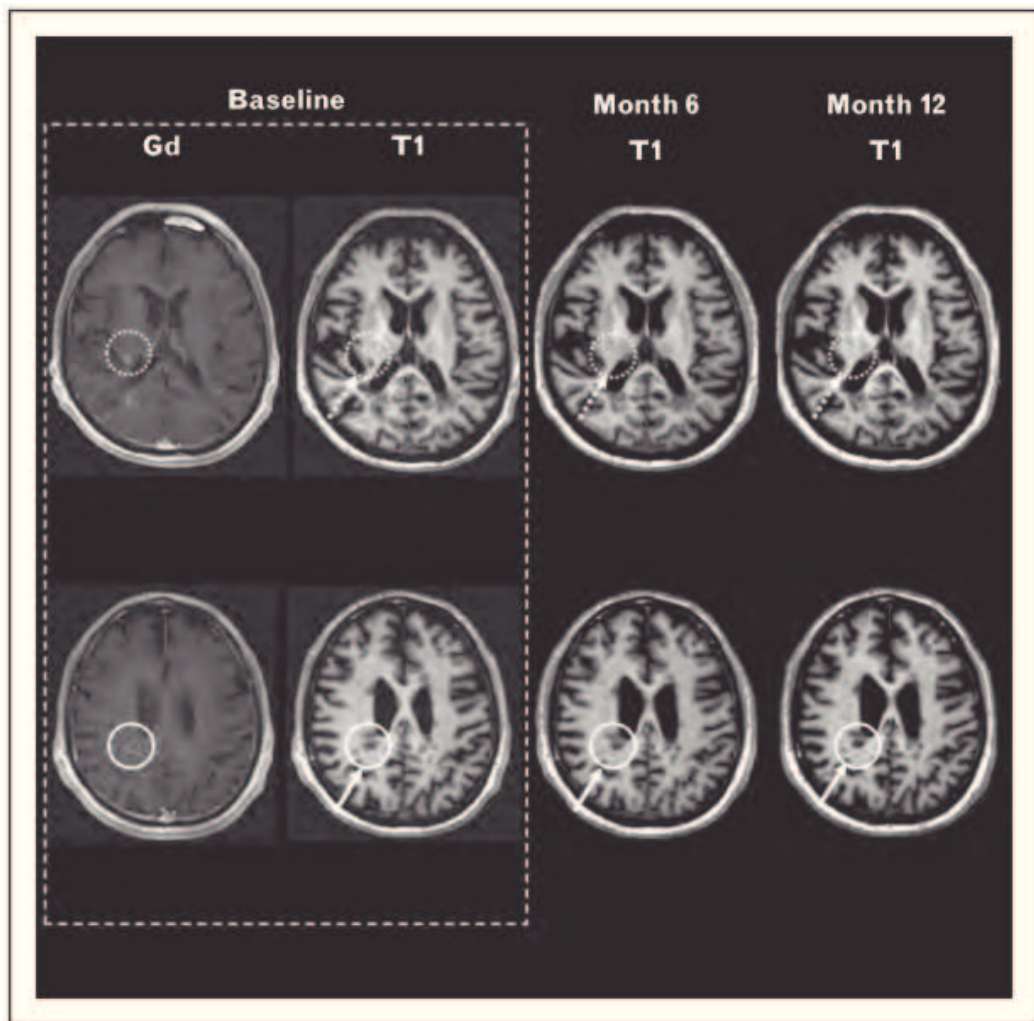
teilweise konfluierende, asymmetrische Plaques zu finden. Ihre Größe variiert von nur wenigen Millimetern bis zu mehr als einem Zentimeter. (15,16)

Wiederkehrende entzündliche Schübe sind ein Charakteristikum der MS und werden in MR-Untersuchungen durch aktive Läsionen repräsentiert. Nach der intravenösen Verabreichung des Kontrastmittels Gadolinium, welches über eine defekte Blut-Hirn-Schranke ins ZNS gelangt, sind aktive Läsionen in T1-gewichteten Sequenzen als Kontrastmittelanreicherungen zu erkennen.

Hyperintense T2-gewichtete Läsionen sind ebenfalls Ausdruck von Demyelinisierung, axonaler Schädigung, Entzündung, Gliose oder Ödemen. (15–17)

Mit fortschreitender Erkrankung wandeln sich etwa 30-40% der aktiven MS-Läsionen innerhalb von 6-12 Monaten in sogenannte Permanent Black Holes um, die keine Kontrastmittelanreicherungen mehr aufweisen. Sie deuten auf eine irreversible Schädigung des Nervengewebes und den Verlust von Axonen hin und imponieren in T1-gewichteten MR-Bildern als hypointens. Manche hypointense Läsionen verschwinden innerhalb von 6 Monaten wieder und werden als akute Black Holes bezeichnet. Abbildung 1 zeigt die Entwicklung einer kontrastmittelaufnehmenden Läsion hin zu akuten Black Holes (obere Bildreihe) bzw. permanenten Black Holes (untere Bildreihe) mittels T1-gewichteten MR-Bildern.

Vor allem progressive Formen der MS und lange Krankheitsdauer begünstigen die Entwicklung von Permanent Black Holes. Eine Studie mit Patienten und Patientinnen mit schubhaft-remittierender MS konnte zeigen, dass eine Zunahme dieser Läsionen im Laufe der Erkrankung eine signifikante Verschlechterung des EDSS mit sich bringt. (16–20)



Obere Bildreihe: kontrastmittelaufnehmende, hypointense T1-Läsion im Baseline-MR (gestrichelter Kreis und Pfeil) zeigt akute Läsion an, sie wird im Verlauf isointens (gestrichelter Kreis und Pfeil) und repräsentiert somit ein akutes Black Hole

Untere Bildreihe: kontrastmittelaufnehmende, hypointense T1-Läsion im Baseline-MR (Kreis und Pfeil) zeigt akute Läsion an, im Verlauf bleibt sie T1-hypointens (Kreis und Pfeil) und steht für ein Permanent Black Hole

[Reprinted from Filippi M, Preziosa P, Rocca MA. Magnetic resonance outcome measures in multiple sclerosis trials: time to rethink?. *Curr Opin Neurol.* 2014 Jun;27(3):290–9. with permission from Wolters Kluwer Health, Inc.]

Abbildung 1: Entwicklung von Black Holes, gezeigt anhand T1-gewichteter MR-Bilder

Die zunehmende Atrophie des Gehirns, bedingt durch den Verlust von Axonen und Neurodegeneration, kann ebenfalls aus T1-gewichteten Bildern errechnet werden. Gliose, der Verlust an Gliazellen, Entzündungen und Ödeme können das Volumen des Gehirns beeinflussen. Durch den anfänglichen schnellen Rückgang von Entzündung und Ödemen unter Therapie kommt es in den ersten Behandlungsphasen oft zur sogenannten Pseudoatrophie.

Laut Studien ist die Hirnatrophie unabhängig von der jeweiligen MS-Form, schreitet bei unbehandelter MS jedoch schneller voran (0,6-1% pro Jahr) als bei gesunden Kontrollgruppen (0,1-0,3% pro Jahr). (15,21)

Inwiefern die Therapie der MS und Hirnatrophie zueinander in Bezug stehen wurde in einer Metaanalyse untersucht. Hierbei wurde festgestellt, dass zwischen dem positiven Effekt krankheitsmodifizierender Medikamente bei RRMS auf die Progression der Behinderung und dem positiven Effekt eben dieser auf die Hirnatrophie eine signifikante Korrelation besteht. Die Metaanalyse liefert somit Hinweise darauf, dass ein Verlangsamen der Hirnatrophie ebenso zu klinischer Besserung beiträgt wie der Therapieeffekt auf entzündliche Läsionen. (22)

Die MR-typischen Anzeichen von Krankheitsaktivität müssen nicht immer mit neurologischer Symptomatik einhergehen, sondern können auch subklinisch stattfinden. Beim Clinically Isolated Syndrome kann es durch subklinische Akkumulation von MR-Pathologien zu einer Konvertierung zu klinisch definierter MS kommen. Eine Studie mit einem Follow-up über 20 Jahre zeigte, dass große T2-gewichtete Läsionen im Anfangs-MR und eine rasche Zunahme an Volumen mit einem hohen Risiko für die Entwicklung einer sekundär progressiven MS, also eines schweren Verlaufs der Erkrankung, einhergehen. (23)

Ein weiteres Phänomen ist das Radiologically Isolated Syndrome (RIS), bei dem MS-typische Pathologien meist zufällig in MR-Untersuchungen entdeckt werden, die Betroffenen jedoch keine klinische Symptomatik aufweisen. Aufgrund des fehlenden klinischen Nachweises von Demyelinisierung ist es keine Verlaufsform der MS, doch kontrastmittelanreichernde Läsionen oder positive Liquor-Befunde erhöhen das Erkrankungs-Risiko. Laut einer Studie sind junges Alter (<37 Jahre), männliches Geschlecht und Läsionen des Rückenmarks Prädiktoren für das Auftreten eines ersten MS-Schubes. (24–26)

Liquordiagnostik

Die Untersuchung des Liquors zur Diagnosestellung hat zwar an Bedeutung verloren, dennoch raten Experten zu einer Liquoranalyse, um mögliche Differentialdiagnosen der Multiplen Sklerose ausschließen zu können. (27)

IgG oligoklonale Banden sind der Nachweis von Immunglobulinen, die von, in den Meningen haftenden, B-Zellen produziert werden. Da es intrathekal nur eine geringe Bandbreite an B-Zell-Linien gibt, werden nur oligoklonale Banden bei der isoelektrischen Fokussierung angezeigt und deren Fehlen im Serum ist beweisend für ihre intrathekale Produktion.

Oligoklonale Banden werden schon seit Jahren als Marker entzündlicher Vorgänge im Liquor herangezogen, da ihre Sensitivität hoch ist und sie kontinuierlich im Liquor vorhanden sind, unabhängig von der jeweiligen Form der MS. Die Spezifität ist allerdings gering, will man MS von anderen entzündlichen Erkrankungen, Infektionen oder Neoplasien abgrenzen. Außerdem kann MS bei negativen Ergebnissen, vor allem in frühen Phasen der Erkrankung, nicht ausgeschlossen werden. (4,28,29)

In mehreren Studien konnte die Rolle intrathekaler oligoklonaler Banden als Risikofaktor für die Konvertierung vom Clinically Isolated Syndrome (CIS) zur schubhaft-remittierenden MS (RRMS) nachgewiesen werden. Dies gilt vor allem dann, wenn Patienten oder Patientinnen einen unauffälligen MR-Befund bzw. keine zeitliche Dissemination vorweisen. (30,31)

Albumin ist ein Protein, das in Leberzellen synthetisiert wird und dessen Nachweis im Liquor cerebrospinalis auf eine Störung der Blut-Liquor-Schranke hinweist. Mithilfe des altersabhängigen Liquor-Serum-Albumin-Quotienten (Q_{Alb}) kann der Anteil an Albumin gemessen werden, der aufgrund einer Schrankenstörung intrathekal zu finden ist. (32)

Der Liquor-Serum-Albumin-Quotient dient gemeinsam mit dem Liquor-Serum-IgG-Quotienten (Q_{IgG}), der den Anteil an Immunglobulinen im Liquor und im Serum gegenüberstellt, zur Berechnung des IgG-Index ($IgG\text{-Index} = Q_{IgG} / Q_{Alb}$).

Bei Gesunden befinden sich im Liquor keine Immunglobuline, doch aufgrund einer Störung der Blut-Liquor-Schranke kommt es zu einem Konzentrationsgefälle, das ein Eintreten eben dieser aus dem Serum in den Liquor zur Folge hat. Eine

Erhöhung des IgG-Index über 0,7 gilt als beweisend für die zusätzliche intrathekale Synthese von Immunglobulinen und Antikörpern durch B-Zellen. Bei bis zu 90% der MS-Patienten und Patientinnen ist der Index erhöht, durch die relativ niedrige Sensitivität kann er jedoch den Nachweis oligoklonaler Banden nicht ersetzen. (33)

EDSS-Score

Für die Untersuchung und Quantifizierung der körperlichen Einschränkung wird die Expanded Disability Status Scale (EDSS) verwendet.

Grundlage dieser Einteilung ist die individuelle Beurteilung von sieben Funktionssystemen des Körpers: Pyramidenbahn, Kleinhirn, Hirnstamm, sensorisches System, Darm und Harnblase, visuelles System und Großhirn. Ihre Funktionen werden auf einer Skala von 0 (normale Funktion) bis 5/6 (maximale Einschränkung) beurteilt. Für die zusätzliche Kategorie „diverse Funktionen“ gilt die Einteilung in 0 (nicht vorhanden) und 1 (vorhanden). Eine detaillierte Tabelle mit der Auflistung und Beurteilung der MS-typischen Symptome der einzelnen Funktionssysteme nach Kurtzke findet sich im Anhang. (34)

Die EDSS fasst diese Beurteilungen in einer Skala von 0 - 10 zusammen, wobei 0 eine normale neurologische Untersuchung ohne Auffälligkeiten beschreibt und 10 den Tod aufgrund von MS.

Patienten und Patientinnen mit einem Score von 1.0 – 4.5 sind ohne Hilfe gehfähig und in ihrem Alltag nur minimal eingeschränkt. Ab 5.0 – 9.5 verschlechtern sich die Gehfähigkeit und Alltagssituation kontinuierlich bis hin zur Bettlägerigkeit.

Die EDSS ist eine gute Methode um den Krankheitsverlauf zu dokumentieren und wird auch in der Forschung verwendet, z.B. um Therapieerfolge festzustellen und zu vergleichen. (34)

Evozierte Potentiale

Die vorherrschende Demyelinisierung und Neurodegeneration bei MS führt zu Defekten entlang der Reizleitungsbahnen und somit veränderten Aktionspotentialen und Nervenleitgeschwindigkeiten.

Diffuse Symptome wie Kribbeln oder Taubheit, die auf eine Beteiligung der sensorischen und motorischen Leitungsbahnen hindeuten, können mithilfe evozierter Potentiale objektiv untersucht werden. In manchen Fällen können veränderte Potentiale auf subklinische Krankheitsaktivität hinweisen.

Normale Befunde schließen jedoch eine Läsion der Nervenbahn nicht aus, wenn diese zu wenig Nervenfasern oder eine zu kurze Strecke betreffen, um sich auf die evozierten Potentiale auszuwirken. (4,35)

Mittels visuell evozierter Potentiale kann bei Patienten und Patientinnen mit Sehstörungen eine Leitungsverzögerung festgestellt werden. (12)

Daneben gibt es auch die Möglichkeit frühe akustisch evozierte, somatosensorisch evozierte und motorisch evozierte Potentiale zu testen. (4,35)

In einer Studie wurden signifikante Korrelationen zwischen evozierten Potentialen und der Beeinträchtigung laut EDSS über einen Zeitraum von 5 Jahren festgestellt. Dieser Zusammenhang war darüber hinaus stärker als die Korrelation von EDSS mit konventionellem MR. (36)

1.1.5 Klinischer Verlauf

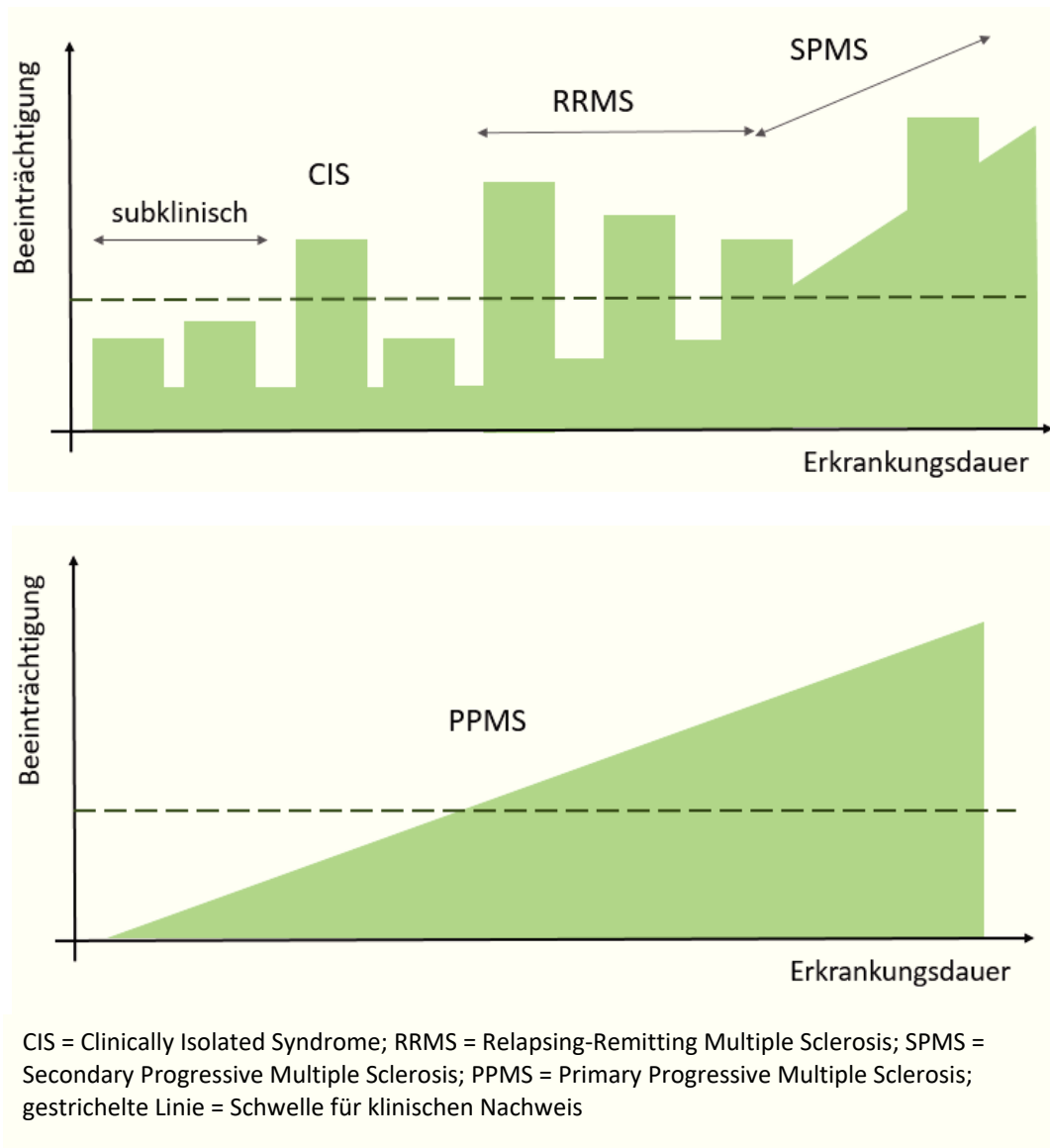


Abbildung 2: Verlaufsformen der MS

Multiple Sklerose ist eine sehr heterogene Erkrankung und kann unterschiedlichste klinische Verläufe aufweisen. Es gibt Theorien, nach denen die jeweilige Verlaufsform abhängig von der vergangenen Erkrankungsdauer bzw. vom Alter ist. (2) Andere betrachten die veränderte Pathophysiologie hinter den unterschiedlichen Verläufen. (26)

Abbildung 2 gibt einen Überblick über die Krankheitsprogression und die Formen der MS, die im Folgenden näher beschrieben werden.

Erstmalig auftretende neurologische Symptomatik, die auf ein entzündlich demyelinisierendes Ereignis schließen lässt, wird als Clinically Isolated Syndrome (CIS) bezeichnet. Es erfüllt die diagnostischen Kriterien eines Schubes, jedoch ist im MR noch keine zeitliche Dissemination zu erkennen. (4,26)

60 – 70% aller CIS-Patienten und Patientinnen erleben innerhalb der nächsten 20 Jahre einen zweiten klinischen Schub, was gleichbedeutend mit der Konvertierung zu klinisch manifester MS ist. Eine große Multicenter-Studie mit durchschnittlichem Follow-up von 4,31 Jahren zeigte, dass intrathekale oligoklonale Banden, viele T2-gewichtete Läsionen und jüngeres Alter zum Zeitpunkt der Diagnose CIS zu einem höheren Konversions-Risiko beitragen. (31)

Mit mehr als 80% aller betroffenen Patienten und Patientinnen ist die schubhaft-remittierende MS (RRMS) die häufigste Verlaufsform.

Sie ist gekennzeichnet durch wiederkehrende Schübe, gefolgt von Remission und Besserung der klinischen Symptome. In MR-Untersuchungen können örtliche und zeitliche Dissemination der Läsionen festgestellt werden.

Trotz klinischer Erholungsphasen finden subklinische inflammatorische Aktivitäten, Hirnatrophie und damit einhergehende Krankheitsprogression statt. (1,4,8)

Ein Fortschreiten der Erkrankung bedeutet, dass sich der Körper nicht mehr von allen klinischen und subklinischen Schüben regenerieren kann und es kommt zu persistierenden neurologischen Defiziten. Die RRMS entwickelt sich sukzessive zu einer sekundär progressiven MS (SPMS), die durch eine zunehmende Verschlechterung mit nur noch gelegentlichen superponierten Schüben gekennzeichnet ist. Bis dato gibt es nicht genügend Daten, um einen genauen Zeitpunkt des Übergangs von RRMS zu SPMS definieren zu können. Ohne Therapie tritt die SPMS bei mehr als 50% der Patienten und Patientinnen innerhalb von 10 Jahren ein. (1,4,8,26)

Nur eine geringe Anzahl der Betroffenen leidet an der primär progressiven MS (PPMS). Sie ist durch progressive Neurodegeneration und neurologische Entzündung vom Zeitpunkt der Diagnose weg gekennzeichnet, die statt wiederkehrender Schübe eine kontinuierliche, schleichende Zunahme an klinischer Beeinträchtigung hervorrufen.

Es wird vermutet, dass die beiden progressiven Formen, SPMS und PPMS, eine

ähnliche Pathophysiologie aufweisen, mit weniger Läsionen und Hinweisen auf entzündliche Vorgänge als die RRMS. (4,8,26)

Nicht nur während der Remissionsphasen der RRMS, sondern bereits vor der endgültigen Diagnose MS konnte subklinische Krankheitsaktivität in MR-Untersuchungen festgestellt werden. Bei männlichen Patienten unter 37 Jahren zeigten diese Zufallsbefunde, vor allem, wenn sie eine Beteiligung des Rückenmarks aufwiesen, ein erhöhtes Risiko für einen ersten klinischen Schub. (24,25)

Obwohl die Diagnose MS beim Großteil der Patienten und Patientinnen während des zweiten Lebensjahrzehnts gestellt wird, können auch Kinder bereits von der Erkrankung betroffen sein. Erste symptomatische Anfälle präsentieren sich mit typischen Symptomen eines CIS und mehr als 95% der pädiatrischen MS nehmen einen schubhaft-remittierenden Verlauf. (12)

1.1.6 Therapie

Verlaufsform	Schubtherapie	Intervalltherapie	Eskalationstherapie
CIS	1. Wahl: Methylprednisolon 2. Wahl: Plasmaaustausch	Glatirameracetat Interferon-β 1a <u>i.m./s.c.</u> Interferon-β 1b <u>s.c.</u>	
RRMS	1. Wahl: Methylprednisolon 2. Wahl: Plasmaaustausch	First-line: Glatirameracetat Interferon-β 1a <u>i.m./s.c.</u> Interferon-β 1b <u>s.c.</u> Dimethylfumarat Teriflunomid Second-line: Natalizumab Fingolimod Alemtuzumab	Mitoxantron Experimentelle Verfahren
SPMS	1. Wahl: Methylprednisolon 2. Wahl: Plasmaaustausch	Interferon-β 1a <u>s.c.</u> Interferon-β 1b <u>s.c.</u> Mitoxantron	

CIS = clinically isolated syndrome, RRMS = relapsing-remitting multiple sclerosis, SPMS = secondary progressive multiple sclerosis

Abbildung 3: Therapieschema nach der Deutschen Gesellschaft für Neurologie-Leitlinie Diagnostik und Therapie der Multiplen Sklerose (4)

Bis dato konnte noch keine kurative Therapie für die Erkrankung Multiple Sklerose gefunden werden. Zahlreiche Studien brachten jedoch krankheits-modifizierende Medikamente hervor, die als Intervalltherapie zum Einsatz kommen. Bei andauernder Krankheitsprogression und therapierefraktären Schüben wird auf eine Eskalationstherapie zurückgegriffen, deren Behandlung allerdings zeitlich limitiert ist.

Die Schubtherapie gestaltet sich bei allen Formen der MS gleich und wird beim Auftreten neuer klinischer Schübe eingesetzt. Abbildung 3 gibt einen Überblick über die Medikamente der jeweiligen Therapieform.

Vor dem Beginn einer neuen Therapie oder eines Therapiewechsels ist es empfohlen, eine neurologische Untersuchung inklusive MR-Bildern durchzuführen, die als Referenz zur Kontrolle des Therapieerfolgs dient.

Zusätzlich zur medikamentösen Therapie gibt es Rehabilitationsprogramme, Physio- und Ergotherapie, Logopädie sowie psychologische Beratungen und soziale Dienste, die die Lebensqualität der Betroffenen so gut wie möglich verbessern sollen. (4)

Schubtherapie

Die erste Wahl der Schubtherapie ist die intravenöse Gabe von Glukokortikosteroiden. Durch ihre suppressive Wirkung auf Entzündungsreaktionen und Beteiligung am Aufbau der Blut-Hirn-Schranke, stellt sich eine rasche Rückbildung der klinischen Symptome ein, vor allem bei den gut liquorgängigen Präparaten Methylprednisolon und Dexamethason.

Angepasst an den physiologischen Tages-Hormonspiegel, werden 500-1000 mg Methylprednisolon als morgendliche Kurzinfusion über 3-5 Tage gegeben. Bei therapierefraktären Schüben kann die Behandlung auf bis zu 10 Tage mit höherer Dosis erweitert werden. (4)

In einer Studie zeigten mehr als 70% einer steroidresistenten Studienkohorte einen klaren Funktionsgewinn nach median 5 Behandlungen mit Plasmaaustausch. Trotz der kleinen Studienkohorte wird diese Form der Therapie bei anhaltenden Schüben unter hochdosierten Steroiden empfohlen. (37)

Intervalltherapie bei CIS

Glatirameracetat ist ein immunmodulatorisches Polypeptid-Gemisch, das über einen längeren Behandlungszeitraum täglich als subkutane Injektion von 20mg verabreicht wird. Das Präparat ist gut verträglich und konnte in placebokontrollierten Multicenter-Studien signifikante Verbesserungen bezüglich Schubrate, Ausmaß der Behinderung anhand der EDSS und MR-spezifischer Krankheitsparameter vorweisen. (4,38,39)

Interferone werden schon seit vielen Jahren als Intervalltherapeutika appliziert und konnten ihr Nutzen-Risiko-Profil bereits mehrfach beweisen.

Die rekombinanten Präparate Interferon- β 1a und 1b werden parenteral, entweder subkutan oder intramuskulär, in einschleichender Dosierung abends verabreicht. Gegen grippeähnliche Nebenwirkungen helfen Paracetamol oder Ibuprofen. Blutbildkontrollen vor und während der Therapie sind sinnvoll, da es zu erhöhten Leberenzymwerten und supprimierter Knochenmarksfunktion kommen kann.(4,40)

Unter der Therapie können außerdem neutralisierende Antikörper gegen Interferon im Serum auftreten, die die Wirkung des Medikaments hinsichtlich klinischer und bildgebender Progression schwächen und bei stark erhöhten Titern über drei bis sechs Monate eine Indikation zum Therapiewechsel auf Nicht-Interferone darstellen. (41,42)

Verglichen mit intramuskulärem Interferon- β 1a, zeichneten sich in der INCOMIN-Studie signifikante Verbesserungen der Krankheitsprogression und neu auftretender T2-Läsionen unter hochdosiertem subkutanem Interferon- β 1b (250 μ g alle zwei Tage) ab. (43)

Auch die subkutane Verabreichung von Interferon- β 1a zeigte bessere Ergebnisse bezüglich schubfreier Intervalle und neuer aktiver Läsionen gegenüber intramuskulärem Interferon- β 1a. Bei der Interpretation der Ergebnisse sollte man allerdings die kurze Studiendauer von 48 Wochen beachten. (44)

Intervalltherapie bei RRMS

Durch intensive Forschungen im Bereich der MS-Therapie wurden in den letzten Jahren zusätzlich zu Glatirameracetat und Interferonen einige Präparate für die Intervalltherapie bei RRMS vorgestellt.

Zur Anfangstherapie bei neu aufgetretener RRMS werden Dimethylfumarat und Teriflunomid empfohlen. (40)

Beide Präparate wirken immunmodulatorisch und werden täglich in Tabletten- bzw. Kapselform per os eingenommen. Leukozytopenie und erhöhte Lebertransaminasen können unter der Therapie vorkommen.

Bei Dimethylfumarat können darüber hinaus Flush-Phänomene und erhöhtes Risiko für opportunistische Infektionen beobachtet werden. Auch einige wenige Fälle von PML wurden dokumentiert, wobei persistierende Lymphopenie und positive JCV-Serologie als mögliche Risikofaktoren nachgewiesen wurden. (4,40)

Die häufigsten Nebenwirkungen unter Teriflunomid sind Infektionen der oberen Luftwege und Harnwege, reversible Haarwachstumsstörungen, Bluthochdruck und Teratogenität. Eine tägliche Dosis von 14mg senkte laut einer Phase-3-Studie die jährlichen Rückfallraten und das Risiko anhaltender EDSS-Verschlechterung signifikant. (4,40,45)

Bei rasch fortschreitender RRMS oder einem klinischen Schub inklusive MR-Auffälligkeiten und/oder Beeinträchtigung trotz bisheriger Intervalltherapie, stehen die Präparate Natalizumab, Fingolimod oder Alemtuzumab als Zweitlinientherapie zur Verfügung. Da es sich dabei um sehr potente Medikamente handelt ist ihr Behandlungszeitraum limitiert und eine Deeskalation auf eine First-line-Therapie sowie bestimmte Wartezeiten bei Therapieumstellung sind unumgänglich. (4,40)

Der monoklonale Antikörper Natalizumab wird intravenös alle vier Wochen verabreicht und unterbindet das Anhaften von Leukozyten an entzündetes Gewebe mittels Adhäsionsmolekülen und somit das Einwandern von Entzündungszellen ins ZNS. Die schwerwiegendste Nebenwirkung des Medikaments ist die progressive multifokale Leukenzephalopathie (PML), deren Risiko mit zunehmender Behandlungsdauer über 24 Monate, positiver JCV-Serologie und vorangegangener immunmodulatorischer Therapie in Zusammenhang steht. (40,46)

Fingolimod ist ein sehr potentes Medikament, das den Austritt autoreaktiver Lymphozyten aus den Lymphknoten und deren Einwanderung ins ZNS verhindert. Es kann passagere Bradykardien und Herzrhythmusstörungen auslösen und ist daher bei AV-Blöcken II° und III° nicht empfohlen. (4,40)

Alemtuzumab ist der neueste zugelassene Antikörper in der Zweitlinientherapie der RRMS und eliminiert T- und B-Lymphozyten durch Zytolyse. Es wird in zwei Zyklen intravenös verabreicht, wobei der initiale fünf Tage und der mit 12 Monaten Pause darauffolgende drei Tage dauert. Als Nebenwirkung werden Autoimmunerkrankungen, allen voran Hyperthyreosen, dokumentiert. (4,40)

Intervalltherapie SPMS

Interferone sind bei der sekundär progressiven MS nur sinnvoll, solange der Patient oder die Patientin noch zusätzliche subklinische und klinische Schübe aufweist. (40)

Mitoxantron kann bei einer SPMS mit einem EDSS von maximal 6 als Intervalltherapie angewandt werden. Seine sehr potente Wirkung beruht auf der Proliferationshemmung und induzierten Apoptose von B- und T-Lymphozyten sowie anderen antigenpräsentierenden Zellen. Es wird alle drei Monate intravenös verabreicht und weist Nebenwirkungen auf, die denen von Zytostatika ähneln. Außerdem wirkt es kardiotoxisch und ist bei einer linksventrikulären Auswurfquote von weniger als 50% sowie während der Schwangerschaft kontraindiziert. (4,40)

Eskalationstherapie

Bei der Eskalation der Therapie auf ein potenteres Präparat darf man die Deeskalation nach einer gewissen Behandlungsdauer nicht außer Acht lassen. So wird etwa die Toxizität von Mitoxantron durch die Dosis bestimmt und bei mindestens einem Jahr Krankheitsstabilität sollte man zurück zu einer Intervalltherapie oder reduzierten Dosis wechseln. Schübe, die unter der Eskalationstherapie auftreten, können ohne weiteres mittels Schubtherapie behandelt werden. (4)

Neben den genannten klinisch validierten Medikamenten laufen zurzeit viele Studien zu monoklonalen Antikörpern, die zum Teil sehr vielversprechende Ergebnisse zeigen. Auch die Transplantation autologer hämatopoetischer Stammzellen findet als off-label Therapie Verwendung. (4,40)

Da statistisch gesehen mehr Frauen mit der Diagnose MS zu kämpfen haben (3) und Familienplanung für viele ein wichtiges Thema ist, sollte man erwähnen, dass es nur wenige Studien über die medikamentöse Therapie während der Schwangerschaft und Stillzeit gibt. Glukokortikosteroide, Interferone und Glatirameracetat weisen eine relativ hohe Sicherheit auf und können bei hoher Krankheitsaktivität bis zum Zeitpunkt der Empfängnis eingenommen werden. Fingolimod und Teriflunomid sind potentiell teratogen und können somit zu embryonalen Malformationen führen. Für die Präparate Dimethylfumarat, Natalizumab und Alemtuzumab liegen noch keine ausreichenden Studienergebnisse vor.

Betroffene müssen daher unbedingt vom behandelnden Arzt bzw. der behandelnden Ärztin auf die teratogene Wirkung bestimmter Präparate und eine wirksame Empfängnisverhütung sowie den Verzicht auf Stillen hingewiesen werden. (4,47)

1.1.7 NEDA

Nach möglichst frühzeitigem Beginn einer Therapie stellt sich natürlich die Frage, ob der Patient oder die Patientin ausreichend darauf anspricht und dem Fortschreiten der MS entgegengewirkt werden kann. Neurologische Schäden, die bereits angerichtet wurden, können mit keiner der Therapien rückgängig gemacht werden. Mit den neuesten Präparaten ist es jedoch möglich, die Schubrate zu erniedrigen und Progression zu verzögern.

Die Abkürzung NEDA steht für „no evidence of disease activity“ und ist ein Ansatz, um therapeutische Wirksamkeit zu kontrollieren.

Klinische und vor allem subklinische Krankheitsaktivität kann mittels Magnetresonanz durch T2- oder gadoliniumanreichernde Läsionen festgestellt werden. Regelmäßige MR-Untersuchungen während einer Therapie können beim Vergleich mit einem Referenz-MR Aufschluss darüber geben, ob es therapierefraktäre Schübe gibt oder nicht.

Bei fehlender Krankheitsaktivität in bildgebenden und klinisch neurologischen Untersuchungen kann man davon ausgehen, dass die Therapie wirksam ist. Ein Nachweis hingegen bedeutet, dass man eine Intervalltherapie intensivieren

oder wechseln, zusätzliche Schubtherapie einführen oder auf Eskalationstherapie umstellen sollte. (48,49)

Zurzeit wird diskutiert, ob neben Schubrate, Progression der Behinderung laut EDSS und MR-Krankheitsaktivität auch das Ausmaß der Hirnatrophie, die in MR-Scans gemessen werden kann, als Kriterium in die NEDA-4 Leitlinien aufgenommen werden soll. (50)

Die Heterogenität und Komplexität der Multiplen Sklerose macht es fast unmöglich, klinische Symptome als Kriterien in Studien zu verwenden und neue Therapien miteinander zu vergleichen. Ein Ansatz für Verlaufs- und Vergleichsparameter sind Biomarker, deren Erforschung in den letzten Jahren zugenommen hat. Doch deren Etablierung für den klinischen oder wissenschaftlichen Gebrauch gestaltet sich schwierig. (51–54)

Dem Spurenelement Eisen wird in rezenten Studien eine komplexe Rolle und potentielle Bedeutung in der Pathophysiologie der MS zugeschrieben. Erhöhte Konzentrationen von Eisen, die bei MS beschrieben wurden, können durch Ausbildung von Hydroxylradikalen zur Entwicklung von Schüben beitragen. (55–58)

Die Ergebnisse dieser Studien wurden in dieser Arbeit aufgegriffen und als Ausgangspunkt für die Frage genommen, ob Veränderungen der Serumkonzentrationen von Transferrin und Ferritin, zwei Speicherformen des Eisens, in Zusammenhang mit der Krankheitsaktivität bei MS stehen.

1.2 MS-Biomarker im Allgemeinen

1.2.1 Definition

Ein Biomarker ist ein Charakteristikum, das objektiv gemessen und ausgewertet wird und Aufschluss über normale biologische oder pathogene Prozesse oder die pharmakologische Wirkung einer Therapie gibt.

Biomarker werden zur Diagnostik, Prognostik, Beurteilung des Schweregrads einer Erkrankung und Überprüfung des therapeutischen Fortschritts herangezogen. (59)

1.2.2 Die Entwicklung neuer Biomarker

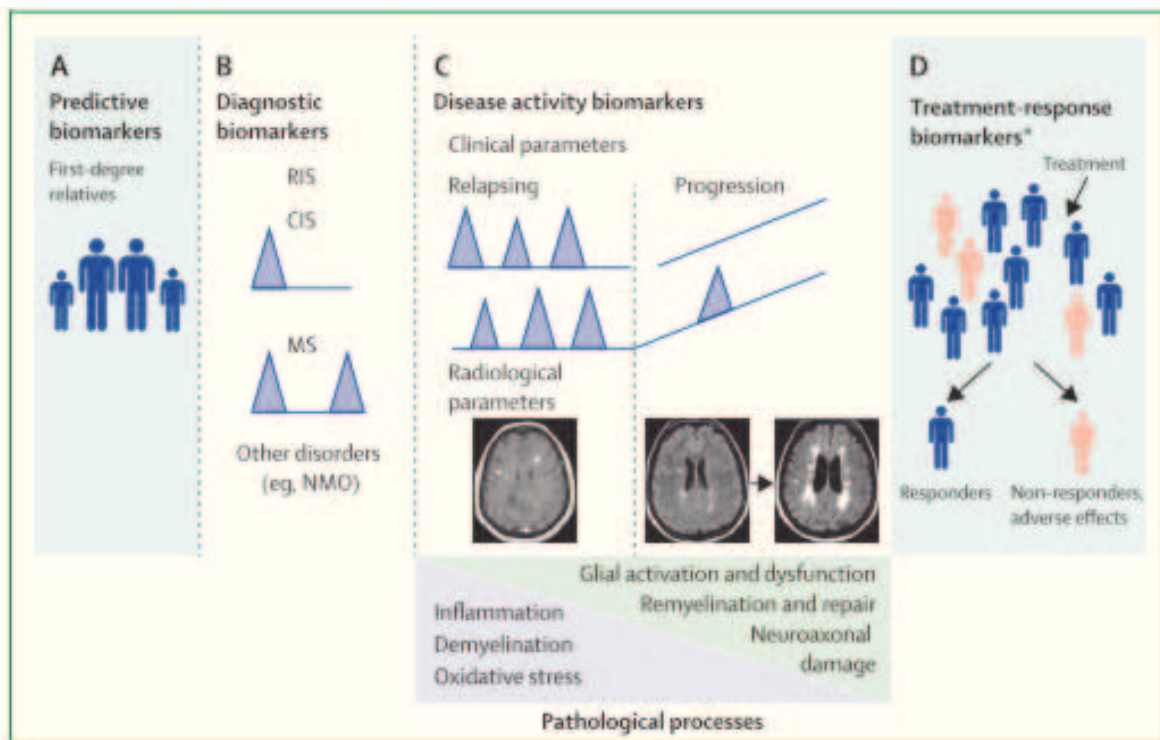
Neue Kenntnisse über die Pathophysiologie der Multiplen Sklerose haben die Anzahl potentieller Biomarker in den letzten Jahren steigen lassen.

Die Ansprüche an einen klinisch relevanten und einsetzbaren Marker sind allerdings sehr hoch und müssen in zahlreichen Studien mit einer möglichst großen Studienkohorte bewiesen werden.

Bei so heterogenen Erkrankungen wie MS ist es nicht leicht, einen pathologischen Prozess auf genau einen Mechanismus und einen Biomarker zurückzuführen, jedoch sollten Sensitivität, Spezifität und Reproduzierbarkeit der Ergebnisse gegeben sein. Wichtig sind auch die klinische Relevanz und ein sinnvoller Zusammenhang mit pathologischen Prozessen. (53,54,60)

Das BioMS-eu (<http://www.biomseu.com>) Konsortium hat 2014 Leitlinien verfasst, um Studien mit Biomarkern möglichst einheitlich durchzuführen, die Ergebnisse leichter vergleichbar zu machen und eine Übersicht über durchgeführte Studien zu bekommen. (61)

Das potentielle Einsatzgebiet von Biomarkern ist sehr breit gefächert und reicht von Diagnosen bzw. Differentialdiagnosen über Feststellung von Krankheitsaktivität und pathologischen Prozessen bis hin zu Therapie-Verlaufskontrollen und der Entwicklung neuer Therapien. Abbildung 4 zeigt eine Aufteilung und Typisierung von MS-Biomarkern, wobei manche Biomarker mehreren dieser Kategorien zugeteilt werden können. (51,60)



Aufteilung der Biomarker in 4 Kategorien: A prädiktive Biomarker; B diagnostische Biomarker; C Biomarker der Krankheitsaktivität mit klinischen, radiologischen und pathologischen Parametern; D Biomarker für das Therapieansprechen

[Reprinted from The Lancet Neurology, Vol number 13/1, Comabella M, Montalban X, Body fluid biomarkers in multiple sclerosis, pages 113-126, Copyright (2014), with permission from Elsevier]

Abbildung 4: Biomarker-Kategorien

Für Betroffene und deren Verwandte, allen voran diejenigen ersten Grades und ohne neurologische Symptome, sind prädiktive Biomarker von besonderer Bedeutung um das Risiko der Erkrankung abzuschätzen.

Diagnostische Biomarker dienen, zusätzlich zu radiologischen und klinischen Untersuchungen, zur Differenzierung von MS, deren Vorstufe klinisch-isoliertes Syndrom (CIS), der Sonderform radiologisch-isoliertes Syndrom (RIS) sowie anderen neurologischen Erkrankungen. Vor allem bei CIS-Patienten und Patientinnen können sie von differentialdiagnostischer Bedeutung sein.

Krankheitsaktivitäts-Biomarker sollten in regelmäßigen Abständen nach einem Standard-Protokoll abgenommen bzw. gemessen und mit Referenz-Daten verglichen werden, um mögliche Veränderungen aufzuzeigen. Vor allem bei der schubhaft-remittierenden und der progressiven Form der MS können diese Biomarker eingesetzt werden. Da sich deren zugrundeliegenden

pathophysiologischen Vorgänge voneinander unterscheiden, ist es wichtig, dass diese auf differenzierte Biomarker zurückgeführt werden können.

Demyelinisierung, Inflammation und oxidativer Stress deuten auf einen schubförmigen Verlauf hin, ebenso wie der klinische Nachweis von Schüben und radiologisch nachweisbare entzündliche Aktivität. Für den progressiven Verlauf der MS sprechen Biomarker, die für pathologische Vorgänge wie Remyelinisierung, gliale Fehlfunktionen und neuronale und axonale Schäden stehen.

Therapeutische Biomarker werden verwendet, um Patienten und Patientinnen, die auf eine bestimmte Therapie ansprechen, von denen zu differenzieren, die Nebenwirkungen entwickeln. Für die Medikamentenentwicklung ist es ausschlaggebend, dass ein Biomarker alle positiven und auch negativen Effekte in Betracht zieht, um keine falsch-positiven oder falsch-negativen Studienergebnisse zu erhalten. Außerdem sollte genau abgewogen werden, welche der beobachteten Medikamenteneigenschaften im pathologischen und klinischen Sinn relevant für die Erkrankung MS sind. (51,60)

1.2.3 MRI und Eisen

Magnetresonanz-Untersuchungen des ZNS können objektiv gemessen und bewertet werden und Aufschluss über pathologische Vorgänge geben, womit sie per definitionem als Biomarker fungieren. (59)

Sie sind jedoch mit einem zeitlichen und organisatorischen Aufwand verbunden, der eine häufige Nutzung einschränkt. Minimale Veränderungen im Gehirn, vor allem am Übergang zwischen zwei Geweben unterschiedlicher Signalstärke und innerhalb kürzerer Zeitabstände lassen sich nur schwer abbilden bzw. vermessen. Dennoch können aktive Läsionen, und somit klinische und subklinische Krankheitsaktivität, bis dato am besten durch kontrastmittelanreichernde T1- oder größtenprogrede T2-Läsionen festgestellt werden. (18,53)

Auch das Ausmaß der Hirnatrophie und T1-gewichtete hypointense Black Holes stehen in Zusammenhang mit Krankheitsaktivität und können ausschließlich mittels Magnetresonanz-Untersuchungen gemessen werden. (60)

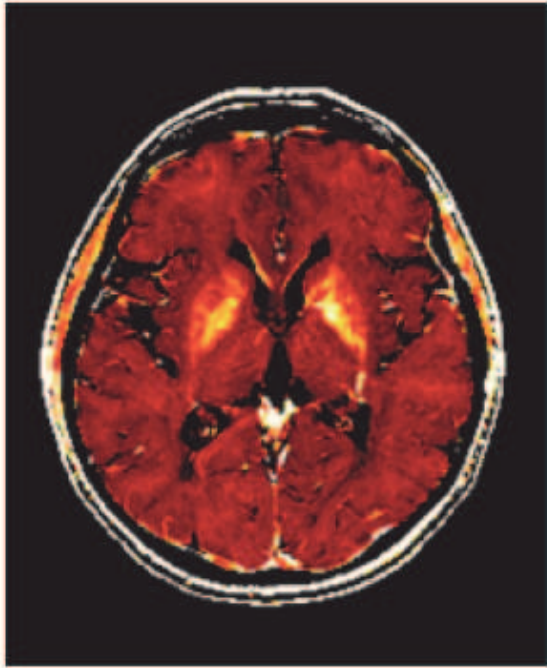
Erneuerte Untersuchungstechniken ermöglichten in den letzten Jahren zunehmenden Informationsgewinn über Krankheitsprozesse der Multiplen Sklerose. Mittels Magnetization Transfer kann das Ausmaß struktureller Veränderung in- und außerhalb von T2-gewichteten Läsionen bestimmt werden und funktionelles MR zeigt kortikale Aktivitäten, wie etwa Umstrukturierungen, bei MS-Patienten und Patientinnen. (62)

In Anlehnung an Publikationen, die dem Element Eisen eine pathophysiologische Rolle in der Entstehung entzündlicher Schübe zuschreiben, wurden in rezenten Studien Eisen-Ablagerungen in Gehirnen mittels MR nachgewiesen. Zum einen ist das Element altersbedingt vor allem in den Basalganglien gehäuft zu finden, zum anderen wurde es in Zusammenhang mit Multipler Sklerose und deren Erkrankungsdauer, klinischer Progression und Hirnatrophie gebracht. (56,63,64)

Neben den gängigen T1- und T2-gewichteten Untersuchungen, in denen Eisenablagerungen als T1-Hyperintensität und T2-Hypointensität zu sehen sind, gibt es innovative und spezifischere MR-Untersuchungstechniken wie etwa suszeptibilitäts-gewichtete Bildgebung, quantitatives Suszeptibilitäts-Mapping oder magnetfeldkorrelierte Bildgebung. Für Studien der hiesigen Einrichtung wurde die Methode des Mapping der Relaxationszeit $R2^*$ benutzt, da diese auf modernen 3 Tesla Geräten in einer akzeptablen Scanzeit voll automatisiert durchführbar ist und sehr robuste Ergebnisse liefert. Des Weiteren konnte diese Methode in mehreren Studien, unter anderem einer Post-mortem-Studie, validiert werden. (57,63–65)

T2-gewichtete Sequenzen illustrieren die Zeit, die Moleküle brauchen um nach einer magnetischen Auslenkung wieder in ihren Gleichgewichtszustand zurückzukehren. Eisen führt dazu, dass die Molekül-Auslenkung nicht mehr vollständig reversibel ist, wodurch betroffene Bereiche hypointens erscheinen. Die Relaxationszeit $R2^*$ der T2-gewichteten Sequenzen ist linear zur Eisenkonzentration in den betroffenen Läsionen und ein Anstieg der $R2^*$ -Werte korreliert mit zunehmenden Eisenablagerungen. Durch das Anfertigen und Zusammenführen mehrerer Sequenzen entsteht beim sogenannten Mapping ein Bild des gesamten Gehirns. (63)

Ein Beispiel für das $R2^*$ Mapping des Gehirns einer 50-jährigen MS-Patientin gibt Abbildung 5. (57)



Je heller die Bereiche in diesem R2*-Mapping sind, desto höher ist deren Anteil an Eisen; in diesem Fall sind besonders die Basalganglien betroffen.

[Reprinted from Khalil M, Teunissen C, Langkammer C. Iron and Neurodegeneration in Multiple Sclerosis. *Mult Scler Int.* 2011;2011:606807.]

Abbildung 5: R2* Mapping

Eine Korrelation zwischen Eisenansammlungen und pathophysiologischen Veränderungen der MS wurde in einer Studie mit Patienten und Patientinnen mit RRMS bzw. CIS untersucht. Sie ergab signifikant höhere R2*-Relaxations-Werte bei der schubförmig verlaufenden Form und eine gleichzeitige höhere Anzahl an T2-Läsionen und ausgeprägtere Hirnatrophie. Bereits vorhandene Hypothesen, die einen Zusammenhang zwischen vermehrtem Eisen und fortgeschrittenen Stadien der MS bzw. Hirnatrophie vermuteten, wurden dadurch bestärkt. Die Korrelation der R2*-Relaxations-Werte mit dem EDSS der Patienten und Patientinnen war in dieser Studie allerdings nicht signifikant. (64)

Eine longitudinale Studie mit medianem Follow-up über 2,9 Jahre demonstrierte Unterschiede in der Eisenansammlung zwischen frühen und späten Phasen der MS. Auch hier waren die Ausgangswerte der R2*-Relaxation in den Basalganglien bei klinisch definitiver MS höher als bei CIS. Im Laufe der Studie blieben diese Werte jedoch weitestgehend unverändert, einzig im Thalamus konnte sowohl bei MS als auch bei CIS ein signifikanter Rückgang der R2*-Relaxation festgestellt werden. Dennoch lassen diese Ergebnisse vermuten, dass die Anreicherung von Eisen in den Basalganglien hauptsächlich zu Beginn der Erkrankung stattfindet. (66)

1.2.4 Body Fluid Biomarker

Body Fluid Biomarker werden, wie der Name schon sagt, aus Körperflüssigkeiten gewonnen. Bei neurologischen Erkrankungen ist das neben dem Blut auch Liquor cerebrospinalis.

Die nachgewiesenen Biomarker geben ein dynamisches Bild körperlicher Vorgänge wieder, da sie ihre Konzentrationen rasch verändern können.

Bei der Abnahme von Serum sollte man beachten, dass viele Stoffe tageszyklischen Schwankungen unterliegen und durch Elimination und Ausscheidung in Leber und Niere beeinflusst werden.

Ein Nachteil intrathekaler Biomarker ist die Notwendigkeit einer Lumbalpunktion, die weitaus invasiver und aufwendiger als eine Blutabnahme ist und nicht in jeder ärztlichen Einrichtung durchgeführt werden kann. Daher sind sie für die Verwendung als Verlaufsparemeter, die regelmäßige Follow-up-Untersuchungen erfordern würde, weniger geeignet als Serum-Biomarker. (60)

Die anatomische Nähe des Liquors zum betroffenen Organ macht ihn dennoch essentiell für den Nachweis wichtiger Marker, sodass 2009 ein Protokoll zur standardisierten Gewinnung und Aufbewahrung von Liquor verfasst wurde. Dieses enthält von der genauen Dokumentation der Abnahme, über Patienteninformationen und Lagerbedingungen viele Punkte, die man bei Biomarker-Studien beachten sollte. (67)

Einige Body Fluid Biomarker konnten sich bereits in Studien als klinisch wertvoll beweisen, andere müssen ihr Potential als zukünftige Marker in weiteren Studien belegen. (51,53,54,68)

Die Serum-Konzentration von 25-Hydroxy-Vitamin-D steht insofern in Zusammenhang mit dem Erkrankungsrisiko gesunder Individuen, als dass eine Zunahme von 50nmol/l das Risiko um 41% senkt und die niedrigsten Risiken bei Konzentrationen über 99,1nmol/l zu finden waren. (5,51)

IgG oligoklonale Banden im Liquor cerebrospinalis werden nicht nur in der Diagnostik der MS eingesetzt, sondern haben auch Auswirkung auf die Konvertierung von CIS-Patienten und Patientinnen und das erhöhte Risiko eines zweiten klinischen Schubes. (27,31,69)

Der Nachweis intrathekaler viraler Immunglobuline, allen voran Masern, Röteln

und Varicella Zoster, aber auch Herpes simplex, kann zur Diagnostik bei MS-Patienten und Patientinnen ohne oligoklonale Banden verwendet werden, jedoch ist ihre Bestimmung technisch aufwendiger. Außerdem deuten Masern-Röteln-Varizellen-IgG auf das Vorhandensein einer B-Zell vermittelten Reaktion hin.

(53,54,70)

Von differentialdiagnostischer Bedeutung sind Anti-Aquaporin-4 Antikörper, die nur im Serum von Patienten und Patientinnen mit Neuromyelitis optica (NMO) vorkommen. Der Nachweis dieser Antikörper ist ein Diagnosekriterium für NMO, welche zwar ähnliche anfängliche Symptome wie MS aufweist, sich aber in ihrem klinischen Verlauf und ihrer Behandlung davon unterscheidet. (51,54,71)

Therapeutische Body Fluid Biomarker sind zum Beispiel neutralisierende Antikörper, wie sie unter Natalizumab und Interferonen im Serum vorkommen können. (42,51,54) Der Nachweis von Anti-JCV-Antikörpern deutet auf ein erhöhtes Risiko zur Entwicklung einer progressiven multifokalen Leukenzephalopathie (PML) hin, eine der schwerwiegendsten Nebenwirkungen von Natalizumab. (54,72)

Die heterogene Pathophysiologie der MS macht es besonders schwierig, geeignete Biomarker für deren Krankheitsaktivität einzuführen. Rezeptoren der Zelloberfläche, Adhäsionsmoleküle und Cytokine wie etwa Interleukine, Interferone oder Tumornekrosefaktor- α werden in engen Zusammenhang mit entzündlichen Prozessen und Remission gebracht. (52)

Neurofilamente sind Proteine des Zytoskeletts und ihr Vorhandensein im Liquor ist ein Marker für neurodegenerative Prozesse. Während eines klinischen Schubes zeigte sich im Vergleich zu klinisch stabilen MS-Formen ein signifikanter Unterschied, der vor allem bei RRMS mit erhöhten EDSS-Scores und damit einhergehender Beeinträchtigung korrelierte. (51,73)

Rezente Studien schrieben dem Element Eisen eine pathophysiologische Rolle in neurodegenerativen und entzündlichen Prozessen zu. Dies führt zu der Frage, ob die Krankheitsaktivität, welche mithilfe von MR-Untersuchungen nachgewiesen werden kann, mit Änderungen der Serum-Konzentrationen von Ferritin und Transferrin, zwei Speicherformen des Eisens, einhergeht. (57,58)

1.2.5 Eisen und MS

Eisen (Fe) ist ein essentielles Spurenelement und liegt in unserem Körper in zwei Oxidationsstufen, Fe^{2+} und Fe^{3+} , vor. Normalerweise ist es an Liganden gebunden, freies Eisen-II ist jedoch oxidativ wirksam und kann in der sogenannten Fenton-Reaktion, dargestellt in Abbildung 6, gemeinsam mit Wasserstoffperoxid (H_2O_2) freie Hydroxyl-Radikale (OH^\bullet) produzieren.

Diese Eigenschaft des Elements Eisen macht es potentiell zytotoxisch, da es oxidativen Stress erzeugt, Proteine denaturiert, DNA schädigt, entzündungsfördernde Cytokine aktiviert, Reparaturmechanismen blockiert und schließlich zum Zelltod führt. (57,58)

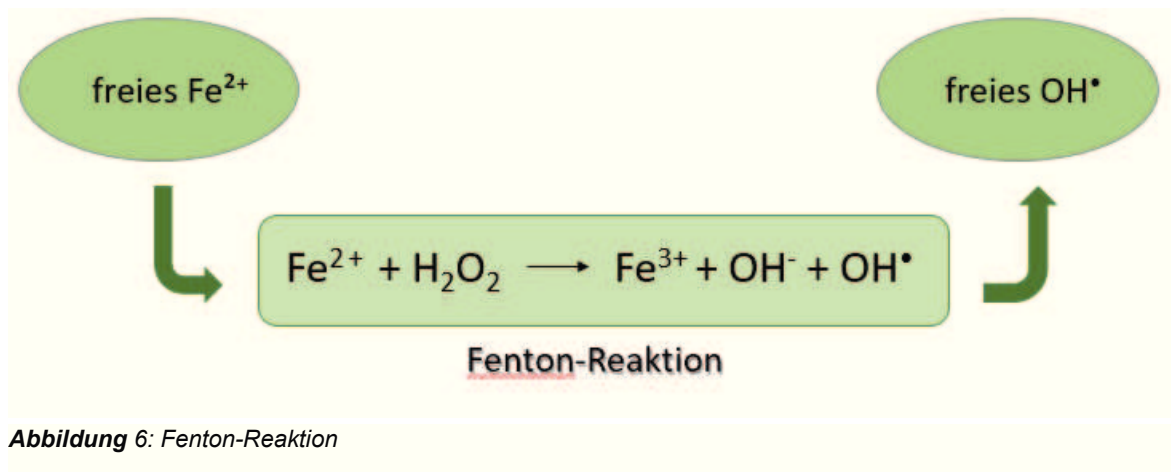


Abbildung 6: Fenton-Reaktion

Eisenablagerungen im Gehirn, vor allem in den Basalganglien, sind ein natürlicher Alterungsprozess. Bei gesunden Personen sind hauptsächlich Oligodendrozyten mit Eisen beladen, das in den Proteinen Ferritin und Hämosiderin gespeichert wird und in dieser Form als Puffer gegen Eisenüberschuss und -defizit dient. (63)

Histopathologische Post-mortem-Analysen zeigten zudem auch Anhäufungen von Eisen in Mikroglia und proinflammatorischen Makrophagen, die aufgrund entzündlicher Prozesse zu MS-typischen Läsionen wandern. Nicht nur der Untergang dieser Zellen, sondern auch ihre Fähigkeit freies Fe^{2+} zu produzieren, führen dazu, dass sich Eisen extrazellulär sammelt und oxidativer Stress gefördert wird. Besonders Neurone, Oligodendrozyten und deren Vorläuferzellen sind anfällig für diese metabolische Belastung. Da Oligodendrozyten reich an Ferritin sind, spielt ihr Zerfall ebenfalls eine Rolle in der Entstehung von

Eisenansammlungen. (58,63,74)

Der Nachweis von Eisen rundum Blutgefäße im ZNS lässt vermuten, dass es auch eine Verbindung zu Schäden an Gefäßen und der Blut-Hirn-Schranke gibt.

Histologische Untersuchungen zeigten kleine Blutungen, in denen Hämosiderin, ein Abbauprodukt des Hämoglobins und Speicherform des Eisens im Gehirn, festgestellt wurde. (58,63)

Auch im Liquor cerebrospinalis können Speicher- und Transportproteine des Eisens nachgewiesen werden. Transferrin, welches für den Transport in Zellen oder über die Blut-Hirn-Schranke verantwortlich ist, wurde in signifikant erniedrigter Konzentration bei CIS und MS im Vergleich zu einer Kontrollgruppe ohne neurologisch-entzündlicher Erkrankungen festgestellt. Es wurde angenommen, dass aufgrund des ausreichend vorhandenen freien Eisens im ZNS der Transporter Transferrin herunterregelt wird. (58,75)

Dem intrathekalen Akut-Phase-Protein Lipocalin-2 wurde eine positive Korrelation mit intrathekalen Transferrin-Werten bei CIS- bzw. MS-Patienten und Patientinnen nachgewiesen. Die Hypothese einer möglichen Auswirkung auf die Eisen-Homöostase bei MS wird aufgrund des nachgewiesenen Zusammenhangs zwischen Liquor-Lipocalin-2 und Eisen-Ansammlungen in den Basalganglien bei klinisch stabiler MS aufgestellt. (76)

Im peripheren Blut können einerseits die Serum-Konzentrationen von Eisen und seinen beiden Speicherformen Transferrin und Ferritin und andererseits das Level oxidativen Stresses gemessen werden. In einer Studie mit CIS, klinisch definierter MS und gesunder Kontrollgruppe wurde festgestellt, dass MS-Patienten und Patientinnen die niedrigsten Eisen-Serum-Werte und den höchsten oxidativen Status aufwiesen. Bei der Untersuchung des Risikos einer Konvertierung von CIS zu MS hatten diejenigen, die schubfrei blieben, signifikant höhere Eisen-Werte. (56)

Eisen hat neben neurodegenerativen auch neuroprotektive Eigenschaften, da es Energie für die Differenzierung von Progenitor Zellen zu funktionstüchtigen myelinproduzierenden Oligodendrozyten liefert. Außerdem kurbelt es die Cholesteroll- und Lipid-Synthese an, die für die Remyelinisierung von Axonen gebraucht werden. Indirekt tragen auch Makrophagen und Mikroglia zur

Neuroprotektion bei, indem sie die entzündungsfördernden Stoffe Tumornekrosefaktor und Interleukin-1 β durch eine Interaktion mit Eisen produzieren, die wiederum als Lockstoffe für Oligodendrozyten dienen. (58)
Wie wichtig Eisen für die Myelinisierung ist, zeigte eine Studie, in der Ratten schon nach nur 10 Tagen postnatalen Eisendefizits signifikante Veränderungen der Myelinproduktion und Oligodendrozytenfunktion vorwies. (77)

Die neuroprotektive Eigenschaft wurde in einem Artikel über zwei Kinder mit tumefaktiver MS beschrieben. Tumefaktive MS ist eine Sonderform der Multiplen Sklerose, die große (>2cm) MR-Läsionen mit Ähnlichkeiten zu Hirntumoren oder Abszessen zeigt und deren Pathophysiologie noch nicht genau geklärt ist. Nach rezidivierenden Schüben unter Steroid-Therapien bemerkten die Ärzte niedrige Eisen-, Ferritin- und Transferrin-Sättigungen im Serum. Beide Kinder erhielten eine Eisen-Supplementierung, unter der sich die Werte, allen voran Ferritin, wieder normalisierten und es gleichzeitig zu einem Stillstand der rezidivierenden Rückfälle kam. Der klinischen Relevanz dieser Therapie muss in weiteren Studien mit mehr Teilnehmern und Teilnehmerinnen nachgegangen werden, doch sie wäre ein möglicher Ansatz für zukünftige MS-Therapien. (55)

Eisen nimmt also eine sehr komplexe Rolle im Ablauf von Neurodegeneration und Remyelinisierung bei MS ein. Bis dato konnte nicht geklärt werden, ob der durch Eisen ausgelöste oxidative Stress zu entzündlichen Prozessen führt oder ob das Element ein Epiphänomen inflammatorischer Reaktionen im Gehirn ist. Fest steht, dass sowohl ein Überschuss an Eisen, als auch Eisen-Defizit pathologische Auswirkungen auf den Körper haben können. (57,58,63)

1.3 Fragestellung

Bisherige Studien zum Element Eisen in Zusammenhang mit MS-Veränderungen wurden einerseits MR-gestützt durchgeführt und zeigten vermehrte Eisenablagerungen in den Basalganglien der Betroffenen (57,63,64,66), andererseits ergaben Analysen der Körperflüssigkeiten veränderte Transferrin- und Ferritin-Werte im Liquor cerebrospinalis. (75,78,79)

Hinsichtlich Veränderungen der Eisenproteine im Serum wurden bis dato nur wenige Studien, mit zum Teil nicht übereinstimmenden Ergebnissen, veröffentlicht. (55,56,78,80)

Der Eisenhaushalt des Körpers ist sehr dynamisch und passt sich relativ rasch an gegebene Veränderungen an. Zusätzlich liefern rezente Studien Hinweise darauf, dass Eisen für die Pathophysiologie der MS von Bedeutung ist, wodurch es nahelegt, Eisenproteinen eine potentielle Funktion im Nachweis entzündlicher Krankheitsaktivität zuzuschreiben. (57,58)

In dieser Studie wurden die Serum-Konzentrationen von Ferritin und Transferrin einer größeren Studienkohorte mit denen einer Kontrollgruppe verglichen. Die Dynamik bzw. Stabilität der Eisenproteine wurde in longitudinalen Analysen untersucht.

Des Weiteren stellte sich die Frage, ob die mittels MR-Untersuchung nachgewiesene Krankheitsaktivität der MS sich auf die Konzentration der Proteine Transferrin und Ferritin in der Peripherie auswirkt.

Das Setting der hiesigen Einrichtung ermöglicht durch die zeitgleiche MR-Untersuchung und Blutabnahme eine genaue Zuordnung der jeweiligen gemessenen Krankheitsaktivität zu den Serumproben. Verglichen wurden die Proben von Patienten und Patientinnen mit CIS bzw. MS und Personen mit nicht-entzündlichen neurologischen Erkrankungen.

Neben Querschnittsberechnungen und longitudinalen Analysen der Serum-Transferrin und -Ferritin-Konzentrationen wurden auch Korrelationen mit demographischen und klinischen Daten wie Alter, EDSS und der jährlichen Schubrate untersucht.

2. Material und Methoden

2.1 Studiengenehmigung und Patienteneinverständnis

Die folgende Studie wurde von der Ethikkommission der Medizinischen Universität Graz geprüft und genehmigt. Alle Teilnehmer und Teilnehmerinnen wurden über die Studie aufgeklärt und willigten in Form einer schriftlichen Einverständniserklärung ein (EK 17-046 ex 05/06).

2.2 Patienten und Patientinnen mit CIS/MS

An der Studie nahmen insgesamt 79 Patienten und Patientinnen teil, die an der Medizinischen Universität Graz in der Ambulanz für Multiple Sklerose der Abteilung für Neurologie behandelt werden.

Folgende Einschlusskriterien wurden beachtet:

1. Patienten und Patientinnen mussten die Diagnosen Clinically Isolated Syndrome (CIS) mit Hinweisen auf MS oder schubhaft-remittierende MS (RRMS) aufweisen. Die Diagnosen wurden anhand gültiger Kriterien zum Zeitpunkt des Studienbeginns gestellt. (12,81)
2. Alle Teilnehmer und Teilnehmerinnen erhielten zwei Magnetresonanz-Untersuchungen mit Gadolinium. Zwischen dem Ausgangs- und Referenz-Scan vergingen mindestens sechs Monate.
3. Serum-Blutproben, abgenommen vor Applikation des Kontrastmittels beider MR-Untersuchungen, mussten vorhanden sein.
4. Die Patienten und Patientinnen erhielten 27 Tage vor der Untersuchung inklusive Blutabnahme keine Glukokortikosteroid-Infusionen.
5. Klinische Follow-up Untersuchungen wurde bei allen Teilnehmerinnen und Teilnehmern durchgeführt.

Sollte innerhalb der letzten 30 Tage vor einer MR-Untersuchung bzw. Blutabnahme ein klinischer Schub, definiert nach den geltenden Kriterien, aufgetreten sein, gilt der Zustand des Patienten oder der Patientin als klinisch aktiv. (12)

Eine primär progressive Form der MS zum Zeitpunkt der Erstuntersuchung wurde für die Studie nicht berücksichtigt.

2.3 Kontrollgruppe

Die 30 Teilnehmer und Teilnehmerinnen der Kontrollgruppe waren ebenfalls Patienten und Patientinnen der neurologischen Ambulanz an der Medizinischen Universität Graz.

Für sie galten folgende Einschlusskriterien:

1. Die Diagnose einer nicht-entzündlichen neurologischen Erkrankung und Einteilung in eine Kontrollgruppe nach Teunissen et al. (82)
Kraniale bzw. periphere Lähmungen fielen unter die Kategorie nicht-entzündliche neurologische Kontrollen (non-inflammatory neurological disease controls) und diejenigen mit Kopfschmerzen oder sensorischen Störungen wurden als symptomatische Kontrollen (symptomatic controls) eingetragen.
2. Liquor cerebrospinalis und Serum wurden auf Routine-Marker für entzündliche Erkrankungen des ZNS getestet und zeigten Ergebnisse im Normbereich.
3. Vor der Probenentnahme erhielt niemand in der Kontrollgruppe eine immunmodulatorische oder –suppressive Therapie.

2.4 Studiendaten

Demographische und klinische Daten der Teilnehmer und Teilnehmerinnen wurden sowohl bei der Ausgangs-Untersuchung (MRI 1), als auch zum Zeitpunkt des Referenz-MR (MRI 2) erhoben. Dazu gehörten Alter, Geschlecht, Alter bei Diagnosestellung, Verlaufsform und Grad der Beeinträchtigung gemessen mittels EDSS. Mittels der jährlichen Schubrate wurde eine Progression der Erkrankung durch wiederkehrende Schübe dokumentiert. (34,83)

Alle Untersuchungen wurden von erfahrenen Neurologen der hiesigen Einrichtung durchgeführt.

Kontrollgruppe und Studienkohorte wurden anhand der demographischen Daten Alter und Geschlecht aneinander angeglichen.

Aufgetretene klinische Schübe wurden laut geltender Leitlinien beurteilt, die besagen, dass neue oder erneute Symptome, die mindestens 24 Stunden anhalten und kennzeichnend für ein akutes entzündliches demyelinisierendes Geschehen im ZNS sind, von Patienten oder Patientinnen selbst berichtet oder objektiv beobachtet werden und ohne Hinweise auf Infektion oder Fieber bzw. erhöhte Körpertemperatur vorliegen müssen. (12)

Im Falle eines klinischen Schubes erhielten die Patienten und Patientinnen eine Therapie mit 1000mg Methylprednisolon täglich über einen Zeitraum von drei bis fünf Tagen. Der Abstand zwischen der letzten Steroid-Infusion und MR-Untersuchung betrug maximal 27 Tage.

Die Therapie der Patienten und Patientinnen mit CIS oder MS wurde aus den jeweiligen Patientenakten ermittelt und setzte sich aus folgenden Präparaten zusammen: Avonex, Betaferon, Copaxone, Gilenya, Rebif, Tysabri, Teriflunomid und Dimethylfumarat.

Durch Testen der Liquor/Serum Albumin Quotienten, Liquor/Serum IgG Quotienten und der oligoklonalen Banden im Liquor cerebrospinalis wurden neurologisch entzündliche Erkrankungen in der Kontrollgruppe ausgeschlossen. Als nicht-entzündliche neurologische Erkrankung (NIND) wurden kraniale oder periphere Lähmungen (n=6), Pseudotumor cerebri (n=1), Pseudotumor cerebri mit Stauungspapille beidseits (n=1) und chronisch axonale sensomotorische Polyneuropathie (n=1) kategorisiert.

Zu den symptomatischen Kontrollen zählten Kopfschmerz (n=8), sensorische Störungen (n=11), somatoforme Schmerzstörung vom Fibromyalgie-Typ (n=1) und psychogener Tremor (n=1). (82)

2.5 Gewinnung und Auswertung des Serums

Noch während die Patienten und Patientinnen im MR liegen werden 8 ml Blut entnommen und anschließend bis zur Analyse bei -80°C aufbewahrt. Dies ermöglicht eine exakte Korrelation zwischen MR-Scans und Serumkonzentrationen bestimmter Stoffe, in diesem Fall Ferritin und Transferrin.

In der Kontrollgruppe wurden Blutproben, die parallel zur diagnostischen Lumbalpunktion entnommen wurden, für diese Studie herangezogen. Die Lumbalpunktion diente als Grundlage für den differentialdiagnostischen Ausschluss einer neurologisch-entzündlichen Erkrankung. (33)

Alle Flüssigkeiten wurden sofort nach der Entnahme oder nach routinemäßiger Untersuchung entsprechend geltender Leitlinien bei -80°C gelagert. (67)
Die Lagerung und Handhabung der Proben wurde von geschulten Analytikern ohne klinische Informationen über die jeweilige Probe durchgeführt.

Zur Analyse von Liquor und Serum wurden folgende Techniken und Geräte gemäß Angaben der Hersteller verwendet: Mit der Fuchs Rosenthal Counting Chamber wurde die Zahl der weißen Blutkörperchen im Liquor untersucht. Albumin und IgG, IgA und IgM wurden mittels Nephelometrie mit dem Beckman Coulter Image 800 Analyzer analysiert (Beckman Coulter Inc., Bre, USA).
Um die regelrechte Funktionalität der Blut-Hirn-Schranke festzustellen wurde der Liquor/Serum Albumin-Quotient (Q_{alb}) berechnet.

Der Liquor/Serum IgG Quotient (Q_{IgG}) wurde für den IgG-Index verwendet, welcher sich aus der Formel $Q_{\text{IgG}} / Q_{\text{alb}}$ berechnen lässt und auf intrathekale Immunglobuline und somit eine Blut-Hirn-Schranken-Störung hinweist.
Mittels isoelektrischer Fokussierung und anschließendem Immunoblotting wurde das Vorhandensein oligoklonaler Banden im Liquor getestet. (33)

Die Konzentrationen der beiden Body Fluid Biomarker Serum-Transferrin und Serum-Ferritin wurden mittels Nephelometrie am Beckman Coulter Image 800 Analyzer (Beckman Coulter Inc., Brea, USA) gemessen.

2.6 MRI

Alle Patienten und Patientinnen erhielten eine Ausgangs-MR-Untersuchung (MRI 1) auf einem 3 Tesla Gerät (Siemens Medical Systems, Erlangen, Germany) mit gleichzeitiger venöser Blutabnahme und darauffolgender venöser Verabreichung von Gadolinium (0,1mmol/kg KG).

Die verwendeten Sequenzen waren T1-gewichtetes 3D Magnetization Prepared Rapid Acquisition Gradient Echo (MPRAGE) und T2-gewichtetes 2D fast Fluid Attenuated Inversion Recovery (FLAIR).

70 Teilnehmer und Teilnehmerinnen mit CIS bzw. MS unterzogen sich einer zweiten Untersuchung (MRI 2) mit identem Ablauf und Protokoll.

Kontrastmittelaufnehmende Läsionen in T1-gewichteten Bildern wurden als aktive Läsionen beurteilt. Bei fehlenden klinischen Symptomen waren sie Ausdruck subklinischer Krankheitsaktivität, der die korrelierenden Serumkonzentrationen der Patienten und Patientinnen zugeordnet werden konnten. (17,84)

2.7 Studienablauf

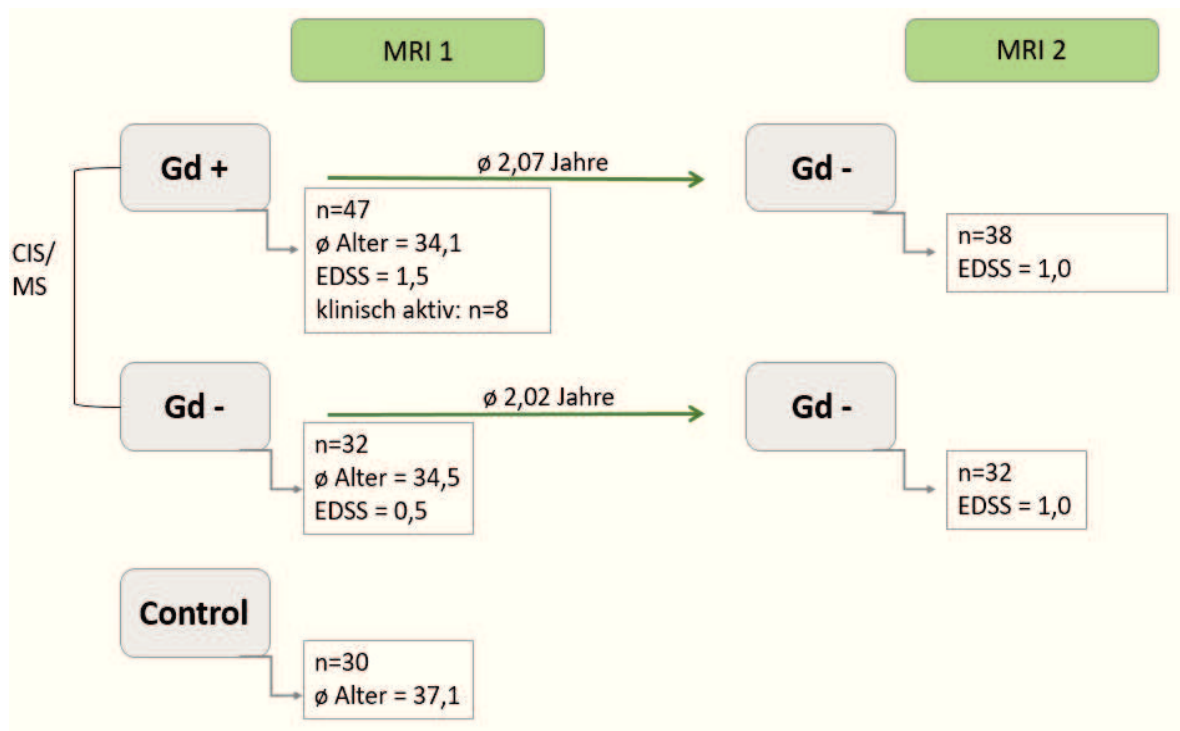
Mit Hilfe der MR-Untersuchungen wurden die Patienten und Patientinnen mit CIS oder RRMS in zwei Kategorien unterteilt: 47 zeigten in der Anfangs-Untersuchung Gadoliniumaufnahmen (Gd+) und 32 blieben ohne Hinweise auf Kontrastmittel (Gd-).

In einer Querschnitts-Analyse wurde die Serumkonzentration von Ferritin und Transferrin zwischen Gd+ und Gd-, Gd+ und Kontrollgruppe sowie Gd- und Kontrollgruppe verglichen.

In einer zweiten MR-Untersuchung (MRI 2) zeigten 38 der zuvor Gd+ Patienten und Patientinnen und alle 32 mit Gd- keine Kontrastmittelaufnahmen mehr. Die entsprechenden Serumproben wurden in einem longitudinalen Setting den Ausgangs-Werten gegenübergestellt.

Durchschnittlich vergingen in der Gruppe mit Gd+ 2,07 Jahre zwischen MRI 1 und MRI 2, bei Gd- waren es durchschnittlich 2,02 Jahre.

Abbildung 7 gibt einen Überblick über den Aufbau der Studie und klinische Daten.



MRI = Magnetresonanztomographie; MRI 1 = Basis-Untersuchung; MRI 2 = Referenz-Untersuchung; Gd+ = Kontrastmittelaufnahme; Gd- = keine Kontrastmittelaufnahme; CIS = klinisch isoliertes Syndrom; MS = multiple Sklerose; EDSS = Expanded Disability Status Scale (mediane Werte)

Abbildung 7: Studienablauf

2.8 Statistische Auswertung

Alle statistischen Analysen wurden mittels SPSS Statistics, Version 22.0 (IBM Corp., Armonk, NY) durchgeführt.

Die Normalverteilung der Daten wurde mittels Kolmogorov-Smirnov-Test und die gleichmäßige Verteilung der demographischen Daten innerhalb der Gruppen mittels Chi-Quadrat-Test ausgewertet.

Für den Vergleich zweier eigenständiger Variablen, in diesem Fall Gd+, Gd- oder Kontrollen, wurde der Mann-Whitney-U Test angewandt. Der Kruskal-Wallis Test mit anschließendem Dunn's Multiple Comparison Test wurde im Fall von mehr als zwei Variablen, hier Gd+ vs. Gd- vs. Kontrollen, herangezogen.

Der Wilcoxon Signed Rank Test kam beim longitudinalen Vergleich zweier gepaarter Variablen zum Einsatz.

Um die Korrelation zwischen Serumkonzentrationen, demographischen und klinischen Daten zu testen wurde der Spearman Rangkorrelationskoeffizient mit einem Signifikanz-Level von 5% ($p < 0,05$) berechnet.

3. Ergebnisse

3.1 Demographische Daten

Das Geschlecht und Alter der Teilnehmer und Teilnehmerinnen zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen Patienten bzw. Patientinnen und der Kontrollgruppe. Tabelle 2 fasst die wichtigsten demographischen und klinischen Daten zusammen.

Von 47 Patienten und Patientinnen mit Kontrastmittelanreicherung (Gd+) waren 14 (29,8%) männlich und 33 (70,2%) weiblich, bei den insgesamt 32 ohne Kontrastmittelaufnahme (Gd-) waren 13 (40,6%) männlich und 19 (59,4%) weiblich. Zusammengefasst setzten sich Gd+ und Gd- aus 27 (34,2%) Patienten und 52 (65,8%) Patientinnen zusammen.

In der Kontrollgruppe gab es 11 (36,7%) männliche Teilnehmer und 19 (63,3%) weibliche Teilnehmerinnen.

Das Alter zum Zeitpunkt der ersten MR-Untersuchung und Blutabnahme betrug im Durchschnitt 34,1 Jahre bei Gd+, 34,5 Jahre bei Gd- und 37,1 Jahre in der Kontrollgruppe. Alle Patientinnen und Patienten zusammengefasst, betrug das durchschnittliche Alter 34,3 Jahre mit einer Krankheitsdauer von durchschnittlich 5,1 Jahren zum Zeitpunkt MRI 1.

Das Durchschnitts-Alter bei Diagnosestellung CIS bzw. MS betrug bei allen Patienten und Patientinnen zusammengenommen 29,2 Jahre.

Tabelle 2: Demographische und klinische Daten

	CIS/MS	Kontrollgruppe	p-Wert
Anzahl bei MRI 1	79	30	NA
Anzahl bei MRI 2	70	NA	NA
Anzahl Patienten und Patientinnen mit Gd+ (%) bei MRI 1	47 (59,5)	NA	NA

Anzahl Patienten und Patientinnen mit Gd- (%) bei MRI 1	32 (40,5)	NA	NA
Anzahl weiblich (%) bei MRI 1	52 (65,8)	19 (63,3)	NS ^a
Alter bei MRI 1 [Mittelwert, J] (SD)	34,3 (8,9)	37,1 (10,2)	NS ^b
Alter bei Diagnosestellung CIS/MS [Mittelwert, J] (SD)	29,2 (8,4)	NA	NA
Anzahl CIS (%) bei MRI 1	31 (39,2)	NA	NA
Anzahl RRMS (%) bei MRI 1	48 (60,8)	NA	NA
Anzahl klinisch aktiver Patienten und Patientinnen (%) bei MRI 1	8 (10,1)	NA	NA
Zeitabstand zwischen MRI 1 und MRI 2 [Mittelwert, J] (SD)	2,05 (1,57)	NA	NA
EDSS [median] (IQR) bei MRI 1	1,0 (0,0-2,3)	NA	NA
EDSS [median] (IQR) bei MRI 2	1,0 (0,0-2,0)	NA	NA

CIS = Clinically Isolated Syndrome, MS = Multiple Sklerose, MRI 1 = Basisuntersuchung, MRI 2 = Referenz-Untersuchung, J = Jahre, SD = Standardabweichung, IQR = Interquartilsabstand, NA = nicht anwendbar, NS = nicht signifikant ($p > 0,05$), ^a = Chi-Quadrat-Test, ^b = Mann-Whitney-U-Test

3.2 Patienten und Patientinnen mit CIS/MS

Anhand der Ergebnisse aus den jeweiligen MR-Untersuchungen wurden die teilnehmenden Männer und Frauen in Gadolinium-positive (Gd+) und somit aktive bzw. Gadolinium-negative (Gd-) Gruppen eingeteilt.

Die jeweiligen Verlaufsformen der MS, die Krankheitsaktivität und die

Beeinträchtigung anhand EDSS verhielten sich innerhalb dieser Gruppen sowie für alle CIS/MS Patienten und Patientinnen zusammengefasst wie folgt:

Insgesamt wurden 79 Patienten und Patientinnen (31 mit CIS, 48 mit RRMS) in der ersten sowie 70 (21 mit CIS, 49 mit RRMS) in der zweiten Untersuchung betreut.

Von 47 Patienten und Patientinnen mit Kontrastmittelaufnahme (Gd+) bei MRI 1 erhielten 38 eine Referenz-MR-Untersuchung, bei der keine Gadolinium-Anreicherung nachweisbar war (Gd-).

Die Gruppe Gd- bestand sowohl zum Zeitpunkt MRI 1, als auch zum Zeitpunkt des Referenz-MR (MRI 2) aus 32 Teilnehmern und Teilnehmerinnen, die bei keiner der beiden Untersuchungen Kontrastmittel anreicherten.

Die Krankheitsaktivität der MS lässt sich in eine symptomlose, subklinische und eine klinische mit definierten Schüben nach McDonald 2010 unterscheiden. (12) Anhand der Patientendaten wurde ermittelt, welche Patienten und Patientinnen bis zu 30 Tage vor der jeweiligen Untersuchung klinische Rückfälle erlitten hatten.

Unter den Gd+ befanden sich 8 (17% bzw. 10,1% aller CIS/MS) während der Erstuntersuchung in einer aktiven Krankheitsphase.

Die MR-Läsionen der übrigen 39 (83% bzw. 49,3% aller CIS/MS) Gd+ Patienten und Patientinnen des MRI 1 wurden als subklinisch aktive Läsionen eingestuft.

Diejenigen ohne Kontrastmittelaufnahme zeigten bei keiner der Untersuchungen klinische Aktivität.

Die klinische Beeinträchtigung der MS kann mittels der Expanded Disability Status Scale (EDSS) quantifiziert werden. (34)

Sowohl vor MRI 1 als auch MRI 2 wurde der aktuelle EDSS-Score der Patienten und Patientinnen erhoben. Die medianen Werte zum Zeitpunkt MRI 1 waren bei Gd+ höher (EDSS von 1,5) als bei Gd- (EDSS von 0,5), allerdings erreichte deren Vergleich keine Signifikanz. Auch beim Referenz-MR wurde kein signifikanter Unterschied der EDSS-Werte beider Patientengruppen gemessen.

3.3 Gruppenergebnisse zu Serum-Ferritin und Serum-Transferrin

In der Querschnittsstudie wurden die Serumkonzentrationen von Ferritin und Transferrin bei Gd+, Gd- und der Kontrollgruppe zum Zeitpunkt der jeweiligen Untersuchungen MRI 1 und MRI 2 miteinander verglichen.

Die longitudinalen Ergebnisse sollten mögliche Konzentrationsveränderungen der Eisenproteine zwischen MRI 1 und MRI 2 innerhalb einer Gruppe (Gd+ oder Gd-) aufzeigen.

Die medianen Serum-Transferrin-Werte bei MRI 1 für Gd+ (250mg/dl), Gd- (255mg/dl) und Kontrollgruppe (286mg/dl) waren im Vergleich untereinander, unter Zuhilfenahme des Kruskal-Wallis-Tests, signifikant unterschiedlich ($p=0,034$), wie in Abbildung 8 zu sehen ist. Allerdings waren die Unterschiede der Serum-Werte nicht ausgeprägt genug, um auch im anschließend durchgeführten Dunn's nonparametric Vergleich Signifikanz zu erreichen.

Da zwischen Serum-Transferrin bei Gd+ und Gd- keine signifikanten Unterschiede errechnet wurden, wurden beide Gruppen zur einer (CIS/MS) zusammengefasst und gegen die Kontrollgruppe verglichen. Zum Zeitpunkt der Basisuntersuchung MRI 1 betrug der Transferrin-Wert der CIS/MS-Patienten und Patientinnen median 252mg/dl, womit er signifikant niedriger als das Serum-Transferrin der Kontrollgruppe (286mg/dl median) war ($p=0,009$). (Abbildung 9)

Serum-Transferrin MRI 1 Gd+ vs. Gd- vs. Kontrollgruppe

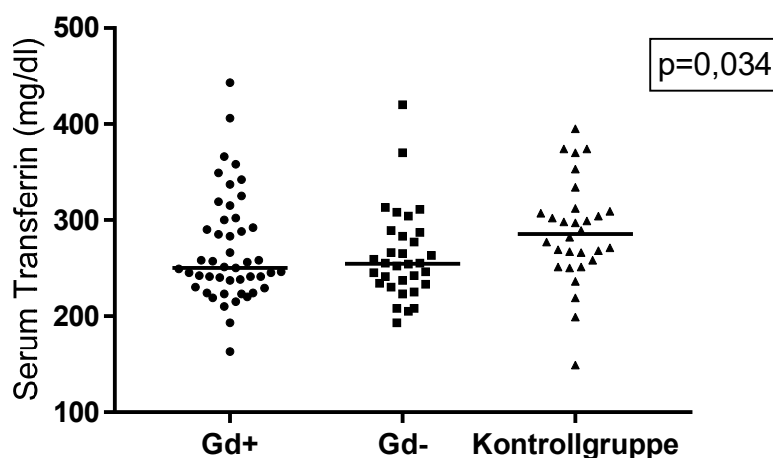


Abbildung 8: Serum-Transferrin MRI 1 bei Gd+ vs. Gd- vs. Kontrollgruppe laut Kruskal-Wallis-Test

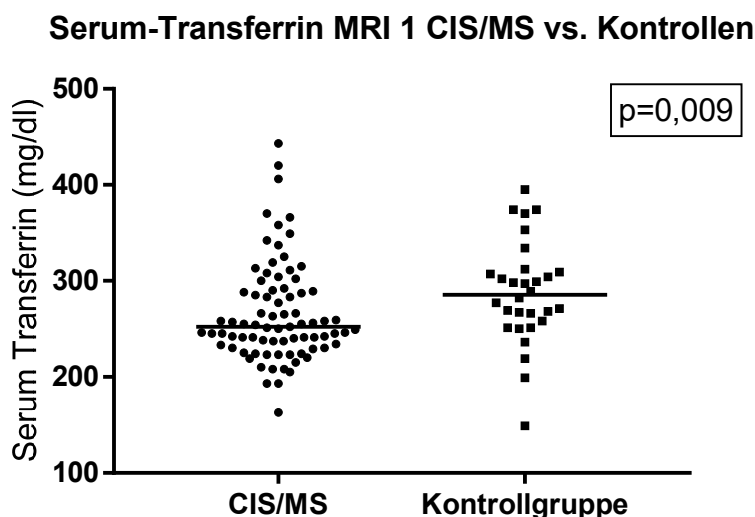


Abbildung 9: Serum-Transferrin MRI 1 bei CIS/MS vs. Kontrollen

Die mediane Serum-Ferritin-Konzentration zum Zeitpunkt MRI 1 betrug in der Gruppe der Gd+ 40,0ng/ml, in der Gruppe der Gd- 67,3ng/ml und in der Kontrollgruppe 52,1ng/ml. Weder beim Vergleich von Gd+ vs. Gd- vs. Kontrollgruppe mittels Kruskal-Wallis-Test, noch beim Testen von CIS/MS vs. Kontrollgruppe konnten signifikante Unterschiede in der Serum-Konzentration des Ferritin gefunden werden.

In der gemeinsamen longitudinalen Auswertung aller CIS/MS-Patienten und Patientinnen zusammen wurden weder für die Serum-Ferritin-Werte, noch für die Serum-Transferrin-Werte signifikante Änderungen über die Zeit zwischen MRI 1 und MRI 2 gefunden ($p=0,471$ für Serum-Ferritin; $p=0,199$ für Serum-Transferrin). (Abbildung 10 und 11)

Zusätzlich wurden separate Berechnungen für kontrastmittelanreichernde Patienten und Patientinnen, welche in der Referenzuntersuchung keine Anreicherung mehr vorwiesen, unternommen. Die Serum-Konzentrationen des Ferritin und Transferrin zeigten keine signifikanten longitudinalen Unterschiede zwischen den beiden Untersuchungen ($p=0,878$ für Ferritin; $p=0,514$ für Transferrin). (Abbildung 12)

Auch diejenigen CIS/MS-Patienten und Patientinnen, die weder zum Zeitpunkt MRI 1, noch MRI 2 Gadolinium anreicherten (Gd-), zeigten keine signifikanten Konzentrationsveränderungen von Ferritin ($p=0,465$) und Transferrin ($p=0,204$) über den Verlauf der Studie. (Abbildung 13)

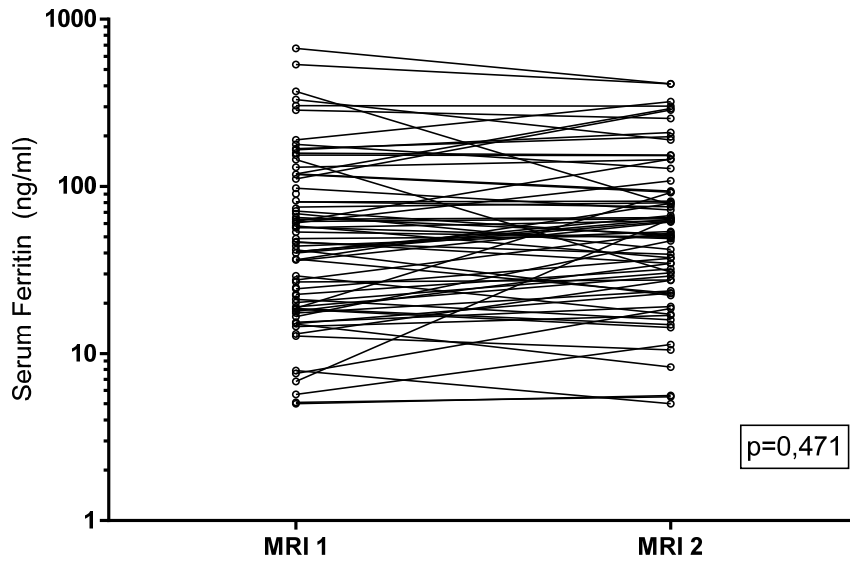


Abbildung 11: longitudinale Auswertung des Serum-Ferritin bei CIS/MS

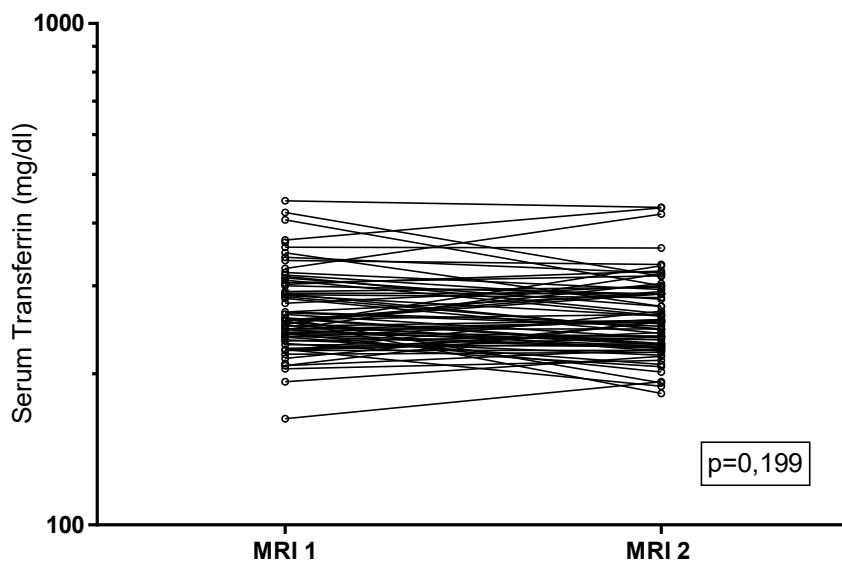


Abbildung 10: longitudinale Auswertung des Serum-Transferrin bei CIS/MS

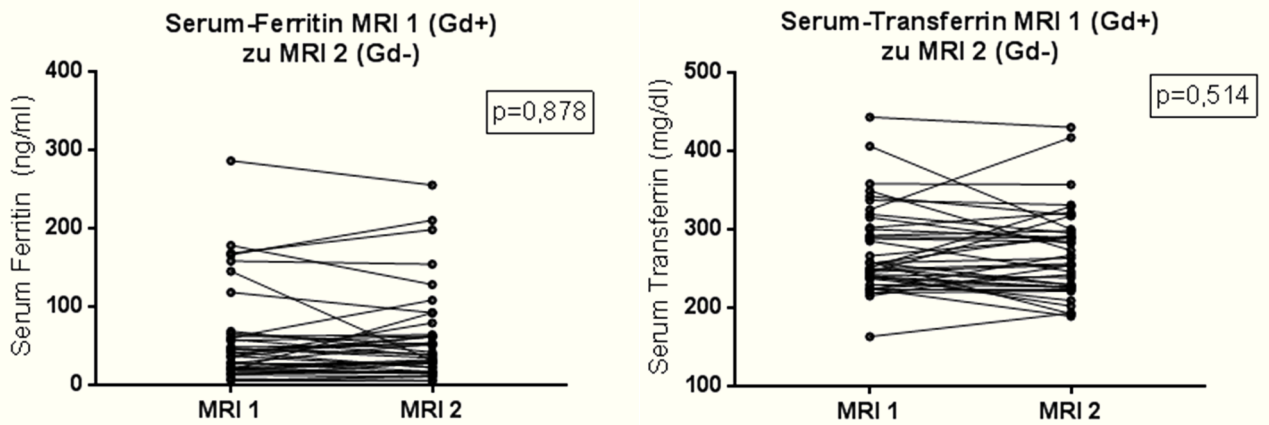


Abbildung 12: longitudinale Auswertung des Serum-Ferritin und Serum-Transferrin bei Gd+

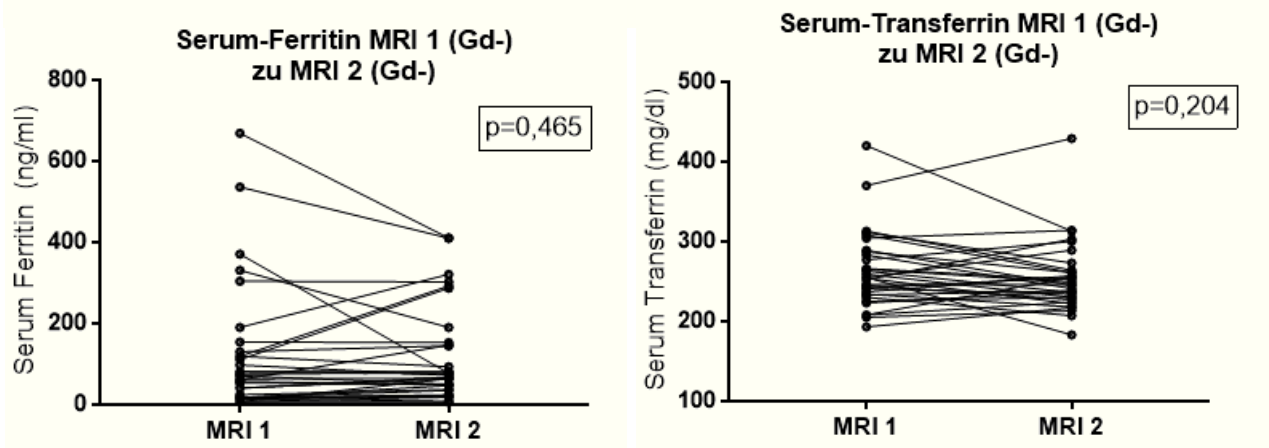


Abbildung 13: longitudinale Auswertung des Serum-Ferritin und Serum-Transferrin bei Gd-

3.4 Korrelationen von Serum-Ferritin bzw. Serum-Transferrin untereinander

Für die Korrelationen wurden die Serum-Ferritin und Serum-Transferrin-Werte aller CIS/MS Patienten und Patientinnen gemeinsam ausgewertet.

Der Serum-Ferritin-Wert, gemessen zum Zeitpunkt MRI 1, korreliert statistisch mit dem während MRI 2 gemessenen Wert des Serum-Ferritin ($r=0,840$; $p<0,001$) und auch bei der Messung von Serum-Transferrin konnte eine, wenn auch etwas schwächere, Korrelation zwischen den beiden Untersuchungszeitpunkten festgestellt werden ($r=0,709$; $p<0,001$). Die signifikanten Zusammenhänge der beiden Biomarker zwischen den Untersuchungszeitpunkten MRI 1 und MRI 2 sind in den zwei Graphen in Abbildung 14 veranschaulicht.

In der Kontrollgruppe wurde nur eine MRI-Untersuchung und somit auch nur eine Blutabnahme durchgeführt, wodurch ein Vergleich der Konzentrationen zu zwei unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten nicht möglich war.

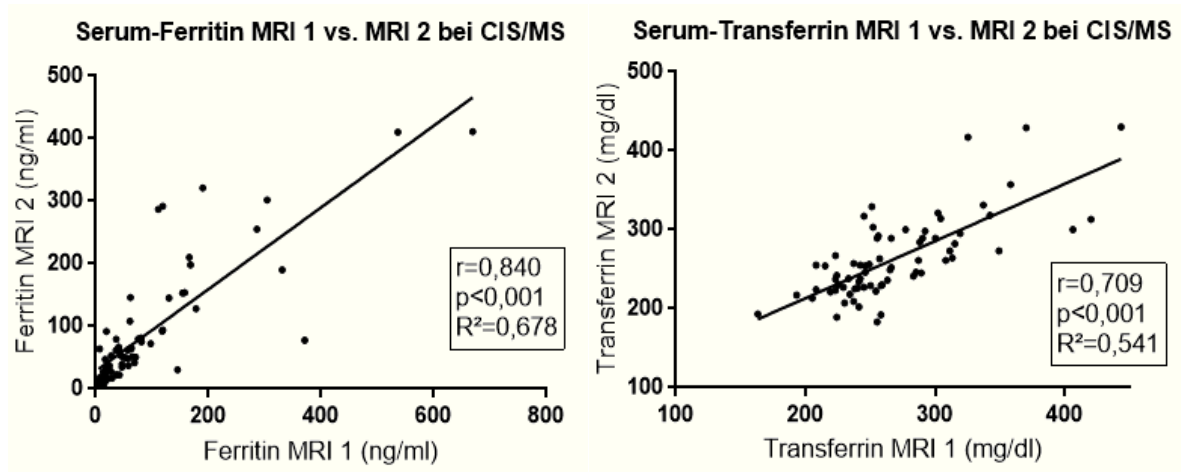


Abbildung 14: Korrelationen von Serum-Ferritin MRI 1 zu Serum-Ferritin MRI 2 (links) bzw. Serum-Transferrin MRI 1 zu Serum-Transferrin MRI 2 (rechts)

Ein signifikanter negativer Zusammenhang besteht zwischen den beiden Biomarkern Serum-Ferritin und Serum-Transferrin sowohl zum Zeitpunkt der Basisuntersuchung MRI 1 ($r=-0,404$; $p<0,001$), als auch zum Zeitpunkt des Referenz-MRI 2 ($r=-0,255$; $p=0,033$). Abbildung 15 zeigt die Korrelation von Serum-Ferritin zu Serum-Transferrin bei MRI 1 sowie bei MRI 2.

Die Korrelation zwischen Serum-Transferrin und Serum-Ferritin zum Zeitpunkt MRI 1 war in der Kontrollgruppe nicht signifikant. ($r=-0,216$; $p=0,252$). (nicht abgebildet)

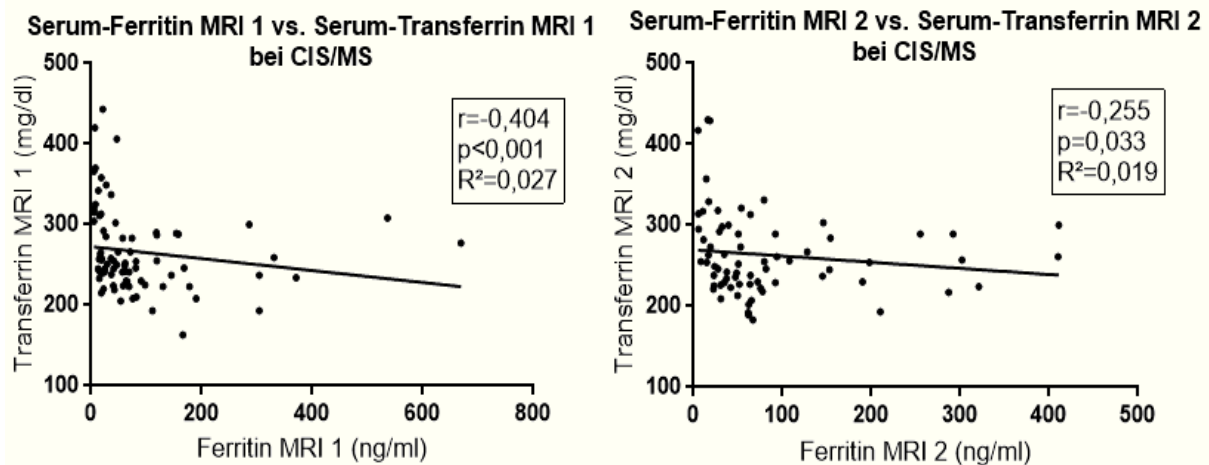


Abbildung 15: Korrelation von Serum-Ferritin zu Serum-Transferrin bei MRI 1 (links) und MRI 2 (rechts)

3.5 Korrelationen von Serum-Ferritin bzw. Serum-Transferrin mit klinischen und demographischen Daten

Zwischen der Kontrollgruppe und den Patienten bzw. Patientinnen mit CIS/MS bestanden keine signifikanten Altersunterschiede, welche die Berechnungen der Korrelationen der Serum-Proteine zum Alter hätten beeinflussen können.

Die Serum-Ferritin-Konzentration zum Zeitpunkt der Basisuntersuchung (MRI 1) zeigte eine schwache, signifikante Korrelation zum Alter der CIS/MS-Patienten und Patientinnen bei MRI 1 ($r=0,239$; $p=0,034$). Ebenso korrelierten die Serum-Ferritin-Werte bei MRI 2 mit dem Alter der Patienten und Patientinnen bei MRI 2 ($r=0,235$; $p=0,050$). (Abbildung 16)

Für Serum-Transferrin konnten weder bei der Basis- noch der Referenzuntersuchung signifikante Korrelationen zum Alter der CIS/MS-Patienten und Patientinnen nachgewiesen werden.

Die Auswertungen der Kontrollgruppe bezüglich der Korrelationen von Serum-Ferritin und Serum-Transferrin zum Alter bei MRI 1 waren nicht signifikant.

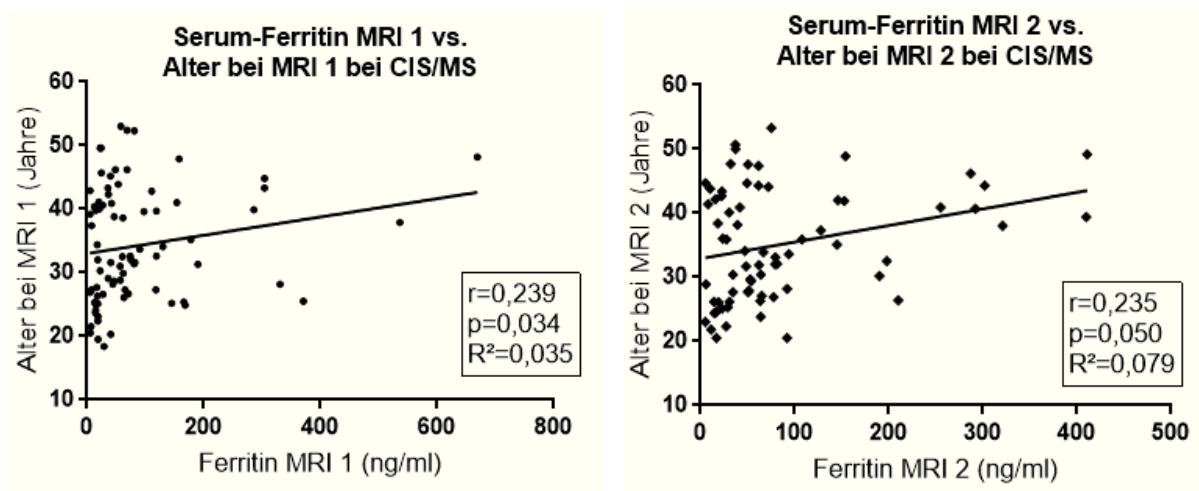


Abbildung 16: Korrelationen von Serum-Ferritin bei MRI 1 zu Alter bei MRI 1 (links) und Serum-Ferritin bei MRI 2 zu Alter bei MRI 2 (rechts)

Weitere untersuchte klinische Parameter der Krankheitsprogression und klinischen Beeinträchtigung waren EDSS-Scores und die jährliche Schubrate.

Zwischen den EDSS-Scores der CIS/MS-Patienten und Patientinnen und den jeweiligen Serum-Konzentrationen von Ferritin und Transferrin beim Ausgangs-MR (MRI 1) bzw. Referenz-MR (MRI 2) wurden keine signifikanten Korrelationen gefunden. Des Weiteren unterschieden sich die EDSS-Scores der MS-Patienten und Patientinnen mit Gadolinium-Aufnahme (Gd+) und ohne (Gd-) bei keiner der beiden Untersuchungen signifikant.

Die jährliche Schubrate ergibt sich aus der Anzahl der Schübe dividiert durch die Krankheitsdauer in Jahren und kann nur bei Patienten und Patientinnen mit RRMS berechnet werden, da diese Form durch remittierende Schübe gekennzeichnet ist. Bei der Auswertung konnten jedoch weder zum Zeitpunkt des MRI 1 noch beim MRI 2 signifikante Korrelationen zu Serum-Ferritin oder Serum-Transferrin gefunden werden.

4. Diskussion

Diese Studie beschäftigte sich mit den Serum-Konzentrationen der Eisenproteine Transferrin und Ferritin und deren Zusammenhang mit MR-Aktivität bei Multipler Sklerose, die sich durch Kontrastmittelaufnahmen nachweisen lässt.

Die Ergebnisse konnten signifikant erniedrigte Serum-Konzentrationen des Transferrin bei CIS/MS-Patienten und Patientinnen im Vergleich zu einer Kontrollgruppe ohne entzündlich-neurologische Erkrankungen aufzeigen.

Bezüglich des Serum-Ferritins wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen Patienten und Patientinnen mit CIS/MS und der Kontrollgruppe festgestellt.

In einer zusätzlich durchgeführten Auswertung konnten keine signifikant unterschiedlichen Serum-Transferrin- und Ferritin-Werte zwischen Patienten und Patientinnen mit (Gd+) und ohne (Gd-) Kontrastmittelaufnahme gefunden werden. Die longitudinalen Vergleiche zwischen Ausgangs- und Referenz-MR zeigten konstante Serum-Konzentrationen, die sich trotz alternierender Krankheitsaktivität nicht signifikant veränderten.

Eisen ist ein wichtiges Spurenelement des Körpers und spielt eine essentielle Rolle in physiologischen Vorgängen im zentralen Nervensystem. Zum einen wird es für den Energiestoffwechsel, zur Aufrechterhaltung normaler Zellfunktionen, zur Neurotransmittersynthese und zur Myelinproduktion gebraucht. Zum anderen fördert ein Überschuss an Eisen aufgrund seines Redoxpotentials die Produktion von reaktiven Sauerstoffspezies und oxidativen Stress, der destruktiv auf das Nervensystem wirkt. (57,58,85) Vor allem Neurone und Oligodendrozyten sind besonders anfällig auf diesen oxidativen Stoffwechsel, wobei letztere reich an Eisen sind, welches bei deren Zerfall frei wird. Als weitere mögliche Ursachen für die Ansammlung freien Eisens im Gehirn werden eine Dysregulation des Eisentransports über die Blut-Liquor-Schranke, vaskuläre Schäden und Mikroblutungen oder eingewanderte Immunzellen wie Makrophagen oder Monozyten diskutiert. Dabei sei anzumerken, dass veränderter Eisengehalt im ZNS eventuell auch auf eine Umverteilung des Elements in unterschiedliche Bereiche des Gehirns zurückzuführen sein könnte. (58,74,85)

Bis dato ist noch nicht geklärt, ob Eisen als Auslöser oder als Epiphänomen entzündlicher Vorgänge im ZNS anzusehen ist (58).

Vermehrte Eisenablagerungen, vor allem in den Basalganglien, sind ein altersbedingter Prozess (86,87). Im Zuge neurodegenerativer Erkrankungen konnten mithilfe spezialisierter MR-Techniken und auch in histochemischen und Post-mortem-Studien über dieses Alterslimit hinausgehende Ansammlungen festgestellt werden (57,58,63,74,85,88). Khalil et al. konnten Veränderungen der Eisenansammlungen zwischen frühen und späten Phasen der MS feststellen (66) und in vorangegangenen Studien wurden Eisenablagerungen mit klinischer Beeinträchtigung in Zusammenhang gebracht (58,64).

Trotz zahlreicher Studien bezüglich des Eisennachweises mittels MR gibt es nur wenige, die sich mit Eisenproteinen in Körperflüssigkeiten beschäftigten. Bei neurologischen Erkrankungen bietet sich Liquor cerebrospinalis aufgrund seiner anatomischen Nähe zum betroffenen Organ als zu untersuchendes Medium an. Bisherige Studien zu Eisen und dessen Speicher- bzw. Transportproteinen Ferritin und Transferrin im Liquor zeigen unterschiedliche Ergebnisse zwischen den jeweiligen MS-Verlaufsformen und Kontrollen auf. (75,78,79)

Untersuchungen des Serums Betroffener ergaben erniedrigte Transferrin-Werte bei primär progressiven Verlaufsformen im Vergleich zu RRMS (78), niedrigeres Transferrin bei aktiver als bei nicht-aktiver RRMS (78), signifikant erhöhte Ferritin-Werte und erhöhte Transferrin-Sättigung bei aktiven Formen der MS (75,80) und signifikant erniedrigtes Gesamt-Eisen bei MS und CIS (56). Besonders hervorzuheben ist eine Publikation von van Toorn et al. aus dem Jahr 2010, die über niedrigen Eisenstatus und erniedrigtes Serum-Ferritin bei zwei Kindern mit rezidivierender, aktiver tumefaktiver MS berichtet (55).

Ausgehend von diesen nur spärlich vorhandenen Berichten über Ferritin und Transferrin im Serum, war das Ziel der hiesigen Studie, die Konzentrationen dieser Eisenproteine an einer größeren Studienkohorte im Vergleich zu einer Kontrollgruppe zu testen. Des Weiteren stellte sich die Frage, ob sich die Krankheitsaktivität der MS auf Ferritin- und Transferrin-Konzentrationen in der Peripherie auswirkt.

In der hiesigen Studie wurde der Fokus auf MR-gestützte Krankheitsaktivität gelegt, die durch die Aufnahme des Kontrastmittels Gadolinium in aktiven Läsionen nachzuweisen ist. Auch subklinische Krankheitsaktivität, charakterisiert durch aktive Läsionen ohne klinischen Schub, konnte ermittelt werden. Da in dieser Studie zwei MR-Untersuchungen pro Patient bzw. Patientin durchgeführt wurden, ergab sich die Möglichkeit der longitudinalen Berechnung möglicher Serum-Konzentrationsänderungen, welche in keiner der bisherigen Studien beschrieben wurden.

In einer kürzlich veröffentlichten Studie konnten bleibende Ablagerungen gadoliniumhaltiger Kontrastmittel in Kapillaren und neuralen Interstitien festgestellt werden (89). Die Etablierung eines Serum-Markers, der klinisch relevante Informationen bezüglich der Krankheitsaktivität liefern könnte, würde ein Einsparen zeitlich aufwändiger Magnetresonanzenuntersuchungen ermöglichen.

Die Untersuchungen der Serum-Transferrin-Konzentrationen dieser Studie zeigten signifikant erniedrigte Transferrin-Konzentrationen der CIS/MS-Patienten und Patientinnen im Vergleich zu Kontrollen ohne neurologisch-entzündliche Erkrankungen. Zwischen aktiven (Gd+) und nicht-aktiven (Gd-) Patienten und Patientinnen konnten keine Unterschiede bezüglich des Transferrins ausgemacht werden und auch im longitudinalen Verlauf blieben die Transferrin-Konzentrationen im Serum trotz Krankheitsaktivität stabil.

Transferrin dient als Transportprotein des Eisens und spielt eine wichtige Rolle bei dessen Übertritt über die Blut-Liquor-Schranke, wo es mithilfe eines Transferrin-Rezeptors an intrathekal gebildetes Transferrin weitergegeben wird (65). Des Weiteren ist Transferrin als negatives Akut-Phase-Protein bekannt, dessen Konzentration bei chronisch-entzündlichen Erkrankungen erniedrigt ist (90). In einer Studie wurde niedrigeres Serum-Transferrin bei aktiver RRMS im Vergleich zu nicht-aktiver RRMS festgestellt (78).

Weitere Erkenntnisse einer Studie waren Veränderungen des Serum-Transferrin zwischen den jeweiligen Verlaufsformen der MS, wobei primär progressive Formen die niedrigsten und stabile RRMS die höchsten Konzentrationen aufwiesen. Ein Trend zu Veränderungen des Serum-Transferrins bei MS zeichnet sich somit ab, wurde jedoch in keinen Vergleich zu Kontrollgruppen gestellt. (78)

Auch in der hiesigen Studie scheint eine gewisse Alteration, nämlich erniedrigtes Transferrin bei CIS/MS, vorhanden zu sein. Jedoch befanden sich die Teilnehmer und Teilnehmerinnen dieser Studie in sehr frühen Phasen der MS, weshalb weitere Studien eine breitere Streuung bezüglich der Verlaufsformen der MS beachten sollten.

Vergleiche der CIS/MS-Patienten und Patientinnen mit Kontrollen bezüglich ihrer Serum-Ferritin-Konzentrationen zeigten in dieser Studie keine Signifikanz, ebenso wie Unterschiede zwischen aktiven (Gd+) und nicht-aktiven (Gd-) Teilnehmern und Teilnehmerinnen. Im longitudinalen Vergleich konnten keine signifikanten Konzentrationsänderungen zwischen den beiden Untersuchungszeitpunkten bei CIS/MS-Patienten und Patientinnen, aktiver und nicht-aktiver CIS/MS ermittelt werden. Wie schon bei Serum-Transferrin, konnte auch bei Ferritin durch eine signifikante, positive Korrelation zwischen Untersuchungszeitpunkt 1 und 2 eine Stabilität der Konzentration unabhängig von der Krankheitsaktivität gezeigt werden.

Ferritin ist, neben Hämosiderin, eine der Speicherformen des Eisens im Gehirn und kommt vor allem in Oligodendrozyten, Myelin und Makrophagen vor. Es besitzt zudem die Fähigkeit, freies Eisen zu binden und dadurch die Produktion reaktiver Sauerstoffspezies einzudämmen. (58,65)

In bisherigen Studien konnte erhöhtes Serum-Ferritin bei Patienten und Patientinnen mit chronisch-progressiver MS, besonders bei aktiven Fällen, im Vergleich zu schubhaft remittierender MS festgestellt werden. Dass sich diese Erkenntnisse in der hiesigen Studie nicht abzeichnen, könnte durch die unterschiedliche Studienkohorte zu erklären sein, die in der hiesigen Studie nur frühe Phasen der MS und CIS beinhaltete.

Hinsichtlich der Serum-Ferritin-Konzentration bei RRMS im Vergleich zu gesunden Kontrollen konnten Sfagos et al. konkordante Ergebnisse zu hiesiger Studie erzielen (80).

Signifikant erhöhtes Serum-Ferritin wurde von Khalil et al. bei Patienten und Patientinnen mit aktiver MS festgestellt, als sie diese mit nicht-aktiver CIS/MS verglichen (75). Diese Unterschiede zwischen Gd+ und Gd- konnten hier nicht reproduziert werden, was daran liegen könnte, dass in hiesiger Kohorte nur 8

Patienten und Patientinnen klinische Schübe vorwies und somit der Großteil (83%) der Gd+ durch subklinische Krankheitsaktivität repräsentiert wurde, die möglicherweise weniger Auswirkung auf Serumprotein-Änderungen hat.

Negative Korrelationen zwischen Serum-Ferritin und Serum-Transferrin waren zwar sowohl zum Zeitpunkt MRI 1 als auch MRI 2 signifikant. Da die Korrelationen jedoch nicht sehr ausgeprägt waren, bleibt zu zweifeln, dass diese Ergebnisse von klinischer Relevanz sind.

Die altersbedingte vermehrte Ablagerung von Eisen im Gehirn bei neurodegenerativen Erkrankungen als auch Gesunden wurde bereits in mehreren Studien festgestellt (64,86,87,91). In der hiesigen Studie wurde nur eine schwache Korrelation zwischen Serum-Ferritin-Konzentration und Alter gefunden. Serum-Transferrin stand in keinem signifikanten Zusammenhang mit dem Alter der Patienten und Patientinnen zum jeweiligen Untersuchungszeitpunkt.

Da in der vorliegenden Studie keine signifikanten Altersunterschiede zwischen der Kontrollgruppe und Patienten bzw. Patientinnen vorliegen, ist auszuschließen, dass die Ergebnisse dadurch in ihrer Aussagekraft eingeschränkt sind.

Im Einklang mit Studien bezüglich Serum-Ferritin (80) und Serum-Transferrin (78) konnten auch hier keine Korrelationen zwischen den Eisenproteinen und klinischer Beeinträchtigung laut EDSS (34) festgestellt werden.

Die jährliche Schubrate, welche Ausdruck der Krankheitsaktivität und ein häufiger Outcome-Parameter für Resultate klinischer Studien ist (83), zeigte keine signifikanten Zusammenhänge zu den Serum-Transferrin- bzw. -Ferritin-Werten, jedoch war dies auch keine primäre Zielsetzung hiesiger Studie.

An dieser Stelle sind die Limitationen der Studie zu erwähnen, welche in der Auswahl des Patientenkollektivs liegen. Die Studienkohorte setzte sich aus Patienten und Patientinnen in frühen Phasen der MS zusammen, in denen klinische Beeinträchtigungen und Krankheitsprogression noch nicht sehr ausgeprägt sind. Daher war in Bezug auf klinische Parameter wie EDSS-Scores und jährliche Schubraten nur eine geringe Streuung zu verzeichnen, welche keine signifikanten Korrelationen erwarten ließen. In Folgestudien sollte daher auf eine größere Auswahl an unterschiedlichen Verlaufsformen der MS geachtet werden. Weitere Einschränkungen betreffen die Einteilung der Beeinträchtigung laut

EDSS-Skala, welche aufgrund ihrer Halbschritte nicht optimal für statistische Auswertungen geeignet ist und in gewissem Maße von Interrater-Reliabilität beeinflusst wird (83).

Der Eisenhaushalt in der Peripherie wird maßgeblich durch eisenregulatorische Proteine beeinflusst. Ein bereits mit MS in Zusammenhang gebrachtes Protein ist Heparin, welches in der Leber synthetisiert und in Abhängigkeit des Eisen- und Entzündungsstatus exprimiert wird. Es spielt eine Rolle in der Umverteilung des Eisens zwischen Zellen und interagiert mit Ferroportin, einem Transmembranprotein, das Eisen aus Zellen hinaus transportiert, und führt zu dessen Abbau, weshalb es bei hohen Eisenwerten und Entzündungen kompensatorisch vermehrt gebildet wird. (58,87,92)

Die ermittelten unveränderten Eisenwerte im Serum könnten daher auf eine bereits stattgefundenen Kompensation durch eisenregulatorische Proteine zurückzuführen sein. In zukünftigen Studien sollte daher die Konzentration solcher Proteine zusätzlich zu Eisenkonzentrationen berücksichtigt werden.

Zuletzt stellt sich noch die Frage, ob eine Therapie in Form von Eisensupplementierung, wie sie bei van Toorn et al. beschrieben wurde (55), Antioxidantien oder Chelatkomplexen, die freies, potentiell toxisches Eisen binden, bei der Behandlung von MS sinnvoll ist. Die Anforderungen an solche Medikamente sind sehr speziell. Sie sollten etwa die Blut-Liquor-Schranke passieren können, um genau am Ort der Eisenansammlung wirksam zu sein, und ihre Wirkung trotz Veränderungen des umgebenden Milieus beibehalten. Dies ist bei Antioxidantien oft nicht der Fall. Des Weiteren besitzt Eisen auch neuroprotektive Eigenschaften, weshalb eine vollständige Elimination freien Eisens ebenso schädlich sein würde. (58,87,92) Durch seinen Anteil an der Myelinproduktion und Aufrechterhaltung funktionstüchtiger Oligodendrozyten könnte es sogar denkbar sein, dass Eisen eine wichtige Funktion im Remyelinisierungsprozess bei MS ausübt.

Bisherige Studien und Versuche zeigten keine klinisch relevanten Verbesserungen der MS-Symptomatik unter Therapien mit Chelatkomplexen und Antioxidantien

(92,93). Da es bis dato noch zu wenige Kenntnisse über die Rolle des Eisens bei MS gibt, liegen derzeit auch keine Therapieempfehlungen vor.

Zusammenfassend konnten in dieser Studie Hinweise auf Änderungen der Eisentransportproteine bei Multipler Sklerose in der Peripherie festgestellt werden, deren Zusammenhang mit nachgewiesener MR-Aktivität jedoch nicht bewiesen werden konnte.

Es gibt noch viele weitere offene Fragen bezüglich der Funktion des Elements Eisen in der Pathophysiologie der Multiplen Sklerose, welche in zukünftigen Studien behandelt werden sollten.

Anhang

Tabelle 3: Funktionsskala der MS-Symptome nach Kurtzke (26)

Funktionsskala nach Kurtzke JF	
Pyramidenbahn	0 - normale Funktion 1 - pathologische Symptome ohne Beeinträchtigung 2 - minimale Beeinträchtigung 3 - milde/moderate Para- oder Hemiparese, schwere Monoparese 4 - ausgeprägte Para- oder Hemiparese, moderate Tetraparese, Monoplegie 5 - Paraplegie, Hemiplegie, ausgeprägte Tetraparese 6 - Tetraplegie V - nicht untersucht
Kleinhirn	0 - normale Funktion 1 - pathologische Symptome ohne Beeinträchtigung 2 - milde Ataxie 3 - moderate Stamm- oder Extremitätenataxie 4 - schwere Ataxie an allen Extremitäten 5 - keine koordinierten Bewegungen mehr möglich V - nicht untersucht X - bei gleichzeitigen Anzeichen von Schwäche
Hirnstamm	0 - normale Funktion 1 - ausschließlich Symptome 2 - moderater Nystagmus oder andere milde Beeinträchtigungen 3 - schwerer Nystagmus, ausgeprägte extraokuläre Schwäche oder moderate Beeinträchtigung anderer kranialer Nerven 4 - ausgeprägte Dysarthrie oder andere ausgeprägte Beeinträchtigung 5 - Schluck- oder Sprachunfähigkeit V - nicht untersucht
Sensorisches System	0 - normale Funktion 1 - geschwächtes Vibrationsempfinden in 1 oder 2 Extremitäten 2 - milde Abschwächung von Berührung/Schmerz/Lagesinn und/oder moderat geschwächtes Vibrationsempfinden in 1 oder 2 Extremitäten; oder geschwächtes Vibrationsempfinden in 3 oder 4

	<p>Extremitäten</p> <p>3 - moderate Abschwächung von Berührung/Schmerz/ Lagesinn und/oder essentieller Vibrationsverlust in 1 oder 2 Extremitäten; oder milde Abschwächung von Berührung/Schmerz und/oder moderate Abschwächung in allen propriozeptiven Tests in 3 oder 4 Extremitäten</p> <p>4 - ausgeprägte Abschwächung von Berührung/Schmerz oder Verlust der Propriozeption in 1 oder 2 Extremitäten (alleine oder kombiniert); oder moderate Abschwächung von Berührung/Schmerz und/oder schwere Abschwächung der Propriozeption in ≥ 2 Extremitäten</p> <p>5 - essentieller Gefühlsverlust in 1 oder 2 Extremitäten; oder moderate Abschwächung von Berührung/Schmerz und/oder Verlust der Propriozeption am Großteil des Körpers unterhalb des Kopfes</p> <p>6 - essentieller Gefühlsverlust unterhalb des Kopfes</p> <p>V - nicht untersucht</p>
Darm und Harnblase	<p>0 - normale Funktion</p> <p>1 - milder Harnverhalt, Harnverzögerung oder plötzlicher Harndrang</p> <p>2 - moderater Harn- oder Stuhlverhalt, -verzögerung oder -drang; oder seltene Harninkontinenz</p> <p>3 - häufige Harninkontinenz</p> <p>4 - nahezu regelmäßige Katheterisierung</p> <p>5 - Verlust der Blasenfunktion</p> <p>6 - Verlust der Blasen- und Darmfunktion</p> <p>V - nicht untersucht</p>
Visuelles System	<p>0 - normale Funktion</p> <p>1 - Skotom mit korrigierter Sehschärfe $\geq 20/30$</p> <p>2 - schlechteres Auge mit Skotom mit maximaler korrigierter Sehschärfe von 20/30 bis 20/59</p> <p>3 - schlechteres Auge mit großem Skotom oder moderatem Gesichtsfeldausfall, jedoch mit max. korrigierter Sehschärfe von 20/60 bis 20/99</p> <p>4 - schlechteres Auge mit ausgeprägtem Gesichtsfeldausfall und max. korrigierter Sehschärfe von 20/100 bis 20/200; besseres Auge mit Grad 3 und max. Sehschärfe von $\leq 20/60$</p> <p>5 - schlechteres Auge mit max. korrigierter Sehschärfe von $< 20/200$; besseres Auge mit Grad 4 und max. Sehschärfe von $\leq 20/60$</p>

	<p>6 - besseres Auge mit Grad 5 und max. Sehschärfe von $\leq 20/60$</p> <p>V - nicht untersucht</p> <p>X - Zusatz zu Grad 0-6 bei temporaler Blässe</p>
Großhirn und mentale Funktion	<p>0 - normale Funktion</p> <p>1 - Stimmungsschwankungen</p> <p>2 - milde Abnahme der mentalen Aktivität</p> <p>3 - moderate Abnahme der mentalen Aktivität</p> <p>4 - ausgeprägte Abnahme der mentalen Aktivität (moderates chronic brain syndrome)</p> <p>5 - Demenz oder schweres chronic brain syndrome</p> <p>V - nicht untersucht</p>
Diverse Funktionen	<p>0 - keine zusätzlichen Befunde</p> <p>1 - zusätzliche neurologische Symptome, die auf MS zurückzuführen sind (genau spezifizieren)</p> <p>V - nicht untersucht</p>

Literaturverzeichnis

1. Compston A, Coles A. Multiple Sclerosis. *Lancet*. 2008;372:1502-17.
2. Confavreux C, Vukusic S. Natural history of multiple sclerosis: a unifying concept. *Brain*. 2006 Jan;129(3):606-16.
3. Orton SM, Herrera BM, Yee IM, Valdar W, Ramagopalan SV, Sadovnick AD, et al. Sex ratio of multiple sclerosis in Canada: a longitudinal study. *Lancet Neurol*. 2006;5:932-36.
4. Gold R, Wiendl H, Hemmer B. DGN-Leitlinie Diagnostik und Therapie der Multiplen Sklerose. *Aktuelle Neurol*. 2014;41(6):326–7.
5. Munger KL, Levin LI, Hollis BW, Howard NS, Ascherio A. Serum 25-hydroxyvitamin D levels and risk of multiple sclerosis. *Jama*. 2006;296(23):2832–8.
6. Robertson NP, Fraser M, Deans J, Clayton D, Walker N, Compston DAS. Age-adjusted recurrence risks for relatives of patients with multiple sclerosis. *Brain*. 1996;119(2):449–55.
7. Kutzelnigg A, Lucchinetti CF, Stadelmann C, Brück W, Rauschka H, Bergmann M, et al. Cortical demyelination and diffuse white matter injury in multiple sclerosis. *Brain*. 2005;128:2705-12.
8. Dendrou CA, Fugger L, Friese MA. Immunopathology of multiple sclerosis. *Nat Rev Immunol*. 2015 Aug 7;15(9):545–58.
9. Comabella M, Khoury SJ. Immunopathogenesis of multiple sclerosis. *Clin Immunol*. 2012 Jan;142(1):2–8.
10. Brück W, Kuhlmann T, Stadelmann C. Remyelination in multiple sclerosis. *J Neurol Sci*. 2003;206(2):181–5.
11. Lassmann H. Pathology and disease mechanisms in different stages of multiple sclerosis. *J Neurol Sci*. 2013 Oct;333(1–2):1–4.
12. Polman CH, Reingold SC, Banwell B, Clanet M, Cohen JA, Filippi M, et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 Revisions to the McDonald criteria. *Ann Neurol*. 2011 Feb;69(2):292–302.
13. Swanton JK, Rovira A, Tintore M, Altmann DR, Barkhof F, Filippi M, et al. MRI criteria for multiple sclerosis in patients presenting with clinically isolated syndromes: a multicentre retrospective study. *Lancet Neurol*. 2007;6:677-86.
14. Montalban X, Tintoré M, Swanton J, Barkhof F, Fazekas F, Filippi M, et al. MRI criteria for MS in patients with clinically isolated syndromes. *Neurology*. 2010;74(5):427–34.

15. Filippi M, Rocca MA, Barkhof F, Brück W, Chen JT, Comi G, et al. Association between pathological and MRI findings in multiple sclerosis. *Lancet Neurol*. 2012;11(4):349–60.
16. Filippi M, Rocca MA, De Stefano N, Enzinger C, Fisher E, Horsfield MA, et al. Magnetic resonance techniques in multiple sclerosis: the present and the future. *Arch Neurol*. 2011;68(12):1514–20.
17. Barkhof F, van Walderveen M. Characterization of tissue damage in multiple sclerosis by nuclear magnetic resonance. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 1999 Oct 29;354(1390):1675-86.
18. Filippi M, Preziosa P, Rocca MA. Magnetic resonance outcome measures in multiple sclerosis trials: time to rethink? *Curr Opin Neurol*. 2014 Jun;27(3):290–9.
19. Giorgio A, Stromillo ML, Bartolozzi ML, Rossi F, Battaglini M, De Leucio A, et al. Relevance of hypointense brain MRI lesions for long-term worsening of clinical disability in relapsing multiple sclerosis. *Mult Scler J*. 2014;20(2):214–9.
20. Sahraian MA, Radue E-W, Haller S, Kappos L. Black holes in multiple sclerosis: definition, evolution, and clinical correlations. *Acta Neurol Scand*. 2010;122:1-8.
21. Miller DH, Barkhof F, Frank JA, Parker GJM, Thompson AJ. Measurement of atrophy in multiple sclerosis: pathological basis, methodological aspects and clinical relevance. *Brain*. 2002;125:1676-95.
22. Sormani MP, Arnold DL, De Stefano N. Treatment Effect on Brain Atrophy Correlates with Treatment Effect on Disability in Multiple Sclerosis. *Ann Neurol*. 2014;75:43-9.
23. Fisniku LK, Brex PA, Altmann DR, Miszkief KA, Benton CE, Lanyon R, et al. Disability and T2 MRI lesions: a 20-year follow-up of patients with relapse onset of multiple sclerosis. *Brain*. 2008;131(3):808–17.
24. Okuda DT, Siva A, Kantarci O, Inglese M, Katz I, Tutuncu M, et al. Radiologically Isolated Syndrome: 5-Year Risk for an Initial Clinical Event. *PLoS ONE*. 2014;9(3):e90509.
25. Okuda DT, Mowry EM, Beheshtian A, Waubant E, Baranzini SE, Goodin DS, et al. Incidental MRI anomalies suggestive of multiple sclerosis The radiologically isolated syndrome. *Neurology*. 2009;72:800-5.
26. Lublin FD, Reingold SC, Cohen JA, Cutter GR, Sørensen PS, Thompson AJ, et al. Defining the clinical course of multiple sclerosis The 2013 revisions. *Neurology*. 2014;83(3):278–86.

27. Tumani H, Deisenhammer F, Giovannoni G, Gold R, Hartung H-P, Hemmer B, et al. Revised McDonald Criteria: The Persisting Importance of Cerebrospinal Fluid Analysis. *Ann Neurol*. 2011;70(3):520.
28. Petzold A. Intrathecal oligoclonal IgG synthesis in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol*. 2013 Sep;262(1–2):1–10.
29. Freedman MS, Thompson EJ, Deisenhammer F, Giovannoni G, Grimsley G, Keir G, et al. Recommended standard of cerebrospinal fluid analysis in the diagnosis of multiple sclerosis: a consensus statement. *Arch Neurol*. 2005;62(6):865–70.
30. Tintore M, Rovira A, Rio J, Tur C, Pelayo R, Nos C, et al. Do oligoclonal bands add information to MRI in first attacks of multiple sclerosis? *Neurology*. 2008;70:1079–1083.
31. Kuhle J, Disanto G, Dobson R, Adiatori R, Bianchi L, Topping J, et al. Conversion from clinically isolated syndrome to multiple sclerosis: A large multicentre study. *Mult Scler*. 2015 Jul;21(8):1013-24.
32. Andersson M, Alvarez-Cermeno J, Bernardi G, Cogato I, Fredman P, Frederiksen J, et al. Cerebrospinal fluid in the diagnosis of multiple sclerosis: a consensus report. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1994;57(8):897–902.
33. Awad A, Hemmer B, Hartung H-P, Kieseier B, Bennett JL, Stuve O. Analyses of cerebrospinal fluid in the diagnosis and monitoring of multiple sclerosis. *J Neuroimmunol*. 2010 Feb 26;219(1–2):1–7.
34. Kurtzke JF. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology*. 1983;33(11):1444–52.
35. Comi G, Leocani L, Medaglini S, Locatelli T, Martinelli V, Santuccio G, et al. Measuring evoked responses in multiple sclerosis. *Mult Scler*. 1999;5(4):263–7.
36. Invernizzi P, Bertolasi L, Bianchi MR, Turatti M, Gajofatto A, Benedetti MD. Prognostic value of multimodal evoked potentials in multiple sclerosis: the EP score. *J Neurol*. 2011 Nov;258(11):1933–9.
37. Trebst C, Reising A, Kielstein JT, Hafer C, Stangel M. Plasma Exchange Therapy in Steroid-Unresponsive Relapses in Patients with Multiple Sclerosis. *Blood Purif*. 2009;28(2):108–15.
38. Johnson KP, Brooks BR, Cohen JA, Ford CC, Goldstein J, Lisak RP, et al. Copolymer 1 reduces relapse rate and improves disability in relapsing-remitting multiple sclerosis Results of a phase III multicenter, double-blind, placebo-controlled trial. *Neurology*. 1995;45(7):1268–76.
39. Comi G, Filippi M, Wolinsky JS. European/Canadian multicenter, double-blind, randomized, placebo-controlled study of the effects of glatiramer acetate on magnetic resonance imaging-measured disease activity and

- burden in patients with relapsing multiple sclerosis. *Ann Neurol*. 2001;49(3):290–7.
40. Torkildsen Ø, Myhr K-M, Bø L. Disease-modifying treatments for multiple sclerosis - a review of approved medications. *Eur J Neurol*. 2016 Jan;23 (Suppl 1):18-27.
 41. Sørensen PS, Deisenhammer F, Duda P, Hohlfeld R, Myhr K-M, Palace J, et al. Guidelines on use of anti-IFN- β antibody measurements in multiple sclerosis: report of an EFNS Task Force on IFN- β antibodies in multiple sclerosis. *Eur J Neurol*. 2005;12(11):817–27.
 42. Polman CH, Bertolotto A, Deisenhammer F, Giovannoni G, Hartung H-P, Hemmer B, et al. Recommendations for clinical use of data on neutralising antibodies to interferon-beta therapy in multiple sclerosis. *Lancet Neurol*. 2010;9(7):740–50.
 43. Durelli L, Verdun E, Barbero P, Bergui M, Versino E, Ghezzi A, et al. Every-other-day interferon beta-1b versus once-weekly interferon beta-1a for multiple sclerosis: results of a 2-year prospective randomised multicentre study (INCOMIN). *The Lancet*. 2002;359(9316):1453–60.
 44. Panitch H, Goodin DS, Francis G, Chang P, Coyle PK, O'Connor P, et al. Randomized, comparative study of interferon β -1a treatment regimens in MS The EVIDENCE Trial. *Neurology*. 2002;59:1496-1506.
 45. Confavreux C, O'Connor P, Comi G, Freedman MS, Miller AE, Olsson TP, et al. Oral teriflunomide for patients with relapsing multiple sclerosis (TOWER): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Neurol*. 2014;13(3):247–56.
 46. Bloomgren G, Richman S, Hotermans C, Subramanyam M, Goelz S, Natarajan A, et al. Risk of natalizumab-associated progressive multifocal leukoencephalopathy. *N Engl J Med*. 2012;366(20):1870–80.
 47. Amato MP, Portaccio E. Fertility, Pregnancy and Childbirth in Patients with Multiple Sclerosis: Impact of Disease-Modifying Drugs. *CNS Drugs*. 2015;29(3):207–20.
 48. Giovannoni G, Turner B, Gnanapavan S, Offiah C, Schmierer K, Marta M. Is it time to target no evident disease activity (NEDA) in multiple sclerosis? *Mult Scler Relat Disord*. 2015 Jul;4(4):329–33.
 49. Ziemssen T, Derfuss T, de Stefano N, Giovannoni G, Palavra F, Tomic D, et al. Optimizing treatment success in multiple sclerosis. *J Neurol*. 2016 Jun;263(6):1053-65.
 50. Kappos L, De Stefano N, Freedman MS, Cree BAC, Radue E-W, Sprenger T, et al. Inclusion of brain volume loss in a revised measure of „no evidence of disease activity“ (NEDA-4) in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2016 Sep;22(10):1297-305.

51. Comabella M, Montalban X. Body fluid biomarkers in multiple sclerosis. *Lancet Neurol.* 2014;13(1):113–26.
52. Graber JJ, Dhib-Jalbut S. Biomarkers of disease activity in multiple sclerosis. *J Neurol Sci.* 2011 Jun;305(1–2):1–10.
53. Katsavos S, Anagnostouli M. Biomarkers in Multiple Sclerosis: An Up-to-Date Overview. *Mult Scler Int.* 2013;2013:1–20.
54. Teunissen CE, Malekzadeh A, Leurs C, Bridel C, Killestein J. Body fluid biomarkers for multiple sclerosis—the long road to clinical application. *Nat Rev Neurol.* 2015 Sep;11:585–96.
55. van Toorn R, Schoeman JF, Solomons R, Rensburg MA, van Rensburg SJ. Iron Status in Children With Recurrent Episodes of Tumefactive Cerebral Demyelination. *J Child Neurol.* 2010 Nov;25(11):1401–7.
56. Ristori G, Brescianini S, Pino A, Visconti A, Vittori D, Coarelli G, et al. Serum elements and oxidative status in clinically isolated syndromes: Imbalance and predictivity. *Neurology.* 2011 Feb 8;76(6):549–55.
57. Khalil M, Teunissen C, Langkammer C. Iron and Neurodegeneration in Multiple Sclerosis. *Mult Scler Int.* 2011;2011:606807.
58. Stephenson E, Nathoo N, Mahjoub Y, Dunn JF, Yong VW. Iron in multiple sclerosis: roles in neurodegeneration and repair. *Nat Rev Neurol.* 2014 Jul 8;10(8):459–68.
59. Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: Preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther.* 2001 Mar;69(3):89–95.
60. Bielekova B, Martin R. Development of biomarkers in multiple sclerosis. *Brain.* 2004 Jul;127(7):1463–78.
61. Gnanapavan S, Hegen H, Khalil M, Hemmer B, Franciotta D, Hughes S, et al. Guidelines for uniform reporting of body fluid biomarker studies in neurologic disorders. *Neurology.* 2014;83(13):1210–6.
62. Filippi M, Agosta F. Imaging biomarkers in multiple sclerosis. *J Magn Reson Imaging.* 2010 Apr;31(4):770–88.
63. Ropele S, de Graaf W, Khalil M, Wattjes MP, Langkammer C, Rocca MA, et al. MRI assessment of iron deposition in multiple sclerosis. *J Magn Reson Imaging.* 2011 Jul;34(1):13–21.
64. Khalil M, Enzinger C, Langkammer C, Tscherner M, Wallner-Blazek M, Jehna M, et al. Quantitative assessment of brain iron by R2* relaxometry in patients with clinically isolated syndrome and relapsing-remitting multiple sclerosis. *Mult Scler.* 2009 Sep;15(9):1048–54.

65. Stankiewicz JM, Neema M, Ceccarelli A. Iron and multiple sclerosis. *Neurobiol Aging*. 2014 Sep;35:51–8.
66. Khalil M, Langkammer C, Pichler A, Pinter D, Gatttringer T, Bachmaier G, et al. Dynamics of brain iron levels in multiple sclerosis A longitudinal 3T MRI study. *Neurology*. 2015;84(24):2396–2402.
67. Teunissen CE, Petzold A, Bennett JL, Berven FS, Brundin L, Comabella M, et al. A consensus protocol for the standardization of cerebrospinal fluid collection and biobanking. *Neurology*. 2009;73(22):1914–22.
68. Deisenhammer F, Egg R, Giovannoni G, Hemmer B, Petzold A, Sellebjerg F, et al. EFNS guidelines on disease-specific CSF investigations. *Eur J Neurol*. 2009 Jun;16(6):760-70.
69. Ferraro D, Simone AM, Bedin R, Galli V, Vitetta F, Federzoni L, et al. Cerebrospinal fluid oligoclonal IgM bands predict early conversion to clinically definite multiple sclerosis in patients with Clinically Isolated Syndrome. *J Neuroimmunol*. 2013 Apr;257(1–2):76–81.
70. Brecht I, Weissbrich B, Braun J, Toyka KV, Weishaupt A, Buttmann M. Intrathecal, Polyspecific Antiviral Immune Response in Oligoclonal Band Negative Multiple Sclerosis. *PLoS ONE*. 2012;7(7):e40431.
71. Wingerchuk DM, Lennon VA, Pittock SJ, Lucchinetti CF, Weinshenker BG. Revised diagnostic criteria for neuromyelitis optica. *Neurology*. 2006;66(10):1485–9.
72. Plavina T, Subramanyam M, Bloomgren G, Richman S, Pace A, Lee S, et al. Anti-JC virus antibody levels in serum or plasma further define risk of natalizumab-associated progressive multifocal leukoencephalopathy. *Ann Neurol*. 2014 Dec;76(6):802–12.
73. Kuhle J, Leppert D, Petzold A, Regeniter A, Schindler C, Mehling M, et al. Neurofilament heavy chain in CSF correlates with relapses and disability in multiple sclerosis. *Neurology*. 2011 Apr;76(14):1206-13.
74. LeVine SM. Iron deposits in multiple sclerosis and Alzheimer's disease brains. *Brain Res*. 1997;760(1):298–303.
75. Khalil M, Riedlbauer B, Langkammer C, Enzinger C, Ropele S, Stojakovic T, et al. Cerebrospinal fluid transferrin levels are reduced in patients with early multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2014 Oct;20(12):1569-77.
76. Khalil M, Renner A, Langkammer C, Enzinger C, Ropele S, Stojakovic T, et al. Cerebrospinal fluid lipocalin 2 in patients with clinically isolated syndromes and early multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2016 Oct;22(12):1560-8.
77. Beard JL, Wiesinger JA, Connor JR. Pre- and Postweaning Iron Deficiency Alters Myelination in Sprague-Dawley Rats. *Dev Neurosci*. 2003;25(5):308–15.

78. Zeman D, Adam P, Kalistová H, Sobek O, Kelbich P, Andel J, et al. Transferrin in patients with multiple sclerosis: a comparison among various subgroups of multiple sclerosis patients. *Acta Neurol Scand.* 2000;101(2):89–94.
79. LeVine SM, Lynch SG, Ou C-N, Wulser MJ, Tam E, Boo N. Ferritin, transferrin and iron concentrations in the cerebrospinal fluid of multiple sclerosis patients. *Brain Res.* 1999;821(2):511–5.
80. Sfagos C, Makis AC, Chaidos A, Hatzimichael EC, Dalamaga A, Kosma K, et al. Serum ferritin, transferrin and soluble transferrin receptor levels in multiple sclerosis patients. *Mult Scler.* 2005 Jun;11(3):272–5.
81. Polman CH, Reingold SC, Edan G, Filippi M, Hartung H-P, Kappos L, et al. Diagnostic Criteria for Multiple Sclerosis: 2005 Revisions to the ‘McDonald Criteria’. *Ann Neurol.* 2005;58:840-6.
82. Teunissen C, Menge T, Altintas A, Alvarez-Cermeno JC, Bertolotto A, Berven FS, et al. Consensus definitions and application guidelines for control groups in cerebrospinal fluid biomarker studies in multiple sclerosis. *Mult Scler.* 2013 Nov;19(13):1802-9.
83. Lavery AM, Verhey LH, Waldman AT. Outcome Measures in Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis: Capturing Disability and Disease Progression in Clinical Trials. *Mult Scler Int.* 2014;2014:1–13.
84. Filippi M, Rocca MA, Ciccarelli O, De Stefano N, Evangelou N, Kappos L, et al. MRI criteria for the diagnosis of multiple sclerosis: MAGNIMS consensus guidelines. *Lancet Neurol.* 2016;15(3):292–303.
85. Hametner S, Wimmer I, Haider L, Pfeifenbring S, Brück W, Lassmann H. Iron and neurodegeneration in the multiple sclerosis brain. *Ann Neurol.* 2013 Dec;74(6):848–61.
86. Pirpamer L, Hofer E, Gesierich B, De Guio F, Freudenberger P, Seiler S, et al. Determinants of iron accumulation in the normal aging brain. *Neurobiol Aging.* 2016 Jul;43:149–55.
87. Ward RJ, Zucca FA, Duyn JH, Crichton RR, Zecca L. The role of iron in brain ageing and neurodegenerative disorders. *Lancet Neurol.* 2014;13(10):1045–60.
88. Langkammer C, Krebs N, Goessler W, Scheurer E, Ebner F, Yen K, et al. Quantitative MR imaging of brain iron: A postmortem validation study. *Radiology.* 2010 Nov;257(2):455-62.
89. McDonald RJ, McDonald JS, Kallmes DF, Jentoft ME, Murray DL, Thielen KR, et al. Intracranial gadolinium deposition after contrast-enhanced MR imaging. *Radiology.* 2015;275(3):772–82.

90. Ritchie RF, Palomaki GE, Neveux LM, Navolotskaia O, Ledue TB, Craig WY. Reference distributions for the negative acute-phase serum proteins, albumin, transferrin and transthyretin: A practical, simple and clinically relevant approach in a large cohort. *J Clin Lab Anal.* 1999;13(6):273-9.
91. Persson N, Wu J, Zhang Q, Liu T, Shen J, Bao R, et al. Age and sex related differences in subcortical brain iron concentrations among healthy adults. *NeuroImage.* 2015 Nov;122:385–98.
92. Kell DB. Iron behaving badly: inappropriate iron chelation as a major contributor to the aetiology of vascular and other progressive inflammatory and degenerative diseases. *BMC Med Genomics.* 2009;2:2.
93. Weigel KJ, Lynch SG, LeVine SM. Iron chelation and multiple sclerosis. *ASN NEURO.* 2014;6(1):43–63.