

Diplomarbeit

**Intrathekale IgM-Synthese und
Krankheitsprogression bei Multipler Sklerose**

eingereicht von

Annika Julia Polak

zur Erlangung des akademischen Grades

**Doktor(in) der gesamten Heilkunde
(Dr. med. univ.)**

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt an der

Klinischen Abteilung für allgemeine Neurologie

unter der Anleitung von

Assoz. Prof. Priv.-Doz. Dr.med.univ. Michael Khalil, PhD und
Priv.Doiz.DDr. Alexander Pichler

Graz, 05.12.2022

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 05.12.2022

Annika Julia Polak eh.

Danksagungen

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die mich bei der Anfertigung meiner Diplomarbeit tatkräftig unterstützt haben.

Zunächst geht mein Dank an Assoz. Prof. Priv.-Doz. Dr.med.univ. Michael Khalil, PhD, für die Möglichkeit, meine Diplomarbeit über ein so spannendes Thema schreiben zu können, für die fachliche Expertise und geduldige Unterstützung im Fertigstellen dieser Arbeit. Ein weiteres großes Dankeschön geht an meinen Zweitbetreuer Priv.Doiz.DDr. Alexander Pichler für die hilfreichen Anregungen und die gute Zusammenarbeit.

Ein besonderer Dank gilt meiner Familie, allen voran meinen Eltern, die mich nicht nur finanziell, sondern auch emotional während des gesamten Studiums unterstützt und gestärkt haben, und ohne die eine solch unbeschwerte Studienzeit nicht möglich gewesen wäre. Auch meinen Brüdern bin ich für die wunderbar stabile Basis, die sie mir unterstützend mit auf den Weg gegeben haben, sehr dankbar. Im Speziellen möchte ich mich nochmal bei meinen Eltern Andrea und Peter für ihre grammatikalische Expertise und das Korrekturlesen meiner Arbeit bedanken.

Außerdem möchte ich mich bei meinen Mitbewohnern und Mitbewohnerinnen in Graz und auch in Wien bedanken, die immer ein offenes Ohr, Zuspruch und den einen oder anderen Ratschlag in Sachen Statistik bereitgestellt haben.

Zu guter Letzt gilt mein Dank meinen Freunden und Freundinnen, allen voran Anna, Damaris und Franzl, die mich durch das Studium und meine Zeit in Graz begleitet und mir den Rücken gestärkt haben.

Inhaltsverzeichnis

Danksagungen	3
Inhaltsverzeichnis	4
Abkürzungen	6
Abbildungsverzeichnis	8
Zusammenfassung	9
Abstract	11
1 Einleitung	12
1.1 Epidemiologie	12
1.2 Ätiologie	14
1.2.1 Genetische Faktoren	14
1.2.2 Umweltfaktoren	14
1.3 Verlaufsformen	16
1.4 Pathogenese und Pathologie	18
1.4.1 Immunologie	19
1.4.2 Axonale Schädigung und Neurodegeneration	21
1.4.3 Remyelinisierung	22
1.5 Diagnostik	23
1.5.1 Klinische Präsentation	25
1.5.2 MRT-Diagnostik	26
1.5.3 Liquordiagnostik	28
1.5.4 Evozierte Potenziale	30
1.6 Therapie	31
1.6.1 Schubtherapie	31
1.6.2 Verlaufsmodifizierende Therapie	31
1.6.3 Therapiestrategien	33
1.7 Biomarker	34
1.7.1 Biomarker bei Multipler Sklerose	36
1.7.2 IgM als prognostischer Biomarker	38
1.8 Fragestellung	39
2 Material und Methoden	40
2.1 Patienten und Patientinnen	40
2.2 Liquoranalyse	42
2.3 Statistik	43

3	Ergebnisse	44
3.1	Demographische Daten	44
3.2	Patient*innen mit vs. ohne intrathekaler IgM-Synthese.....	45
3.3	Intrathekale IgM-Synthese und Risiko eines erneuten Schubes	49
3.4	Korrelationen.....	50
4	Diskussion.....	52
5	Literatur.....	59

Abkürzungen

BHS	Blut-Hirn-Schranke
CAM	Zelladhäsionsmoleküle
CIS	Klinisch isoliertes Syndrom
CSF	Cerebrospinal fluid
DGN	Deutsche Gesellschaft für Neurologie
DIS	Räumliche Dissemination
DIT	Zeitliche Dissemination
EAE	Experimentelle Autoimmunenzephalomyelitis
EBV	Epstein-Barr-Virus
EDSS	Expanded disability status scale
FLAIR	Fluid-attenuated inversion recovery
Gd	Gadolinium
GM-CSF	Granulocyte-macrophage Colony-stimulation-factor
HLA	Human leukocyte antigen
IEF	Isoelektrische Fokussierung
Ig	Immunglobulin
IQR	Interquartilsabstand
ITMS	Intrathekale IgM-Synthese
MOG	Myelin-Oligodendrozyten-Glykoprotein
MRT	Magnetresonanztomographie
MS	Multiple Sklerose
NAWM	Makroskopisch unauffällige Weiße Substanz
NfL	leichtkettige Neurofilamente
OCB	Oligoklonale Banden
OCGB	Oligoklonale IgG Banden
OCMB	oligoklonale IgM Banden
OPC	Oligodendrozyten-Vorläuferzellen
OR	Quotenverhältnis (odds ratio)
PD	Protonendichte
PPMS	Primär Progressive Multiple Sklerose
RNS	Reaktive Stickstoffspezies
ROS	Reaktive Sauerstoffspezies
RRMS	Schubförmig remittierende Multiple Sklerose

SD	Standardabweichung
SPMS	Sekundär Progressive Multiple Sklerose
VCAM	Vaskuläre Zelladhäsionsmoleküle
VEP	Visuell evozierte Potentiale
ZNS	Zentrales Nervensystem

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Weltweite Prävalenz der MS 2020, Atlas of MS, Multiple Sclerosis International Federation	13
Abbildung 2: Klinische Verläufe der MS	16
Abbildung 3: T1-gewichtete MRT Sequenzen vor und nach Kontrastmittelgabe sowie im zeitlichen Verlauf	27
Abbildung 4: Muster Oligoklonaler Banden in parallelen Liquor- und Serumproben	29
Abbildung 5: IgG-Quotienten Diagramm	30
Abbildung 6: Therapiealgorithmus der Deutschen Gesellschaft für Neurologie..	33
Abbildung 7: Alter zu Symptombeginn bei Patient*innen mit und ohne intrathekale IgM-Synthese	46
Abbildung 8: EDSS bei letzter Visite bei Patient*innen mit und ohne intrathekaler IgM-Synthese	47
Abbildung 9: IgG-Index bei Patient*innen mit und ohne intrathekaler IgM-Synthese	48
Abbildung 10: IgA-Index bei Patient*innen mit und ohne intrathekaler IgM-Synthese	48
Abbildung 11: Albuminquotient bei Patient*innen mit und ohne intrathekaler IgM-Synthese	49
Abbildung 12: Kaplan-Meier-Kurve für die Zeit bis zum 2. Schub.....	50
Abbildung 13: Streudiagramm IgM-Index vs. IgG-Index der Gesamtkohorte	51

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: 2017-Revision der McDonald-Kriterien.....	24
Tabelle 2: Demographische, klinische und laborchemische Daten der Gesamtkohorte, ITMS-positiver und ITMS-negativer Patient*innen	45

Zusammenfassung

Hintergrund: Multiple Sklerose (MS) ist eine der häufigsten chronisch entzündlichen Erkrankungen des zentralen Nervensystems. Die klinische Präsentation ist sehr heterogen und der Verlauf sowie die Prognose der Erkrankung weisen ausgeprägte interindividuelle Unterschiede auf. Die intrathekale Immunglobulinsynthese gilt als Merkmal für die MS. Rezente Studien haben ergeben, dass der Nachweis intrathekaler IgM-Synthese (ITMS) mit einem fulminanteren Krankheitsverlauf einhergeht und sich somit als potenzieller prognostischer Marker eignen könnte. Ziel dieser Arbeit ist es, klinische Unterschiede zwischen Patient*innen mit und ohne intrathekaler IgM-Synthese zu untersuchen und den prognostischen Wert der ITMS in Bezug auf den Krankheitsverlauf zu beleuchten.

Methoden: Im Zuge dieser Studie wurden die klinischen und laborchemischen Daten von 215 Patient*innen, welche ein Ereignis suspekt auf MS verzeichneten, retrospektiv untersucht. Die Patient*innen wurden in Patient*innen mit und ohne intrathekaler IgM-Synthese gruppiert und es erfolgte ein Vergleich klinischer und laborchemischer Parameter mittels Mann-Whitney-U-Test. Das Risiko, einen zweiten Schub zu erleiden, wurde mittels Kaplan-Meier-Kurve analysiert. Zur Berechnung der Korrelation einzelner Parameter wurde der Spearman-Rank-Koeffizient herangezogen. Der ITMS-Nachweis erfolgte quantitativ mittels Reiberdiagramm.

Ergebnisse: Innerhalb der Gesamtkohorte wiesen 12.6% (27/215) der Patient*innen eine ITMS, quantifiziert nach Reiber, auf. Im Vergleich zur ITMS-negativen Vergleichsgruppe erkrankten ITMS-positive Patient*innen im Median 4.0 Jahre früher [33.0 vs. 29.0 ($p= 0.043$)] und wiesen zum Zeitpunkt der letzten Visite einen im Median niedrigeren Expanded disability status scale (EDSS) auf [1.0 vs. 0.0 ($p= 0.008$)]. Der IgM-Index korrelierte schwach negativ mit dem Erkrankungsalter ($\rho= -0.127$, $p= 0.06$) sowie dem EDSS zum Zeitpunkt der letzten Visite ($\rho= -0.141$, $p= 0.039$). Die Kaplan-Meier-Analyse ergab für ITMS-positive Patient*innen ($p= 0.98$) kein erhöhtes Risiko, einen 2. Schub zu erleiden.

Diskussion: In dieser Arbeit konnten signifikante Unterschiede zwischen ITMS-positiven und ITMS-negativen Patient*innen unter Verwendung der quantitativen Bestimmung nach Reiber festgestellt werden. Das jüngere Erkrankungsalter könnte in einer erhöhten Krankheitsaktivität bei Patient*innen mit intrathekaler IgM-Synthese und daraus resultierend einer früheren klinischen Manifestation begründet sein. Die Frage, inwieweit sich die ITMS auf den Behinderungsgrad und die Krankheitsprogression auswirkt, konnte in dieser Studie nicht hinreichend geklärt werden. Zur Beurteilung der ITMS als prognostischen Biomarker sind weitere Studien notwendig.

Abstract

Background: Multiple Sclerosis is one of the most common chronic inflammatory diseases in the central nervous system. The clinical course is highly heterogeneous and is therefore often difficult to predict, especially in the early phases. A prognostic marker to help with clinical decision-making is urgently needed. One diagnostic hallmark is intrathecal immunoglobulin synthesis. Recent studies have shown that intrathecal IgM synthesis is associated with a more severe disease course and therefore might be a promising candidate for a prognostic biomarker.

Objectives: Aim of this study was to assess clinical differences regarding disease course, relapse rate and disability between patients with and without intrathecal IgM synthesis and to evaluate its potential as a prognostic biomarker.

Methods: In this study we retrospectively conducted clinical and cerebrospinal fluid (CSF) data of 215 patients and grouped them into patients with and without intrathecal IgM synthesis, measured according to Reiber. We compared clinical and CSF data by using Mann-Whitney *U* test. Kaplan-Meier analysis was performed to assess the risk for a second clinical attack. Correlations between CSF and clinical data were assessed by Spearman rank coefficient.

Results: Intrathecal IgM synthesis was demonstrated in 12.6% (27/215) of the study cohort. Compared to the ITMS-negative group ITMS-positive patients showed a significant lower age at onset [33 vs. 29 ($p= 0.043$)] and a significant lower EDSS at last visit [1.0 vs. 0.0 ($p= 0.008$)]. The IgM-Index inversely correlated with both parameters [age at onset: ($\rho= -0.127$, $p= 0.06$); EDSS at last visit: ($\rho= -0.141$, $p= 0.039$)]. Kaplan-Meier-Analysis did not detect a higher risk for a second attack for patients with intrathecal IgM synthesis ($p= 0.98$).

Conclusion: We demonstrated significant differences between patients with and without intrathecal IgM synthesis quantified according to Reiber. The younger age at onset could be caused by a higher disease activity resulting in an earlier manifestation of the disease. Regarding disease progression, further studies investigating the impact of ITMS on disability worsening are needed to evaluate the relevance of ITMS as a prognostic marker.

1 Einleitung

Die MS ist eine der häufigsten chronisch entzündlichen Erkrankungen des zentralen Nervensystems (ZNS) im jungen Erwachsenenalter. Immunvermittelt kommt es zu Demyelinisierung in der grauen und weißen Substanz sowie Neurodegeneration und axonaler Schädigung. Die genaue Ätiologie der Erkrankung ist bis dato noch nicht geklärt, es wird jedoch von einer multifaktoriellen Genese ausgegangen. Neben genetischen Faktoren scheinen auch Umweltfaktoren wie z.B. Rauchen eine pathologische Rolle zu spielen. (1)

In den meisten Fällen zeigt die Erkrankung einen schubförmigen Verlauf. Hierbei kommt es zu klinischen Episoden mit neurologischen Defiziten, welche für mehrere Tage oder Wochen anhalten können und sich teilweise oder zur Gänze wieder zurückbilden. Viele der Betroffenen entwickeln im Verlauf der Erkrankung bleibende Einschränkungen und gehen in eine progressive Phase über. Ein kleiner Teil der Erkrankten weist jedoch bereits von Beginn an einen progressiven Verlauf auf. Die klinische Präsentation und der individuelle Verlauf bleiben dabei jedoch sehr heterogen. (1, 2)

Mittlerweile gibt es vor allem für die schubförmige MS eine Vielzahl verlaufsmodifizierender Therapeutika, die auf unterschiedliche Weise in die Pathologie der Erkrankung eingreifen und eine personalisierte Therapie ermöglichen. Seit 2018 ist auch ein Medikament für die progressive Verlaufsform in Europa zugelassen. Eine Heilung der Erkrankung kann durch die zur Verfügung stehenden Therapeutika jedoch nicht erzielt werden. (3)

1.1 Epidemiologie

Mit einer globalen Prävalenz von 36/100 000 Einwohner*innen und somit 2.8 Millionen Patient*innen weltweit, gilt die MS als eine der häufigsten chronisch entzündlichen Erkrankungen des zentralen Nervensystems. (4)

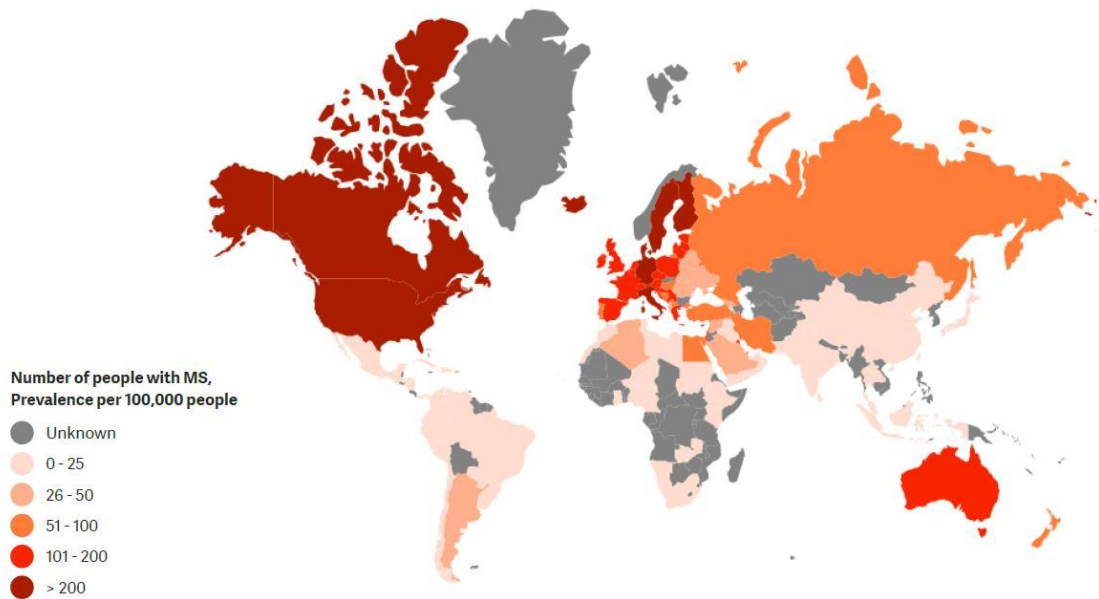


Abbildung 1: Weltweite Prävalenz der MS 2020, Atlas of MS, Multiple Sclerosis International Federation (4)

In Abbildung 1 gut erkennbar, variiert die Prävalenz stark von Land zu Land. Am häufigsten scheint die Erkrankung in Nord-Amerika, Europa und Australien aufzutreten. (4) Diverse Studien weisen auf einen Zusammenhang zwischen den Breitengraden und der Prävalenz hin. In Ländern mit höheren Breitengraden und somit geringerer Nähe zum Äquator ist die MS deutlich stärker verbreitet. Hierbei werden neben genetischen Faktoren auch verschiedene Umweltfaktoren wie verringerte Sonnenexposition und ein daraus resultierender geringerer Vitamin-D-Spiegel als mögliche Ursache diskutiert. (5)

Die schubförmige Verlaufsform ist mit 85-90% die häufigste Präsentation der Erkrankung. Sie tritt 2- bis 3-mal häufiger bei Frauen auf und beginnt typischerweise zwischen dem 20. und 35. Lebensjahr. Bei der primär progressiven Verlaufsform liegt der Erkrankungsbeginn mit rund 40 Jahren etwas später und auch das Geschlechterverhältnis zeigt sich ausgeglichener. Diese Verlaufsform macht nur etwa 10% der MS-Fälle aus und ist somit deutlich seltener als die schubförmige MS. (1, 6)

In Österreich liegt die Prävalenz bei 153/100 000 Einwohner*innen und somit etwas höher als der europäische Durchschnitt (133/100 000). Die typische Geschlechterverteilung von 2-3:1 (w:m) spiegelt sich auch in den in Österreich

erhobenen Daten wider. Mit 69% weiblichen und 31% männlichen Patient*innen liegt Österreich im europäischen und auch globalen Durchschnitt. (7)

1.2 Ätiologie

1.2.1 Genetische Faktoren

Das Lebenszeitrisko, an MS zu erkranken, liegt in der Normalbevölkerung bei ca. 0.1-0.3%. Bei Kindern oder Geschwistern von MS-Patient*innen ist das Risiko mit 2 bzw. 4% demnach 10- bis 30-fach erhöht und auch monozygote Zwillinge zeigen mit 25-30% eine signifikant höhere Konkordanz Rate als dizygote Zwillinge mit lediglich 3-7%. Diese familiären Häufungen der Erkrankung lassen auf eine genetische Prädisposition rückschließen. (8)

Mittlerweile sind über 200 genetische Variationen in Assoziation mit MS entdeckt worden. Nahezu alle dieser Gene codieren Moleküle, die in Zusammenhang mit dem Immunsystem stehen. Die stärkste Assoziation wurde bei dem auf Chromosom 6 befindlichen Human Leukocyte Antigen (HLA) Gen entdeckt. Hier ist im Speziellen die HLA-Klasse-I Variante HLA-DRB1*15:01 zu nennen, welche mit einem deutlich höheren Erkrankungsrisiko einhergeht (OR= 2.9 bei Europäer*innen). (1, 9)

Aber auch Gene außerhalb der HLA Regionen konnten mit MS in Zusammenhang gebracht werden. So wurde zum Beispiel eine Genvariante auf dem X-Chromosom entdeckt, welche mit einem höheren Risiko für MS in Zusammenhang steht und eventuell Rückschlüsse auf die weiblich dominierte Geschlechterverteilung der MS geben kann. (8)

1.2.2 Umweltfaktoren

Neben genetischer Prädisposition gibt es auch diverse Umwelt- und Lebensstil-Faktoren, die mit einem erhöhten Risiko für MS einhergehen.

Die Rolle viraler Infektionen in der Pathogenese der MS wurde bereits vielfach diskutiert. Hierbei hat vor allem die Infektion mit dem Epstein-Bar-Virus (EBV) als möglicher Risikofaktor einen besonderen Stellenwert. Nahezu 100% der MS-Patient*innen sind EBV-seropositiv und Patient*innen mit symptomatischer EBV-

Infektion weisen ein doppelt so hohes Risiko auf, an MS zu erkranken, als Nicht-Erkrankte. Bei gleichzeitigem Vorliegen der prädisponierenden HLA Genvarianten und einer klinischen EBV-Infektion steigt das MS Risiko (OR=15), was eine synergetische Interaktion beider Risikofaktoren nahelegt. Der genaue Mechanismus, über den die EBV-Infektion auf die Pathogenese der MS Einfluss nimmt, ist allerdings noch nicht hinreichend geklärt. Molekulare Mimikry, die Ähnlichkeit des Virus-Antigens mit körpereigenen Antigenen, wird jedoch als Entstehungs-Hypothese in Betracht gezogen. (1, 10) Die Annahme, dass hierbei EBV eine Hauptrolle in der Ätiologie einnimmt, wird von den Beobachtungen einer kürzlich veröffentlichten longitudinalen Studie in Zusammenarbeit mit dem US-Militär gestützt, welche über einen Zeitraum von 20 Jahren den EBV-Status von über 10 Millionen Personen in regelmäßigen Abständen erhob. Hier konnte gezeigt werden, dass sich das Risiko, an MS zu erkranken, nach einer EBV-Infektion um das 32-fache erhöht. Eine Infektion mit anderen Viren, wie z.B. dem Zytomegalie-Virus, ging jedoch nicht mit einer Risikoerhöhung einher. (11)

Ein weiterer, epidemiologisch gut erforschter Risikofaktor ist das Rauchen. Verglichen mit Nicht-Raucher*innen haben Raucher*innen ein signifikant höheres Risiko, an MS zu erkranken (OR=1.5). Hierbei spielt vor allem die kumulative Rauch-Exposition eine entscheidende Rolle. Neben aktivem Rauchen erhöht auch das passive Rauchen das Risiko, an MS zu erkranken. Interessanterweise scheint Nikotin jedoch nicht der ausschlaggebende Faktor zu sein. Eine groß angelegte schwedische Fall-Kontroll-Studie untersuchte das Risiko von Personen, die Nikotin nicht inhalativ, sondern in Form von Oraltabak konsumierten. Hier zeigte sich sogar ein etwas verringertes Risiko im Vergleich zu Nicht-Raucher*innen, sodass die Vermutung nahe liegt, dass vielmehr die Irritation der Lunge durch den Rauch als das Nikotin das Risiko des Rauchens ausmacht. (12, 13)

Die erhöhte Prävalenz und Inzidenz in Regionen höheren Breitengrades und somit geringerer Sonnenexposition lassen einen Zusammenhang mit UV-Strahlung und Vitamin D vermuten. In zahlreichen Studien wurde dieser Zusammenhang näher betrachtet. (14) Verringerte Vitamin-D-Spiegel scheinen das MS-Risiko signifikant zu erhöhen, wohingegen Vitamin-D-reiche Ernährung und ausreichende UV-Exposition vor allem während der Kindheit und Adoleszenz einen protektiven Effekt

zeigen. Unterstützt wird diese These durch die Genetik. Polymorphismen in Genabschnitten, die für Enzyme des Vitamin-D-Stoffwechsels codieren, gehen ebenfalls mit einem erhöhten MS-Risiko einher. Der pathophysiologische Mechanismus dahinter ist derzeit noch nicht hinreichend geklärt und bleibt Gegenstand aktueller Forschung. (10, 14)

1.3 Verlaufsformen

Das National Multiple Sclerosis Society Advisory Committee on Clinical Trials in Multiple Sclerosis definierte bereits 1996 in seinem Statement verschiedene Verlaufsformen der MS. In der 2014 veröffentlichten Überarbeitung werden 4 unterschiedliche phänotypische MS-Verläufe definiert. Man unterscheidet zwischen dem Klinisch Isolierten Syndrom (CIS), der Schubförmigen Remittierenden MS (RRMS), der Primär Progressiven MS (PPMS) und der Sekundär Progressiven MS (SPMS). (15)

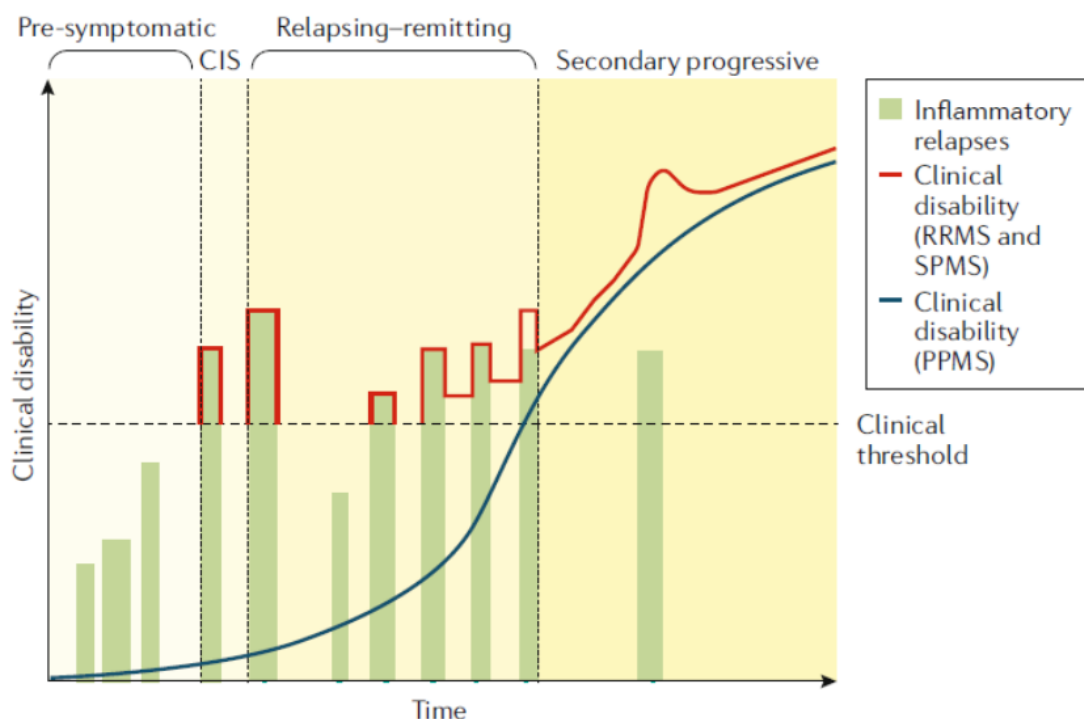


Abbildung 2: Klinische Verläufe der MS (1)

Das CIS stellt die Erstmanifestation der MS dar. Es handelt sich um ein klinisches Ereignis, welches das Vorliegen einer demyelinisierenden Erkrankung des ZNS nahelegt, die diagnostischen Kriterien für die MS allerdings noch nicht zur Gänze

erfüllt. Ob sich nun eine definitive MS aus dem CIS entwickelt, hängt von vielen verschiedenen Faktoren ab. Patient*innen, die neben der klinischen Symptomatik zusätzliche, asymptomatische MS-suspekte ZNS-Läsionen in der Magnetresonanztomographie (MRT) sowie Oligoklonale Banden (OCB) im Liquor aufweisen, haben zum Beispiel ein deutlich höheres Risiko, zu MS zu konvertieren, als Patient*innen mit lediglich einer symptomatischen Läsion und unauffälligem Liquor. (16) Die stetige Weiterentwicklung der Diagnosekriterien in Richtung sensitiverer Diagnostik ermöglicht mittlerweile eine frühzeitige MS Diagnose, sodass immer mehr Patient*innen bereits beim klinischen Erstereignis die diagnostischen Kriterien erfüllen und das CIS seltener wird. (17)

Die RRMS ist der häufigste Phänotyp der MS und zeichnet sich klinisch durch einen schubförmigen Verlauf aus. Die Krankheitsschübe treten akut auf und bilden sich teilweise oder zur Gänze wieder zurück. Charakteristisch ist hierbei, dass zwischen den Schüben keine klinische Progression der Erkrankung feststellbar ist. (18) Weiterführend kann die RRMS als aktiv oder inaktiv klassifiziert werden. Die Aktivität wird entweder anhand neuauftretender, klinischer Symptomatik oder aktiver, kontrastmittelaufnehmender MS-Läsionen in der MRT determiniert. (15)

Ein Großteil der RRMS-Patient*innen entwickelt im Laufe der Erkrankung einen progressiven Verlauf. Dieser Krankheitsabschnitt wird als SPMS klassifiziert. Die SPMS folgt immer auf einen initialen schubförmigen Verlauf und zeichnet sich durch meist stetige klinische Krankheitsprogression aus, die gegebenenfalls auch von weiteren Schüben begleitet werden kann. In einigen ältere „Natural History Studies“ wird berichtet, dass 35-60%, bei einer Krankheitsdauer von über 25 Jahren sogar bis zu 90%, der RRMS-Patient*innen, einen progressiven Verlauf entwickelten. (19–21) Auf Grund immer effektiverer Therapien kann mittlerweile jedoch von einem geringeren Prozentsatz ausgegangen werden. (22) Ein genauer Umschlagpunkt lässt sich hierbei schwer feststellen und die Diagnose SPMS wird meist retrospektiv gestellt. In einer groß angelegten longitudinalen Studie der British Columbia University wurde der Übergang in das progressive Stadium jedoch bei der Mehrheit der Patient*innen etwa 19 Jahren nach Krankheitsbeginn und mit einem durchschnittlichen Alter von ca. 48 Jahren erreicht. Hierbei ist jedoch zu erwähnen,

dass die Auswirkung verlaufsmodifizierender Medikamente nicht mit in die Analyse einbezogen wurde. (15, 19)

Als letzte Verlaufsform ist die PPMS, die 10-15% der MS-Fälle ausmacht, zu nennen. Sie charakterisiert sich durch eine von Beginn an chronische Krankheitsprogression. Die neurologischen Defizite sind bei dieser Verlaufsform nur geringfügig reversibel und das Fortschreiten der Erkrankung, wenn auch gelegentlich stagnierend, ist in der Regel stetig. Die Symptome entwickeln sich weniger akut als bei der RRMS und auch das Erkrankungsalter ist rund 10 Jahre später. Es überschneidet sich jedoch mit dem Erkrankungsalter der SPMS und auch der klinische Verlauf beider Phänotypen ähnelt sich, sodass ein gemeinsam zu Grunde liegender Mechanismus der Progression naheliegt. (23)

1.4 Pathogenese und Pathologie

Das pathologische Korrelat der Erkrankung sind demyelinisierende Plaques in der grauen und weißen Substanz des ZNS. Sie sind durch eine Zerstörung der Myelinschicht und Oligodendrozyten charakterisiert. In weiterer Folge kommt es zum Zellverlust, axonaler Degeneration und reaktiver Gliose. (1)

Man unterscheidet zwischen aktiven und inaktiven Läsionen. In der weißen Substanz lassen sich die aktiven Läsionen in 3 verschiedene Muster (Patterns) unterteilen. Pattern I und Pattern II zeichnen sich beide durch T-Zell Infiltrate und Makrophagen aus, wobei bei Pattern II noch zusätzlich Antikörper- und Komplement-Ablagerungen in den Läsionen vorgefunden werden. Pattern III Läsionen charakterisieren sich durch apoptotische Oligodendrozyten und Degeneration der inneren Myelinschicht. (2) Aktive Läsionen dominieren in der frühen Phase der schubförmigen MS, werden hingegen nur in geringerem Ausmaß bei den progressiven Verlaufsformen gefunden. (1)

Als inaktive Läsionen werden scharf umschriebene, hypozelluläre, demyelinisierende Plaques bezeichnet, die im Vergleich zu aktiven Läsionen deutlich geringere Lymphozyten-Infiltrate aufweisen. Aktivierte Mikroglia findet sich

hier vor Allem in der umliegenden weißen Substanz, und weniger im Zentrum der Läsion. (1, 24)

Cortikale Läsionen zeichnen sich ebenfalls durch Demyelinisierung aus, weisen aber deutlich geringere Ödeme, Inflammation, Mikroglia-Aktivierung und Makrophagen auf als Plaques der weißen Substanz. Sie finden sich in allen Stadien und Verlaufsformen der MS, treten jedoch gehäuft bei der PPMS und SPMS auf. Man findet sie vermehrt innerhalb der Sulci und in topografischer Beziehung zu entzündlich infiltrierten Meningen. Die Vermutung liegt nahe, dass von den Hirnhäuten freigesetzte bzw. im Liquor befindliche, proinflammatorische Mediatoren bei der Entstehung dieser Plaques beteiligt sind. (1, 24)

1.4.1 Immunologie

An der Pathogenese sind vielzählige Zellen des Immunsystems beteiligt. Der pathophysiologische Prozess hinter der Erkrankung ist komplex und bis dato noch nicht vollständig geklärt. Eine wichtige Rolle scheint hierbei die Blut-Hirn-Schranke (BHS) zu spielen. Bei aktiven MS Läsionen kommt es zu einer Schrankenfunktionsstörung, die sich auch durch Kontrastmittelaufnahme in der MRT nachweisen lässt. Warum genau es zu dieser Störung kommt, ist jedoch nicht hinreichend geklärt. Aktivierte T-Zellen scheinen jedenfalls ausschlaggebend an dem Prozess beteiligt zu sein. Ob die T-Zellen bereits in der Peripherie oder erst im ZNS aktiviert werden oder beides der Fall ist, ist noch Gegenstand aktueller Forschung. (1, 25, 26) Über Adhäsionsmoleküle des Gefäßendothels, wie z.B. VCAM1 und CAM1, binden aktivierte T-Zellen mit zellständigen Integrinen an die Gefäßwand und transmigrieren in den perivaskulären Raum. Dort interagieren sie mit Monozyten und Mikroglia, welche Metalloproteasen ausschütten und dadurch eine Penetration der Glia limitans und eine Migration in das Hirnparenchym erleichtern. Im Hirnparenchym angekommen, werden die T-Zellen reaktiviert. Sie schütten Chemokine, Zytokine und andere Entzündungsmediatoren aus, die wiederum die Expression endothelialer Adhäsionsmoleküle anregen, die BHS durchlässiger machen und weitere Immunzellen anlocken. (27)

T-Zellen

Als pathogenetisch relevante T-Zellen sind hier vor allem CD4+ T-Zellen zu nennen. Die IL-17 und TNF γ -expressierenden Subtypen, auch Th17- und Th1-Zellen genannt, scheinen eine ausschlaggebende Rolle in der Entzündungsreaktion zu spielen. Das zytologische Bild bleibt jedoch komplex. Neben den oben genannten Th17- und Th1-Zellen legen Tiermodelle, wie die Experimentelle Autoimmunenzephalomyelitis (EAE), das gängigste MS-Modell, auch die Beteiligung von CD8+Zellen nahe. Diese produzieren ebenfalls proinflammatorische Zytokine wie IL-17 und Granulocyte-macrophage Colony-stimulating-factor (GM-CSF) und scheinen sowohl direkt an axonaler Schädigung beteiligt zu sein als auch indirekt durch Aktivierung weiterer Effektor-T-Zellen die Inflammation voranzutreiben. Zusätzlich finden sich auch zahlreiche CD8+ T-Zell-Infiltrate in MS Läsionen, was deren Beteiligung an der Pathogenese ebenfalls nahelegt. (1, 26)

B-Zellen

Neben aktivierter T-Zellen scheinen auch B-Zellen eine wichtige Rolle zu spielen. Dies zeigt sich zum einen in der erhöhten intrathekalen Antikörpersynthese bei MS-Patienten, zum anderen konnten durch Anti-B-Zell-Therapien gute Erfolge erzielt werden. Monoklonale Antikörper wie z.B. Ocrelizumab richten sich hierbei im Speziellen gegen CD20+ B-Zellen und führen dadurch zu einer deutlichen Reduktion der Schubrate sowie einer verringerten Läsionslast in der MRT. (28) Interessanterweise kommt es unter einer Anti-CD20+-Therapie kaum zu einer Verringerung der Antikörper im Liquor der Patient*innen, was eine antikörperunabhängige Beteiligung der B-Zellen an der Pathogenese vermuten lässt. Gestützt wird diese These dadurch, dass MS-Patient*innen B-Zellen aufweisen, die vermehrt proinflammatorische Zytokine wie z.B. IL-6 oder GM-CSF produzieren und eine geringere Produktion regulatorischer Zytokine, wie z.B. IL-10, aufweisen. Somit wird eine Beteiligung der CD20+-Zellen an der T-Zell-Aktivierung durch Zytokinausschüttung oder Antigen-Präsentation als weiterer pathogenetischer Prozess vermutet. (26)

Antikörper

Nichtsdestotrotz spielen Autoantikörper zumindest in gewissen MS-Unterformen eine pathogenetische Rolle. So findet man z.B. in Pattern II-Biopsien Ablagerungen von Antikörpern und Teilen des Komplementsystems im Bereich der MS-Läsionen im ZNS. Auch scheinen einige Patient*innen-Subgruppen von einer Plasmapherese zu profitieren. (26)

In dem bedeutendsten Tiermodell der MS, der EAE, wurden Antikörper gegen Myelin-Oligodendrozyten-Glykoprotein (MOG) als mitauslösenden Faktor nahegelegt und waren jahrelang Gegenstand intensiver Forschung. Auch wenn MOG-spezifische Antikörper bei 20% der pädiatrischen Patient*innen mit demyelinisierender Erkrankung nachgewiesen werden können, findet man sie nur selten und in geringen Mengen bei erwachsenen MS Patient*innen. Mittlerweile wird vielmehr davon ausgegangen, dass es sich bei der mit MOG-Antikörper assoziierten Demyelinisierung um eine eigene Krankheitsentität handelt, die sich auch im klinischen Phänotyp von MS unterscheidet. (29–32) Weitere potenzielle Autoantikörper richten sich zum Beispiel gegen Neurofascin und Connectin-2, axogliale Proteine am Ravier'schen Schnürring, und medierten im Tiermodell ebenfalls axonale Schädigung und Entzündung der grauen Substanz. (32)

1.4.2 Axonale Schädigung und Neurodegeneration

Neben der Demyelinisierung und der Entzündung stehen auch die Neurodegeneration und der axonale Verlust im Zentrum der Krankheitsgenese.

In histopathologisch untersuchtem Hirngewebe zeigten sich durchtrennte Axone als konsistentes pathologisches Merkmal in MS-Läsionen und wurden in der Vergangenheit mit demyelinisierenden Plaques in Verbindung gebracht. (33)

Mittlerweile wird davon ausgegangen, dass axonaler Verlust und Neurodegeneration nicht ausschließlich als Konsequenz der Demyelinisierung zu betrachten sind, sondern zusätzlich durch diffuse Inflammation getriggert werden.

So kann zum Beispiel auch in makroskopisch unauffälliger weißer Substanz (normal appearing white matter (NAWM)) verringerte axonale Dichte sowie neuronale Degeneration festgestellt werden. Diese tritt jedoch unabhängig von demyelinisierenden Plaques auf und scheint ebenfalls in keinem Zusammenhang

mit der Läsionslast zu stehen. Auch in der grauen Substanz kann eine, von demyelinisierenden Plaques unabhängige, Neurodegeneration beobachtet werden, die vielmehr mit entzündlicher Infiltration der Meningen in Zusammenhang zu stehen scheint und somit die Hypothese der Inflammation als zugrunde liegenden Prozess unterstreicht. (34, 35)

Es wird vermutet, dass es durch chronische Inflammation zur Aktivierung ZNS-ständiger Immunzellen wie z.B. Mikroglia und Makrophagen kommt. Die aktivierten Zellen produzieren neurotoxische Stoffe, unter anderem reaktive Sauerstoff- bzw. Stickstoffspezies (ROS/RNS), welche die Neuronen in oxidativen Stress versetzen. Besonders vulnerabel sind hierbei die Mitochondrien. Kommt es zu einem Überschuss an ROS und RNS, wird die mitochondriale DNA geschädigt und die Funktionalität der Mitochondrien eingeschränkt. Dies führt zu einem Energiedefizit innerhalb des Neurons. Die Reizweiterleitung kann nicht mehr gewährleistet werden und es kommt in weiterer Folge zu einer Dysregulation sowie Umverteilung der Ionenkanäle, die letztendlich zu einer Ca²⁺-Überladung des Neurons führen. Es wird vermutet, dass diese Anpassung initial zur Aufrechterhaltung der Signaltransduktion dient, bei langanhaltendem Energiedefizit der Nervenzelle jedoch schadet und die Neurodegeneration vorantreibt. (35)

Neurodegenerative Veränderungen stehen im Vergleich zu Demyelinisierung und Schubrate in direktem Zusammenhang mit dem Einschränkungsgang der Patient*innen sowie der Krankheitsprogression. Auch wenn axonaler Verlust und Neurodegeneration vor allem bei den progressiven Verlaufsformen im Vordergrund stehen, findet man ihren Beginn bereits in frühen Krankheitsstadien der RRMS oder bei CIS-Patient*innen. (35)

1.4.3 Remyelinisierung

Bei der Remyelinisierung handelt es sich um einen Reparaturmechanismus, bei dem das demyelinisierte Axon erneut ummantelt wird. Remyelinisierte Areale werden „Shadow Plaques“ genannt. Im Unterschied zu gesunden Nervenzellen weisen die Axone dieser Plaques eine deutlich geringere Myelinschichtdicke sowie kürzere Internodien auf. Die saltatorische Reizweiterleitung und somit die

Funktionalität der Axone kann jedoch trotz der veränderten Morphologie der neuen Myelinschicht wiederhergestellt werden. (36)

Es wird davon ausgegangen, dass die Remyelinisierung von Oligodendrozyten-Vorläuferzellen (OPC) ausgeht. Diese Vorläuferzellen befinden sich in reichlicher Zahl im gesamten ZNS verteilt. Kommt es zu einer Schädigung des Myelins, schütten ortsständige Mikroglia und Astrozyten Botenstoffe, wie zum Beispiel Platelet-Derived Growth Factor und Fibroblast Growth Factor aus. Angelockt durch diese Botenstoffe, migrieren die OPCs in das geschädigte Areal und differenzieren sich dort zu Oligodendrozyten. Diese treten darauffolgend mit dem demyelinisierten Axon in Kontakt und bilden eine neue Myelinschicht aus. (37)

Der Grad der Remyelinisierung ist sehr heterogen und hängt von verschiedenen, teilweise noch ungeklärten Faktoren ab. Chronische MS-Läsionen weisen z.B. eine signifikant geringere Remyelinisierung auf als Läsionen in frühen MS-Stadien. Es wird vermutet, dass die geringere Inflammation in chronischen Läsionen eine entscheidende Rolle für die fehlende Reparaturkapazität darstellt. (38) Außerdem scheint auch die Lokalisation der Läsion einen Einfluss auf den Remyelinisierungsgrad zu haben. So konnte z.B. in verschiedenen Studien gezeigt werden, dass remyelinisierte Plaques deutlich häufiger in subkortikalen als in periventrikulären Läsionen auftreten. (38, 39) In Tiermodellen konnte nachgewiesen werden, dass die Effektivität der Remyelinisierung mit dem Alter nachlässt. Dies lässt sich sowohl auf altersassoziierte Veränderungen in den OPCs, die mit verringertem Ansprechen auf Botenstoffe und ineffizienterer Differenzierung einhergehen, als auch auf verringerte Expression besagter Botenstoffe und somit langsamere Aktivierung der Vorläuferzellen zurückführen. (37) Die altersassoziierten Veränderungen scheinen sich ebenfalls geschlechtsspezifisch zu unterscheiden. So konnte in einer Studie gezeigt werden, dass weibliche Versuchstiere eine signifikant geringere Abnahme der Remyelinisierung aufweisen. (40)

1.5 Diagnostik

Ausschlaggebend für die sichere MS-Diagnose ist der Nachweis räumlicher und zeitlicher Dissemination (DIS/DIT). Darunter versteht man zum einen die

Entwicklung mehrerer Läsionen in unterschiedlichen Regionen innerhalb des ZNS (DIS), zum anderen im zeitlichen Verlauf neu auftretende Läsionen (DIT). Die Diagnostik umfasst neben der klinischen Untersuchung auch laborchemische und bildgebende Verfahren sowie neurophysiologische Tests. (41, 42)

Um die Diagnose zu erleichtern und eine frühzeitige Diagnosestellung zu ermöglichen, wurden 2001 die McDonald-Kriterien implementiert. Sie dienen als Orientierungshilfe bei der Diagnose und wurden mittlerweile mehrfach geprüft und überarbeitet. In der 2017 erschienenen, neuesten Revision der Kriterien werden diese wie folgt definiert: (42)

Anzahl der Schübe	Objektivierbare* klinische Manifestation	Weitere Befunde
≥ 2	≥ 2	keine
≥ 2	1 (+ anamnestisch eindeutig erhobene Evidenz für eine Läsion in einer anderen anatomischen Region)	keine
≥ 2	1	DIS-Nachweis mittels MRT <i>ODER</i> weitere klinische Attacke in anderer anatomischer Region
1	≥ 2	DIT-Nachweis mittels MRT <i>ODER</i> zusätzliche klinische Attacke <i>ODER</i> oligoklonale Banden im Liquor
1	1	DIS-Nachweis mittels MRT <i>ODER</i> weitere klinische Attacke in anderer anatomischer Region UND DIT-Nachweis mittels MRT <i>ODER</i> zusätzliche klinische Attacke <i>ODER</i> oligoklonale Banden im Liquor

Tabelle 1: 2017-Revision der McDonald-Kriterien: *durch die klinische Untersuchung, MRT oder neurophysiologische Tests (visuell evozierte Potentiale (VEP)) (42)

1.5.1 Klinische Präsentation

Die klinische Präsentation der MS ist sehr heterogen und hängt sowohl von der Lokalisation der Läsion als auch von der Verlaufsform ab. Die Symptomatik tritt in der Regel akut oder subakut auf, zeigt innerhalb der ersten 2-3 Wochen nach Beginn ihre stärkste Ausprägung und bildet sich vor allem in frühen Krankheitsstadien teilweise oder auch zur Gänze wieder zurück. (1)

Zu den häufigsten Symptomen am Beginn der Erkrankung zählen Sensibilitätsstörungen (bis zu 43%), Optikus Neuritis (25%) und motorische Defizite (30-40%), wie z.B. Paresen. (1)

Als charakteristisch für MS gilt das Lhermitte-Zeichen, welches sich durch ein elektrisierendes Kribbeln entlang der Wirbelsäule bei Vornüberbeugen des Kopfes auszeichnet. Ein weiteres MS-spezifisches, klinisches Merkmal ist das sogenannte Uhthoff-Phänomen, bei dem es zu einer vorübergehenden Verschlechterung der Symptomatik kommt, die mit einer erhöhten Körpertemperatur, z.B. bei Fieber oder heißem Wetter einhergeht. (43)

Eine häufig genutzte Skala zur Bewertung der klinischen Symptomatik und dem Behinderungsgrad bei MS Patient*innen ist der Expanded Disability Status Scale nach Krutzke. Hierbei wird der Schweregrad anhand der Symptomatik in 8 verschiedenen Funktionellen Systemen (Pyramidenbahn, Kleinhirn, Hirnstamm, Sensorium, Blasen- und Mastdarmfunktion, Sehfunktion, Zerebrale Funktion und andere Funktionen) bewertet. Jedes Funktionelle System wird unabhängig voneinander betrachtet und von Grad 0 (keine Einschränkung) bis Grad 6 (größtmögliche Einschränkung) eingeteilt. Je nach Anzahl der betroffenen Funktionellen Systeme und deren Schweregrade wird der EDSS bestimmt. Die Skalierung geht von 0 (keine Einschränkung) bis 10 (Tod durch MS) und wird ab einem Score von 1 in 0.5er-Schritten angegeben. Ab einem Wert von 3.5 wird neben der Funktionellen Systeme auch die Gehfähigkeit der Patient*innen mit in die Bewertung einbezogen. (44)

1.5.2 MRT-Diagnostik

Eines der wichtigsten paraklinischen Werkzeuge stellt die MRT dar, welche 2001 in die McDonald-Kriterien integriert wurde und seither als fester Bestandteil der MS-Diagnostik gilt. (45)

Typische MS-Plaques präsentieren sich als runde bis ovale, hyperintense Läsionen in T2-, T2-FLAIR (fluid attenuated inversion recovery) oder PD (Protonendichte) -gewichteten MRT-Sequenzen mit einem Durchmesser von wenigen Millimetern bis hin zu mehr als 2 cm. Die Läsionen können prinzipiell in jedem Bereich des ZNS auftreten, finden sich jedoch gehäuft periventrikulär, juxtakortikal/kortikal, infratentoriell (v.a. Pons und Cerebellum), im Bereich des Corpus Callosum, des Nervus Optikus und im Rückenmark. Im Rückenmark beschreiben die Läsionen häufig eine zigarrenförmige Form, finden sich bevorzugt im Hinterstrang der zervikalen Segmente und zeigen eine longitudinale Ausdehnung von unter 2 Wirbelkörper. (46, 47)

Aktive, neu aufgetretene Läsionen können durch die Gabe von Gadolinium (Gd-haltigem Kontrastmittel) von bereits länger bestehenden Läsionen differenziert werden. Neu aufgetretene Läsionen nehmen im Vergleich zu älteren Läsionen das Kontrastmittel auf Grund der, durch die akute Inflammation bedingte, erhöhten Durchlässigkeit der Blut-Hirn-Schranke auf und zeigen sich in T1-gewichteten MRT-Sequenzen nach Kontrastmittelgabe als hyperintens.

Hypointense Läsionen in der T1-gewichteten Bildgebung werden „black holes“ genannt. Man unterscheidet zwischen "acute black holes", welche mit den Gd-aufnehmenden Läsionen korrespondieren und sich in der Regel innerhalb von ca. 6 Wochen wieder isointens präsentieren, und "persistent black holes", welche länger bestehen bleiben und mit irreversiblen axonalem Verlust assoziiert sind. (siehe Abbildung 1) (47, 48)

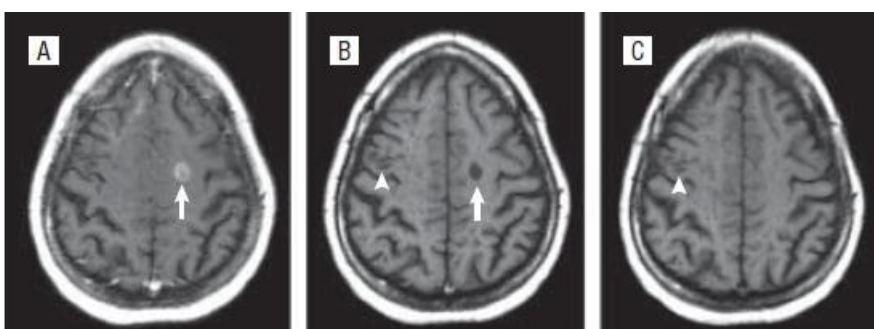


Abbildung 3: T1-gewichtete MRT Sequenzen vor und nach Kontrastmittelgabe sowie im zeitlichen Verlauf. A, T1-gewichtete Baseline Aufnahme nach Kontrastmittelgabe mit einer aufnehmenden Läsion (Pfeil); B, selbige Läsion vor Kontrastmittelgabe hypointens (Pfeil) und eine weitere hypointense Läsion, die keine Kontrastmittelaufnahme in Bild A zeigt (Pfeilspitze); C, Follow-up MRT nach einem Jahr, die Kontrastmittel aufnehmende Läsion ist nun isointens (acute black hole), die nicht aufnehmende Läsion bleibt unverändert (persistent black hole, Pfeilspitze). (47)

Die MRT des Gehirns und des Rückenmarks wird ergänzend zu den klinischen Befunden hinzugezogen, um die für die Diagnose notwendige zeitliche und räumliche Dissemination nachzuweisen und zu bestätigen.

Die 2016 überarbeiteten MAGNIMS Consensus Guidelines definieren die MRT-Kriterien für zeitliche und räumliche Dissemination wie folgt:

Zeitliche Dissemination ist gegeben, sobald mindestens eine neue T2- oder Gd-anreichernde Läsion in einer Follow-up-MRT im Vergleich zur Baseline MRT detektiert wird, unabhängig des zeitlichen Abstandes beider Aufnahmen ODER eine asymptotische Gd-anreichernde Läsion und eine nicht-anreichernde Läsion in derselben MRT nachgewiesen werden, unabhängig davon, ob es sich um eine Baseline oder Follow-up MRT handelt. (49)

Räumliche Dissemination ist gegeben, sobald mindestens 2 der folgenden Kriterien erfüllt sind:

- Mind. 3 periventrikuläre Läsionen
- Mind. 1 infratentorielle Läsion
- Mind. 1 spinale Läsion
- Mind. 1 kortikale/juxtakortikale Läsion
- Läsion des Nervus Optikus

Neuerungen sind hierbei die Zusammenfassung kortikaler und juxtakortikaler Läsionen zu einer typischen MS-Region, die Hinzunahme des Nervus Optikus als 5. MS-typische Region und die Notwendigkeit von mindestens 3 periventrikulären Läsionen. (49)

Letztere beiden Neuerungen wurden jedoch nicht in die 2017 überarbeiteten McDonald Kriterien implementiert. (42)

1.5.3 Liquordiagnostik

Ein weiterer Pfeiler der diagnostischen Abklärung stellt die Liquordiagnostik dar. Die Analyse des Liquors wurde bereits 2001 ergänzend zur MRT-Diagnostik in die McDonald Kriterien integriert und erlangte in der 2017 veröffentlichten Revision der Diagnosekriterien einen noch größeren Stellenwert. (42, 45)

Bei MS-Patient*innen zeigt sich typischerweise eine normale bis leicht erhöhte Zellzahl. In etwa 50% der Fälle weisen die Patient*innen eine Zellzahl von bis zu 50 Zellen pro Mikroliter auf. Eine Erhöhung über dieses Level hinaus ist lediglich bei 1-2% der Patient*innen nachweisbar und sollte daher gut differentialdiagnostisch abgeklärt werden. Das Zellbild zeigt in erster Linie Lymphozyten, wovon 90% T-Lymphozyten und 10% B-Lymphozyten ausmachen. Zusätzlich können sich Monozyten, Plasmazellen, Makrophagen und in sehr seltenen Fällen auch Granulozyten finden. Der Albuminquotient und das Gesamtprotein können auf Grund der transienten Störung der Blut-Hirn-Schranke leicht erhöht sein.(50)

Der bedeutendste Marker im Liquor ist die intrathekale Immunglobulin (Ig) Synthese. Die intrathekale Synthese lässt sich mittels 2 unterschiedlicher Methoden nachweisen. Zum einem der qualitative Nachweis oligoklonaler IgG-Banden (OCGB) in der parallelen isoelektrischen Fokussierung (IEF) oder der quantitative Nachweis durch das Liquor/Serum-Quotienten-Diagramm nach Reiber. (51)

Hierbei ist der qualitative Nachweis die sensitivere der beiden Methoden. Bereits geringe Mengen an intrathekal synthetisiertem Immunglobulin (Ig) G lassen sich als OCGB darstellen und finden sich bei 88-98% der Patient*innen. Man betrachtet in der IEF Liquor- und Serumproben im Vergleich. Nur wenn sich liquorspezifische Banden, die sich in der Serum-Analyse nicht wiederfinden, nachweisen lassen, gilt dies als Beweis einer intrathekalen IgG-Synthese (Typ 2 und 3, siehe Abbildung 2). Korrespondieren die Banden im Liquor mit den Banden im Serum, lässt sich davon ausgehen, dass die Antikörper über eine Störung der Blut-Hirn-Schranke aus dem Blut in den Liquor diffundiert sind und nicht im ZNS synthetisiert wurden. (51)

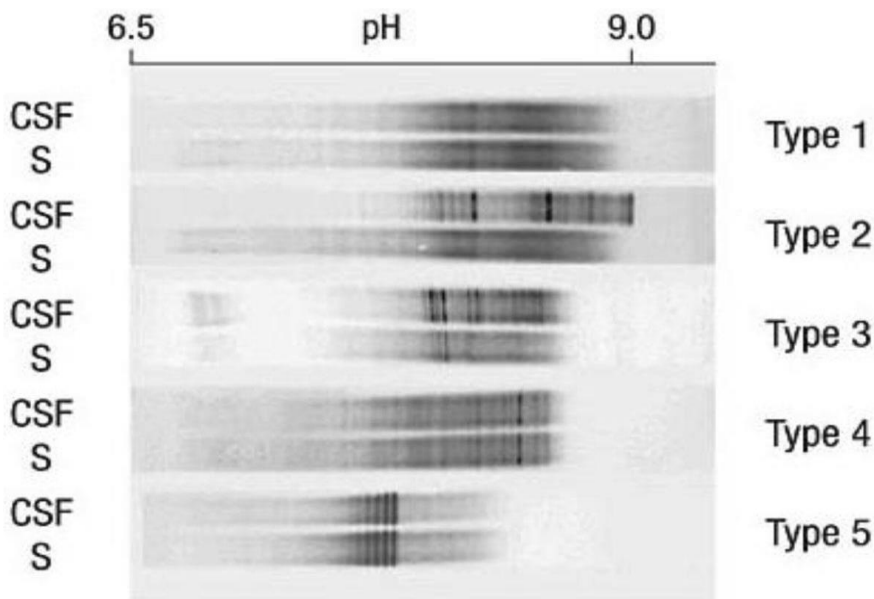


Abbildung 4: Muster Oligoklonaler Banden in parallelen Liquor- und Serumproben (S).

Typ 1, Normalbefund; *Typ 2*, isolierte OCB im CSF; *Typ 3*, korrespondierende OCB in CSF und S plus zusätzlich isolierte OCB im CSF; *Typ 4* identische OCB im S und CSF (Spiegelbildung); *Typ 5* Monoklonale Banden; Type 2 und Type 3 Befunde sprechen für eine intrathekale Synthese. (52)

Bestimmt man die IgG Konzentration quantitativ nach Reiber, zeigen lediglich 60-75% der Patient*innen eine intrathekale Synthese. Der quantitative Nachweis ist somit weniger sensitiv als der qualitative Nachweis, hat jedoch den Vorteil, dass man mit dieser Methode neben der IgG-Synthese auch die intrathekale IgM- und IgA-Synthese nachweisen kann. Hierzu wird der IgG- oder analog dazu der IgA/IgM-Liquor/Serum-Quotient logarithmisch gegen den Albumin-Liquor/Serum-Quotienten in ein Diagramm aufgetragen. Der Albumin-Quotient dient hierbei als Maß für die BHS. (51) Zur genaueren Erklärung soll hier auf Abbildung 3 verwiesen werden. Bei 20-25% der Patient*innen lässt sich somit zusätzlich zur IgG-Synthese auch eine IgM- und bei ca. 10% eine IgA-Synthese im ZNS nachweisen. (51)

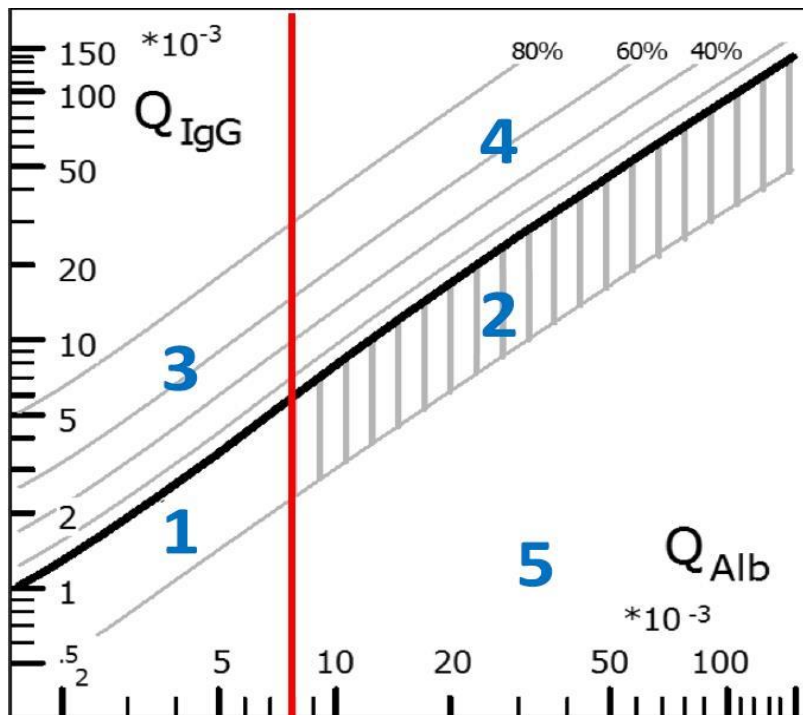


Abbildung 5: IgG-Quotienten Diagramm. Die dicke diagonale Line wird als Q_{Lim} bezeichnet und bildet den Mittelwert der erwarteten IgG Konzentration + 3-mal die Standardabweichung ab. Die rote senkrechte Linie beschreibt den altersabhängigen Grenzwert für die Schrankenfunktion.

1, Normalbefund; 2, isolierte Schrankenfunktionsstörung; 3, intrathekale IgG Synthese; 4, Kombination aus 2 und 3; 5, nicht plausibler Befund (52)

Der Nachweis OCB ist einer der sensitivsten Liquormarker für MS und hat einen hohen negativen prädiktiven Wert. Die Abwesenheit von OCB sollte dementsprechend eine genau differentialdiagnostische Abklärung nach sich ziehen. Den spezifischsten Laborparameter für MS stellt die MRZ-Reaktion dar. Unter MRZ-Reaktion versteht man die Erhöhung des Antikörperindex für das Masern-, Röteln- und/oder Varizella-Zoster-Virus. Bei MS richten sich die intrathekal synthetisierten Antikörper gegen viele verschiedene Antigene und sind somit polyspezifisch. Auch wenn maximal 0.5% der intrathekalen Antikörper sich gegen MRZ-Antigene richten, ist der Nachweis dieser Antikörper mit einer Spezifität von 97.5% äußerst spezifisch für MS. (51, 53)

1.5.4 Evozierte Potenziale

Eine weitere neurophysiologische Methode ist die Messung evozierter Potenziale. Hierbei wird ein sensorischer Stimulus gesetzt, dessen Verarbeitung im Gehirn mittels Elektroden, die auf dem Schädel angebracht werden, gemessen wird. Die

MS-typische Demyelinisierung und der axonale Verlust führen zu Veränderung dieser Potenziale, die dann neben abnormer Morphologie und Amplitude vor Allem auch eine verlängerte Latenz zeigen. Man unterscheidet zwischen visuell evozierten Potenzialen (VEP), somatosensiblen evozierten Potenzialen und frühen akustischen Hirnstammpotenzialen. Diese nicht-invasive und kostengünstige Methode kann diagnostisch genutzt werden, um klinische MS-Läsionen zu objektivieren. Im Speziellen die VEPs zeigen eine ähnliche Sensitivität wie die MRT in Bezug auf Läsionen des Nervus Optikus und wurden als paraklinischer Test zur Objektivierung klinischer Läsionen in die aktuelle Revision der McDonald-Kriterien integriert. (42, 54, 55)

1.6 Therapie

1.6.1 Schubtherapie

Als klinischer Schub gelten MS-typische Symptome, die sich akut bis subakut entwickeln, mindestens für 24 Stunden bestehen und nicht in Zusammenhang mit Infektionen oder Hitzeexposition stehen. Die Symptomatik kann sich zur Gänze, aber auch nur teilweise bzw. gar nicht zurückbilden. (42)

In den Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Neurologie (DGN) wird eine hochdosierte Glukokortikosteroid-Gabe als primäre Schubtherapie empfohlen und sollte möglichst rasch nach Beginn der Symptomatik eingeleitet werden. Im Speziellen wird sich hierbei für die Verabreichung von Methylprednisolon 500-1000 mg/ Tag für 3-5 Tage ausgesprochen. (3)

In mehreren Studien führte die Behandlung mit Methylprednisolon zu einem signifikant niedrigeren Risiko einer Verschlechterung oder fehlenden Rückbildung der Symptomatik innerhalb von 5 Wochen nach Symptombeginn. (56–58)

1.6.2 Verlaufsmodifizierende Therapie

Mittlerweile stehen zahlreiche verlaufsmodifizierende Medikamente zur Behandlung der schubförmigen MS zur Verfügung. Sie unterscheiden sich hinsichtlich ihrer Effizienz ebenso wie ihrer Sicherheit und müssen individuell für die Patient*innen bezüglich ihres Risiko-Nutzen-Profiles abgewogen werden.

Interferon Beta und Glatirameracetat sind die beiden Substanzen, die am längsten zur Therapie der RRMS zugelassen und bereits am besten erprobt sind. (59, 60) Bei Interferon Beta handelt es sich um ein Zytokin, welches antiinflammatorisch wirkt und einen regulierenden Effekt auf das Immunsystem aufweist. Der exakte Wirkmechanismus ist noch nicht geklärt, jedoch konnte in zahlreichen randomisierten Kontrollstudien ein signifikant besseres Outcome mit geringerer Schubrate, geringerer Läsionslast in der MRT und verringertem Behinderungsgrad im Vergleich zum Placebo festgestellt werden. (61)

Glatirameracetat induziert die Proliferation von T-Supressor-Zellen, interagiert mit den MHC-II Komplexen auf Antigen präsentierenden Zellen und wirkt dadurch antiinflammatorisch. Es zeigt eine vergleichbare Wirkung wie Interferon Beta und ist ebenfalls fester Bestandteil der First-Line-Therapeutika. (60, 62)

Neben den injizierbaren verlaufsmodifizierenden Therapien wurden im Laufe der letzten Jahrzehnte zahlreiche orale Therapien für die schubförmige MS zugelassen. Zu gängigen Präparaten gehören unter anderem Dimethyl Fumarat, Teriflunomide, SP1Rezeptor-Modulatoren wie Fingolimod und Ozanimod, und Caldibrine. Die Wirkung der oralen Therapeutika beruht auf verschiedensten, teilweise noch nicht bekannten Mechanismen und bietet somit die Möglichkeit einer individualisierten Therapie. (3, 63)

Als weitere Therapeutika-Gruppe sind die monoklonalen Antikörper zu nennen. Sie greifen gezielt an Zellen und Strukturen an, die direkt mit der Pathophysiologie der Erkrankung zusammenhängen, und ermöglichen somit eine spezifische Therapie. Natalizumab, welches 2004 als erster monoklonaler Antikörper zur Therapie von schubförmiger Multipler Sklerose zugelassen wurde, zeigte sich in Bezug auf die Schubrate und die Behinderungsprogression dem Placebo sowie Interferon-Beta und Glatirameracetat gegenüber überlegen. (64, 65) Mittlerweile sind weitere monoklonale Antikörper, wie z.B. Ocrelizumab für die schubförmige MS zugelassen. Auch für die PPMS zeigte sich Ocrelizumab vor allem bei Patient*innen unter 45 Jahren mit kontrastmittelanreichernden Läsionen als effektives Therapeutikum und erhielt 2018 die europäische Zulassung. (3)

1.6.3 Therapiestrategien

Eine der gängigsten Therapiestrategien ist die Eskalations-Strategie, die auch in den Leitlinien der European Academy of Neurology verankert ist. (66) First-line Therapeutika wie Interferon Beta, Glatirameracetat, Teriflunomide oder Dimethyl Fumerat zeigen sich in ihrer Wirksamkeit zwar weniger effektiv als z.B. monoklonale Antikörper, sind aber sicherer und haben ein geringeres Risiko für schwerwiegende Nebenwirkungen. Aus diesem Grund wird initial eine Therapie mit diesen Substanzen angestrebt. Bei nicht ausreichendem Ansprechen auf die Therapie und weiterhin bestehender, entweder klinisch oder mittels MRT verifizierter Krankheitsaktivität kann in weiterer Folge zu second- oder third-line Therapeutika gewechselt werden, die eine bessere Wirksamkeit aufweisen, aber in Bezug auf Sicherheit den first-line Therapeutika nachstehen. (66, 67)

Diese Therapiestrategie ist auch in den aktuellen Therapieleitlinien der DGN verankert. Abbildung 6 liefert einen kurzen Überblick der Leitlinie. (3)

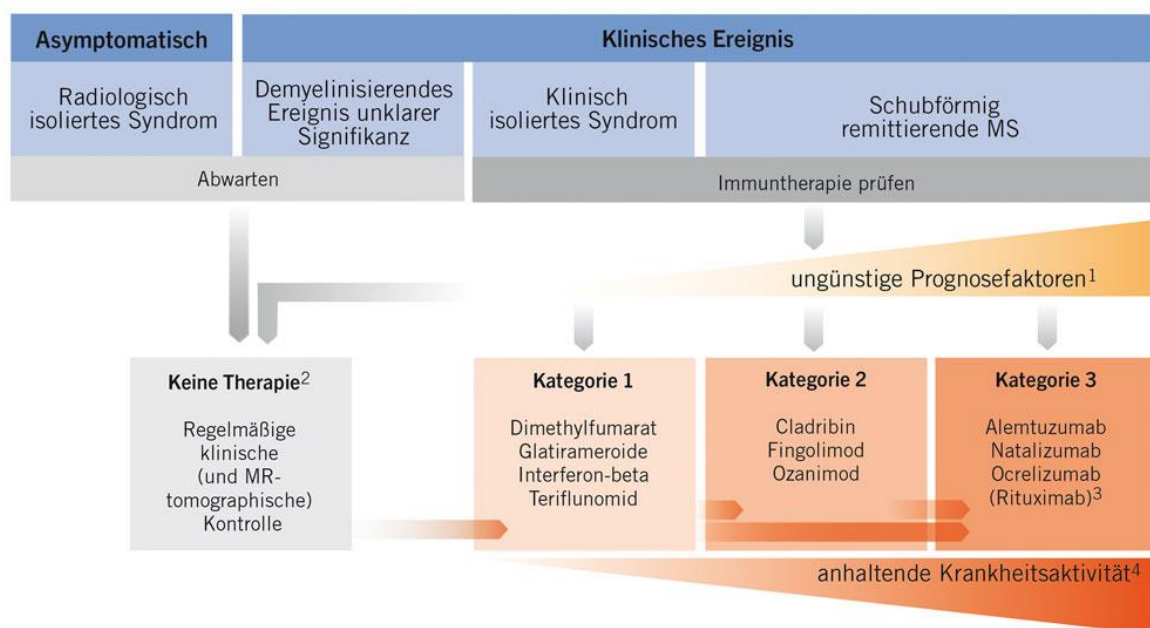


Abbildung 6: Therapiealgorithmus der Deutschen Gesellschaft für Neurologie.

1, Junges Lebensalter und/oder (u./o.) polysymptomatischer Beginn u./o. schlechte Rückbildung des Schubs u./o. hohe Läsionslast u./o. spinale/infratentorielle Läsionen u./o. quantitative intrathekale Immunglobulinsynthese (IgG und IgM)

2, Argumente für Therapie bei RIS sind: Oligoklonale Banden und wiederholte entzündliche Aktivität in der MRT

3, off label-use

4, Als Zeichen anhaltender Krankheitsaktivität unter Immuntherapie können folgende Faktoren gelten: ≥ 1 klinisch objektivierbarer Schub oder 1 Schub und ≥ 1 neue MS-typische Läsion im MRT oder zu ≥ 2 Zeitpunkten ≥ 1 neue MS-typische Läsion im MRT. (3)

Ein weiterer therapeutischer Ansatz ist die sogenannte Induktionstherapie. Hierbei wird direkt mit einem second-line Therapeutikum begonnen. Ziel ist es, mit starken Immunsuppressiva die Krankheitsaktivität einzudämmen und im besten Fall einen „Reset“ des Immunsystems zu erreichen, der mit einem günstigeren Zellprofil einhergeht. In weiterer Folge wird dann mit weniger aggressiven und sichereren Medikamenten wie Interferon Beta und Glatirameracetate die Therapie erhalten. (68) Gestützt wird dieser Ansatz durch mehrere retrospektive Kohorten-Studien, die ein besseres Outcome in Bezug auf den Behinderungsgrad (gemessen anhand des EDSS-Scores) und Konversion zu SPMS bei frühzeitiger Gabe von Second-Line-Therapeutika im Vergleich zur gängigen Eskalations-Strategie nahe legen. (69–71) Zwei großangelegte prospektive randomisierte Studien (TREAT-MS(NCT03500328) und DELIVER-MS(NCT03535298)) zur weiteren Überprüfung der These sind bereits in Arbeit. Mit einem Ergebnis ist jedoch nicht vor 2023 zu rechnen. (3)

Eine Alternative zu den DGN-Leitlinien bietet das Position Paper „White Paper“ der Multiple Sklerose Therapie Konsensus Gruppe. Hier werden sowohl die Eskalationsstrategie als auch die Induktionstherapie in das therapeutische Konzept integriert. Die Wahl des Therapeutikums hängt von der individuellen Einschätzung der Krankheitsaktivität und -schwere der Patient*innen ab. Eine Einteilung in mild/moderat bzw. aktiv oder hochaktiv wird postuliert und eine Therapieentscheidung anhand dieser Einteilung, unter Miteinbeziehung des individuellen Risikos und Komorbiditäten der Patient*innen, empfohlen. So wird, im Gegensatz zu der in der DGN-Leitlinie empfohlenen Therapiestrategie, eine Therapieinitiierung mit wirkstärkeren Therapeutika bei (hoch)-aktiver MS durchaus empfohlen, um möglichst effektiv die Akkumulation von Behinderung und in weiterer Folge auch möglicher Neurodegeneration zu verhindern. (72, 73)

1.7 Biomarker

In der Literatur werden Biomarker folgendermaßen definiert: " A characteristic

that is objectively measured and evaluated as an indicator of normal biological processes, pathogenic processes, or pharmacologic responses to a therapeutic intervention". (74) Es handelt sich demnach um ein biologisches, objektivierbares Merkmal, welches als Indikator für biologische bzw. pathologische Prozesse oder für die pharmakologische Antwort auf therapeutische Maßnahmen herangezogen werden kann.(74)

Die FDA-NIH Biomarker Working Group teilt Biomarker anhand ihrer Aussagekraft in verschiedene Gruppen ein. So werden diagnostische Biomarker herangezogen, um die Verdachtsdiagnose zu bestätigen und Subtypen der Erkrankung zu identifizieren. Prognostische Biomarker hingegen geben Rückschlüsse auf die Entwicklung und den möglichen Verlauf der Erkrankung bei bereits diagnostizierten Patient*innen. Biomarker, die das mögliche Ansprechen auf eine Therapie voraussagen, werden unter dem Begriff „prädiktive Biomarker“ zusammengefasst. Weitere Kategorien sind Biomarker, die die Krankheitsaktivität widerspiegeln („monitoring biomarker“) und Biomarker, welche die biologische Antwort und somit das Ansprechen auf eine Therapie erfassen („response biomarker“). (75)

Der Übergang zwischen den Kategorien ist jedoch fließend. So haben manche diagnostische Biomarker ebenfalls einen prognostischen Wert und erfüllen somit mehrere Kategorien. (76)

Idealerweise sollte ein Biomarker ein einfach und kostengünstig erhebbarer Parameter sein, welcher möglichst nicht invasiv gewonnen werden kann und mit keinem erhöhten Sicherheitsrisiko für die Patient*innen einhergeht. Im Idealfall handelt es sich um einen binären Wert, der sich proportional zur Krankheitsentwicklung verhält. Das heißt, der Biomarker ist bei erkrankten Personen nachweisbar, nicht jedoch bei Gesunden. Bei Progression der Erkrankung erhöht sich die Konzentration des Biomarkers, wohingegen sie sich bei Besserung bzw. Heilung verringert. Zusätzlich sollte die Messmethode möglichst akkurat und einfach durchführbar sein, sodass die Messung gut reproduzierbar und stabil gegenüber externen Einflüssen, wie z.B. Lagerung der Probe, Erfahrung der untersuchenden Person etc. ist. (77)

1.7.1 Biomarker bei Multipler Sklerose

Die MS ist eine komplexe Erkrankung, die sich durch die Heterogenität ihrer Erscheinung auszeichnet. Sowohl die klinische Präsentation, der Verlauf der Erkrankung, die Therapieantwort als auch die Prognose variieren interindividuell. Mit einer immer größeren Anzahl an Therapiemöglichkeiten wird es jedoch umso wichtiger, Patient*innen richtig und frühzeitig zu diagnostizieren und diejenigen herauszufiltern, welche am wahrscheinlichsten von einer bestimmten oder frühzeitigen Therapie profitieren. Hierbei könnten Biomarker eine wesentliche Rolle spielen und bei guter diagnostischer und prognostischer Aussagekraft die Krankenversorgung verbessern und individuelle Therapieentscheidungen erleichtern. (78, 79)

Einen der wichtigsten Imaging Biomarker bei der MS stellen MRT-Parameter wie Läsionslast, kontrastmittelaufnehmende Läsionen oder Hirnvolumen dar. CIS-Patient*innen mit dem Nachweis hyperintenser T2-Läsionen weisen zum Beispiel ein erhöhtes Risiko auf, zur definitiven MS zu konvertieren und auch die Anzahl und Größe kontrastmittelaufnehmender Läsionen stehen in Zusammenhang mit der Schwere und dem Auftreten klinischer Schübe. (79)

Neben Imaging Biomarkern gibt es noch die sogenannten Body Fluid Biomarker, also Biomarker, welche aus Körperflüssigkeiten gewonnen werden. Bei der MS sind als wichtigste Körperflüssigkeiten zum einen das Blut, zum anderen der Liquor zu nennen. Biomarker aus dem Blut haben den Vorteil, dass sie einfach und risikoarm dem/der Patient*in entnommen werden können und sich dadurch auch für regelmäßige Verlaufskontrollen eignen. Aufgrund der topographischen Trennung zwischen ZNS und Blut, spiegelt jedoch das Blut etwaige Veränderungen im ZNS nicht notwendigerweise korrekt wider. Eine ZNS-spezifischere Aussage lässt sich vielmehr anhand der Liquor Analyse treffen. Nachteil liegt hierbei jedoch in der invasiveren Gewinnungsmethode. (77) In der aktuellen Forschung werden unzählige Moleküle im Liquor als potenzielle Biomarker untersucht. In den klinischen Alltag integriert sind hierbei jedoch bei unzureichender Datenlage nur die wenigsten. (76, 80)

Der Nachweis OCGB im Liquor ist ein bereits mehrfach validierter diagnostischer Biomarker und in den 2017 überarbeiteten Diagnosekriterien und somit im klinischen Alltag fest implementiert. Neben dem diagnostischen Wert lassen sich auch Rückschlüsse auf das Risiko, von CIS zur definitiven MS zu konvertieren ziehen. In einer prospektiven Studie mit 517 Studienteilnehmer*innen wiesen CIS-Patient*innen mit OCGB ein doppelt so hohes Risiko auf, zu definitiver MS zu konvertieren. Ein weiterer diagnostischer Biomarker, welcher bereits im klinischen Setting verwendet wird, ist der IgG-Index. Auch wenn der Index weniger sensitiv ist als der Nachweis oligoklonaler Banden, wird er häufig ergänzend zu OCGB in der klinischen Praxis bestimmt und ein erhöhter IgG-Index geht mit einer erhöhten Wahrscheinlichkeit einer MS Diagnose einher. (76, 81–83)

Obgleich in der klinischen Praxis bis dato lediglich diagnostische CSF-Biomarker in Verwendung sind, gibt es diverse, bereits in mehreren Studien validierte prognostische Marker. Ein vielversprechender Biomarker, der die letzten Jahre im Zentrum der Forschung stand, sind Neurofilamente. Hierbei handelt es sich um Teile des neuronalen Zytoskeletts, welche bei axonaler Schädigung in den Liquor und in geringer Konzentration auch ins Serum freigesetzt werden. Vor allem die leichtkettigen Neurofilamente (NfL) im Liquor korrelieren mit dem Behinderungsgrad, der Krankheitsaktivität und der Zeit bis zum zweiten Schub. Diverse Studien konnten nachweisen, dass eine erhöhte Konzentration an CSF NfL ebenfalls mit Krankheitsprogression assoziiert ist, wohingegen niedrigere CSF-Konzentrationen einen milderen Verlauf voraussagten. Durch stetige Weiterentwicklung der Nachweismethode können mittlerweile selbst geringe Veränderungen der NfL Konzentration im Serum detektiert werden, sodass die Bestimmung im Serum eine weniger invasive Alternative zur Bestimmung aus dem Liquor darstellen könnte. (76, 84) Vielversprechendere Ergebnisse lieferte Disanto et al. 2017, welcher einen Zusammenhang zwischen Serum NfL und dem Risiko, innerhalb von 2 Jahren einen erneuten Schub zu erleiden bzw. einen schwereren Behinderungsgrad zu erreichen, feststellen konnte. (85)

1.7.2 IgM als prognostischer Biomarker

In der klinischen Routinediagnostik bei Patient*innen mit Verdacht auf MS liegt bei der Liquoruntersuchung das Hauptaugenmerk auf dem Nachweis von oligoklonalen IgG Banden und somit dem Nachweis von intrathekaler IgG-Synthese. (42, 86) OCGB findet man bei ca. 88-98% der Patient*innen. Auch wenn der Nachweis OCGB mit einem erhöhten Risiko für einen zweiten Schub sowie auch Verschlechterung des Behinderungsgrades einhergeht, ist bei einer solch hohen Prävalenz der prognostische Wert als limitiert zu betrachten. (51, 82, 87) Anders verhält es sich bei der intrathekalen IgM-Synthese, welche bei ca. 20-25% der Patient*innen nachzuweisen ist. (51)

Diverse Studien konnten einen Zusammenhang zwischen ITMS und einem ungünstigen Krankheitsverlauf nachweisen und legten somit den Focus der Forschung vermehrt auf ITMS als prognostischen Biomarker. (88) Eine 2021 veröffentlichte Meta-Analyse konnte zum Beispiel zeigen, dass Patient*innen mit intrathekaler IgM-Synthese ein erhöhtes Risiko aufweisen, einen zweiten Schub zu erleiden, und die Prävalenz von ITMS bei RRMS-Patient*innen signifikant höher ist als bei CIS-Patient*innen. (87) Eine IgM-Synthese scheint ebenfalls mit einem schweren Behinderungsgrad, einem höheren Risiko, vom CIS zu definitiver MS zu konvertieren, und einer kürzeren Zeit zwischen Erstereignis und weiterem klinischen Schub einherzugehen. (89–94) Oechtering et al. 2021 verglich Patient*innen mit ITMS miteinander und konnte feststellen, dass Patient*innen mit über den Median erhöhten IgM-Synthese eine kürzere Zeit zwischen Erstereignis und weiterem klinischen Schub aufwiesen als Patient*innen mit weniger ausgeprägter IgM-Synthese. Die Ergebnisse legen nahe, dass nicht allein der Nachweis einer intrathekalen IgM-Synthese ein Faktor zu sein scheint, sondern ebenfalls die Menge an intrathekal synthetisierten IgM. (93)

Nichtsdestotrotz gibt es Studien, die konträre Ergebnisse zeigen und die IgM-Synthese als prognostischen Marker in Frage stellen. (95–97)

Revendova et al. 2022 untersuchte zum Beispiel in einer prospektiven Kohortenstudie den Zusammenhang zwischen ITMS und dem Risiko, einen zweiten Schub zu erleiden, dem Behinderungsgrad und der MRT-Aktivität. Die IgM-Synthese wurde hierbei sowohl qualitativ als auch quantitativ nachgewiesen. Für

beide Methoden ließ sich kein signifikanter Zusammenhang der oben genannten Parameter und ITMS feststellen. (98)

Welche der beiden Methoden am besten zur Bestimmung geeignet ist, wird ebenfalls kontrovers diskutiert. In einer 2020 veröffentlichten Studie zeigte sich der qualitative Nachweis mittels isoelektrischer Fokussierung dem quantitativen Nachweis nach Reiber in Bezug auf die Sensitivität überlegen. (99) Auch Fonderico et al. konnten in einer 2021 veröffentlichten Meta-Analyse zeigen, dass die Prävalenz der ITMS bei der Verwendung von qualitativen Nachweismethoden im Vergleich zur quantitativen Methode höher liegt, was eine höhere Sensitivität ersterer Methoden nahelegt. (87) Nachteil der qualitativen Methode ist jedoch die, aufgrund der pentamerischen Struktur und Hydrophobie der Antikörper, aufwendigere und schwierigere Durchführung. (100) Die Reproduzierbarkeit der Messmethode wurde zwar von diversen Studien geprüft und als zufriedenstellend eingeschätzt, trotzdem stellt der quantitative Nachweis nach Reiber eine standardisierte und leicht durchführbare Alternative dar. (92, 99, 101) Mehrere rezente Studien bezogen in ihre Analyse lediglich den kalkulierten ITMS-Nachweis mit ein und erzielten vielversprechende Ergebnisse. (90–93)

1.8 Fragestellung

Immunvermittelte Demyelinisierung und axonale Schädigung stehen im Zentrum der Pathogenese der MS. Auch wenn die genaue Pathophysiologie der Erkrankung derzeit noch nicht hinreichend geklärt ist, gibt es zahlreiche Hinweise darauf, dass die humorale Immunantwort eine wichtige Rolle in der Krankheitsentstehung einnimmt. So findet sich bei MS Patient*innen als pathognomisches Merkmal die Immunglobulin-Synthese im intrathekalen Raum. Auch histopathologisch lassen sich Antikörper und Komplementablagerungen in bestimmten MS-Läsionen nachweisen. (102–104)

Der Nachweis OCGB ist bereits in die Routinediagnostik integriert. 20-25% der MS-Patient*innen weisen jedoch auch eine IgM-Synthese auf. Routinemäßig bestimmt werden oligoklonale Banden auf Grund der komplexeren und aufwendigeren Durchführung hingegen selten. (42, 51, 100) Diverse Studien konnten jedoch auch unter Verwendung der quantitativen Messmethode nach Reiber, welche leichter und

standardisierter durchführbar ist, einen Zusammenhang zwischen intrathekalen IgM-Synthese und einem fulminanteren Krankheitsverlauf feststellen und legen somit die IgM-Synthese als potenziellen prognostischen Biomarker nahe. (90–93)

Ziel dieser Arbeit ist es, in einer großen Kohorte, unter Verwendung der Quantifizierungsmethode nach Reiber, klinische Unterschiede zwischen Patient*innen mit und Patient*innen ohne ITMS herauszuarbeiten. Hauptaugenmerk soll hierbei auf klinische Parameter wie Alter zu Erkrankungsbeginn, Behinderungsgrad gemessen anhand des EDSS, der Schubrate, Zeit bis zur definitiven MS Diagnose und der Zeit bis zum zweiten Schub gelegt werden. Zusätzlich soll das Risiko, einen zweiten klinischen Schub zu erleiden, genauer betrachtet und zwischen beiden Gruppen verglichen werden. In Zusammenschau der Ergebnisse soll untersucht werden, inwieweit sich der Nachweis intrathekalen IgM-Synthese nach Reiber als prognostischer Marker für MS eignet.

2 Material und Methoden

2.1 Patienten und Patientinnen

Im Rahmen der Studie wurde auf die klinischen und laborchemischen Daten von insgesamt 470 Patient*innen zurückgegriffen, welche zwischen 2007 und 2019 in der Ambulanz für MS der Universitätsklinik für Neurologie vorstellig waren. Folgende Kriterien wurden als Einschlusskriterien definiert:

- Alle Patient*innen verzeichneten ein demyelinisierendes Ereignis suspekt auf MS oder erfüllten bereits zum Zeitpunkt des Erstereignisses die seinerzeit gültigen Diagnosekriterien. (42, 45, 105)
- Bei allen Patient*innen wurde eine Lumbalpunktion und Liquordiagnostik im Rahmen der Routinediagnostik durchgeführt.

In manchen Fällen erfolgte die Erstvorstellung in der Ambulanz für MS nicht im Zuge des ersten demyelinisierenden Ereignisses, sodass das Erstereignis lediglich anamnestisch erfasst wurde. Um eine mögliche Verfälschung der klinischen Daten,

im speziellen des EDSS zu Erkrankungsbeginn, zu vermeiden, durften jedoch zwischen dem Erstereignis und der Erstvorstellung nicht mehr als 48 Monate liegen. Des Weiteren wurden die Patient*innen, bei welchen der EDSS zu Erkrankungsbeginn innerhalb der ersten 2 Wochen nach dem Erstereignis erhoben wurde, aus der Analyse exkludiert, um somit das Risiko zu minimieren, dass dieser noch vor Abklingen der Schubsymptomatik erhoben wurde.

Unter der Anwendung folgender Ausschlusskriterien wurden 255 Patient*innen aus der Datenanalyse ausgeschlossen, sodass insgesamt 215 Patient*innen in die Analyse miteinfließen:

- Patient*innen mit unplausiblen Liquorbefund bzw. artifizieller Blutbeimengung in der Liquorprobe (n=121)
- Patient*innen, welche weniger als ein Follow-Up verzeichneten (n=55)
- Patient*innen mit pädiatrischem Onset (n=9)
- Patient*innen, bei denen zum Zeitpunkt der Lumbalpunktion kein EDSS in Remission erfasst wurde (n=24)
- Patient*innen mit mehr als 48 Monaten zwischen Erstereignis und erster Visite (n=46)

Die Datenerhebung erfolgte retrospektiv aus dem klinischen Informationssystem MEDOCS sowie der wissenschaftlichen Datenbank RDA. Folgende klinischen Daten wurden erhoben: Alter bei Erkrankungsbeginn, Zeit bis zur definitiven MS-Diagnose, Zeit bis zum 2. Schub, annualisierte Schubrate, EDSS zu Beginn der Erkrankung, EDSS bei der letzten dokumentierten Visite, Zeitspanne zwischen Erstereignis und Lumbalpunktion und Krankheitsdauer, definiert als Zeitspanne zwischen Erstereignis und letzte Visite.

Die Studie wurde von der Ethikkommission der Medizinischen Universität Graz geprüft und genehmigt (Ethikvotum-Nummer: 31-432 ex 18/19). Alle Patient*innen gaben ihr schriftliches Einverständnis, an der Studie teilzunehmen.

2.2 Liquoranalyse

Die Liquorentnahme wurde im Rahmen der diagnostischen Routineuntersuchung in der Spezialambulanz der Medizinischen Universität Graz durchgeführt. Jedem/jeder Patient*in wurden 6-10ml Liquor mittels Lumbalpunktion sowie ergänzend 8ml Blut aus einer peripheren Vene entnommen. Alle der erhobenen Liquor- und Serumparameter sind Teil der routinemäßigen, diagnostischen Abklärung bei Verdacht auf MS, sodass keine zusätzlichen diagnostischen Maßnahmen zur Fertigstellung dieser Arbeit durchgeführt werden mussten.

Die Liquor- und Serumanalysen erfolgten durch geschultes Fachpersonal, welches keine Informationen bezüglich klinischer Daten vorliegen hatte. Liquorproben, welche Hinweise auf eine erythrozytäre Kontamination aufwiesen, wurden in der Analyse nicht berücksichtigt.

Die Albumin-, IgG-, IgM- und IgA-Konzentrationen im Liquor wurden nephelometrisch unter Verwendung des Nephelometers „Beckmann Coulter Image 800 Analyser“ der Firma Beckmann Coulter Inc. (Brea, USA) bestimmt. Die Nephelometrie ist ein optisches Messverfahren, welche das Licht bzw. die Streuung des Lichts, das durch die Probe durchtritt, erfasst. Trifft ein Lichtstrahl auf ein Molekül, wird er gestreut. Diese Streuung wird von dem Nephelometer detektiert und steht im proportionalen Verhältnis zu Größe, Form und Konzentration des Moleküls, sodass eine Quantifizierung des Moleküls ermöglicht wird. (106) Analog dazu erfolgte eine Bestimmung dieser Parameter im Serum.

Um eine Aussage über die Integrität der BHS treffen zu können, wurde anhand der im Liquor und Serum ermittelten Albumin-Konzentrationen der Albuminquotient (Q_{Albumin}) wie folgt berechnet: $Q_{\text{Albumin}} = \text{Albumin}_{\text{Liquor}} / \text{Albumin}_{\text{Serum}}$. (107) Gleichermaßen erfolgte die Berechnung der Liquor-Serum-Quotienten für IgG, IgM und IgA. Mit Hilfe dieser Quotienten wurden in weiterer Folge zum quantitativen Nachweis intrathekalen Immunglobulin-Synthese die Antikörper-Indices (Ig-Index) bestimmt. Für den Ig-Index galt: $Q_{\text{Ig}}/Q_{\text{Albumin}}$. Zum qualitativen Nachweis intrathekalen IgG-Synthese wurden ergänzend mittels IEF und anschließendem Immunoblotting die Liquorproben auf Oligoklonale Banden untersucht. (108)

Die intrathekale IgM-Synthese wurde zusätzlich nach Reiber quantifiziert. Hierbei wurde der IgM-Quotient logarithmisch gegen den Albumin-Quotienten in das Reiberdiagramm aufgetragen. Lagen die IgM-Werte oberhalb des QLim, also oberhalb des standardisierten Mittelwertes zuzüglich der 3-fachen Standardabweichung, wurde dies als Nachweis einer intrathekalen IgM-Synthese gewertet. (52, 109)

2.3 Statistik

Zur statistischen Auswertung der Daten wurde das Statistikprogramm SPSS 26.0 verwendet. Als Signifikanzniveau wurden 5% ($p < 0.05$) festgelegt. Die graphische Darstellung der Ergebnisse erfolgte über das Statistikprogramm R.

Kategoriale Daten wurden in der deskriptiven Statistik als absolute und relative Häufigkeiten angegeben. Bei nominal- und intervallskalierten Daten wurden der Median mit Interquartilsabstand (IQR) und der Mittelwert mit Standardabweichung (SD) angegeben.

Mittels Shapiro-Wilk-Test wurden die Daten auf Normalverteilung geprüft.

Gruppenunterschiede wurden für nominalskalierte Daten mittels Chi²-Test und Fisher-Exakt-Test berechnet. Für die ordinal- und intervallskalierten Daten wurde der Mann-Whitney-U-Test verwendet. Zur Berechnung der Korrelation einzelner Parameter wurde der Spearman-Rank-Koeffizient herangezogen.

Das Risiko, einen 2. Schub zu erleiden, wurde mittels Kaplan-Meier-Kurve analysiert. Hierzu wurden Patient*innen mit progressiver Verlaufsform aus der Analyse ausgeschlossen. Bei Patient*innen, die keinen weiteren Schub verzeichneten, wurde die Zeitspanne zwischen Erstereignis und letztem dokumentiertem Follow-Up herangezogen.

3 Ergebnisse

3.1 Demographische Daten

Insgesamt wurden die klinischen und laborchemischen Daten von 215 Patient*innen untersucht. Die Geschlechterverteilung der Gesamtkohorte lag bei 137 (63.7%) weiblichen und 78 (36.3%) männlichen Patient*innen und spiegelte in etwa den globalen sowie österreichischen Durchschnitt wider. (7) Die Lumbalpunktion und Liquordiagnostik wurde im Durchschnitt innerhalb des ersten Monats durchgeführt (IQR 0.0-4.0 Monate) und der durchschnittliche Beobachtungszeitraum lag im Median bei 35.0 Monaten (IQR 14.0-62.0).

27 (12.6%) der Patient*innen wiesen eine ITMS auf. Im Vergleich zur Gesamtkohorte und zu den ITMS-negativen Patient*innen zeigte die ITMS-positive Patient*innengruppe ein ausgeglicheneres Geschlechterverhältnis mit 48.1% weiblichen und 51.9% männlichen Patient*innen. Eine Übersicht der demographischen, klinischen und laborchemischen Daten bietet Tabelle 2.

Variable	Gesamt (n=215)	ITMS- (n=188)	ITMS+(n=27)	p-Wert
Weibliches Geschlecht (%)	137.0 (63.7)	124.0 (66.0)	13.0 (48.1)	NS ^a
Alter in Jahren zu Symptombeginn, Mittelwert (SD)	33.0 (9.4)	33.0 (9.5)	29.0 (8.1)	p= 0.043 ^b
Krankheitsdauer ^c in Monaten, Median (IQR)	42.7 (19.1-70.1)	40.7 (19.3-68.1)	55.4 (18.1-80.5)	NS ^b
Zeit bis zur definitiven MS-Diagnose in Monaten, Median (IQR)	6.0 (1.0-14.0)	6.0 (1.0-15.0)	3.0 (1.0-12.0)	NS ^b
Anzahl der Patienten mit 2. Schub, (%)	109.0 (50.7)	96.0 (51.1)	13.0 (48.1)	NS ^a
Zeit bis zum 2. Schub in Monaten, Median (IQR)	12.0 (5.0-33.0)	12.0 (5.0-33.0)	12.0 (5.0-20.0)	NS ^b
Annualisierte Schubrate, Median (IQR)	0.5 (0.3-0.9)	0.5 (0.3-0.9)	0.6 (0.3-0.8)	NS ^b

<i>EDSS zu Beginn, Median (IQR)</i>	1.0 (0.0-2.0)	1.0 (0.0-2.0)	1.0 (0.0-2.0)	NS ^b
<i>EDSS bei letzter Visite, Median (IQR)</i>	1.0 (0.0-2.0)	1.0 (0.0-2.0)	0.0 (0.0-2.0)	p= 0.008 ^b
<i>Zeit bis zur LP in Monaten, Median (IQR)</i>	0.0 (0.0-4.0)	0.0 (0.0-4.0)	0.0 (0.0-3.0)	NS ^b
<i>Zellzahl, Median (IQR)</i>	7.0 (4.0-13.0)	7.0 (4.0-12.0)	10.0 (4.0-24.0)	NS ^b
<i>Laktat im Liquor in mmol/l, Median (IQR)</i>	1.5 (1.3-1.6)	1.5 (1.3-1.7)	1.4 (1.2-1.5)	p= 0.01
<i>Gesamteiweis in mg/dl, Median (IQR)</i>	34.0 (28.0-41.0)	35.0 (28.0-42.0)	32.0 (28.0-34.0)	NS ^b
<i>Albuminquotient, Median (IQR)</i>	5.0 (4.2-6.5)	5.1 (4.2-6.8)	4.5 (3.9-4.9)	p= 0.018 ^b
<i>IgG-Index, Median (IQR)</i>	0.9 (0.7-1.2)	0.8 (0.6-1.1)	1.0 (0.8-1.5)	p= 0.009 ^b
<i>IgM-Index, Median (IQR)</i>	0.2 (0.1-0.3)	0.2 (0.1-0.2)	0.4 (0.3-0.5)	p< 0.001 ^b
<i>IgA-Index, Median (IQR)</i>	0.3 (0.3-0.4)	0.3 (0.3-0.4)	0.4 (0.3-0.4)	p< 0.001 ^b
<i>Nachweis Oligoklonaler Banden (%)</i>	212 ^d /191 (90.1)	185 ^d /164 (88.6)	27 (100.0)	NS ^b

ITMS+= intrathekale IgM-Synthese, ITMS-= keine intrathekale IgM-Synthese, SD= Standardabweichung, NS= nicht signifikant, IQR= Interquartilsabstand, ^a Chi-Quadrat-Test, ^b Mann-Whitney-U-Test, ^c Krankheitsdauer zum Zeitpunkt der letzten Visite, ^d Bei 3 Proband*innen konnte die Bestimmung Oligoklonaler Banden nicht durchgeführt werden, LP= Lumbalpunktion

Tabelle 2: Demographische, klinische und laborchemische Daten der Gesamtkohorte, ITMS-positiver und ITMS-negativer Patient*innen

3.2 Patient*innen mit vs. ohne intrathekaler IgM-Synthese

Die Patient*innengruppen mit intrathekaler und ohne intrathekaler IgM-Synthese wurden in Bezug auf klinische Parameter sowie Liquor-Parameter miteinander verglichen.

Es konnte ein signifikanter Unterschied des Alters zu Erkrankungsbeginn (p= 0.043) zwischen beiden Gruppen festgestellt werden. In der IgM-positiven Gruppe lag das

durchschnittliche Alter bei 29 Jahren, während Patient*innen aus der Vergleichsgruppe im Durchschnitt 4 Jahre später erkrankten.

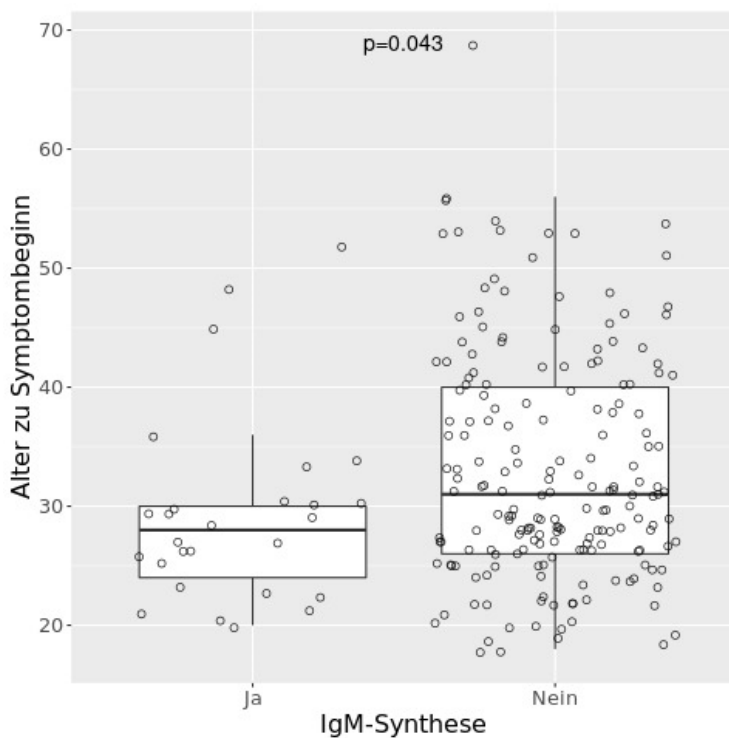


Abbildung 7: Alter in Jahren zu Symptombeginn bei Patient*innen mit und ohne intrathekale IgM-Synthese, Box: IQR (Obergrenze= 75-Quartil, Untergrenze= 25.-Quartil), Querstrich: Median, Antenne: repräsentiert Werte, die max. innerhalb eines Bereiches des 1.5-fachen IQRs liegen

Einen weiteren Unterschied zeigte der EDSS zum Zeitpunkt der letzten dokumentierten Visite. Patient*innen mit intrathekaler IgM-Synthese wiesen im Vergleich einen niedrigeren Score auf (Median: 0.0 vs. 1.0, $p= 0.008$). Bei allen weiteren Parametern (EDSS zu Erkrankungsbeginn, annullierte Schubrate, Zeit bis zum 2. Schub, Zeit bis zur definitiven MS-Diagnose) konnten keine Gruppenunterschiede festgestellt werden.

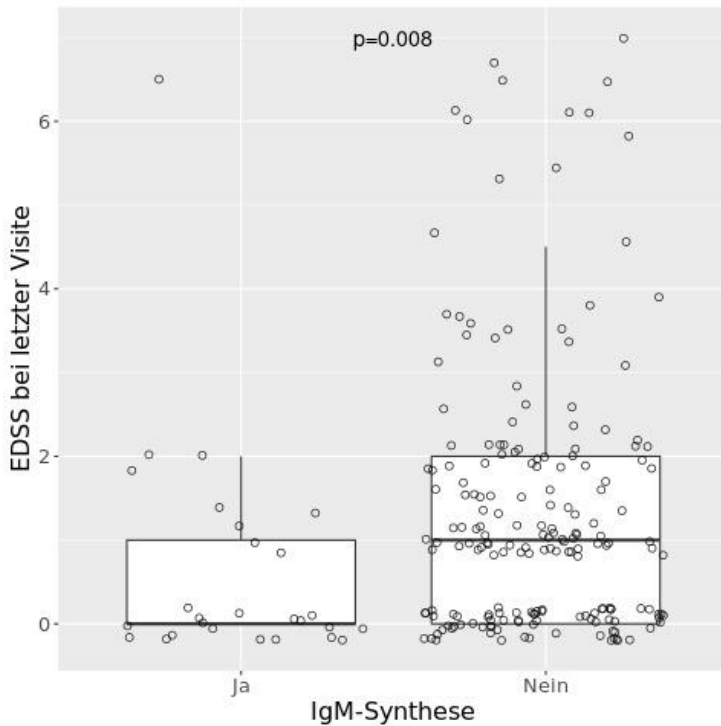


Abbildung 8: EDSS bei letzter Visite bei Patient*innen mit und ohne intrathekaler IgM-Synthese, Box: IQR (Obergrenze= 75-Quartil, Untergrenze= 25.-Quartil), Querstrich: Median, Antenne: repräsentiert Werte, die max. innerhalb eines Bereiches des 1.5-fachen IQRs liegen

Patient*innen mit intrathekaler IgM-Synthese wiesen einen signifikant höheren IgG-Index [Median 1.0 (IQR 0.8-1.5), $p= 0.009$] und IgA-Index [Median 0.4 (IQR 0.3-0.4) $p< 0.001$] auf. Ebenfalls unterschied sich der Albuminquotient ($p= 0.018$) zwischen den beiden Gruppen. Die IgM-positive Gruppe zeigte mit einem durchschnittlichen Quotienten von 4.5 (IQR 3.9-4.9) einen geringeren Wert als die IgM-negative Vergleichsgruppe. Die beiden Gruppen unterschieden sich weder in der Zellzahl noch im Gesamteiweiß voneinander.

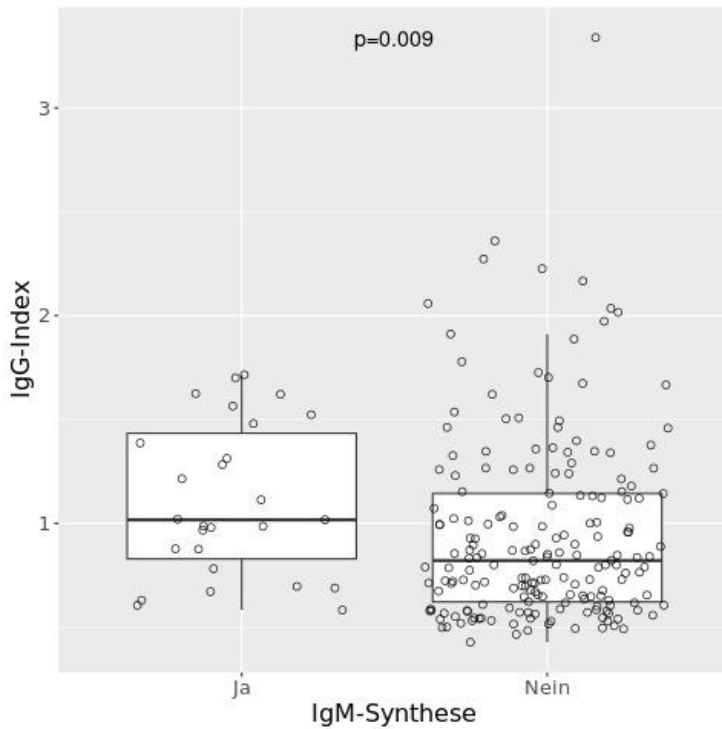


Abbildung 9: IgG-Index bei Patient*innen mit und ohne intrathekaler IgM-Synthese, Box: IQR (Obergrenze= 75-Quartil, Untergrenze= 25.-Quartil), Querstrich: Median, Antenne: repräsentiert Werte, die max. innerhalb eines Bereiches des 1.5-fachen IQRs liegen

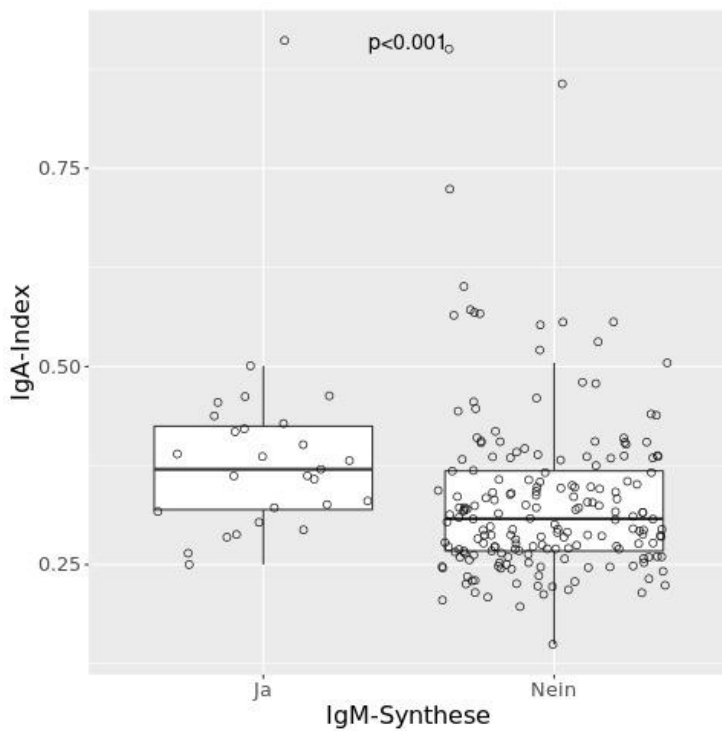


Abbildung 10: IgA-Index bei Patient*innen mit und ohne intrathekaler IgM-Synthese, Box: IQR (Obergrenze= 75-Quartil, Untergrenze= 25.-Quartil), Querstrich: Median, Antenne: repräsentiert Werte, die max. innerhalb eines Bereiches des 1.5-fachen IQRs liegen

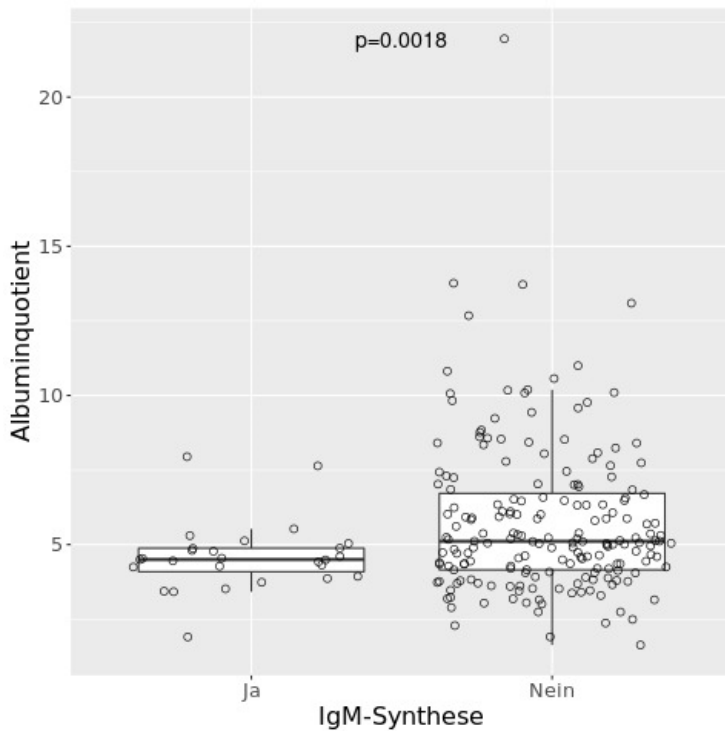


Abbildung 11: Albuminquotient bei Patient*innen mit und ohne intrathekaler IgM-Synthese Box: IQR (Obergrenze= 75-Quartil, Untergrenze= 25.-Quartil), Querstrich: Median, Antenne: repräsentiert Werte, die max. innerhalb eines Bereiches des 1.5-fachen IQRs liegen

3.3 Intrathekale IgM-Synthese und Risiko eines erneuten Schubes

Zur Analyse des Risikos, nach dem Erstereignis einen neuerlichen Schub zu verzeichnen, wurde eine Kaplan-Meier-Analyse durchgeführt. Hierzu wurden Patient*innen mit progressiver Verlaufsform aus der Analyse ausgeschlossen, sodass 209 Patient*innen in die Analyse miteinfließen. Davon wiesen 26 Patient*innen (12.4%) eine ITMS auf. Von diesen 26 Patient*innen erlitten 13 (50.0%) einen weiteren Schub. In der ITMS-negativen Vergleichsgruppe verzeichneten 96 Patient*innen (52.5%) einen weiteren Schub.

Bei Patient*innen mit einer intrathekalen IgM-Synthese kam es im Median nach 30.0 Monaten [95%-KI (0.0-72.8)] zu einem erneuten Schub, wohingegen bei Patient*innen ohne IgM-Synthese im Median erst nach 38.0 Monaten [95%- KI (28.1-48.0)] ein erneuter Schub auftrat. Es wurde ein Log-Rank-Test durchgeführt.

Dieser zeigte jedoch keinen Unterschied zwischen ITMS+ und ITMS- Patient*innen ($p = 0.95$).

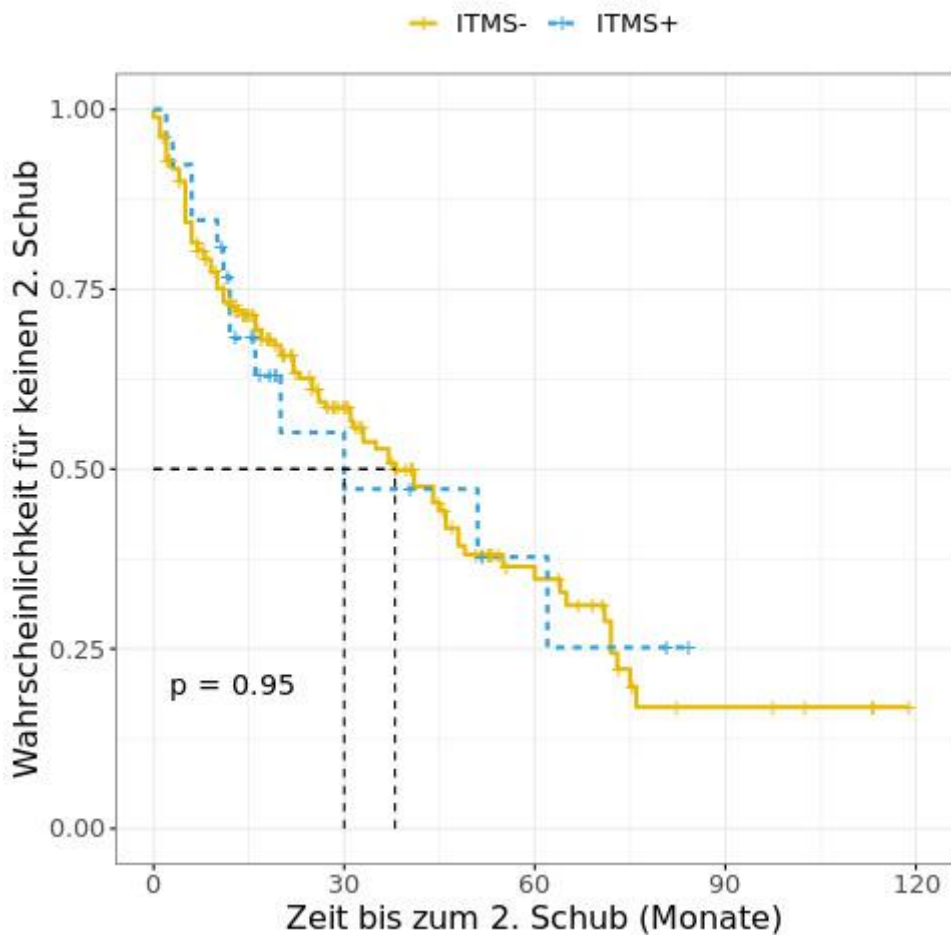


Abbildung 12: Kaplan-Meier-Kurve für die Zeit bis zum 2. Schub

3.4 Korrelationen

Es erfolgte eine Berechnung der Korrelation der IgG- und IgM-Indices mit klinischen Parametern mittels Spearman-Rank-Koeffizienten. Hierbei wurden die Indices der Gesamtkohorte betrachtet.

Es zeigte sich eine moderat positive Korrelation zwischen dem IgM-Index und dem IgG-Index (Spearman $\rho = 0.342$, $p < 0.001$).

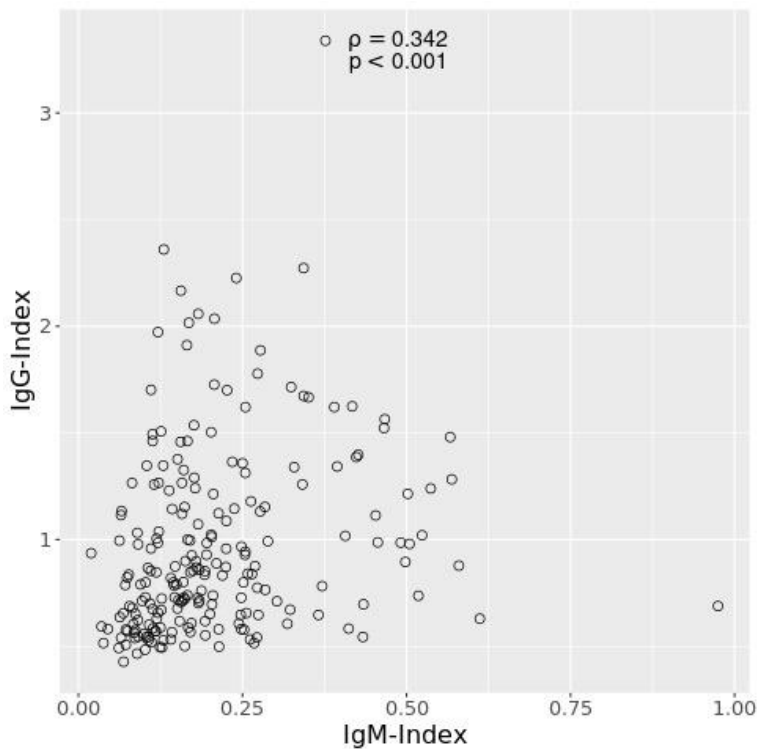


Abbildung 13: Streudiagramm IgM-Index vs. IgG-Index der Gesamtkohorte

In weiterer Folge wurde jeweils der Zusammenhang zwischen den beiden Indices und dem Alter zu Symptombeginn, der Zeit bis zum 2. Schub und dem EDSS bei letzter Visite betrachtet. Hierbei konnte eine schwach negative, jedoch nicht signifikante Korrelation zwischen dem IgM-Index und dem Alter zu Symptombeginn gezeigt werden (Spearman $\rho = -0.127$, $p = 0.06$). Der IgG-Index hingegen wies keinen Zusammenhang mit dem Alter zu Symptombeginn auf (Spearman $\rho = 0.076$, $p = 2.66$). Einen schwach negativen Zusammenhang wiesen sowohl der IgM-Index (Spearman $\rho = -0.141$, $p = 0.039$) als auch der IgG-Index (Spearman $\rho = -0.117$, $p = 0.086$) mit dem EDSS bei letzter Visite auf. Dieser war jedoch nur für den IgM-Index statistisch signifikant. Zwischen dem IgM-Index und der Zeit bis zum 2. Schub konnte kein Zusammenhang festgestellt werden, jedoch korrelierte der IgG-Index schwach negativ mit der Zeit zum 2. Schub (Spearman $\rho = -0.265$, $p = 0.01$).

4 Diskussion

In der vorliegenden Studie wurden die klinischen Unterschiede zwischen Patient*innen mit und ohne intrathekaler IgM-Synthese untersucht, um deren potenziellen Stellenwert als prognostischen Biomarker näher zu beleuchten. Der Nachweis der IgM-Synthese erfolgte hierbei quantitativ mittels Reiberdiagramm. Es konnte gezeigt werden, dass Patient*innen mit intrathekaler IgM-Synthese ein signifikant jüngeres Alter zu Symptombeginn aufwiesen. Zusätzlich zeigten ITMS-positive Patient*innen einen niedrigeren EDSS zum Zeitpunkt der letzten Visite. In Bezug auf das Risiko, einen zweiten Schub zu erleiden, konnte kein bedeutender Unterschied zwischen ITMS-positiven Patient*innen und der ITMS-negativen Vergleichsgruppe festgestellt werden.

Der Krankheitsverlauf von Multipler Sklerose ist heterogen und zu Beginn der Erkrankung oft schwer zu prognostizieren. Welcher Patient, welche Patientin wird am ehesten einen fulminanten Verlauf entwickeln und von engmaschigen Kontrollen profitieren? Bei wem ist eine frühzeitige, verlaufsmodifizierende Therapie indiziert? In welchem Kontext ist „Watchful Waiting“ die zu präferierende Strategie? All dies gilt es zu Beginn des klinischen Managements zu beantworten. Die Entscheidungsfindung wird hierbei hauptsächlich von der klinischen Präsentation und der Bildgebung gestützt und hängt stark von der Einschätzung und Erfahrung der Kliniker*innen ab. Ein objektivierbarer Marker, welcher eine differenziertere Einschätzung bezüglich der Prognose der Erkrankung ermöglicht und klinische Entscheidungen untermauert, ist nun, bei der großen Auswahl unterschiedlicher Therapien und Behandlungsstrategien, umso notwendiger.

Dass die intrathekale Immunglobulinsynthese als Merkmal der MS gilt und Antikörper eine wichtige Rolle in der Pathophysiologie der Erkrankung spielen, ist bereits weithin bekannt. (1, 103) Neben IgG-Antikörpern finden sich in 20-25% der Fälle ebenfalls intrathekal synthetisierte IgM-Antikörper. (51) In diversen Studien konnte gezeigt werden, dass die intrathekale IgM-Produktion mit einem fulminanteren Krankheitsverlauf einhergeht und der Nachweis intrathekaler IgM-Synthese als prognostisch ungünstig einzuschätzen ist. (87, 89, 93, 94) Auch wenn die Liquorentnahme ein invasiveres Verfahren darstellt als eine Blutabnahme, bietet der Liquor den Vorteil der topographischen Nähe zum ZNS. (77) Zudem ist die

Liquordiagnostik fester Bestandteil der routinemäßigen Abklärung, sodass eine IgM-Bestimmung aus dem bereits in der Routine entnommenen Liquor keine zusätzliche Belastung für die Patient*innen darstellt und sich der Nachweis intrathekaler IgM-Synthese somit durchaus als klinisch anwendbarer Biomarker eignet. Eine Einschränkung bietet jedoch die Nachweismethode. Auf Grund der pentamerischen Struktur des Antikörpers erfordert der qualitative Nachweis mittels isoelektrischer Fokussierung eine vorgeschaltete Aufbereitung des Probenmaterials und ist in der Durchführung zeitaufwendiger und komplexer als der qualitative IgG-Nachweis. (100) Eine weitere Nachweismethode ist der quantitative Nachweis mittels Reiberdiagramm, wie er auch in hiesiger Studie verwendet wurde. Die Sensitivität dieser Methode ist zwar niedriger als die der IEF, sie besticht jedoch durch die standardisierte und einfachere Durchführung. (51) Rezente Studien haben gezeigt, dass sich selbst unter Anwendung der weniger sensitiven Nachweismethode signifikante Unterschiede zwischen IgM-positiven und IgM-negativen Patient*innen detektieren lassen und die vermeintliche Einschränkung somit eventuell umgangen werden kann. (90–94)

In dieser Studie konnte gezeigt werden, dass Patient*innen, die eine intrathekale IgM-Synthese aufwiesen, im Durchschnitt 4 Jahre früher erkrankten als die IgM-negative Vergleichsgruppe. Ähnliche Ergebnisse finden sich auch in bereits bestehender Literatur. Sowohl Pfuhl et al. 2019 als auch Huss et al. 2018 konnten ein jüngeres Alter (5 bzw. 11 Jahre jünger) bei Erstmanifestation bei Patient*innen mit intrathekaler IgM-Synthese feststellen. (90, 91) Pfuhl et al. untersuchte hierbei zusätzlich den Einfluss intrathekaler IgG-Synthese auf das Alter zu Erkrankungsbeginn und konnte im Vergleich zur IgM-Synthese keine Unterschiede zwischen Patient*innen mit und ohne intrathekaler IgG-Synthese feststellen. Diese Ergebnisse legen nahe, dass vielmehr die IgM-Synthese mit dem jungen Alter zusammenhängt und die IgG-Synthese keinen Einfluss darauf nimmt. Gestützt wird diese These dadurch, dass die kalkulierte IgM-Synthese schwach negativ mit dem Alter zu Erkrankungsbeginn korreliert, wohingegen die kalkulierte IgG-Synthese keine Assoziation damit zeigt. (91) Ähnliche Ergebnisse ließen sich in unserer Studie ebenfalls nachweisen. So wurde in unserer Kohorte eine schwach negative Korrelation zwischen dem IgM-Index und dem Alter zu Erkrankungsbeginn festgestellt. Auch wenn die Korrelation in unserer Kohorte mit einem p-Wert von

0.06 nicht signifikant ist, legt sie jedoch eine mögliche Tendenz nahe und steht im Kontrast zum IgG-Index, welcher keinerlei Assoziation mit dem Alter zu Erkrankungsbeginn aufweist. Eine mögliche Erklärung für das jüngere Alter könnte in einer erhöhten Krankheitsaktivität der Patient*innen mit intrathekaler IgM-Synthese liegen, welche in weiterer Folge zu einer früheren klinischen Manifestation der Erkrankung führt. (91, 110)

Als weiterer Parameter wurde in dieser Studie der Behinderungsgrad, gemessen anhand des EDSS, zwischen ITMS-negativen und ITMS-positiven Patient*innen verglichen. Es wurde sowohl der Baseline EDSS zu Erkrankungsbeginn als auch der EDSS bei der letzten dokumentierten Visite erhoben. Die Annahme, dass bei ITMS-positiven Patient*innen der EDSS bei letzter Visite auf Grund erhöhter Krankheitsaktivität und verstärkter Progression einen höheren Wert verzeichnen müsste, konnte in dieser Studienkohorte nicht bestätigt werden. Während der Baseline EDSS sich nicht zwischen den beiden Gruppen unterschied, zeigten Patient*innen mit einer intrathekalen IgM-Synthese sogar einen niedrigeren EDSS bei der letzten dokumentierten Visite. Wirft man einen Blick auf die aktuelle Studienlage, so lässt sich feststellen, dass die Ergebnisse bezüglich des EDSS variieren. Während Revendova et al. 2022 und Fonderico et al. 2020 keinen Unterschied zwischen den ITMS-positiven und -negativen Patient*innen feststellen konnten, wies Monreal et al. 2021 für Patient*innen mit ITMS ein erhöhtes Risiko nach, im Verlauf der Erkrankung einen EDSS von 4 bzw. 6 zu erreichen. (92, 94, 98) Auch Oechtering et al. 2021 konnte bei Patient*innen mit ITMS einen höheren Behinderungsgrad feststellen. (93) Eine Vergleichbarkeit zwischen den Studien ist jedoch nur bedingt möglich, da Oechtering et al. 2021 nicht den EDSS per se verglich, sondern auf den sogenannten Multiple Sclerosis Severity Score (MSSS) zurückgriff, welcher den erhobenen EDSS-Wert mit den EDSS-Werten von Patient*innen, die eine ähnliche Krankheitsdauer aufweisen, anhand eines Algorithmus in Beziehung setzt. (111) Fonderico et al. 2020 sowie Revendova et al. 2022 untersuchten hingegen den Progression Index, definiert als Differenz aus EDSS zu Erkrankungsbeginn und EDSS bei letzter Visite geteilt durch die Krankheitsdauer, während Monreal et al. 2021 die Zeit und das Risiko, einen gewissen EDSS zu erreichen, verglich. Diese wenig standardisierte Erhebung sowie uneinheitliche Definition klinischer Endpunkte in Bezug auf den

Behinderungsgrad erschweren die Vergleichbarkeit einzelner Studien und könnten zu den unterschiedlichen Studienergebnissen beitragen. Als weitere Schwierigkeit in der Erhebung des EDSS ist die Abhängigkeit der Ergebnisse von der untersuchenden Person zu nennen. Auch wenn die Skala standardisiert ist, obliegt die letztendliche Bewertung dem/der Untersucher*in, wodurch die Vergleichbarkeit des EDSS schon innerhalb einer Kohorte und umso mehr zwischen verschiedenen Studien aus unterschiedlichen Zentren als eingeschränkt zu betrachten ist. (112)

Wirft man nun wieder einen Blick zurück auf unsere Studienergebnisse bezüglich des Behinderungsgrades, ist es für eine adäquate Bewertung und Interpretation unabdingbar, diese in klinischen Kontext zu setzen. Auch wenn statistisch gesehen der EDSS bei letzter Visite bei ITMS-negativen und ITMS-positiven Patient*innen einen signifikanten Unterschied aufweist, ist die klinische Relevanz eines derart geringen Unterschiedes jedoch zu hinterfragen. In den von Krutzke et al. 1983 definierten Kriterien stellt ein EDSS von 1.0 nur eine äußerst geringe klinische Symptomatik dar. Von einer Einschränkung im Sinne einer Behinderung wird erst ab einem EDSS von 2.0 gesprochen, sodass ITMS-negative Patient*innen mit einem EDSS von 1.0 im klinischen Sinne keinen wesentlich höheren Behinderungsgrad aufweisen als die ITMS-positive Vergleichsgruppe mit einem durchschnittlichen EDSS von 0.0. (44)

Auch das Risiko, einen 2. Schub zu verzeichnen, zeigte sich in der Kohorte dieser Studie nicht erhöht. Weder die Anzahl der Patient*innen, welche im Beobachtungszeitraum einen 2. Schub erlitten, unterschied sich zwischen den beiden Gruppen, noch konnte ein Unterschied in der mittels Kaplan-Meier-Schätzer errechneten Zeit zwischen 1. und 2. Schub festgestellt werden. Diese Ergebnisse stehen im Kontrast zu zwei rezenten Studien. (92, 93) So konnten sowohl Fonderico et al. 2020 als auch Oechtering et al. 2021 bei ITMS-positiven Patient*innen nicht nur ein erhöhtes Risiko für einen 2. Schub, sondern auch eine signifikant kürzere Zeit zwischen Erstereignis und Zweitschub feststellen. In der Studienkohorte von Fonderico et al. 2020 zeigten ITMS-positive Patient*innen ein mehr als 2-mal so hohes Risiko, einen 2. Schub zu erleiden, wie die ITMS-negative Vergleichsgruppe. Der Nachweis OCGBs ging hingegen nicht mit einem erhöhten Schubrisiko einher. (92) Oechtering et al 2021 untersuchte zusätzlich, ob sich die intrathekale IgM-

Konzentration auf das Risiko auswirkt, und konnte zeigen, dass Patient*innen mit einer über den Median erhöhten IgM-Fraktion ein signifikant kürzeres Zeitintervall zwischen Erst- und Zweitschub aufwiesen. Ein Zusammenhang der IgG-Konzentration mit dem Schubrisiko konnte auch hier nicht festgestellt werden und auch in multivariaten Berechnungen, angepasst für Störgrößen wie z.B. die IgG-Synthese, blieb die ITMS ein unabhängiger Risikofaktor für einen 2. Schub. Die These, dass vielmehr die intrathekale IgM- und weniger die IgG-Synthese Einfluss auf das Schubrisiko bzw. das Zeitintervall zwischen Erst- und Zweitereignis nimmt, konnte auch in unserer Studienkohorte bestärkt werden. So korrelierte auch in unserer Kohorte der IgM-Index negativ mit der Zeit bis zum 2. Schub wohingegen der IgG-Index in keiner Assoziation dazu stand.

Trotz dieser teilweise konkordanten Ergebnisse ist erneut hervorzuheben, dass in unserer Studienkohorte bezüglich Schubrisiko und Zeit bis zum 2. Schub kein signifikanter Unterschied zwischen den nach Reiber quantifizierten ITMS-positiven Patient*innen und der ITMS-negativen Vergleichsgruppe besteht und die von Oechtering et al. 2021 und Fonderico et al. 2020 publizierte Ergebnisse nicht reproduziert werden konnten. Nichtsdestotrotz gibt es auch rezente Studien, deren Resultate sich mit den unseren decken. (94, 98) Revendova et al. 2022 konnte ebenfalls keinen Unterschied in Bezug auf das Schubrisiko zwischen ITMS-positiven Patient*innen und der ITMS-negativen Kontrollgruppe feststellen. Hierbei ist jedoch limitierend zu nennen, dass die Anzahl der Patient*innen, die eine IgM-Synthese quantifiziert nach Reiber aufwiesen, lediglich 15 Personen umfasste und somit die statistische Aussagekraft der Analyse zu hinterfragen ist. (98) Aber auch Monreal et al. 2021 konnte in einer größeren Studienkohorte mit einer Gesamtanzahl von 193 Patient*innen kein erhöhtes Risiko zwischen im Reiberdiagramm ITMS-positiven und -negativen Patient*innen feststellen. In selbiger Kohorte wurde jedoch auch die intrathekale IgM-Synthese mittels qualitativen Nachweismethoden bestimmt und das Schubrisiko bei dieser Subgruppe untersucht. Interessanterweise wiesen Patient*innen mit oligoklonalen IgM Banden (OCMB) ein höheres Risiko für einen zweiten Schub auf als Patient*innen ohne den OCMB-Nachweis, sodass sich die Frage gestellt werden muss, ob die quantitative IgM-Bestimmung zum Stratifizieren des Schubrisikos

weniger sensitiv ist als der qualitative Nachweis und dies ebenfalls Einfluss auf die konträren Ergebnisse in unserer Studie genommen hat. (94)

Bei der Bewertung der Ergebnisse unserer Studie muss beachtet werden, dass die Anzahl der Patient*innen mit intrathekaler IgM-Synthese lediglich bei 13%, also bei weniger als den in der Literatur beschriebenen 20-25%, lag und somit als nicht gänzlich repräsentativ anzusehen ist. (51) Auch der vergleichsweise kurze Beobachtungszeitraum von im Median 35.0 Monaten ist limitierend zu nennen. Um eine fundiertere Aussage über die Krankheitsprogression treffen zu können, ist ein längerer Beobachtungszeitraum von Vorteil und könnte in anknüpfenden Studien weiter exploriert werden. Des Weiteren scheint die Symptomkontrolle in der Gesamtkohorte sehr gut zu sein. Sowohl der EDSS zu Beginn der Erkrankung als auch der EDSS bei letzter Visite weisen lediglich eine geringe Streuung um einen niedrigen Wert im unteren Bereich der EDSS-Skala auf (IQR 0.0-2.0). Bei solch einer geringen Varianz innerhalb der Kohorte ist auch die Vergleichbarkeit dieser Werte erschwert. Eine zusätzliche Limitation stellt die retrospektive Erhebung der klinischen Daten dar, welche mit einem ungenaueren und weniger standardisierten Datensatz einhergeht.

Nichtsdestotrotz haben wir in unserer Studie versucht anhand der Routine-Diagnostik, welche im klinischen Alltag bei Patient*innen mit Verdacht auf MS durchgeführt wird, einen potenziellen Biomarker zu identifizieren. Mit diesem Ansatz konnten Ressourcen innerhalb des Klinikums gut genutzt und zusätzliche, teils invasive diagnostische Maßnahmen, wie z.B. eine Liquorpunktion zu Gunsten der Patient*innen, vermieden werden. Die Verwendung der Quantifizierung der ITMS mittels Reiberdiagramm ebnete hierbei den Weg für eine leicht zugängliche und standardisierte Nachweismethode, welche nicht nur in speziell dafür ausgelegten Laboren durchgeführt werden kann, sondern auch eine Etablierung des Biomarkers in die Routinelabore des klinischen Alltags ermöglichen könnte.

Auch wenn in dieser Arbeit die Ergebnisse anderer Studien nur teilweise reproduziert werden konnten, zeichnete sich dennoch auch bei diesem Datensatz ein Unterschied zwischen Patient*innen mit und ohne ITMS ab. Hervorzuheben ist hierbei das Alter zu Beginn der Erkrankung, welches bei ITMS-positiven

Patient*innen signifikant niedriger ist und in einer erhöhte Krankheitsaktivität und daraus resultierend eine frühere klinische Manifestation begründet sein könnte. Die Frage, inwieweit die ITMS auf den Behinderungsgrad und die Krankheitsprogression Einfluss nimmt, konnte im Zuge dieser Arbeit nicht hinreichend geklärt werden.

In Zusammenschau unserer Ergebnisse mit der bereits existierenden Literatur lässt sich dennoch resümieren, dass die ITMS als prognostischer Biomarker durchaus Potenzial zeigt. Patient*innen mit ITMS scheinen zu einem fulminanteren Verlauf zu tendieren und könnten somit von frühzeitiger Therapie sowie engmaschigeren Kontrollen profitieren. Bis der Biomarker jedoch in die klinische Praxis integriert werden kann, liegt noch ein längerer Weg vor uns. Um den Wert der IgM-Synthese als prognostischer Biomarker zu validieren, braucht es noch weiter prospektive, multizentrische Studien. Vor allem zur Beurteilung der Krankheitsprogression sind weitere longitudinale Studien mit längeren Beobachtungszeiträumen und, um die Vergleichbarkeit untereinander zu gewährleisten, standardisierten klinischen Endpunkten notwendig. Essenziell sind auch eine genauere Betrachtung und der Vergleich der unterschiedlichen Nachweismethoden. Sollten sich die vielversprechenden Ergebnisse bezüglich des quantitativen Nachweises auch in weiteren Studien bestätigen lassen, bietet der quantitative Nachweis intrathekalen IgM-Synthese eine tatsächliche Alternative, welche auf Grund der einfacheren Methodik für die klinische Praxis deutlich praktikabler erscheint als der qualitative Nachweis mittels IEF.

5 Literatur

1. Filippi M, Bar-Or A, Piehl F, Preziosa P, Solari A, Vukusic S et al. Multiple sclerosis. *Nat Rev Dis Primers* 2018;43. doi: 10.1038/s41572-018-0041-4.
2. Reich DS, Lucchinetti CF, Calabresi PA. Multiple Sclerosis. *N Engl J Med* 2018; 378(2):169–80. doi: 10.1056/NEJMra1401483.
3. Hemmer B. et al., Diagnose und Therapie der Multiplen Sklerose, Neuromyelitis-optica-Spektrum-Erkrankungen und MOG-IgG-assoziierten Erkrankungen, S2k-Leitlinie, 2021, in: Deutsche Gesellschaft für Neurologie (Hrsg.), Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie. Online: www.dgn.org/leitlinien (abgerufen am 25.11.2022)
4. Rachel King. The Multiple Sclerosis International Federation, Atlas of MS, 3rd Edition (September 2020).
5. Simpson S, Wang W, Otahal P, Blizzard L, van der Mei IAF, Taylor BV. Latitude continues to be significantly associated with the prevalence of multiple sclerosis: an updated meta-analysis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2019; 90(11):1193–200. doi: 10.1136/jnnp-2018-320189.
6. Goodin DS. The epidemiology of multiple sclerosis: insights to disease pathogenesis. *Handb Clin Neurol* 2014; 122:231–66. doi: 10.1016/B978-0-444-52001-2.00010-8.
7. Number of people with MS | Atlas of MS; 2021. Online: <https://www.atlasofms.org/chart/austria/epidemiology/number-of-people-with-ms> (abgerufen am 25.11.2022)
8. Patsopoulos NA. Genetics of Multiple Sclerosis: An Overview and New Directions. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2018; 8(7). doi: 10.1101/cshperspect.a028951.
9. Brynedal B, Duvefelt K, Jonasdottir G, Roos IM, Akesson E, Palmgren J et al. HLA-A confers an HLA-DRB1 independent influence on the risk of multiple sclerosis. *PLoS One* 2007; 2(7):e664. doi: 10.1371/journal.pone.0000664.
10. Alfredsson L, Olsson T. Lifestyle and Environmental Factors in Multiple Sclerosis. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2019; 9(4). doi: 10.1101/cshperspect.a028944.

11. Bjornevik K, Cortese M, Healy BC, Kuhle J, Mina MJ, Leng Y et al. Longitudinal analysis reveals high prevalence of Epstein-Barr virus associated with multiple sclerosis. *Science* 2022; 375(6578):296–301. doi: 10.1126/science.abj8222.
12. Hedström AK, Bäärnhielm M, Olsson T, Alfredsson L. Tobacco smoking, but not Swedish snuff use, increases the risk of multiple sclerosis. *Neurology* 2009; 73(9):696–701. doi: 10.1212/WNL.0b013e3181b59c40.
13. Hedström AK, Bäärnhielm M, Olsson T, Alfredsson L. Exposure to environmental tobacco smoke is associated with increased risk for multiple sclerosis. *Mult Scler* 2011; 17(7):788–93. doi: 10.1177/1352458511399610.
14. Pierrot-Deseilligny C, Souberbielle J-C. Vitamin D and multiple sclerosis: An update. *Mult Scler Relat Disord* 2017; 14:35–45. doi: 10.1016/j.msard.2017.03.014.
15. 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. doi: 10.1212/WNL.0000000000000560.
16. Miller DH, Chard DT, Ciccarelli O. Clinically isolated syndromes. *The Lancet Neurology* 2012; 11(2):157–69. doi: 10.1016/S1474-4422(11)70274-5.
17. Filippi M, Preziosa P, Meani A, Dalla Costa G, Mesaros S, Drulovic J et al. Performance of the 2017 and 2010 Revised McDonald Criteria in Predicting MS Diagnosis After a Clinically Isolated Syndrome: A MAGNIMS Study. *Neurology* 2022; 98(1):e1-e14. doi: 10.1212/WNL.0000000000013016.
18. Lublin FD, Reingold SC. Defining the clinical course of multiple sclerosis: results of an international survey. National Multiple Sclerosis Society (USA) Advisory Committee on Clinical Trials of New Agents in Multiple Sclerosis. *Neurology* 1996; 46(4):907–11. doi: 10.1212/wnl.46.4.907.
19. Tremlett H, Yinshan Z, Devonshire V. Natural history of secondary-progressive multiple sclerosis. *Mult Scler* 2008; 14(3):314–24. doi: 10.1177/1352458507084264.
20. Koch M, Kingwell E, Rieckmann P, Tremlett H. The natural history of secondary progressive multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2010; 81(9):1039–43. doi: 10.1136/jnnp.2010.208173.

21. Weinshenker BG, Bass B, Rice GP, Noseworthy J, Carriere W, Baskerville J et al. The natural history of multiple sclerosis: a geographically based study. I. Clinical course and disability. *Brain* 1989; 112 (Pt 1):133–46. doi: 10.1093/brain/112.1.133.
22. Barzegar M, Najdaghi S, Afshari-Safavi A, Nehzat N, Mirmosayyeb O, Shaygannejad V. Early predictors of conversion to secondary progressive multiple sclerosis. *Mult Scler Relat Disord* 2021; 54:103115. doi: 10.1016/j.msard.2021.103115.
23. Miller DH, Leary SM. Primary-progressive multiple sclerosis. *The Lancet Neurology* 2007; 6(10):903–12. doi: 10.1016/S1474-4422(07)70243-0.
24. Lassmann H. Multiple Sclerosis Pathology. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2018; 8(3). doi: 10.1101/cshperspect.a028936.
25. Dendrou CA, Fugger L, Friese MA. Immunopathology of multiple sclerosis. *Nat Rev Immunol* 2015; 15(9):545–58. doi: 10.1038/nri3871.
26. Sospedra M, Martin R. Immunology of Multiple Sclerosis. *Semin Neurol* 2016; 36(2):115–27. doi: 10.1055/s-0036-1579739.
27. Ortiz GG, Pacheco-Moisés FP, Macías-Islas MÁ, Flores-Alvarado LJ, Mireles-Ramírez MA, González-Renovato ED et al. Role of the blood-brain barrier in multiple sclerosis. *Arch Med Res* 2014; 45(8):687–97. doi: 10.1016/j.arcmed.2014.11.013.
28. Hauser SL, Bar-Or A, Comi G, Giovannoni G, Hartung H-P, Hemmer B et al. Ocrelizumab versus Interferon Beta-1a in Relapsing Multiple Sclerosis. *N Engl J Med* 2017; 376(3):221–34. doi: 10.1056/NEJMoa1601277.
29. Marignier R, Hachohen Y, Cobo-Calvo A, Pröbstel A-K, Aktas O, Alexopoulos H et al. Myelin-oligodendrocyte glycoprotein antibody-associated disease. *The Lancet Neurology* 2021; 20(9):762–72. doi: 10.1016/S1474-4422(21)00218-0.
30. Reindl M, Waters P. Myelin oligodendrocyte glycoprotein antibodies in neurological disease. *Nat Rev Neurol* 2019; 15(2):89–102. doi: 10.1038/s41582-018-0112-x.

31. Wynford-Thomas R, Jacob A, Tomassini V. Neurological update: MOG antibody disease. *J Neurol* 2019; 266(5):1280–6. doi: 10.1007/s00415-018-9122-2.
32. Krumbholz M, Derfuss T, Hohlfeld R, Meinl E. B cells and antibodies in multiple sclerosis pathogenesis and therapy. *Nat Rev Neurol* 2012; 8(11):613–23. doi: 10.1038/nrneurol.2012.203.
33. Trapp BD, Peterson J, Ransohoff RM, Rudick R, Mörk S, Bö L. Axonal transection in the lesions of multiple sclerosis. *N Engl J Med* 1998; 338(5):278–85. doi: 10.1056/NEJM199801293380502.
34. DeLuca GC, Williams K, Evangelou N, Ebers GC, Esiri MM. The contribution of demyelination to axonal loss in multiple sclerosis. *Brain* 2006; 129(Pt 6):1507–16. doi: 10.1093/brain/awl074.
35. Friese MA, Schattling B, Fugger L. Mechanisms of neurodegeneration and axonal dysfunction in multiple sclerosis. *Nat Rev Neurol* 2014; 10(4):225–38. doi: 10.1038/nrneurol.2014.37.
36. Crawford AH, Chambers C, Franklin RJM. Remyelination: the true regeneration of the central nervous system. *J Comp Pathol* 2013; 149(2-3):242–54. doi: 10.1016/j.jcpa.2013.05.004.
37. Franklin RJM, Ffrench-Constant C. Remyelination in the CNS: from biology to therapy. *Nat Rev Neurosci* 2008; 9(11):839–55. doi: 10.1038/nrn2480.
38. Goldschmidt T, Antel J, König FB, Brück W, Kuhlmann T. Remyelination capacity of the MS brain decreases with disease chronicity. *Neurology* 2009; 72(22):1914–21. doi: 10.1212/WNL.0b013e3181a8260a.
39. Patrikios P, Stadelmann C, Kutzelnigg A, Rauschka H, Schmidbauer M, Laursen H et al. Remyelination is extensive in a subset of multiple sclerosis patients. *Brain* 2006; 129(Pt 12):3165–72. doi: 10.1093/brain/awl217.
40. Li W-W, Penderis J, Zhao C, Schumacher M, Franklin RJM. Females remyelinate more efficiently than males following demyelination in the aged but not young adult CNS. *Experimental neurology* 2006; 202(1):250–4. doi: 10.1016/j.expneurol.2006.05.012.

41. Brownlee WJ, Hardy TA, Fazekas F, Miller DH. Diagnosis of multiple sclerosis: progress and challenges. *The Lancet* 2017; 389(10076):1336–46. doi: 10.1016/S0140-6736(16)30959-X.
42. Thompson AJ, Banwell BL, Barkhof F, Carroll WM, Coetzee T, Comi G et al. Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria. *The Lancet Neurology* 2018; 17(2):162–73. doi: 10.1016/S1474-4422(17)30470-2.
43. Compston A, Coles A. Multiple sclerosis. *Lancet* 2008; 372(9648):1502–17. doi: 10.1016/S0140-6736(08)61620-7.
44. Kurtzke JF. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology* 1983; 33(11):1444–52. doi: 10.1212/wnl.33.11.1444.
45. McDonald WI, Compston A, Edan G, Goodkin D, Hartung HP, Lublin FD et al. Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2001; 50(1):121–7. doi: 10.1002/ana.1032.
46. Filippi M, Preziosa P, Banwell BL, Barkhof F, Ciccarelli O, Stefano N de et al. Assessment of lesions on magnetic resonance imaging in multiple sclerosis: practical guidelines. *Brain* 2019; 142(7):1858–75. doi: 10.1093/brain/awz144.
47. Filippi M, Rocca MA, Stefano N de, 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. doi: 10.1001/archneurol.2011.914.
48. Filippi M, Rocca MA. MR imaging of multiple sclerosis. *Radiology* 2011; 259(3):659–81. doi: 10.1148/radiol.11101362.
49. Filippi M, Rocca MA, Ciccarelli O, Stefano N de, Evangelou N, Kappos L et al. MRI criteria for the diagnosis of multiple sclerosis: MAGNIMS consensus guidelines. *The Lancet Neurology* 2016; 15(3):292–303. doi: 10.1016/S1474-4422(15)00393-2.
50. Deisenhammer F, Zetterberg H, Fitzner B, Zettl UK. The Cerebrospinal Fluid in Multiple Sclerosis. *Front Immunol* 2019; 10:726. doi: 10.3389/fimmu.2019.00726.

51. Ruprecht K, Tumani H. Liquordiagnostik bei Multipler Sklerose. *Nervenarzt* 2016; 87(12):1282–7. doi: 10.1007/s00115-016-0220-z.
52. Tumani H, Petereit HF, Gerritzen A, Gross CC, Huss A, Isenmann S et al. S1 guidelines "lumbar puncture and cerebrospinal fluid analysis" (abridged and translated version). *Neurol Res Pract* 2020; 2:8. doi: 10.1186/s42466-020-0051-z.
53. Jarius S, Eichhorn P, Franciotta D, Petereit HF, Akman-Demir G, Wick M et al. The MRZ reaction as a highly specific marker of multiple sclerosis: re-evaluation and structured review of the literature. *J Neurol* 2017; 264(3):453–66. doi: 10.1007/s00415-016-8360-4.
54. Giesser BS. Diagnosis of multiple sclerosis. *Neurol Clin* 2011; 29(2):381–8. doi: 10.1016/j.ncl.2010.12.001.
55. Leocani L, Comi G. Clinical neurophysiology of multiple sclerosis. *Handb Clin Neurol* 2014; 122:671–9. doi: 10.1016/B978-0-444-52001-2.00028-5.
56. Filippini G, Brusaferrì F, Sibley WA, Citterio A, Ciucci G, Midgard R et al. Corticosteroids or ACTH for acute exacerbations in multiple sclerosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2000; (4):CD001331. doi: 10.1002/14651858.CD001331.
57. Burton JM, O'Connor PW, Hohol M, Beyene J. Oral versus intravenous steroids for treatment of relapses in multiple sclerosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2012; 12:CD006921. doi: 10.1002/14651858.CD006921.pub3.
58. Liu S, Liu X, Chen S, Xiao Y, Zhuang W. Oral versus intravenous methylprednisolone for the treatment of multiple sclerosis relapses: A meta-analysis of randomized controlled trials. *PLoS One* 2017; 12(11):e0188644. doi: 10.1371/journal.pone.0188644.
59. The IFNB Multiple Sclerosis Study Group. Interferon beta-1b is effective in relapsing-remitting multiple sclerosis. I. Clinical results of a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. The IFNB Multiple Sclerosis Study Group. *Neurology* 1993; 43(4):655–61. doi: 10.1212/wnl.43.4.655.
60. Johnson KP, Brooks BR, Cohen JA, Ford CC, Goldstein J, Lisak RP et al. Extended use of glatiramer acetate (Copaxone) is well tolerated and maintains its clinical effect on multiple sclerosis relapse rate and degree of disability.

- Copolymer 1 Multiple Sclerosis Study Group. *Neurology* 1998; 50(3):701–8. doi: 10.1212/wnl.50.3.701.
61. Goldschmidt CH, Le Hua H. Re-Evaluating the Use of IFN- β and Relapsing Multiple Sclerosis: Safety, Efficacy and Place in Therapy. *Degener Neurol Neuromuscul Dis* 2020; 10:29–38. doi: 10.2147/DNND.S224912.
62. La Mantia L, Di Pietrantonj C, Rovaris M, Rigon G, Frau S, Berardo F et al. Interferons-beta versus glatiramer acetate for relapsing-remitting multiple sclerosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2014; (7):CD009333. doi: 10.1002/14651858.CD009333.pub2.
63. Derfuss T, Mehling M, Papadopoulou A, Bar-Or A, Cohen JA, Kappos L. Advances in oral immunomodulating therapies in relapsing multiple sclerosis. *The Lancet Neurology* 2020; 19(4):336–47. doi: 10.1016/S1474-4422(19)30391-6.
64. Voge NV, Alvarez E. Monoclonal Antibodies in Multiple Sclerosis: Present and Future. *Biomedicines* 2019; 7(1). doi: 10.3390/biomedicines7010020.
65. Pucci E, Giuliani G, Solari A, Simi S, Minozzi S, Di Pietrantonj C et al. Natalizumab for relapsing remitting multiple sclerosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2011; (10):CD007621. doi: 10.1002/14651858.CD007621.pub2.
66. Montalban X, Gold R, Thompson AJ, Otero-Romero S, Amato MP, Chandraratna D et al. ECTRIMS/EAN Guideline on the pharmacological treatment of people with multiple sclerosis. *Mult Scler* 2018; 24(2):96–120. doi: 10.1177/1352458517751049.
67. Comi G, Radaelli M, Soelberg Sørensen P. Evolving concepts in the treatment of relapsing multiple sclerosis. *The Lancet* 2017; 389(10076):1347–56. doi: 10.1016/S0140-6736(16)32388-1.
68. Rieckmann P. Concepts of induction and escalation therapy in multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 2009; 277:S42-S45. doi: 10.1016/S0022-510X(09)70012-7.
69. Brown JW, Coles A, Horakova D, Havrdova E, Izquierdo G, Prat A et al. Association of Initial Disease-Modifying Therapy With Later Conversion to Secondary Progressive Multiple Sclerosis. *JAMA* 2019; 321(2):175–87. doi: 10.1001/jama.2018.20588.

70. Harding K, Williams O, Willis M, Hrastelj J, Rimmer A, Joseph F et al. Clinical Outcomes of Escalation vs Early Intensive Disease-Modifying Therapy in Patients With Multiple Sclerosis. *JAMA Neurol* 2019; 76(5):536–41. doi: 10.1001/jamaneurol.2018.4905.
71. He A, Merkel B, Brown JW, Zhovits Ryerson L, Kister I, Malpas CB et al. Timing of high-efficacy therapy for multiple sclerosis: a retrospective observational cohort study. *The Lancet Neurology* 2020; 19(4):307–16. doi: 10.1016/S1474-4422(20)30067-3.
72. Wiendl H, Gold R, Berger T, Derfuss T, Linker R, Mäurer M et al. Kommentar der Multiple Sklerose Therapie Konsensus Gruppe (MSTKG) zur S2k-Leitlinie Multiple Sklerose. *DGNeurologie* 2021; 4(4):319–26. doi: 10.1007/s42451-021-00353-3.
73. Wiendl H, Gold R, Berger T, Derfuss T, Linker R, Mäurer M et al. Multiple Sclerosis Therapy Consensus Group (MSTCG): position statement on disease-modifying therapies for multiple sclerosis (white paper). *Ther Adv Neurol Disord* 2021; 14:17562864211039648. doi: 10.1177/17562864211039648.
74. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther* 2001; 69(3):89–95. doi: 10.1067/mcp.2001.113989.
75. FDA-NIH Biomarker Working Group. BEST (Biomarkers, EndpointS, and other Tools) Resource. Silver Spring (MD): Food and Drug Administration (US); 2016. Bookshel ID: NBK326791
76. Toscano S, Patti F. CSF biomarkers in multiple sclerosis: beyond neuroinflammation. *NN* 2020; 2020. doi: 10.20517/2347-8659.2020.12.
77. Ziemssen T, Akgün K, Brück W. Molecular biomarkers in multiple sclerosis. *J Neuroinflammation* 2019; 16(1):272. doi: 10.1186/s12974-019-1674-2.
78. Gafson A, Craner MJ, Matthews PM. Personalised medicine for multiple sclerosis care. *Mult Scler* 2017; 23(3):362–9. doi: 10.1177/1352458516672017.
79. Paul A, Comabella M, Gandhi R. Biomarkers in Multiple Sclerosis. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2019; 9(3). doi: 10.1101/cshperspect.a029058.

80. 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; 11(10):585–96. doi: 10.1038/nrneurol.2015.173.
81. Comabella M, Montalban X. Body fluid biomarkers in multiple sclerosis. *The Lancet Neurology* 2014; 13(1):113–26. doi: 10.1016/S1474-4422(13)70233-3.
82. Tintoré M, Rovira A, Río 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(13 Pt 2):1079–83. doi: 10.1212/01.wnl.0000280576.73609.c6.
83. Mayringer I, Timeltaler B, Deisenhammer F. Correlation between the IgG index, oligoclonal bands in CSF, and the diagnosis of demyelinating diseases. *Eur J Neurol* 2005; 12(7):527–30. doi: 10.1111/j.1468-1331.2005.00997.x.
84. Khalil M, Teunissen CE, Otto M, Piehl F, Sormani MP, Gatringer T et al. Neurofilaments as biomarkers in neurological disorders. *Nat Rev Neurol* 2018; 14(10):577–89. doi: 10.1038/s41582-018-0058-z.
85. Disanto G, Barro C, Benkert P, Naegelin Y, Schädelin S, Giardiello A et al. Serum Neurofilament light: A biomarker of neuronal damage in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2017; 81(6):857–70. doi: 10.1002/ana.24954.
86. 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. doi: 10.1001/archneur.62.6.865.
87. Fonderico M, Portaccio E, Razzolini L, Pastò L, Bellinvia A, Addazio I et al. Cerebrospinal Fluid IgM and Oligoclonal IgG Bands in Multiple Sclerosis: A Meta-Analysis of Prevalence and Prognosis. *Brain Sci* 2021; 11(11). doi: 10.3390/brainsci11111444.
88. Mailand MT, Frederiksen JL. Intrathecal IgM as a Prognostic Marker in Multiple Sclerosis. *Mol Diagn Ther* 2020; 24(3):263–77. doi: 10.1007/s40291-020-00455-w.
89. Villar LM, Masjuan J, González-Porqué P, Plaza J, Sádaba MC, Roldán E et al. Intrathecal IgM synthesis predicts the onset of new relapses and a worse disease course in MS. *Neurology* 2002; 59(4):555–9. doi: 10.1212/wnl.59.4.555.

90. Huss A, Abdelhak A, Halbgebauer S, Mayer B, Senel M, Otto M et al. Intrathecal immunoglobulin M production: A promising high-risk marker in clinically isolated syndrome patients. *Ann Neurol* 2018; 83(5):1032–6. doi: 10.1002/ana.25237.
91. Pfuhl C, Grittner U, Gieß RM, Scheel M, Behrens JR, Rasche L et al. Intrathecal IgM production is a strong risk factor for early conversion to multiple sclerosis. *Neurology* 2019; 93(15):e1439-e1451. doi: 10.1212/WNL.0000000000008237.
92. Fonderico M, Biagioli T, Lanzilao L, Bellinvia A, Fratangelo R, Pastò L et al. Prognostic role of intrathecal IgM synthesis in multiple sclerosis: Results from a clinical series. *Mult Scler* 2020:1352458520907913. doi: 10.1177/1352458520907913.
93. Oechtering J, Schaedelin S, Benkert P, Müller S, Achtnichts L, Vehoff J et al. Intrathecal Immunoglobulin M Synthesis is an Independent Biomarker for Higher Disease Activity and Severity in Multiple Sclerosis. *Ann Neurol* 2021; 90(3):477–89. doi: 10.1002/ana.26137.
94. Monreal E, La Sainz de Maza S, Costa-Frossard L, Walo-Delgado P, Zamora J, Fernández-Velasco JI et al. Predicting Aggressive Multiple Sclerosis With Intrathecal IgM Synthesis Among Patients With a Clinically Isolated Syndrome. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm* 2021; 8(5). doi: 10.1212/NXI.0000000000001047.
95. Schneider R, Euler B, Rauer S. Intrathecal IgM-synthesis does not correlate with the risk of relapse in patients with a primary demyelinating event. *Eur J Neurol* 2007; 14(8):907–11. doi: 10.1111/j.1468-1331.2007.01871.x.
96. Frau J, Villar LM, Sardu C, Secci MA, Schirru L, Ferraro D et al. Intrathecal oligoclonal bands synthesis in multiple sclerosis: is it always a prognostic factor? *J Neurol* 2018; 265(2):424–30. doi: 10.1007/s00415-017-8716-4.
97. Stauch C, Reiber H, Rauchenzauner M, Strasak A, Pohl D, Hanefeld F et al. Intrathecal IgM synthesis in pediatric MS is not a negative prognostic marker of disease progression: quantitative versus qualitative IgM analysis. *Mult Scler* 2011; 17(3):327–34. doi: 10.1177/1352458510388543.

98. Revendova K, Zeman D, Kusnierova P, Bunganic R, Hanzlikova P, Karasova K et al. Prognostic value of intrathecal IgM synthesis determined by various laboratory methods in patients with early multiple sclerosis - a prospective observational study. *Mult Scler Relat Disord* 2022; 63:103847. doi: 10.1016/j.msard.2022.103847.
99. Zeman D, Kušnierová P, Všianský F, Reguliová K, Škutová M, Woznicová I et al. Cerebrospinal fluid oligoclonal IgM test in routine practice: Comparison with quantitative assessment of intrathecal IgM synthesis. *Clin Chim Acta* 2020; 508:137–45. doi: 10.1016/j.cca.2020.05.021.
100. Gastaldi M, Zardini E, Franciotta D. An update on the use of cerebrospinal fluid analysis as a diagnostic tool in multiple sclerosis. *Expert Rev Mol Diagn* 2017; 17(1):31–46. doi: 10.1080/14737159.2017.1262260.
101. Espiño M, Abraira V, Arroyo R, Bau L, Cámara C, Campos-Ruiz L et al. Assessment of the reproducibility of oligoclonal IgM band detection for its application in daily clinical practice. *Clin Chim Acta* 2015; 438:67–9. doi: 10.1016/j.cca.2014.08.004.
102. Correale J, los Milagros Bassani Molinas M de. Oligoclonal bands and antibody responses in multiple sclerosis. *J Neurol* 2002; 249(4):375–89. doi: 10.1007/s004150200026.
103. Antel J, Bar-Or A. Roles of immunoglobulins and B cells in multiple sclerosis: from pathogenesis to treatment. *J Neuroimmunol* 2006; 180(1-2):3–8. doi: 10.1016/j.jneuroim.2006.06.032.
104. Lucchinetti C, Brck W, Parisi J, Scheithauer B, Rodriguez M, Lassmann H. Heterogeneity of multiple sclerosis lesions: Implications for the pathogenesis of demyelination. *Ann Neurol*. 2000; 47(6):707–17. doi: 10.1002/1531-8249(200006)47:6<707::AID-ANA3>3.0.CO;2-Q.
105. 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; 69(2):292–302. doi: 10.1002/ana.22366.
106. Stevens C. *Clinical Serology and Immunology, 4e: A Laboratory Perspective*. 4th ed. Philadelphia: F.A. Davis; 2016. ISBN: 9780803658561

107. Felgenhauer K, Schliep G, Rapic N. Evaluation of the blood-CSF barrier by protein gradients and the humoral immune response within the central nervous system. *J Neurol Sci* 1976; 30(1):113–28. doi: 10.1016/0022-510x(76)90259-8.
108. Andersson M, Alvarez-Cermeño 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. Verfügbar unter: <https://www-1ncbi-1nlm-1nih-1gov-10013b56z0070.han.medunigraz.at/pmc/articles/PMC1073070/>.
109. Reiber H. Flow rate of cerebrospinal fluid (CSF) — A concept common to normal blood-CSF barrier function and to dysfunction in neurological diseases. *J Neurol Sci* 1994; 122(2):189–203. doi: 10.1016/0022-510X(94)90298-4.
110. Stampanoni Bassi M, Gilio L, Iezzi E, Moscatelli A, Pekmezovic T, Drulovic J et al. Age at Disease Onset Associates With Oxidative Stress, Neuroinflammation, and Impaired Synaptic Plasticity in Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis. *Front Aging Neurosci* 2021; 13:694651. doi: 10.3389/fnagi.2021.694651.
111. Roxburgh RHR, Seaman SR, Masterman T, Hensiek AE, Sawcer SJ, Vukusic S et al. Multiple Sclerosis Severity Score: using disability and disease duration to rate disease severity. *Neurology* 2005; 64(7):1144–51. doi: 10.1212/01.WNL.0000156155.19270.F8.
112. Cohen M, Bresch S, Thommel Rocchi O, Morain E, Benoit J, Levraut M et al. Should we still only rely on EDSS to evaluate disability in multiple sclerosis patients? A study of inter and intra rater reliability. *Mult Scler Relat Disord* 2021; 54:103144. doi: 10.1016/j.msard.2021.103144.