

Diplomarbeit

**Der Zusammenhang zwischen periventrikulären
Läsionen und der kortikalen Pathologie bei
Multipler Sklerose**

eingereicht von
Stulnig Franziska

Zur Erlangung des akademischen Grades

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

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt an der

Universitätsklinik für Neurologie und

Universitätsklinik für Radiologie

**Abteilung für Neuroradiologie, vaskuläre und interventionelle
Radiologie**

unter der Anleitung von

Dr. rer. nat. Margit Jehna

Assoz. Prof. Priv.-Doz. Dr. med. univ. Christian Enzinger

Eidesstaatliche 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 16.12.2015

Franziska Stulnig eh

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich die Gelegenheit nutzen, mich bei meinen beiden Betreuer/Innen, Assoz. Prof. Priv.-Doz. Dr. med. univ. Christian Enzinger und Dr. rer. nat. Margit Jehna für die Möglichkeit, meine Diplomarbeit an den Universitätskliniken für Neuroradiologie und Radiologie zu verfassen, zu bedanken. Ein besonderer Dank gilt ihrer stets raschen Beantwortung etwaiger Fragen und ihrer großzügigen Hilfestellung bei auftretenden Problemen.

Außerdem gilt ein großer Dank meinen Eltern, deren jahrelange Unterstützung erst möglich gemacht hat, dass ich das Studium der Humanmedizin absolvieren konnte.

Zudem möchte ich mich sehr herzlich bei all meinen Freunden, im Besonderen Fr. Dr. Gloria Hohenberger, für deren moralische Unterstützung und die vielen gemeinsam durchlebten Stunden im Laufe des Studiums bedanken.

Zusammenfassung

Hintergrund: Die Multiple Sklerose (MS) ist eine chronisch demyelinisierende Erkrankung des zentralen Nervensystems. Ursprünglich als Erkrankung der weißen Substanz betrachtet, konzentriert sich die Forschung nun auch zunehmend auf die teilweise ausgeprägten, strukturellen Gewebeschäden innerhalb der grauen Substanz. Diese konnten bereits früh im Verlauf der Erkrankung nachgewiesen werden, korrelieren mit einem ungünstigeren klinischen Verlauf und sind mit leptomeningealer Entzündung assoziiert. Derzeit wird angenommen, dass die kortikale Pathologie zumindest teilweise durch lösliche Faktoren aus dem Liquor verursacht wird. Auf Basis dieser Annahme wurde für die vorliegende Arbeit die Hypothese generiert, dass es einen Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der Gewebeschäden in liquornahen Bereichen, wie dem periventrikulären Raum, und der kortikalen Pathologie geben sollte.

Methoden: Es wurden die MRT-Daten von 160 Patientinnen und Patienten, darunter 91 mit der Diagnose eines klinisch isolierten Syndroms (CIS) und 69 mit schubförmig-verlaufender MS (RRMS) (Alter im Durchschnitt: CIS: 31.4+/-9.0; RRMS: 33.0+/-8.7 Jahre, Erkrankungsdauer im Durchschnitt: CIS: 7.2+/-15 Monate; RRMS: 8.0+/-6.5 Jahre, EDSS-Score (Mittelwert, min-max): CIS: 1.0-3.5; RRMS: 1.25, 0-4) analysiert. Das verwendete Gerät war ein 3,0T Tim Trio System der Firma Siemens. Auf FLAIR-Aufnahmen wurden die MS-spezifischen Läsionen semiautomatisch segmentiert. Um die periventrikuläre Läsionslast (PV-LL) zu bestimmen, wurden Ventrikelmasken erstellt und deren Außengrenzen um jeweils 3 Voxel dilatiert. Läsionen, die mit Voxeln innerhalb dieses erweiterten Rahmens verbunden waren, wurden als periventrikulär klassifiziert. Die Abnahme der kortikalen Dicke wurde als Maß für die kortikale Pathologie betrachtet. Die Ergebnisse der Analyse wurden mit den Daten einer Kontrollgruppe von 58 gesunden Personen (Alter im Durchschnitt: 29.1+/-7.4 Jahre) verglichen.

Ergebnisse: Sowohl CIS- als auch RRMS-Patientinnen und -Patienten zeigten im Vergleich zu den Kontrollpersonen eine signifikant reduzierte mittlere kortikale Dicke. Auch nach Berücksichtigung der ventrikulären Atrophie und der totalen Läsionslast korrelierte bei RRMS-Patientinnen und -Patienten die prozentuelle

periventrikuläre Läsionslast signifikant mit verminderter kortikalen Dicke ($r: -0.295$, $p=0.015$).

Interpretation: Die Korrelation zwischen vermehrter periventrikulärer Läsionslast und reduzierter kortikaler Dicke unterstützt die Annahme, dass lösliche Faktoren innerhalb des Liquor cerebrospinalis eine wichtige Rolle in der Pathogenese MS-spezifischer struktureller Gewebeschäden, insbesondere bei RRMS-Patientinnen und -Patienten, spielen könnten.

Abstract

Objective: Multiple sclerosis (MS) is a chronic demyelinating disease of the central nervous system. Traditionally regarded as a disease of the white matter, research in the last decades has convincingly shown that the gray matter is also heavily affected. Cortical tissue damage starts early in the disease, correlates with a severe disease course and has been suggested to occur on the background of leptomeningeal inflammation. Recently it has been proposed, that cortical pathology in MS may at least partly be caused by factors in the cerebrospinal fluid. Based on this assumption, we hypothesized that MS related tissue changes in compartments close to the CSF such as periventricular lesions might correlate with cortical pathology.

Methods: A cohort of 160 patients (91 with a clinically isolated syndrome (CIS) and 69 with a relapsing-remitting (RRMS) disease course) was investigated (mean age: CIS: 31.4+/-9.0; RRMS: 33.0+/-8.7 years, mean disease duration: CIS: 7.2+/-15 months; RRMS: 8.0+/-6.5 years, EDSS-Score (median, min-max): CIS: 1.0-3.5; RRMS: 1.25, 0-4) using 3.0T MRI. T2-hyperintense MS-lesions of the brain were segmented semiautomatically on FLAIR images. To quantify periventricular lesion load (PV-LL), we generated ventricle masks and dilated them by a voxel factor of three. Lesions which were connected to voxels within the dilated ventricle margin were classified as periventricular. Cortical thinning, thought to represent cortical pathology, was assessed via cortical mean thickness (CMT) and compared to data from 58 healthy controls (mean age: 29.1+/-7.4 years).

Results: CIS, and even more so RRMS patients showed a significantly reduced CMT compared with controls. After controlling for ventricular atrophy and total lesion load, increased periventricular lesion occupancy (percentage of PV-LL) still significantly correlated with decreased CMT in RRMS ($r: -0.295$, $p=0.015$) but not in CIS ($r: 0.032$, $p=0.768$) patients.

Interpretation: The correlation between increased periventricular lesion burden and decreased CMT suggestive of subpial cortical pathology supports the concept that soluble factors within the CSF might play a role in the accumulation of tissue

damage within the brain in MS subgroups, particularly in patients with relapsing-remitting disease course.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	13
1.1	Epidemiologie.....	16
1.2	Ätiologie.....	17
1.2.1	Genetische Faktoren.....	17
1.2.2	Infektionen.....	18
1.2.3	Umwelteinflüsse.....	19
1.3	Symptome.....	20
1.4	Beurteilung der neurologischen Symptomatik.....	22
1.5	Diagnostik der MS.....	25
1.6	Die Magnetresonanztomographie (MRT).....	27
1.6.1	Grundlagen der MRT.....	27
1.6.2	Die Läsionen in der MRT.....	28
1.6.3	Das „klinisch-radiologische Paradoxon“.....	32
1.7	Die Verlaufsformen der MS.....	35
1.7.1	Das klinisch isolierte Syndrom (CIS).....	38
1.7.2	Prognostische Faktoren.....	38
1.8	Die pathologischen Veränderungen bei MS.....	40
1.8.1	Die Heterogenität der MS.....	40
1.8.2	Die Läsionen in der grauen Substanz.....	43
1.8.3	Die Histologie der Veränderungen in der grauen Substanz.....	44
1.8.4	Atrophie und neurodegenerative Mechanismen.....	46
1.9	Methoden der Bildgebung zur Darstellung der kortikalen Pathologie.....	49
1.10	Meningeale Entzündung.....	52
1.11	Fragestellung & Ziel der Arbeit.....	54

2	Material & Methoden.....	56
2.1	Patientinnen und Patienten.....	56
2.2	Akquisition der MRT-Daten.....	58
2.3	Bearbeitung der MRT-Daten.....	59
2.4	Ermittlung der prozentuellen periventrikulären Läsionslast (PV-LL%)	61
2.5	Volumetrische MRT-Parameter	63
2.6	Statistik	63
3	Ergebnisse.....	65
3.1	Vergleich der klinischen Phänotypen CIS und RRMS mit den gesunden Kontrollpersonen (HC)	65
3.1.1	CIS verglichen mit HC	65
3.1.2	RRMS verglichen mit HC.....	66
3.2	Vergleich der Phänotypen untereinander	71
3.2.1	RRMS verglichen mit CIS.....	71
3.2.2	Korrelation zwischen der periventrikulären Läsionslast und der mittleren kortikalen Dicke	74
3.2.3	Korrelation der prozentuellen periventrikulären Läsionslast (PV-LL%) und der mittleren kortikalen Dicke korrigiert für das Liquorvolumen und die totale Läsionslast.....	74
3.2.4	Die topographische Verteilung der betroffenen Kortexregionen	76
4	Diskussion	80
4.1	Die periventrikuläre Läsionslast korreliert mit verminderter kortikaler Dicke in RRMS-Patientinnen und -Patienten	81
4.2	Die zerebrale Atrophie und die topographische Verteilung pathologischer Veränderungen im Kortex.....	83

4.3	Die Progression der kortikalen Pathologie mit dem Erkrankungsfortschritt	85
4.4	Heterogenität in der Frequenz des Auftretens periventrikulärer Läsionen	86
4.5	Läsionen in unmittelbarer Nähe zum Liquorraum	88
4.6	Limitationen der Arbeit & zukünftige Schwerpunkte der Forschung	89
5	Literaturverzeichnis.....	95

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Die häufigsten Symptome der MS (Schmidt & Hoffmann 2002)	21
Tabelle 2:	Expanded Disability Status Scale (EDSS) nach Kurtzke (1983)	23
Tabelle 3:	Diagnosekriterien der MS (Polman et al. 2011)	26
Tabelle 4:	Klinische Merkmale der Teilnehmerinnen und Teilnehmer	58
Tabelle 5:	Gruppenunterschiede bezüglich der kortikalen Dicke zwischen HC und CIS, HC und RRMS, CIS und RRMS, jeweils für die linke Hirnhemisphäre (lH) und die rechte Hirnhemisphäre (rH).	68
Tabelle 6:	MRT-Daten der einzelnen Gruppen	72
Tabelle 7:	Ergebnisse der Gruppenvergleiche	73
Tabelle 8:	Korrelationen der prozentuellen periventrikulären Läsionslast (PV-LL%) mit der mittleren kortikalen Dicke (CMT) für die linke Hirnhemisphäre (lH) und die rechte Hirnhemisphäre (rH).	78

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	T1-gewichtete MRT-Aufnahme eines ausgewählten Patienten/einer ausgewählten Patientin	30
Abbildung 2:	FLAIR-Sequenz eines ausgewählten Patienten/einer ausgewählten Patientin	32
Abbildung 3:	Schematische Darstellung des schubförmig-remittierenden Verlaufs der MS	35
Abbildung 4:	Schematische Darstellung des primär-progredienten Verlaufs der MS.....	36
Abbildung 5:	Schematische Darstellung des sekundär-progredienten Verlaufs der MS	37
Abbildung 6 :	Schematische Darstellung des primär-progredienten Verlaufs mit Schüben der MS	37
Abbildung 7:	Halbautomatische Segmentierung der Läsionen mittels DISPImage auf T2-gewichteten FLAIR-Aufnahmen.....	60
Abbildung 8:	Arbeitsschritte zur Quantifizierung der PV-LL%.....	62
Abbildung 9:	Topographische Verteilung der Kortexregionen mit den größten Differenzen bezüglich der kortikalen Dicke im Gruppenvergleich.	67
Abbildung 10:	Streudiagramme zu den Korrelationen.....	75
Abbildung 11:	Topographische Verteilung der kortikalen Regionen, die signifikant negativ ($p < 0,01$, korrigiert) mit der prozentuellen periventrikulären Läsionslast in CIS- (links) und RRMS- (rechts) Patientinnen und -Patienten korrelieren.....	77

Abkürzungen

CIS: klinisch isoliertes Syndrom („clinically isolated syndrome“)

CMT: mittlere kortikale Dicke („cortical mean thickness“)

CSF: Liquor cerebrospinalis („cerebrospinal fluid“)

DIR: double inversion recovery

EBV: Epstein-Barr-Virus

EDSS: Extended disability status scale

FLAIR: fluid attenuated inversion recovery

GM: graue Substanz („grey matter“)

HC: gesunde Kontrollpersonen („healthy controls“)

LL: gesamte Läsionslast in der weißen Substanz

MHC: Major Histability Complex

MRT: Magnetresonanztomographie

MS: Multiple Sklerose

NAWM: normal appearing white matter

NON-PV-LL: nicht-periventrikuläre Läsionslast („non-periventricular-lesion-load“)

PCR: Polymerase-Kettenreaktion

PPMS: primär-progrediente Multiple Sklerose

PRMS: primär-progrediente Multiple Sklerose mit Schüben

PV-LL: periventrikuläre Läsionslast („periventricular-lesion-load“)

PV-LL%: prozentuelle periventrikuläre Läsionslast

RM: Rückenmark

RRMS: schubförmig-remittierende Multiple Sklerose („relapsing-remitting MS“)

SPMS: sekundär-progrediente Multiple Sklerose

WM: weiße Substanz („white matter“)

ZNS: zentrales Nervensystem

1 Einleitung

Die Multiple Sklerose (MS) ist eine chronisch entzündlich-demyelinisierende Erkrankung des zentralen Nervensystems (ZNS). Sie tritt bevorzugt im jungen Erwachsenenalter auf, betrifft Frauen häufiger als Männer (Hirtz et al. 2007) und führt unbehandelt in ihrem Verlauf zu progredienter körperlicher und kognitiver Beeinträchtigung, häufig begleitet von depressiven Symptomen und Fatigue (Schmidt & Hoffmann 2002, S. 44; Siegert & Abernethy 2005).

Charakteristisch für die Erkrankung ist die Bildung multipler, teilweise konfluierender demyelinisierender Läsionen innerhalb der weißen als auch der grauen Substanz des Gehirns (Lassmann et al. 2007; Peterson et al. 2001). Neben der Zerstörung der Myelinscheide kommt es dabei zusätzlich zur Schädigung und zum Verlust von Axonen, Neuronen und Astrozyten (Trapp et al. 1998; Frischer et al. 2009; Brosnan & Raine 2013; Magliozzi et al. 2010). Histopathologische Untersuchungen sowie MRT-Studien konnten zudem nachweisen, dass auch das läsionsfreie Gewebe, die sogenannte „normal appearing white matter“ (NAWM) von diffusen strukturellen Veränderungen des Gewebes betroffen ist (Kutzelnigg et al. 2005). Die aktive Schädigung des Gewebes spielt sich dabei in allen Stadien der Erkrankung vor dem Hintergrund eines entzündlichen Geschehens ab. Die daran beteiligten immunologisch aktiven Zellen sind T-Lymphozyten, B-Lymphozyten, Plasmazellen, aktivierte Mikroglia und Makrophagen (Kutzelnigg et al. 2005; Lassmann et al. 2007; Frischer et al. 2009). Infolge des chronisch entzündlichen Prozesses wird im weiteren Verlauf eine Gliose induziert, wodurch sich in den geschädigten Bereichen Narbengewebe bildet und somit Vorgänge der Remyelinisierung behindert werden (Lassmann 2014).

Ein weiteres Merkmal der MS ist eine generalisierte, progrediente Atrophie des Gehirns, welche bereits zu Erkrankungsbeginn gemessen werden kann und in erster Linie auf den Verlust von Axonen zurückgeführt wird (Losseff et al. 1996; Chard et al. 2002; Ge et al. 2000; Minagar et al. 2004). Studien haben gezeigt, dass einzelne kortikale Regionen im Verlauf der Erkrankung vermehrt von der Atrophie betroffen sind (Sailer et al. 2003). Der Grad der Behinderung korreliert dabei signifikant mit dem Ausmaß der kortikalen Atrophie, und deren Messung

lässt prognostische Aussagen über den weiteren Erkrankungsverlauf zu (Sailer et al. 2003; Dalton et al. 2004).

Die genauen Mechanismen, die zu diesen pathologischen Veränderungen innerhalb des ZNS führen, sowie der Zusammenhang zwischen den verschiedenen entzündlichen und neurodegenerativen Prozessen im Verlauf der Erkrankung sind bis heute nicht genau geklärt. Während in frühen Stadien die Entstehung struktureller Gewebeschäden vorwiegend auf entzündliche Prozesse zurückgeführt wird, scheinen in späteren Stadien vermehrt neurodegenerative Vorgänge für die Progression der Erkrankung verantwortlich zu sein (Lassmann et al. 2007). Histopathologische Studien weisen auch darauf hin, dass der Entstehung demyelinisierender Läsionen möglicherweise unterschiedliche immunopathologische Mechanismen zugrunde liegen (Lucchinetti et al. 2000). Es gibt auch Hinweise, dass sich neurodegenerative und entzündlich-demyelinisierende Prozesse in fortgeschrittenen Stadien der Erkrankung zumindest teilweise unabhängig voneinander weiterentwickeln (Miller et al. 2002; De Stefano et al. 2003; Steenwijk et al. 2014).

Lange Zeit wurde die MS vordergründig über die Bildung fokaler Läsionen in der weißen Substanz definiert. Erst durch die Entwicklung neuer immun-histochemischer Verfahren und fortgeschrittener Techniken der Magnetresonanztomographie (MRT), wie zum Beispiel der Double Inversion Recovery (DIR) Sequenz, rückte die Pathologie der grauen Substanz in den Mittelpunkt vieler wissenschaftlicher Untersuchungen (Peterson et al. 2001; Bo et al. 2003a; Daams et al. 2013). Leptomeningeale Entzündungen scheinen einen wesentlichen Einfluss auf die Pathogenese der Veränderungen im Kortex zu haben und sind möglicherweise für deren Entstehung mitverantwortlich (Howell et al. 2011; Choi et al. 2012; Magliozzi et al. 2010). Die Rolle proinflammatorischer Zytokine und anderer löslicher Faktoren aus den meningealen Entzündungsinfiltraten wird in diesem Zusammenhang immer wieder diskutiert (Magliozzi et al. 2010; Howell et al. 2011; Choi et al. 2012; Lassmann 2014).

Sowohl Läsionen der weißen Substanz, als auch kortikale Läsionen treten bevorzugt in liquornahen Regionen auf, wie zum Beispiel dem periventrikulären Bereich oder subpial in oberflächlichen Kortexschichten (Fazekas et al. 1999;

Kutzelnigg et al. 2005). Demnach liegt die Vermutung nahe, dass ein noch unbekannter immunologisch wirksamer Faktor im Liquor zur Entstehung struktureller Schädigungen im Hirngewebe bei MS beiträgt beziehungsweise diese möglicherweise sogar initiiert.

Vor diesem Hintergrund hat sich für die vorliegende Diplomarbeit die Fragestellung ergeben, ob es einen Zusammenhang zwischen periventrikulär auftretenden Läsionen und der kortikalen Pathologie gibt. Eine derartige Korrelation wäre ein weiterer Hinweis für die Existenz eines Faktors oder mehrerer Faktoren im Liquor, welche die Pathogenese der MS maßgeblich beeinflussen (Lassmann 2014).

Analysiert wurden MRT-Daten einer großen Kohorte ambulanter MS-Patientinnen und -Patienten. Zusätzlich wurden zum Vergleich einzelner Messwerte die Daten gesunder Kontrollpersonen in das Projekt mit aufgenommen. Marklagerläsionen wurden halbautomatisch segmentiert und die kortikale Pathologie anhand der Messung der kortikalen Dicke geschätzt. Aufwendige, computerunterstützte Methoden dienten der Messung der Volumina verschiedener Kompartimente sowie der graphischen Rekonstruktion des Gehirns. Zur Überprüfung der Hypothese, dass verminderte kortikale Dicke mit einer Häufung periventrikulärer Läsionen einhergeht, wurden anschließend Korrelationsanalysen durchgeführt.

Durch die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit sollen neue Erkenntnisse bezüglich der Zusammenhänge unterschiedlicher pathologischer Prozesse bei MS, im Speziellen Assoziationen zwischen der kortikalen Pathologie und periventrikulären Läsionen in frühen Stadien der Erkrankung, in vivo gewonnen werden.

In den folgenden Kapiteln werden zunächst verschiedene Aspekte der Erkrankung thematisiert, welche dem Leser einen Überblick über die MS geben und die Hintergründe dieser Diplomarbeit besser verständlich machen sollen. Im Anschluss daran werden die verwendeten Methoden beschrieben und die Ergebnisse vorgestellt. An dieser Stelle soll zudem darauf hingewiesen werden, dass die vorliegende Arbeit in den „*Annals of Neurology*“ publiziert wurde (Jehna et al. 2015).

1.1 Epidemiologie

Die MS tritt weltweit auf, zeigt jedoch in verschiedenen Völkergruppen sowie regional ausgeprägte Unterschiede hinsichtlich ihrer Prävalenz. Europa, Nordamerika, Australien, Neuseeland und Israel zählen zu den Gebieten mit hoher Erkrankungsrate, während in Zentralafrika, Südamerika oder Südostasien weit weniger MS-Fälle auftreten. Interessant ist, dass einzelne ethnische Gruppen, wie z.B. die Parsi in Indien, eine hohe Prävalenz aufweisen, während die verbleibende indische Bevölkerung kaum betroffen ist. Unter Schwarzafrikanern stellt die Erkrankung eine Rarität dar (Rosati 2001).

Innerhalb von Europa sowie auch in den USA besteht ein Nord-Süd-Gefälle bezogen auf die durchschnittliche Prävalenz der MS. Die Inzidenz in Europa wird auf 4/100000/Jahr geschätzt (Pugliatti et al. 2006; Rosati 2001). Seit den 1980er Jahren wird beobachtet, dass zunehmend mehr Frauen von der Erkrankung betroffen sind und dass das Nord-Süd-Gefälle aufgrund steigender Prävalenzen in Regionen nahe des Äquators weltweit tendenziell abnimmt (Alonso & Hernán 2008).

Wichtige Erkenntnisse zu Fragen der Epidemiologie und Ätiologie der MS liefern eine Reihe an Migrationsstudien. Zusammenfassend lassen sich folgende Aussagen treffen; Personen, die vor Erreichen ihres 15. Lebensjahres, von einem Land mit hoher Prävalenz in ein Land mit niedriger Prävalenz ziehen zeigen in ihrer neuen Heimat in der Folge ein mittleres Erkrankungsrisiko. Umgekehrt behalten Personen, die aus Gebieten mit niedriger Prävalenz in Gebiete mit hoher Prävalenz migrieren das Erkrankungsrisiko ihres Herkunftslandes (Dean et al. 1976; Gale & Martyn 1995; Marrie 2004). Anders verhält es sich für die Nachkommen der Migranten. Eine Studie aus Großbritannien hat gezeigt, dass Kinder von Eltern aus Asien und Afrika, die in Großbritannien geboren werden und aufwachsen, annähernd dasselbe Risiko aufweisen an MS zu erkranken wie ihre englischen Altersgenossen (Elian et al. 1990).

1.2 Ätiologie

Die Ätiologie der MS ist nach wie vor nicht geklärt. Unbestritten gilt die Ansicht, dass bestimmte genetische Eigenschaften als Voraussetzung für die Entwicklung der MS gegeben sein müssen. Die Genetik alleine kann jedoch, unter Berücksichtigung der epidemiologischen Verteilung und insbesondere der bereits erwähnten Migrationsstudien, die Pathogenese nicht vollständig erklären. Eine multifaktorielle Genese, bestehend aus einer genetischen Prädisposition, bestimmten Umwelteinflüssen sowie immunologischen Faktoren, wird für die Entwicklung der Erkrankung angenommen. In den letzten Jahren stellt zudem der mögliche Einfluss epigenetischer Faktoren einen wachsenden Forschungsbereich dar (Compston 1997; Kantarci & Wingerchuck 2006; Lill 2014).

1.2.1 Genetische Faktoren

Neben der auffälligen geographischen Häufung der MS in bestimmten Regionen sowie in einzelnen Völkergruppen spricht auch das Wiederauftreten der Erkrankung innerhalb von Familien, in denen eine Person an MS erkrankt ist, mit einer Wahrscheinlichkeit von 15% für die genetische Komponente (Compston 1997). Mehrere Studien haben gezeigt, dass das Risiko zu erkranken für Verwandte ersten Grades am höchsten ist und mit zunehmendem Abstand des Verwandtschaftsgrades kontinuierlich abnimmt (Robertson et al. 1996; Sadovnik et al. 1988; Westerlind et al. 2014). Untersuchungen von Zwillingen haben zudem ergeben, dass monozygote Zwillinge eine Konkordanzrate von bis zu 30% aufweisen, während die Rate für dizygote Zwillinge mit maximal 5% erheblich geringer ist (Ebers et al. 1986; Sadovnik et al. 1993; Dyment et al. 1997; Thorpe et al. 1994; Willer et al. 2003; Westerlind et al. 2014). Eine kanadische Studie untersuchte außerdem das Erkrankungsrisiko von Geschwistern verglichen mit jenem von Halbgeschwistern von MS-Patientinnen und -Patienten. Das Ergebnis ergab für Geschwister ein Risiko von 3.11%, für Halbgeschwister hingegen nur von 1.89% (Ebers et al. 2004).

Aufgrund der Beobachtung der familiären Häufung ging man schon früh davon aus, dass die MS zumindest teilweise genetisch vererbt wird. Bereits vor 40

Jahren konnte der Haupthistokompatibilitätskomplex, im Englischen Major Histability Complex (MHC), auf Chromosom 6 mit der Erkrankung assoziiert werden (Naito et al. 1972; Bertrams & Kuwert 1972). Diese Assoziation hat bis heute ihre Gültigkeit. Seither wurden eine Vielzahl an Gen-Loci innerhalb sowie außerhalb dieses MHC-Komplexes, die mit einem erhöhten MS-Risiko einhergehen identifiziert, wobei das Klasse II HLA-DRB1*1501 Allel den wichtigsten Risikolokus darstellt (Sawcer et al. 2011). Trotz der zahlreichen Ergebnisse der Forschungen kann der Erbgang der MS nach wie vor nur teilweise erklärt werden, wodurch den epigenetischen Veränderungen und Risikovarianten außerhalb des MHC-Komplexes immer mehr Bedeutung für die Entstehung der Erkrankung zugeschrieben wird (Lill 2014).

1.2.2 Infektionen

Eine Reihe an viralen Infektionskrankheiten wurde auf einen möglichen Zusammenhang mit dem Auftreten der MS hin untersucht. Unter diese fallen EBV, HHV 6, CMV und *C. pneumoniae*.

Besonders die EBV- (Epstein-Barr-Virus) Infektion ist dabei aus Gründen der epidemiologischen Verteilung und der immunpathologischen Mechanismen in das Interesse vieler Forschungsgruppen gerückt. Man nimmt an, dass eine EBV-Infektion das Risiko an MS zu erkranken deutlich erhöht (Haahr & Höllsberg 2006; Thacker et al. 2006). Untersuchungen haben gezeigt, dass Patientinnen und Patienten zu Beginn der Erkrankung signifikant höhere Serum-EBV-Antikörper-Titer aufweisen als Personen in der Kontrollgruppe. Jedoch erkrankt nur ein kleiner Teil der Personen mit positiven EBV-Antikörpern tatsächlich an MS, was auf weitere Ko-faktoren in der Pathogenese der Erkrankung schließen lässt (Ascherio et al. 2001). Eine weitere Studie konnte zeigen, dass das Risiko an MS zu erkranken bei seronegativen Personen sehr gering ist, nach durchgemachter EBV-Infektion jedoch deutlich ansteigt (Levin et al. 2010).

An post-mortem Gehirnen von Patientinnen und Patienten mit MS wurde zudem eine Anhäufung von EBV-infizierten aktiven B-Zellen und Plasmazellen in den Meningen sowie perivaskulär in Läsionen der weißen Substanz nachgewiesen.

Diese Beobachtung konnte bei anderen entzündlichen Erkrankungen des Gehirns nicht gemacht werden, wodurch angenommen wird, dass es sich hier um eine MS-spezifische Eigenschaft handelt (Serafini et al. 2007).

Auch *C.pneumoniae* und HHV6 sind in Verdacht geraten, eine Rolle bei der Entstehung der MS zu spielen. 1999 wurde berichtet, dass die PCR (Polymerase-Kettenreaktion) auf *C. pneumoniae* bei 97% einer Kohorte an MS-Patientinnen und -Patienten positiv ausgefallen war. Weitere Studien zu diesem Zusammenhang lieferten jedoch keine vergleichbaren und zum Teil sogar widersprüchliche Ergebnisse (Sriram et al. 1999; Marrie 2004). Für HHV 6 sprechen Untersuchungen an post-mortem Gehirnen von MS-Patientinnen und -Patienten, in denen das Virus nachgewiesen werden konnte, sowie Studien, die Marker des Virus im Liquor von Patientinnen und Patienten festgestellt haben (Cermelli et al. 2003; Soldan & Jacobson 2000).

1.2.3 Umwelteinflüsse

Zu den nicht-infektiös bedingten Risikofaktoren, die unter Verdacht stehen, mit der Entwicklung der MS in Zusammenhang zu stehen, zählen u.a. Nikotinabusus, zu geringe Sonnenlichtexposition, Vitamin D Mangel, Toxine und Stress (Ascherio & Munger 2007; Marrie 2004).

Besonders das Vitamin D könnte einen entscheidenden Einfluss auf die Entwicklung und auch den Krankheitsverlauf der MS ausüben. Man konnte zeigen, dass Patientinnen und Patienten im Allgemeinen niedrigere Serum Vitamin D Spiegel haben, bis hin zu einer manifesten Hypovitaminose, und dass ein erhöhtes 25-Hydroxivitamin D im Serum mit einem geringeren Risiko an MS zu erkranken einher geht (Soilu-Hänninen et al. 2005; Munger et al. 2006). Zudem fand man heraus, dass die Vitamin D Spiegel besonders während eines akuten Krankheitsschubes deutlich niedriger sind als in Remission (Soilu-Hänninen et al. 2005). Eine prospektive Studie konnte durch Vitamin D-Supplementation das Risiko an MS zu erkranken herabsenken (Munger et al. 2004).

1.3 Symptome

Die Symptomatik der MS bietet ein breites Spektrum an möglichen neurologischen Defiziten, welche die Motorik, Sensibilität sowie in fortgeschrittenen Stadien kognitive Leistungen betreffen können. Häufig treten im Verlauf der Erkrankung auch depressive Symptome und Fatigue auf, die von den Patientinnen und Patienten als besonders belastend empfunden werden (Siegert & Abernethy 2005). Abhängig von der Lokalisation der akuten entzündlichen Herde sowie vom Fortschritt degenerativer Veränderungen im Hirngewebe ergeben sich vielfältige Erscheinungsbilder bei Patientinnen und Patienten. Demnach kann kein einzelnes Symptom als spezifisch für die Erkrankung angesehen werden. Spastische Paresen, Extremitäten- und Gangataxien, zentrale Visusminderung, Doppelbilder, Parästhesien, Dysarthrie sowie Blasen- und Sexualfunktionsstörungen gelten dennoch als typisch (Schmidt & Hoffmann 2002, S. 44). Eher charakteristisch für die MS ist das Lhermitte-Zeichen, das bei etwa 40% der Patientinnen und Patienten auftritt, bei der Hälfte der Betroffenen als Frühsymptom innerhalb der ersten 3 Jahre nach Erkrankungsbeginn (Al-Araji & Oger 2005). Dabei kommt es durch Beugung im Nacken zu elektrisierenden bis schmerzhaften Missempfindungen entlang der Wirbelsäule, evtl. bis in die Extremitäten. Weiters typisch ist das sog. Uhthoff-Phänomen, bei dem es durch Erhöhung der Körpertemperatur zur kurzzeitigen Verschlechterung der Symptomatik kommt. Hintergrund ist ein reversibler Block partiell demyelinisierender Fasern (Mattle & Mumenthaler 2013, S. 357). Tabelle 1 fasst die häufigsten Symptome der MS kurz zusammen.

Tabelle 1: Die häufigsten Symptome der MS (Schmidt & Hoffmann 2002)

Symptome	Beschreibung
Schmerzen, Missempfindungen, Gliedmaßenschwäche	Missempfindungen und Schmerzen vor allem an Händen und Füßen, Schwäche der Extremitäten
Sehstörungen, Doppelsehen	Besonders bei Erkrankungsbeginn, Verschwommen sehen oder vorübergehende Blindheit, Sehverschlechterung im Verlauf der Erkrankung, Doppelsehen vor allem bei jüngeren Patientinnen und Patienten
Artikulations-, Koordinations- sowie Gleichgewichtsstörungen	Störungen des Sprechens und des Gleichgewichts häufig zu Beginn der Erkrankung, Koordinationsstörung im Verlauf, intermittierend oder fortschreitend
Miktions- und Sexualfunktionsstörungen	Anfangs selten imperativer Harndrang, im Verlauf Harninkontinenz und Sexualfunktionsstörungen bei mehr als $\frac{3}{4}$ aller Patientinnen und Patienten
Psychische Störungen	Zu Beginn teilweise euphorische Symptome, später zunehmend depressive Störungen, emotionale Labilität, Gedächtnis- und Konzentrationsstörungen, Abnahme der intellektuellen Leistungsfähigkeit

1.4 Beurteilung der neurologischen Symptomatik

Zur Einteilung der Patientinnen und Patienten nach ihrer körperlichen und kognitiven Beeinträchtigung sowie zur Kontrolle der Symptomatik im Krankheitsverlauf wurden eine Reihe an Skalen entwickelt, von denen die Expanded Disability Status Scale (EDSS) von Kurtzke (1983) trotz Kritik größte Bedeutung im klinischen Alltag sowie in der Forschung erlangt hat (Sharrack & Hughes 1996). Die Skala reicht von Grad 0 bis Grad 10, wobei 0 für keine neurologischen Funktionsausfälle steht, die Stimmungslage der Patientin beziehungsweise des Patienten jedoch berücksichtigen soll, und 10 den Tod der Patientin beziehungsweise des Patienten durch MS bedeutet. Die Grade werden anhand standardisierter Untersuchungen 8 neurologischer Funktionssysteme bestimmt. Darunter fallen die Motorik, das Kleinhirn, der Hirnstamm, die Sensibilität, Blase und Mastdarm, der Visus, mentale Funktionen und andere. Bis zu EDSS 4 ergibt sich der Grad der Behinderung durch die Kombination der Funktionssysteme. Die Patientinnen und Patienten gelten als weitgehend mobil und uneingeschränkt gehfähig. Ab EDSS 4 definiert sich der Grad der Behinderung über das Ausmaß der Einschränkung der Gehstrecke (Kurtzke 1983). Um vor allem funktionelle Beeinträchtigungen besser beurteilen zu können, wurden weitere Skalen wie zum Beispiel der Multiple Sclerosis Functional Composite (MSFC) entworfen. Er umfasst die klinischen Dimensionen der Arm- und Beinfunktion sowie kognitive Beeinträchtigung und beruht auf drei schnell durchführbaren quantitativen Untersuchungen. Der MSFC weist eine gute Inter- und Intrarater-Reliabilität auf und reagiert empfindlicher auf Veränderungen als die EDSS (Cutter et al. 1999), dennoch bleibt letztere der Goldstandard (Schmidt & Hoffmann 2002, S. 52). In Tabelle 2 sind die möglichen Grade und deren Bedeutung aufgelistet.

Tabelle 2: Expanded disability status scale (EDSS) nach Kurtzke (1983)

EDSS-Grad	Bedeutung
Grad 0	Keine neurologische Symptomatik (alle FS Grad 0)
Grad 1	Keine Behinderung, minimale Symptome in einem FS (Grad 1)
Grad 1,5	Keine Behinderung, minimale Symptome in mehr als einem FS
Grad 2	Minimale Behinderung in einem FS (ein FS Grad 2)
Grad 2,5	Minimale Behinderung in zwei FS
Grad 3	Mäßige Behinderung in einem FS (Grad 3) oder leichte Behinderung in drei oder vier FS (Grad 2), uneingeschränkt gehfähig
Grad 3,5	Mäßige Behinderung in einem FS (Grad 3) und ein oder zwei FS Grad 2, oder zwei FS Grad 3, oder fünf FS Grad 2, uneingeschränkt gehfähig
Grad 4	Gehfähig ohne Hilfe für etwa 500m, selbstständig, trotz relativ schwerer Einschränkungen etwa 12 Stunden am Tag auf
Grad 4,5	Gehfähig ohne Hilfe für etwa 300m, vollschichtig arbeitsfähig evtl. mit Einschränkung oder Hilfe, die meiste Zeit des Tages auf
Grad 5	Gehfähig ohne Hilfe oder Pause für etwa 200m, tägliche Aktivitäten durch Behinderung eingeschränkt
Grad 5,5	Gehfähig ohne Hilfe oder Pause für etwa 100m, gewisse alltägliche Aktivitäten durch Behinderung ausgeschlossen
Grad 6	Intermittierende oder konstante einseitige Gehhilfe benötigt, um 100m weit zu gehen
Grad 6,5	Konstante, beidseitige Gehhilfe benötigt um etwa 20m weit zu gehen
Grad 7	Trotz Gehhilfe unfähig, mehr als 5m weit zu gehen, weitgehend auf Rollstuhl angewiesen, im Rollstuhl etwa 12 Stunden am Tag selbstständig mobil
Grad 7,5	Vollständig auf den Rollstuhl angewiesen, eigenständiges Fahren möglich, Hilfe beim Transfer jedoch notwendig, kann nicht den gesamten Tag im Rollstuhl sitzen, evtl. wird ein Elektrorollstuhl benötigt
Grad 8	Weitgehend auf das Bett beschränkt, Körperpflege eingeschränkt möglich, Funktionsfähigkeit der Arme eingeschränkt
Grad 8,5	Die meiste Zeit des Tages auf das Bett angewiesen, Funktion der Arme und der Körperpflege teilweise erhalten

Grad 9	Bettlägerige Patientinnen und Patienten, Kommunikation und Essen möglich
Grad 9,5	Bettlägerige Patientinnen und Patienten, Kommunikation und Essen ineffektiv, Schluckstörung
Grad 10	Tod durch MS

FS = Funktionssysteme

1.5 Diagnostik der MS

Seit dem Jahr 2001 gelten die sogenannten „McDonald-Kriterien“, die von einem Internationalen Gremium zur Diagnostik der MS in London zusammengefasst wurden, im klinischen Alltag als allgemein anerkannt. Während man bemüht war, wesentliche Punkte bereits existierender Kriterien beizubehalten, wurde erstmals die Magnetresonanztomographie (MRT) als essentieller Bestandteil der MS-Diagnostik darin aufgenommen. Die MRT gilt im Bereich der MS-Diagnostik als sensitivste Untersuchungsmethode (McDonald et al. 2001). Bereits in den achtziger Jahren wurde bekannt, dass bei 95% der Patientinnen und Patienten mit klinisch gesicherter MS mittels MRT Läsionen im Hirngewebe nachgewiesen werden können (Ormerod et al. 1987). Durch die beiden bisherigen Revisionen in den Jahren 2005 und 2010, konnten insbesondere die Kriterien der MRT überarbeitet und vereinfacht werden, sowie die Voraussetzungen zur Diagnosestellung der primär progredienten MS neu definiert werden (Polman et al. 2005; Polman et al. 2011). Der Nachweis der örtlichen und zeitlichen Dissemination der Läsionen sowie der Ausschluss anderer Ursachen des klinischen Bildes werden vom Gremium als essentiell betrachtet. Durch die erhobenen Befunde ergeben sich im Unterschied zu vorbestehenden Kriterien die drei folgenden Beurteilungen; „gesicherte MS“, „keine MS“ oder „mögliche MS“. Letztere Kategorie gilt bei Patientinnen und Patienten mit entsprechender Klinik aber noch ausstehender Evaluierung oder bei Patientinnen und Patienten, die die Kriterien zum Teil, jedoch nicht zur Gänze erfüllen (McDonald et al. 2001). In Tabelle 3 sind die aktuellen McDonald-Kriterien aufgelistet.

Tabelle 3: Diagnosekriterien der MS (Polman et al. 2011)

Klinische Präsentation	Notwendige weitere Befunde für die Diagnose MS
≥ 2 Schübe; eindeutige klinische Evidenz für ≥ 2 Läsionen oder eindeutige klinische Evidenz für 1 Läsion mit Hinweis auf einen vorangegangenen Schub	Keine
≥ 2 Schübe; eindeutige klinische Evidenz für 1 Läsion	<p>Örtliche Dissemination (DIS):</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ ≥ 1 T2-Läsion in zumindest 2 von 4 typischen Regionen des ZNS (periventrikulär, juxtakortikal, infratentoriell, Rückenmark) <p>oder</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Abwarten eines weiteren Schubes welcher eine andere ZNS-Region miteinschließt
1 Schub; eindeutige klinische Evidenz für ≥ 2 Läsionen	<p>Zeitliche Dissemination (DIT):</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Gleichzeitiges Vorhandensein von asymptomatischen Gadolinium-anreichernden und nicht-anreichernden Läsionen zu jeder Zeit <p>oder</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Eine neue T2- und/oder Gadolinium-anreichernde Läsion in der Verlaufsaufnahme, unabhängig von dessen zeitlichen Auftreten in Bezug auf die Erstaufnahme <p>oder</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Abwarten eines weiteren Schubes
1 Schub; eindeutige klinische Evidenz für 1 Läsion (klinisch isoliertes Syndrom => CIS)	DIS und DIT wie oben beschrieben
Progrediente neurologische Verschlechterung mit Verdacht auf MS (PPMS)	<p>Über 1 Jahr Fortschreiten der Erkrankung (retrospektiv und prospektiv beurteilt) sowie 2 der drei folgenden Kriterien:</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Beweis der DIS basierend auf ≥ 1 T2-Läsion in Regionen des ZNS typisch für MS (periventrikulär, juxtakortikal oder infratentoriell) ➤ Beweis der DIS basierend auf ≥ 2 T2-Läsionen im Rückenmark ➤ Positiver Liquor-Befund; oligoklonale Banden und/oder erhöhter IgG-Index in der isoelektrischen Fokussierung

DIS = Dissemination in space, DIT = Dissemination in time, ZNS = zentrales Nervensystem, CIS = clinically isolated syndrome, MS = Multiple Sklerose, PPMS = primary progressive multiple sclerosis

1.6 Die Magnetresonanztomographie (MRT)

1.6.1 Grundlagen der MRT

Da die MRT sowohl in der Diagnostik als auch in der Forschung einen bedeutenden Stellenwert besitzt, und auch in Rahmen der vorliegenden Diplomarbeit mit dieser Methode der Bildgebung gearbeitet wurde, sollen die physikalischen Grundprinzipien der MRT hier kurz erläutert werden.

Die MRT stellt eine Form der Bildgebung dar, die sich die quantenmechanischen Eigenschaften von Atomkernen, wobei hier besonders Wasserstoffatome im Vordergrund stehen, zunutze macht. Diese bestehen darin, dass die im Atomkern enthaltenen Protonen einen Eigendrehimpuls, einen sogenannten Spin, besitzen, welcher den Kernen ein magnetisches Moment verleiht. Durch Anlage eines Magnetfeldes, dessen Stärke in der Einheit Tesla (T) angegeben wird, kommt es nun zur Ausrichtung des Spins der Protonen parallel und antiparallel zu diesem Magnetfeld, wobei die parallele Ausrichtung überwiegt. Zusätzlich kommt es zu einer Präzessionsbewegung der Protonen, welche von der Stärke des Magnetfeldes abhängt und dazu führt, dass bei gleicher Magnetfeldstärke alle Protonenspins mit derselben Frequenz präzedieren. Diese Frequenz wird als Larmorfrequenz bezeichnet (Lechner & Breitenseher 2003, S. 41-42).

Durch Einstrahlung eines kurzen Radiofrequenzimpulses, welcher dieselbe Frequenz wie die Präzessionsbewegung hat, kommt es zu folgenden Veränderungen: die Spins der Protonen ändern ihre Richtung von parallel auf antiparallel und die Teilchen präzedieren synchron, also in Phase. Nach Ende des Radiofrequenzimpulses kommt es zur Umkehrung dieser Phänomene. Dieser Prozess wird als Relaxation bezeichnet (Lechner & Breitenseher 2003, S. 42-43).

Es werden zwei Relaxationsprozesse unterschieden. Die Rückkehr der Ausrichtung des Spins in seine ursprüngliche Orientierung wird als longitudinale Relaxation bezeichnet. Dabei wird die überschüssige Energie aus dem angeregten Zustand des Protons wieder an die Umgebung abgegeben, wobei die Eigenschaften der Umgebung die Geschwindigkeit, mit welcher die Energie abgegeben werden kann, beeinflussen. Mathematisch wird diese Rückkehr der Spins als T1-Relaxationszeit beschrieben (Lechner & Breitenseher 2003, S. 43).

Als transversale Relaxation wird die Dephasierung der präzedierenden Spins bezeichnet. Sie verlieren nach Ende des Radiofrequenzimpulses ihre synchrone Bewegung, wobei die Rate, mit der sie diese verlieren, mathematisch als T2-Relaxationszeit beschrieben wird. Diese wird ebenso wie die T1-Relaxationszeit durch umgebende Gewebeeigenschaften bestimmt (Lechner & Breitenseher 2003, S. 43).

Während dieser Relaxationsvorgänge kann das schwache elektromagnetische Signal durch Empfängerspulen gemessen werden. Die verschiedenen Relaxationszeiten der unterschiedlichen Gewebetypen macht man sich zur Kontrastierung der MRT-Aufnahmen zunutze. Durch Digitalisierung der gemessenen Signale und anschließende mathematische Transformation, die sogenannte Fourier-Transformation, entstehen schlussendlich MRT-Bilder in der T1- oder T2-gewichteten Sequenz (Schmidt & Hoffmann 2002, S. 129).

Neben diesen beiden konventionellen Methoden, die im klinischen Alltag weit verbreitete Anwendung finden, wird in der Forschung zur besseren Darstellung der Gewebeunterschiede und zur Darstellung des Zustandes und der Funktionalität des Gewebes zunehmend mit weiterentwickelten Sequenzen und quantitativen MRT-Methoden gearbeitet. Die Vorstellung dieser Methoden würde jedoch den Rahmen der vorliegenden Arbeit sprengen.

1.6.2 Die Läsionen in der MRT

Die Läsionen der MS können grundsätzlich im gesamten zentralen Nervensystem auftreten, deren Prädilektionsstellen sind jedoch der periventrikuläre Raum, wobei hier die Veränderungen oft direkt an die Ventrikel heranreichen, kortiko-subkortikale sowie infratentorielle Regionen. Häufig treten Hyperintensitäten in T2-gewichteten Aufnahmen um die vorderen und hinteren Hörner der Seitenventrikel auf, welche besonders zu Beginn der Erkrankung oft schwierig von sogenannten hyperintensiven Kappen, die auch in Normalbefunden erscheinen, zu unterscheiden sind. Der Begriff „Dawson`s Fingers“ bezeichnet Läsionen im Bereich des Balken, die die charakteristische Eigenschaft besitzen sich strahlenförmig in die Peripherie auszudehnen. In sagittalen Aufnahmen ist dieses Phänomen wesentlich besser

darzustellen als in axialen (Fazekas et al. 1999). Infratentorielle Läsionen befinden sich gehäuft im Bereich der Pons, der Kleinhirnstiele sowie am Boden des vierten Ventrikel (Offenbacher et al. 1993).

Als Goldstandard der MS-Diagnostik gilt die Spin-Echo (SE)-Sequenz. Im akuten sowie im chronischen Stadium zeichnen sich die Läsionen dabei durch hohe Signalintensität mit meist homogenem Signalverhalten in der T2- und PD (Protonendichte-)gewichteten MRT-Aufnahme aus (Schmidt & Hoffmann 2002, S.130-132). Charakteristisch sind meist gut umschriebene, rundliche bis ovale Formen mit einem Durchmesser von wenigen Millimetern bis zu mehr als einem Zentimeter. Inhomogenes Signalverhalten und unregelmäßige Konturen können sich durch mehrere konfluierende Läsionen ergeben. Bei einer geringen Anzahl von Patientinnen und Patienten zeigt sich ein völlig untypisches Bild (Wallner-Blazek et al. 2013). Dabei erscheinen vereinzelt große, rundliche Läsionen mit einem Durchmesser von mehreren Zentimetern, die an Tumore erinnern. Ein die Läsionen umgebender Ring geringerer Signalintensität ist auf die Bildung eines Ödems in der akut entzündlichen Phase zurückzuführen (Fazekas et al. 1999). Häufig, besonders in periventrikulären Bereichen, finden sich Signalalterationen auch zwischen und um Läsionen herum, deren Intensität derjenigen der grauen Substanz ähnelt. Derartige Unregelmäßigkeiten des Signalverhaltens werden als „dirty white matter“ bezeichnet, weisen Veränderungen des Myelingehalts auf und stellen Ursprungsorte neuer Läsionen dar (Zhao et al. 1998; Moore et al. 2008).

Auch innerhalb des Rückenmarks (RM) können anhand der T2-gewichteten MRT Läsionen nachgewiesen werden. Deren Auftreten korreliert im Allgemeinen mit ausgeprägten Pathologien im Gehirn, sie können aber auch völlig fehlen (Honig & Sheremata 1989). Bei etwa 5% der Patientinnen und Patienten mit klinisch gesicherter MS treten Läsionen isoliert im Rückenmark auf (Lycklama et al. 2003), was zur Diagnosesicherung im Falle eines Normalbefundes in der zerebralen MRT-Untersuchung beitragen kann (Thorpe et al. 1996). Die Läsionen des Rückenmarks zeigen in der sagittalen Ebene eine längliche, Zigarren-ähnliche Form, treten bevorzugt in den dorsalen Kolumnen auf, erstrecken sich über maximal zwei vertebrale Segmente und betreffen selten mehr als die Hälfte des Rückenmarkquerschnitts (Fazekas et al. 1999).

In der T1-gewichteten MRT-Aufnahme können bis zu 20% der in der T2-Wichtung sichtbaren Läsionen dargestellt werden (Schmidt & Hoffmann 2002, S. 132). Akute Läsionen erscheinen in der T1-Wichtung hypointens, diese sind jedoch meist innerhalb von 6 Monaten reversibel. Bleiben die hypointensen Areale über einen längeren Zeitraum bestehen, was für etwa 36% der Läsionen zutrifft, spricht dies für einen irreversiblen Gewebeschaden. Diese Läsionen werden als „black holes“ bezeichnet (Van Waesberghe et al. 1998). Die Irreversibilität des Gewebeschadens scheint dabei im Wesentlichen vom Ausmaß des axonalen Zellschadens innerhalb der Läsion abhängig zu sein (Bitsch et al. 2001). Im Unterschied zum zerebralen MRT ist das Auftreten von „black holes“ im spinalen MRT nicht üblich (Gass et al. 1998). Abbildung 1 zeigt ein Beispiel einer T1-gewichteten MRT-Aufnahme.



Abbildung 1: T1-gewichtete MRT-Aufnahme einer ausgewählten Patientin beziehungsweise eines ausgewählten Patienten

Zur Beurteilung der Krankheitsaktivität sowie für einen zusätzlichen Nachweis der zeitlichen Dissemination der Läsionen dient die T1-gewichtete MRT-Aufnahme nach Verabreichung des Kontrastmittels Gadolinium. Akut entzündliche Läsionen reichern dieses Kontrastmittel an, wodurch ein intensives, hyperintenses Signal in der T1-gewichteten Aufnahme entsteht. Die Anreicherung wird auf eine Störung der Blut-Hirn-Schranke in der akutentzündlichen Phase zurückgeführt und kann bei etwa 75% der Läsionen in einem Zeitraum von meist weniger als vier Wochen beobachtet werden (Schmidt & Hoffmann 2002, S. 134).

Trotz guter Darstellung der signalintensiven Läsionen in der T2- und PD-gewichteten Aufnahme ist die Identifizierung subkortikaler sowie die Abgrenzung liquornaher Läsionen aufgrund des hellen Liquorsignals oft schwierig (Schmidt & Hoffmann 2002, S. 130). Die Fluid Attenuated Inversion Recovery (FLAIR) Sequenz bringt hier wesentliche Vorteile. Dabei wird das Signal ausgehend von Flüssigkeiten in T2-gewichteten Aufnahmen unterdrückt, wodurch die inneren und äußeren Liquorräume, die Virchow-Robin-Räume und andere Flüssigkeitsansammlungen schwarz dargestellt werden. Zusätzlich kommt es zu einer Verbesserung des Kontrastes zwischen den verschiedenen Gewebetypen und zur Verringerung von Partialvolumeneffekten. Somit ist die FLAIR-Sequenz bei der Darstellung periventrikulärer, subkortikaler und besonders bei der Detektion juxtakortikaler Läsionen der T2-Sequenz überlegen (Filippi et al. 1996; Bakshi et al. 2001). Lediglich infratentorielle Läsionen werden mittels FLAIR schlechter erfasst als mit T2-Sequenzen (Filippi et al. 1996). Abbildung 2 zeigt zum Vergleich die FLAIR-Sequenz derselben Patientin beziehungsweise desselben Patienten wie in Abbildung 1.

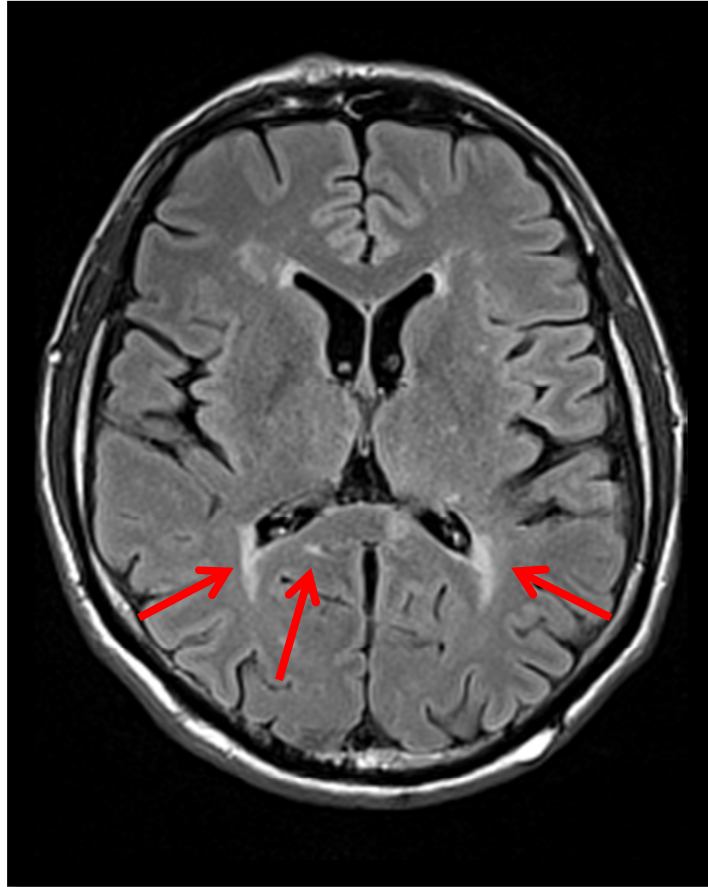


Abbildung 2: FLAIR-Sequenz einer ausgewählten Patientin beziehungsweise eines ausgewählten Patienten. Die roten Pfeile markieren die Läsionen.

1.6.3 Das „klinisch-radiologische Paradoxon“

Wie bereits beschrieben gilt die MRT als essentieller Bestandteil in der Diagnostik der MS sowie in Verlaufsuntersuchungen der Patientinnen und Patienten. Es wäre logisch anzunehmen, dass eine höhere Läsionslast in der konventionellen T1- und T2-gewichteten MRT-Aufnahme mit einem höheren Grad körperlicher und kognitiver Beeinträchtigung einhergeht, und umgekehrt. Zwar wird dieser Zusammenhang durch Studien immer wieder bestätigt, die Korrelationen sind meist jedoch nur schwach ausgeprägt (Filippi et al. 1995; Nijeholt et al. 1998; Miki et al. 1999; Li et al. 2006).

Teilweise gibt es sogar ausgeprägte Diskrepanzen zwischen Läsionslast im MRT und EDSS, dieses Phänomen wird als „klinisch-radiologisches Paradoxon“

bezeichnet. Die Gründe für diese beobachtbare Diskrepanz zwischen den ausgeprägten Befunden der Bildgebung und der Klinik der Patientinnen und Patienten geben Einblicke in die Komplexität und Heterogenität der Erkrankung.

Die Faktoren, die zu einer ausgeprägten Klinik bei geringer Läsionslast im MRT beitragen, sind vielfältig. Die T2-gewichtete MRT Sequenz stellt eine sensitive Methode zur Darstellung fokaler Läsionen dar, lässt jedoch nur wenig Rückschlüsse auf die zugrundeliegende Morphologie und besonders auf das Ausmaß des axonalen Zellschadens zu (Barkhof 2002). Die Schädigung und der Verlust von Axonen, gemessen anhand des N-Acetylaspartat im Gehirn, korreliert signifikant mit der körperlichen und kognitiven Beeinträchtigung von Patientinnen und Patienten (De Stefano et al. 1998; De Stefano et al. 2001), tritt sowohl innerhalb von Läsionen als auch in der im MRT normal erscheinenden weißen Substanz, der sogenannten „normal appearing white matter“ (NAWM), auf (Evangelou et al. 2000; Frischer et al. 2009) und wird als einer der Hauptursachen für die progrediente Gehirnatrophie bei MS-Patientinnen und -Patienten betrachtet (Minagar 2004).

Zudem korreliert auch das Ausmaß der kortikalen Pathologie mit vermehrter kognitiver und körperlicher Beeinträchtigung (Calabrese et al. 2009a; Calabrese et al. 2010), jedoch können Läsionen die innerhalb des Kortex liegen mittels herkömmlichen MRT-Methoden nur unzureichend erfasst werden (Daams et al. 2013; Seewann et al. 2011). Diese und weitere Faktoren, wie zum Beispiel die vielfach wenig berücksichtigte spinale Pathologie (Barkhof et al. 2002), tragen zur Erklärung und Relativierung des „klinisch-radiologischen Paradoxon“ bei. Ein weiterer Aspekt in diesem Zusammenhang ist die neuronale Plastizität (Enzinger & Fazekas 2015). Die hier angesprochenen Themen der kortikalen Pathologie und der neurodegenerativen Veränderungen werden in den nachfolgenden Kapiteln ausführlicher behandelt.

Neben der Frage, welche pathologischen Veränderungen die klinische Progression der Erkrankung vorantreiben, wird zunehmend die Fähigkeit des Gehirns, irreversiblen Gewebeschaden durch Adaptation zu kompensieren, erforscht. Zu diesem Ansatz beigetragen haben Beobachtungen von Patientinnen und Patienten mit besonders ausgeprägter Läsionslast im MRT, jedoch

überraschend wenig körperlicher und kognitiver Beeinträchtigung (Strasser-Fuchs et al. 2008). In einer Studie mit MS-Patientinnen und -Patienten wurde nachgewiesen, dass es bei MS-Patientinnen und -Patienten ohne neurologische Ausfallssymptomatik bei Bewegung der Finger zu einer vermehrten Aktivität im ipsilateralen Motorkortex kommt. Die vermehrte Aktivität korrelierte dabei mit einer Reduktion des N-Acetylaspartat im Gehirn, das, wie bereits erwähnt, als Marker des axonalen Zellschadens herangezogen werden kann. Derartige Veränderungen der Gehirnaktivität sprechen für die Ausbildung kompensatorischer Mechanismen und könnten zur Erklärung der Dissoziation zwischen der Bildgebung und der klinischen Symptomatik beitragen (Reddy et al. 2000).

1.7 Die Verlaufsformen der MS

Die Heterogenität der MS spiegelt sich auch in ihren verschiedenen Verlaufsformen wider. Seit 1996 werden vier Formen unterschieden (Lublin & Reingold 1996). Eine Revision der Kriterien folgte 2014 (Lublin et al. 2014).

- 1) Relapsing-remitting (RR) MS: Die schubförmig-remittierende MS ist charakterisiert durch wiederkehrende akute Krankheitsschübe, die sich durch das Auftreten neuer, fokal neurologischer Symptome beziehungsweise durch die Verschlechterung bereits bestehender Symptome definieren. Die Symptome müssen über mindestens 24 Stunden bestehen und bilden sich in der Remission teilweise oder vollständig wieder zurück. Zwischen diesen Schüben liegen krankheitsfreie Intervalle, in denen es zu keiner weiteren Progression der Symptomatik kommt. Um aufeinanderfolgende Schübe voneinander abzugrenzen, wurde für das krankheitsfreie Intervall ein Mindestzeitraum von 30 Tagen festgelegt (McDonald et al. 2001). Bis zu 85% der Patientinnen und Patienten zeigen zum Zeitpunkt der Diagnose einen schubförmig-remittierenden Verlauf. Die RRMS stellt damit die häufigste Erkrankungsform dar (Confavreux et al. 2000). Die durchschnittliche Frequenz der Schübe liegt bei 0.93/Jahr, variiert individuell je nach Schwere der Erkrankung jedoch zwischen 1 und 8 Schüben pro Jahr (Scalfari et al. 2010).

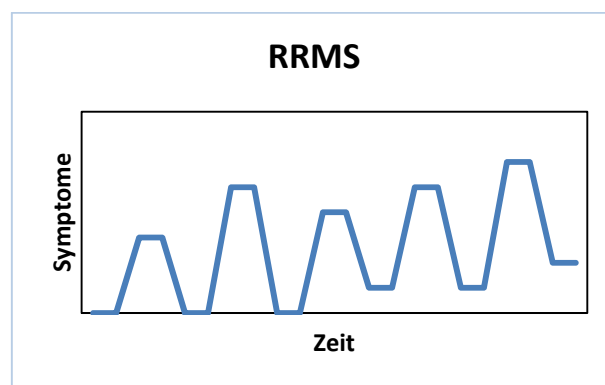


Abbildung 3: Schematische Darstellung des schubförmig-remittierenden Verlaufs der MS, modifiziert nach Schmidt & Hoffmann 2002

- 2) Primary-progressive (PP) MS: Charakteristisch für die primär-progrediente MS ist die kontinuierliche Verschlechterung der Symptomatik von Beginn der Erkrankung an. Plateauphasen sowie Fluktuationen mit teilweiser Verbesserung der Beschwerden können vorkommen, schubförmige Episoden treten aber nicht auf. Nur etwa 10-15% der MS-Patientinnen und -Patienten sind von der PPMS betroffen (Miller & Leary 2007).

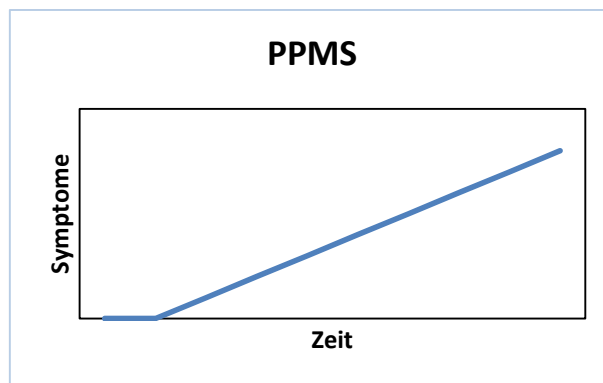


Abbildung 4: Schematische Darstellung des primär-progredienten Verlaufs der MS, modifiziert nach Schmidt & Hoffmann 2002

- 3) Secondary-progressive (SP) MS: Die sekundär-progrediente MS kann als Langzeitfolge der RRMS angesehen werden. Nach anfänglich schubförmig-remittierendem Verlauf kommt es nach unterschiedlich lange bestehender Erkrankung zu einer progredienten Phase, in der weitere Schübe, Fluktuationen oder Plateauphasen auftreten können. Bis zu 80% der RRMS-Patientinnen und -Patienten zeigen im weiteren Verlauf nach 25 Jahren einen Übergang in die SPMS (Weinshenker et al. 1989; Scalfari et al. 2010).

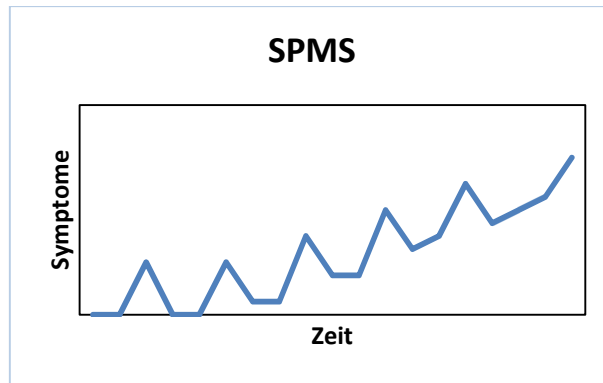


Abbildung 5: Schematische Darstellung des sekundär-progredienten Verlaufs der MS, modifiziert nach Schmidt & Hoffmann 2002

- 4) Progressive-relapsing (PR) MS: Die primär-progrediente MS mit Schüben stellt eine selten auftretende Kombination aus RRMS und PPMS dar. Die Erkrankung zeigt von Beginn an eine kontinuierliche Progression der Symptomatik, zusätzlich treten klar abgrenzbare Schübe mit teilweiser oder vollständiger Remission auf.

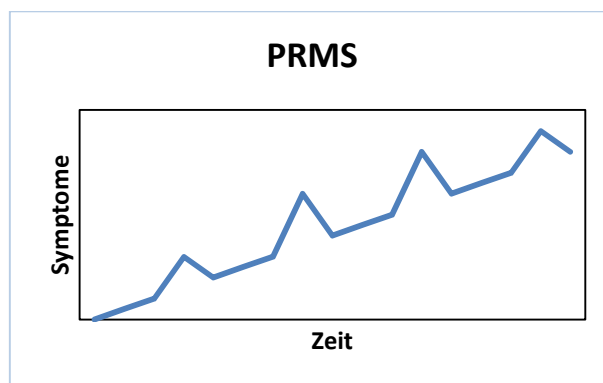


Abbildung 6 : Schematische Darstellung des primär-progredienten Verlaufs der MS mit Schüben, modifiziert nach Schmidt & Hoffmann 2002

Hinzuzufügen ist, dass diese vier Möglichkeiten der Manifestation der MS-Phänotypen lediglich die Art des Erkrankungsverlaufs beschreiben, jedoch keine Aussage über die Schwere der Symptomatik sowie über die Krankheitsaktivität zulassen. Um auch diese Aspekte zu berücksichtigen, wurden die Begriffe „maligne MS“ und „benigne MS“ eingeführt. Als benigne wird der Verlauf bezeichnet, wenn die Patientin/der Patient in allen seinen neurologischen Systemen auch nach 15 Jahren ab Erkrankungsbeginn voll funktionsfähig ist (Lublin & Reingold 1996). Die Bezeichnung „benigne“ soll jedoch mit Vorsicht und nur retrospektiv kommuniziert werden, da die Dynamik der MS nicht ausschließt, dass sich nach einem anfangs benignem Verlauf ein maligner Verlauf, mit rascher Progression und Entwicklung signifikanter körperlicher Behinderung innerhalb kurzer Zeit, anschließt.

1.7.1 Das klinisch isolierte Syndrom (CIS)

2014 wurde dem Konsens über die vier Verlaufsformen der MS von 1996 eine fünfte Form hinzugefügt; das klinisch isolierte Syndrom (CIS) (Lublin et al. 2014). Das CIS stellt eine mit bis zu 85% häufige Erstmanifestation der MS dar, bei der die charakteristischen Eigenschaften einer entzündlich demyelinisierenden Erkrankung gegeben sind, die Kriterien der zeitlichen Dissemination (siehe Kapitel 1.5 „Diagnostik der MS“) jedoch erst erfüllt werden müssen (Miller et al. 2005). Studien haben gezeigt, dass das Risiko eine klinisch sichere MS zu entwickeln, bei Patientinnen und Patienten die zum Zeitpunkt der Diagnose CIS bereits typische Läsionen der weißen Substanz im MRT aufweisen, mit bis zu 83% besonders hoch ist (Filippi et al. 1994; O`Riordan et al. 1998).

1.7.2 Prognostische Faktoren

Einige Studien mit dem Ziel, klinische Faktoren zu ermitteln, anhand denen eine prognostische Aussage im Bezug auf den weiteren Verlauf der Erkrankung möglich ist, kamen zu folgenden übereinstimmenden Ergebnissen: das weibliche Geschlecht, ein akuter Beginn der Erkrankung, ein primär schubförmig-remittierender Verlauf, ein hoher Grad an Remission nach dem ersten Schub

sowie eine monoregionale Symptomatik zu Erkrankungsbeginn weisen auf einen günstigen Verlauf hin (Runmarker & Andersen 1993; Riise et al. 1992). Zusätzlich wirkt sich ein längeres Zeitintervall zwischen erstem und zweitem Schub sowie eine geringe Anzahl an Schüben innerhalb der ersten 5 Jahre positiv auf die Prognose aus (Confavreux et al. 2003; Scalfari et al. 2010). Hingegen sind ein primär-progredienter Verlauf und ein Erkrankungsbeginn nach dem 40. Lebensjahr mit einer schnelleren Progression assoziiert (Hawkins & McDonnell 1999). Zudem hat sich gezeigt, dass Patientinnen und Patienten mit rein sensibler Symptomatik zu Beginn der Erkrankung oder mit einer Neuritis nervi optici als Erstmanifestation einen in Folge milderen Verlauf aufweisen, als Patientinnen und Patienten mit initialen pyramidalen oder zerebellären Funktionsstörungen (Riise et al. 1992; Hawkins & McDonnell 1999; Confavreux et al. 2003; Scalfari et al. 2010). Trotz der hier präsentierten Ergebnisse gilt, dass aufgrund des dynamischen Charakters der MS keine zuverlässigen Aussagen anhand klinischer Faktoren bezüglich der Prognose getroffen werden können.

1.8 Die pathologischen Veränderungen bei MS

1.8.1 Die Heterogenität der MS

Das herausstechende Merkmal der MS ist die Bildung multipler, teilweise konfluierender, demyelinisierender Läsionen sowohl in der weißen als auch in der grauen Substanz des Gehirns (Peterson et al. 2001; Lassmann et al. 2007) und des Rückenmarks (Fazekas et al. 1999; Gilmore et al. 2006). Neben der Destruktion der Myelinscheide kommt es innerhalb der Läsionen in unterschiedlicher Ausprägung zusätzlich zur Schädigung und zum Verlust von Axonen (Trapp et al. 1998; Frischer et al. 2009), Astrozyten (Brosnan & Raine 2013) und Neuronen (Magliozzi et al. 2010). Die Prozesse, die zu einer akuten strukturellen Gewebeschädigung im ZNS führen, spielen sich in allen Stadien der Erkrankung vor dem Hintergrund eines entzündlichen Geschehens ab. Die entzündlichen Infiltrate bestehen dabei besonders aus CD8 positiven T-Lymphozyten, B-Lymphozyten, und in späteren Stadien vermehrt Plasmazellen (Frischer et al. 2009). Der demyelinisierende Prozess selbst sowie der axonale und neuronale Zellschaden scheinen dabei vor allem durch aktivierte Mikroglia und Makrophagen vorangetrieben zu werden (Lassmann 2014).

Klassische aktive Läsionen, die am häufigsten in akuten Stadien und der schubförmig-remittierenden MS zu finden sind, zeigen die höchste Anzahl an infiltrierenden Lymphozyten (Kutzelnigg et al. 2005; Frischer et al. 2009). Zusätzlich finden sich Makrophagen, beladen mit Myelin-Abbauprodukten, innerhalb dieser Läsionen (Lassmann et al. 2007). In progredienten Formen der MS nimmt die Zahl der sich neu bildenden, klassisch aktiven Läsionen ab, jedoch kommt es bei bestehenden Läsionen häufig zu einer langsamen Größenzunahme durch Expansion an ihren äußeren Rändern, bei geringerer Anzahl infiltrierender Entzündungszellen (Prineas et al. 2001; Frischer et al. 2009). Zudem nimmt die Zahl der Makrophagen in progredienten Läsionen ab. An deren Stelle treten vermehrt aktivierte Mikroglia, besonders an den Außenrändern der Läsionen (Prineas et al. 2001).

Ein weiteres Merkmal des progredienten Stadiums ist die teilweise massive Anhäufung kortikaler Läsionen (Kutzelnigg et al. 2005; Lucchinetti et al. 2011). Die

Charakteristika dieser Läsionen werden in den Kapiteln 1.8.2 und 1.8.3 ausführlicher beschrieben.

Zusätzlich kommt es in den progredienten Stadien zu einer vermehrten, diffusen Beteiligung der auf MRT-Aufnahmen normal erscheinenden weißen sowie grauen Substanz im Krankheitsprozess (Kutzelnigg et al. 2005; Frischer et al. 2009; Rovaris et al. 2002). Histopathologisch zeigt sich dabei eine diffuse Infiltration des Gewebes durch T-Lymphozyten und eine perivaskuläre Ansammlung mononuklearer Zellen. Begleitend kommt es zu einer ausgeprägten Aktivierung der Mikroglia, die wiederum mit der Degeneration von Axonen in der gesamten weißen Substanz assoziiert ist (Kutzelnigg et al. 2005). Der Grad der entzündlichen Aktivität korreliert dabei in allen Stadien der Erkrankung mit dem Ausmaß des axonalen Zellschadens und Verlusts (Frischer et al. 2009).

An dieser Stelle muss auf eine weitere Besonderheit der MS hingewiesen werden. Trotz des histopathologischen Nachweises entzündlicher Aktivität in progredienten Stadien der MS, konnten MRT-Untersuchungen nur wenig Anzeichen einer defekten Blut-Hirn-Schranke, die in frühen Formen mittels der Verabreichung des Kontrastmittels Gadolinium gut darstellbar ist und das Einschwemmen von Lymphozyten erklärt, gefunden werden. Es scheint, als würde die inflammatorische Reaktion in progredienten Stadien der MS hinter einer wiederhergestellten Blut-Hirn-Schranke eingeschlossen werden und sich somit der Kontrolle des peripheren Immunsystems entziehen (Lassmann et al. 2007; Hochmeister et al. 2006).

Die Veränderungen innerhalb des normal erscheinenden Hirngewebes, besonders der Verlust von Axonen, wird als hauptverantwortlich für die gut messbare, progrediente Gehirnatrophie von MS-Patientinnen und -Patienten betrachtet (Minagar et al. 2004). In Kapitel 1.8.4 wird auf die neurodegenerativen Mechanismen genauer eingegangen.

Die auslösenden Mechanismen, die die Bildung entzündlich demyelinisierender Läsionen zur Folge haben, sind bis heute nicht geklärt (Lassmann et al. 2007). Histopathologische Studien weisen darauf hin, dass möglicherweise unterschiedliche immunopathologische Prozesse zu der Entstehung

demyelinisierender Läsionen beitragen. Lucchinetti et al. (2000) konnten durch die Untersuchung von Biopsiematerial insgesamt vier verschiedene Muster akut entzündlicher Läsionen beschreiben, deren Charakteristika auf verschiedene Mechanismen der Demyelinisierung in MS hinweisen. Während die Infiltration durch T-Lymphozyten und Makrophagen allen vier Läsionsmustern gemein ist, weisen Muster 1 und 2 Ähnlichkeiten mit der autoimmunen Enzephalomyelitis auf. Muster 2 Läsionen unterscheiden sich hauptsächlich durch eine prominente Deposition von Immunglobulinen und Komplementfaktoren von Muster 1 Läsionen, was für eine Rolle von Antikörpern in deren Genese spricht. Die Bildung von Muster 1 Läsionen scheint eher durch die Freisetzung zytotoxischer Faktoren bedingt zu sein. Im Unterschied dazu steht in Muster 3 und 4 die Dystrophie von Oligodendrozyten im Vordergrund. Zeichen der Remyelinisierung im akut geschädigten Gewebe konnten dabei in allen Läsionen nachgewiesen werden.

In diesem Zusammenhang ist die Tatsache interessant, dass die Muster Läsionen intraindividuell homogen auftreten während eine interindividuelle Heterogenität besteht. Zudem scheinen die Läsionen im Langzeitverlauf der Erkrankung ihr Muster nicht zu verändern (Metz et al. 2014).

Die verschiedenen pathologischen Veränderungen bei MS sind vielfältig und deren genauen Entstehungsmechanismen und Zusammenhänge noch wenig verstanden. Fischer et al. (2013) konnten nachweisen, dass die Kombination aus Entzündung, primärer plaque-artiger Demyelinisierung und neurodegenerativer Veränderung innerhalb des Kortex spezifisch für die MS ist und nicht bei anderen Erkrankungen, die durch CD8 positive Lymphozyten, B-Zellen oder komplexe chronische Entzündungen mediiert sind, auftreten.

Um die Hintergründe der Fragestellung der vorliegenden Arbeit besser verständlich zu machen, wird in den folgenden Kapiteln auf eine Auswahl der pathologischen Veränderungen bei MS, besonders auf die Pathologie im Kortex, näher eingegangen.

1.8.2 Die Läsionen in der grauen Substanz

Die pathologischen Veränderungen im Kortex bei MS-Patientinnen und -Patienten umfassen einerseits diffuse Veränderungen innerhalb der grauen Substanz (Calabrese et al. 2011) und andererseits fokale, gut abgrenzbare, demyelinisierende Läsionen ähnlich denen der weißen Substanz. Anhand der Lokalisation der demyelinisierenden Plaque lassen sich die Läsionen in 4 Typen einteilen (Peterson et al. 2001; Bo et al. 2003a):

Typ 1 Läsionen oder leukokortikale Läsionen liegen in den tiefen Schichten des Kortex und erstrecken sich bis in die subkortikale weiße Substanz.

Typ 2 Läsionen liegen gänzlich innerhalb des Kortex, sind klein und umgeben meist ein Gefäß.

Typ 3 Läsionen stellen die häufigste Läsionsform dar. Sie erstrecken sich von der Kortexoberfläche bis in die Schichten 3 und 4.

Typ 4 Läsionen umfassen die gesamte Kortexbreite, ohne dabei in die weiße Substanz auszulaufen.

Typ 3&4 werden auch als subpiaie Läsionen bezeichnet und können mehrere Gyri auf einmal umfassen und somit zu einer ausgeprägten globalen Demyelinisierung des Kortex führen. Rein intrakortikal gelegene Läsionen (Typen 2-4) stellen mit 66%-84% den Hauptanteil der kortikalen Pathologie dar (Peterson et al. 2001; Bo et al. 2003a).

Topographisch findet man die Läsionen der grauen Substanz vermehrt in den Sulci und hier besonders in den tiefen Einkerbungen der Kortexoberfläche wie der Insel, dem Cingulum, dem frontobasalem und temporobasalem Kortex sowie dem Kleinhirn (Kutzelnigg & Lassmann 2006; Kutzelnigg et al. 2007). Zusätzlich können auch das Rückenmark und tiefergelegene Strukturen der grauen Substanz von solchen plaque-artigen Veränderungen betroffen sein, wie zum Beispiel der Thalamus, die Basalganglien, der Hypothalamus und der Hippocampus (Vercellino et al. 2009; Huitinger et al. 2001; Gilmore et al. 2006).

Läsionen dieser Art stellen besonders bei progredienten Formen der MS einen wesentlichen Teil der gesamten zerebralen Pathologie dar und konzentrieren sich

auf den subpialen Kortex (Kidd et al. 1999; Peterson et al. 2001; Bo et al. 2003a; Kutzelnigg et al. 2005; Kutzelnigg et al. 2007). Jedoch können kortikale Läsionen in geringerem Ausmaß auch bei sehr frühen Stadien der Erkrankung wie dem CIS oder zu Beginn einer RRMS nachgewiesen werden, zum Teil noch bevor klassische demyelinisierende Läsionen der weißen Substanz in der T2-Wichtung sichtbar sind (Kutzelnigg et al. 2005; Calabrese et al. 2007a; Calabrese & Gallo 2009; Oreja-Guevara et al. 2005; Lucchinetti et al. 2011).

Calabrese et al. (2010) haben in einer longitudinalen Studie die jährliche Zunahme der kortikalen Läsionen zwischen RRMS-Patienten und SPMS-Patienten verglichen, wobei sich herausgestellt hat, dass die Wachstumsrate in diesen beiden Patientengruppen annähernd dieselbe ist. Somit scheint die Progression kortikaler Pathologie unabhängig von der Verlaufsform zu sein und die massive Häufung kortikaler Läsionen im progredienten Stadium könnte auf die Dauer der Erkrankung zurückgeführt werden. Zudem kommt es selbst nach lange bestehender Erkrankung innerhalb des Kortex zu ausgeprägten Remyelinisierungsvorgängen, woraus man schließt, dass in frühen Stadien die Myelinscheide akut geschädigter Bereiche besonders rasch und effizient wieder hergestellt wird. Die Remyelinisierung erfolgt jedoch häufig inkomplett, wodurch es mit der Zeit zu einer messbaren Abnahme der kortikalen Dicke kommt. Diese Vorgänge können Grund dafür sein, dass zu Beginn der Erkrankung das Ausmaß der Schädigung oft nicht vollständig dargestellt werden kann und in späteren Stadien die pathologischen Veränderungen besonders ausgeprägt imponieren (Merkler et al. 2006; Albert et al. 2007).

1.8.3 Die Histologie der Veränderungen in der grauen Substanz

Histologische Untersuchungen der kortikalen Läsionen an post-mortem Gehirnen von MS-Patientinnen und -Patienten mit vorwiegend progredientem Krankheitsverlauf haben gezeigt, dass es neben ausgeprägter Demyelinisierung, ähnlich wie in Läsionen der weißen Substanz, zur Schädigung und zum Verlust von Oligodendrozyten, Axonen, Synapsen und Neuronen kommt (Peterson et al. 2001; Wegner et al. 2006; Magliozzi et al. 2007; Magliozzi et al. 2010). Hingegen

weisen die kortikalen Läsionen signifikant weniger lymphozytäre Infiltrate, eine intakte Blut-Hirn-Schranke und eine wesentlich geringere Ablagerung von Komplementfaktoren auf. Die Mehrheit der phagozytierenden Zellen stellen aktivierte Mikroglia dar, die bevorzugt um Axone und Neurone herum zu finden sind, woraus man schließt, dass sie maßgeblich zu deren Schädigung und Verlust beitragen (Peterson et al. 2001; Bo et al. 2003b; Van Horssen et al. 2007; Brink et al. 2005).

Der nicht-inflammatorische Charakter kortikaler Läsionen in progredienten Stadien der Erkrankung warf Fragen bezüglich der Zusammenhänge zwischen den entzündlichen Vorgängen und der Entstehung von Läsionen in den unterschiedlichen Regionen des ZNS auf. Lucchinetti et al. (2011) konnten jedoch zeigen, dass sich die Morphologie kortikaler Läsionen in Abhängigkeit vom Krankheitsstadium unterschiedlich zusammensetzt. Die Untersuchung von Biopsiematerial von Patientinnen und Patienten zum Zeitpunkt der Diagnose CIS oder RRMS hat gezeigt, dass innerhalb kortikaler Läsionen in frühen Stadien der Erkrankung neben dem Verlust von Oligodendrozyten, Axonen, Synapsen und Neuronen, regelmäßig auch ausgeprägte entzündliche Infiltrate, bestehend aus CD3 und vor allem CD8 positiven Lymphozyten und B-Zellen, sowie mit Myelin beladene Makrophagen, die für eine aktive Demyelinisierung sprechen, zu finden sind. Dieses Bild gleicht wiederum der Morphologie in Läsionen der weißen Substanz. Popescu et al. (2011) beschreiben zudem einen Patienten, der zu Beginn der Erkrankung ausschließlich im Kortex gelegene Läsionen mit ausgeprägtem entzündlichen Charakter aufwies. Die Idee eines primär neurodegenerativen Prozesses, der unabhängig von einem entzündlichen Geschehen innerhalb des Parenchyms zu den Pathologien im Kortex führt, wird durch diese Ergebnisse in Frage gestellt.

Als mögliche Gründe für die unterschiedlichen histologischen Charakteristika der Läsionen in verschiedenen Stadien der Erkrankung wird einerseits das Zeitintervall zwischen der Entstehung einer Läsion bis zur Autopsie genannt, sowie andererseits die unterschiedlichen Stadien der Entzündung, die eine Läsion im Verlauf der Erkrankung durchwandert (Popescu et al. 2011). Zudem konnte im Tiermodell der MS, der Experimentellen Autoimmunen Enzephalomyelitis (EAE)

gezeigt werden, dass entzündliche Vorgänge innerhalb von akut entstehenden Läsionen der grauen Substanz eine ausgeprägte Potenz zur Heilung mit nachfolgender, bereits im vorigen Kapitel angesprochener, Remyelinisierung aufweisen. Prozesse, die zur Heilung der entzündlichen Reaktion führen, könnten mitverantwortlich für die unterschiedlichen histologischen Erscheinungsbilder sein (Merkler et al. 2006).

1.8.4 Atrophie und neurodegenerative Mechanismen

Neben den oben beschriebenen zerebralen Pathologien kommt es bei MS-Patientinnen und -Patienten zusätzlich zu einer generalisierten progredienten Abnahme des Gehirnvolumens, die sowohl bei schubförmigen als auch bei progredienten Formen nachweisbar ist (Losseff et al. 1996; Chard et al. 2002; Ge et al. 2000; De Stefano et al. 2003; Calabrese et al. 2007b). Die Atrophie kann, besonders in frühen Stadien der Erkrankung wie dem CIS, auch isoliert kortikale Regionen betreffen und deren Ausmaß als prognostischer Faktor für die Entwicklung einer gesicherten MS herangezogen werden (Dalton et al. 2004). Untersuchungen haben ergeben, dass frontale und temporale Areale sowie im weiteren Verlauf der Erkrankung auch motorische Areale des Kortex besonders betroffen sind (Sailer et al. 2003).

Die kortikale Atrophie ist bei Patientinnen und Patienten mit sekundärprogredienter MS am stärksten ausgeprägt und hängt im Besonderen mit diffusen Veränderungen in der normal erscheinenden weißen Substanz zusammen. Eine solche Assoziation dieser diffusen Veränderungen mit den Läsionen der weißen Substanz konnte nicht gefunden werden (Ge et al. 2000; De Stefano et al. 2003; Steenwijk et al. 2014). Die Beobachtung, dass diese Zusammenhänge im Allgemeinen bei progredienten Formen der MS weniger stark ausgeprägt sind als bei frühen Formen der MS, hat Grund zu der Annahme gegeben, dass sich ab einem bestimmten Zeitpunkt der Erkrankung der neurodegenerative Prozess zumindest teilweise unabhängig von den Läsionen der weißen Substanz weiterentwickelt und ihm somit ein eigenständiger pathologischer Mechanismus zugrunde liegt (De Stefano et al. 2003; Steenwijk et al. 2014). Wichtig zu

erwähnen ist auch, dass in allen vorgestellten Arbeiten die Zunahme des Behinderungsgrades gemessen anhand der EDSS mit einer Abnahme des kortikalen Volumens korreliert (Steenwijk et al. 2014; De Stefano et al. 2003; Ge et al. 2000). Auch rein kognitive Symptome zeigen eine solche Korrelation (Calabrese et al. 2009).

Die genauen Mechanismen, die der Atrophie im zentralen Nervensystem bei MS zugrunde liegen, sind noch nicht vollständig geklärt. Die Akkumulation fokaler demyelinisierender Läsionen, neuronaler Zelluntergang und im Besonderen die Degeneration von Axonen scheinen im Wesentlichen für die Abnahme des Hirnvolumens verantwortlich zu sein. Somit gilt die Atrophie als sensibles Maß der neurodegenerativen Komponente bei MS (Miller et al. 2002; Minagar et al. 2004).

Die Schädigung von Axonen, die einerseits traumatisch, andererseits auch durch toxische Einflüsse von Entzündungsmediatoren bedingt sein kann, stellt eine charakteristische Eigenschaft der Pathologie bei MS dar. Sie tritt nicht nur innerhalb von Läsionen sondern auch in läsionsfreien Regionen auf, und kann über eine anterograde Degeneration der Axonenden im Sinne einer Wallerschen Degeneration sowie über einen retrograden Untergang des Zellkörpers zu massivem Axonverlust führen (Trapp et al. 1998; Peterson et al. 2001; De Stefano et al. 2001; Kutzelnigg et al. 2005; Minagar et al. 2004).

Mittels MR-Spektroskopie konnte nachgewiesen werden, dass es bereits zu Beginn der Erkrankung zur Schädigung von Axonen kommt und diese mit dem Grad der Behinderung korreliert (De Stefano et al. 2001). Dass es einen unmittelbaren Zusammenhang zwischen den entzündlichen und neurodegenerativen Vorgängen im ZNS von MS-Patientinnen und -Patienten gibt, belegt die Studie von Frischer et al. (2009). Das Ausmaß des axonalen Zellschadens korrelierte in allen Stadien der Erkrankung mit dem Ausmaß der zugrundeliegenden entzündlichen Aktivität.

Eine erst kürzlich veröffentlichte Studie zeigte außerdem, dass die Größe und Dichte von Neuronen und Axonen das Volumen der grauen Substanz maßgeblich bestimmen (Popescu et al. 2015). Neuronaler Zellverlust im Kortex, vor dem

Hintergrund einer massiven meningealen Entzündung, konnte durch eine weitere Studie von Magliozzi et al. (2010) nachgewiesen werden.

1.9 Methoden der Bildgebung zur Darstellung der kortikalen Pathologie

Die Detektion der Läsionen der grauen Substanz mittels herkömmlichen MRT-Techniken gestaltet sich schwierig. An post-mortem Gehirnen durchgeführte Studien, bei denen die Rate der immunhistochemisch festgestellten mit den sichtbaren Läsionen in konventionelle MRT-Aufnahmen, wie der T1-Wichtung mit Kontrastmittelverabreichung, der T2-Wichtung und FLAIR, verglichen wurden, ließen eine große Diskrepanz diesbezüglich erkennen (Kidd et al. 1999; Geurts et al. 2005b; Daams et al. 2013). Mögliche Gründe dafür sind der geringere Myelingeht im Kortex, wodurch die graue Substanz eine längere Relaxationszeit aufweist als die weiße Substanz und somit der Kontrast zwischen Läsion und normaler grauer Substanz wesentlich geringer ist, sowie Partialvolumeneffekte in liquornahen Bereichen. Zusätzlich scheint die geringere Zelldichte in kortikalen Läsionen und der nicht-inflammatorische Charakter der Läsionen in progredienten Stadien für weniger ausgeprägte Signalunterschiede in der MRT mitverantwortlich zu sein (Kidd et al. 1999; Geurts et al. 2005b; Daams et al. 2013). Darüber hinaus stellt die Tatsache, dass viele intrakortikal gelegene Läsionen sehr klein sind, eine weitere Herausforderung in deren Detektion dar (Seewann et al. 2011).

Neue MRT Techniken, die speziell Läsionen im Kortex besser erkennbar machen und durch kurze Untersuchungszeiten im klinischen Alltag Gebrauch finden könnten, werden laufend getestet. Unter die vielversprechendsten Methoden die derzeit zur Verfügung stehen fällt die Double Inversion Recovery (DIR) Sequenz. Bei dieser Technik wird neben dem Liquorsignal zusätzlich das Signal der weißen Substanz unterdrückt (Daams et al. 2013). DIR weist eine hohe pathologische Spezifität von bis zu 90% und, verglichen mit der FLAIR-Sequenz, eine größere Sensitivität in Bezug auf die Pathologien der grauen Substanz auf (Geurts et al. 2005a; Seewann et al. 2012). Um die Zahl falsch positiver Ergebnisse aufgrund von Artefakten und dem geringen Signal-Rausch-Verhältnis der DIR-Sequenz so gering wie möglich zu halten, wurden 2011 Empfehlungen zur Bildinterpretation gegeben. Diese schlagen vor, dass Läsionen der grauen Substanz in der DIR Sequenz eindeutig hyperintens erscheinen, mindestens drei Pixel umfassen und über mehrere Schnitte verfolgbar sein müssen. Der Vergleich mit anderen

Sequenzen wie T1 oder FLAIR wird zudem empfohlen (Geurts et al. 2011). Dennoch kann auch mit der DIR Sequenz ein Großteil der intrakortikal gelegenen Läsionen nach wie vor nicht dargestellt werden (Geurts et al. 2005a; Seewann et al. 2012).

Da die Detektion der Läsionen nicht nur von der Sequenz sondern auch von der Feldstärke abhängt, erhofft man sich von Ultra-High-Field Bildgebungsmethoden weitere Vorteile. Diese arbeiten mit Feldstärken über 3 Tesla, erzielen höhere Kontraste, ein besseres Signal-Rausch-Verhältnis sowie eine höhere räumliche Auflösung (Daams et al. 2013). Studien in denen mit Feldstärken von 7.0 Tesla und 9.4 Tesla gearbeitet wurde brachten bisher vielversprechende Ergebnisse (Schmierer et al. 2010; Mainero et al. 2009).

Anders als bei der Darstellung kortikaler Läsionen verhält es sich mit der Abschätzung des Volumenverlustes in MS-Gehirnen. Hier können T1-gewichtete Aufnahmen mit verschiedenen Software-Programmen wie z.B. SIENAX, welches auch in diesem Projekt verwendet wurde, analysiert werden um das Ausmaß der Atrophie zu bestimmen (Smith et al. 2002). Durch die bereits erwähnte Studie, die gezeigt hat, dass die Größe von Neuronen sowie die Dichte von Neuronen und Axonen das Volumen der grauen Substanz signifikant bestimmen, scheint dessen Messung das Ausmaß der kortikalen Pathologie derzeit am besten darzustellen (Popescu et al. 2015).

SIENAX ist eine automatisierte Methode zur Messung der Atrophie anhand eines MRT-Datensatzes. In einem ersten Schritt wird dabei das Hirnparenchym von anderem Gewebe segmentiert und anschließend die äußere Oberfläche des Schädels geschätzt. Diese Daten werden dann auf ein Standardgehirn beziehungsweise einen Standardschädel registriert und anhand einer standardisierten Maske auf mögliche Segmentationsfehler untersucht. Schlussendlich werden die verschiedenen Gewebetypen (graue Substanz, weiße Substanz, Liquor und Hintergrund) segmentiert, woraus sich eine Schätzung des Gehirnvolumens ergibt. Da die exakten Volumina der unterschiedlichen Kompartimente hier von besonderer Bedeutung sind, berücksichtigt diese Segmentationsmethode Partialvolumeneffekte an allen Bildpunkten (Smith et al.

2002). Diese anerkannte Methode wurde bereits in vorhergehenden Studien zur Bestimmung der Atrophie verwendet (Calabrese et al. 2009).

1.10 Meningeale Entzündung

Noch ist nicht geklärt, welche Mechanismen zu den Veränderungen im Kortex bei MS-Patientinnen und -Patienten führen, jedoch konnten einige Studien einen Zusammenhang zwischen dem Ausmaß meningealer Entzündung und kortikaler Pathologie belegen. Anhand histologischer Untersuchungen wurde gezeigt, dass sowohl diffuse als auch fokale, perivaskuläre entzündliche Infiltrate in den Meningen signifikant mit dem Auftreten kortikaler Demyelinisierung in frühen Stadien der Erkrankung korrelieren (Lucchinetti et al. 2011). Auch topographisch konnte eine Beziehung zwischen der Bildung subpialer Läsionen und daran angrenzender oder sich in der Nähe befindlicher meningealer Entzündungsinfiltrate beobachtet werden. Diese Ergebnisse sprechen dafür, dass bereits zu Beginn der Erkrankung die Entzündung der Meningen Einfluss auf die Entstehung kortikaler Pathologie hat (Lucchinetti et al. 2011).

Serafini et al. (2004) haben erstmals ektope, B-Zell follikel-ähnliche Strukturen (im Englischen als „b-cell follicle-like structures“ oder „tertiary lymphoid-like structures“ bezeichnet) in den Meningen von SPMS-Patientinnen und -Patienten nachweisen können. Diese Strukturen beinhalten neben B-Zellen und Plasma-Zellen vor allem CD8-positive T-Zellen sowie dendritische Zellen für die Antigen-Präsentation. Auch proliferierende B-Zellen konnten nachgewiesen werden, was für die Bildung eines Keimzentrums innerhalb dessen monoklonale B-Zell-Antikörper gebildet werden, spricht. Tertiäre Lymphfollikel kommen bei einer Reihe autoimmunologischer Erkrankungen innerhalb des betroffenen Gewebes vor, wie zum Beispiel der Autoimmunthyreoiditis und dem Sjögren-Syndrom, und man vermutet, dass die Aufrechterhaltung der Immunantwort und die Produktion autoreaktiver Antikörper von diesen Orten abhängt (Hjelmström 2001).

Das Auftreten derartiger Follikel kann bei etwa 40% der SPMS-Patientinnen und Patienten beobachtet werden und korreliert mit einem höheren Grad kortikaler Pathologie. Dabei zeigte sich, im Vergleich mit Patientinnen und Patienten, die diese Strukturen nicht aufweisen, eine vermehrte Demyelinisierung des Kortex, größere Verluste von Neuronen, Astrozyten und Oligodendrozyten sowie eine stärker ausgeprägte diffuse Entzündung der Meningen. Die Veränderungen im Parenchym beschränken sich dabei wiederum nicht auf Läsionen, sondern treten

in geringerem Ausmaß auch in der läsionsfreien grauen Substanz auf (Magliozzi et al. 2007; Howell et al. 2011; Magliozzi et al. 2010). Auffallend ist zudem die topographische Anordnung der Follikel, die bevorzugt in der Nähe oder direkt angrenzend zu großen subpialen Läsionen im Kortex, besonders in den Einkerbungen des Temporallappen, des Cingulum, der Insel und der frontalen Gyri zu finden sind, was eine direkte Rolle dieser Strukturen in der Pathogenese der kortikalen Läsionen vermuten lässt (Magliozzi et al. 2007; Magliozzi et al. 2010).

Im Unterschied zu Patientinnen und Patienten mit sekundär-progredientem Verlauf konnte bei Patientinnen und Patienten mit primär-progredientem Verlauf die Bildung B-Zell follikel-ähnlicher Strukturen nicht nachgewiesen werden. Jedoch hat sich auch hier ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem entzündlichen Milieu in den Meningen und im subarachnoidalen Raum und dem Ausmaß der kortikalen Pathologie sowie der Schwere des klinischen Verlaufs der Erkrankung beobachten lassen (Choi et al. 2012).

Magliozzi et al. (2010) konnten zudem einen Zusammenhang zwischen meningealer Entzündung und neuronalem Zellverlust nachweisen. Dabei hat sich gezeigt, dass bei Patientinnen und Patienten mit stärker ausgeprägter Entzündung das Ausmaß des neuronalen Zelluntergangs sowohl innerhalb von Läsionen als auch in läsionsfreien Regionen einem Gradienten von den oberflächlichen in die tiefen Schichten des Kortex folgt. Begleitend zeigten diese Patientinnen und Patienten einen Verlust von Astrozyten mit assoziierter Schädigung der glia limitans, welche die äußerste Gewebeschicht des Gehirns bezeichnet. Sie wird von Astrozytenfortsätzen und einer Basalmembran gebildet und trennt das Hirnparenchym von der weichen Hirnhaut, der pia mater. Diese Ergebnisse bestärken die Annahme, dass die Entzündung der Meningen in direktem Zusammenhang mit der Progression kortikaler demyelinisierender Läsionen sowie neurodegenerativer Veränderungen mit konsekutiver Abnahme des Gehirnvolumens steht.

1.11 Fragestellung & Ziel der Arbeit

Die Tatsache, dass sich bei der MS sowohl im periventrikulären Bereich der weißen Substanz (Fazekas et al. 1999) als auch subpial an der Kortexoberfläche (Kidd et al. 1999; Peterson et al. 2001; Bo et al. 2003a; Kutzelnigg et al. 2005; Kutzelnigg et al. 2007) vermehrt Läsionen anhäufen, legt die Vermutung nahe, dass möglicherweise ein Faktor oder mehrere immunologisch wirksame Faktoren im Liquor eine wichtige Rolle bei der Entstehung struktureller Gewebeschäden bei MS spielen könnten beziehungsweise diese vielleicht sogar verursachen.

Der Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der kortikalen Pathologie und dem Grad der meningealen Entzündung (Magliozzi et al. 2007; Magliozzi et al. 2010; Lucchinetti et al. 2011; Howell et al. 2011; Choi et al. 2012) unterstützt diese Annahme weiter. Die zum Teil sehr ausgedehnte und topographisch besonders in den tiefen Einkerbungen des Kortex gelegene kortikale Pathologie könnte demnach durch die Freisetzung proinflammatorischer Substanzen aus den meningealen Entzündungsinfiltraten verursacht werden, indem sie innerhalb des Gewebes entweder direkt durch ihre zytotoxische Wirkung oder indirekt über die Aktivierung der Mikroglia strukturelle Gewebeschäden hervorrufen (Magliozzi et al. 2010; Howell et al. 2011; Choi et al. 2012; Lassmann 2014). Besonders CD8-positive Lymphozyten, die sich in den entzündeten Meningen vermehrt anhäufen und zur Expression von Interferon gamma führen, könnten hier eine entscheidende Rolle spielen (Magliozzi et al. 2010). Es gibt auch Hinweise, dass es einen MS-spezifischen Faktor geben könnte, der von B-Lymphozyten produziert wird und in der Abwesenheit von Antikörpern und Komplementfaktoren Myelin und Oligodendrozyten zerstört (Lisak et al. 2012).

Derartige Faktoren, freigesetzt aus den Meningen, die über den Liquorraum in das Hirngewebe diffundieren, könnten nicht nur die Bildung subkortikaler Läsionen erklären, sondern genauso für die Demyelinisierung innerhalb periventrikulärer Regionen verantwortlich sein (Lassmann 2014). Auf diesem Vorwissen basierend, hat sich im Rahmen der vorliegenden Diplomarbeit die Fragestellung ergeben, ob unmittelbar periventrikuläre Marklagerläsionen mit der kortikalen Pathologie bei MS in Zusammenhang stehen. Zur Überprüfung dieser Hypothese wurde die MRT herangezogen.

Die präzise Identifikation kortikaler Läsionen ist derzeit in vivo mittels MRT noch nicht möglich (Daams et al. 2013), jedoch kann zur Abschätzung des Ausmaßes der kortikalen Pathologie die Messung der kortikalen Dicke herangezogen werden (Popescu et al. 2015). Eine Korrelation zwischen den beiden MRT-Parametern kortikale Dicke und periventrikuläre Läsionslast würde die Hypothese eines Liquorfaktors als auslösende Ursache struktureller Gewebeschäden bei MS weiter unterstützen.

Die Fragestellung wurde an einer umfassenden Kohorte ambulanter Patientinnen und Patienten mit frühen Formen der MS wie dem CIS und der RRMS untersucht. Die Auswahl der Patientinnen und Patienten nach ihrer Verlaufsform stützte sich dabei auf die Annahme, dass in diesen beiden Gruppen die bereits eingangs diskutierten vielfältigen pathologischen Prozesse weniger ausgeprägt und miteinander verwoben sind als bei progredienten Formen. Da man für Patientinnen und Patienten mit RRMS aufgrund ihrer fortgeschrittenen Erkrankung mit wiederkehrender inflammatorischer Aktivität gegenüber CIS-Patientinnen und -Patienten eine stärkere Korrelation der MRT-Parameter vermutete, wurden die Patientinnen und Patienten zusätzlich nach ihrer Verlaufsform in zwei Gruppen eingeteilt und die Ergebnisse miteinander verglichen. Durch die Analyse der erhobenen Daten sollen neue Erkenntnisse bezüglich der Zusammenhänge verschiedener pathologischer Prozesse besonders in frühen Stadien der MS, die zudem Hinweise auf pathogenetische Vorgänge liefern könnten, gewonnen werden.

2 Material & Methoden

2.1 Patientinnen und Patienten

Für das vorliegende Projekt wurden die Daten von insgesamt 179 ambulanten Patientinnen und Patienten analysiert, die zu diesem Zeitpunkt bereits an einer laufenden prospektiven Studie an der Universitätsklinik für Neurologie Graz teilnahmen und bereit waren, sich sowohl einer klinischen Untersuchung als auch einer umfassenden MRT-Untersuchung zu unterziehen. Die MRT-Aufnahmen und Untersuchungen wurden zwischen den Jahren 2004 und 2013 an den Universitätskliniken für Neurologie und Radiologie der Medizinischen Universität Graz im Zuge der Verlaufskontrollen der Patientinnen und Patienten durchgeführt.

Insgesamt mussten im Verlauf der Arbeit die MRT Daten von 19 Teilnehmerinnen und Teilnehmer aus der weiteren Analyse ausgeschlossen werden. Gründe für den Ausschluss waren qualitätsvermindernde Bildartefakte, wie zum Beispiel Bewegungsartefakte, massive und diffuse T2-Läsionslast, atypische ovale und große Hyperintensitäten die nicht dem klassischen Läsionsmuster der MS entsprechen.

Die für die weiteren Arbeitsschritte herangezogene Kohorte umfasste schließlich 102 weibliche sowie 58 männliche Patientinnen und Patienten mit einem Altersdurchschnitt von 32,1 +/- 8,9 Jahren. Darunter fielen 91 Patientinnen und Patienten mit der Diagnose CIS und 69 Patientinnen und Patienten mit der Diagnose RRMS.

Die EDSS-Scores der jeweiligen Teilnehmerin beziehungsweise des jeweiligen Teilnehmers wurde durch eine klinische Untersuchung erhoben und reichte innerhalb der Kohorte von Grad 0 bis Grad 4. Sowohl die Diagnosestellung als auch die Beurteilung der klinischen Symptomatik erfolgten anhand aktueller Kriterien nach Kurtzke (1983) und Polman et al. (2011). Die mittlere Erkrankungsdauer der Patientinnen und Patienten mit der Diagnose CIS betrug 7,2 +/- 15 Monate, diejenige der Patientinnen und Patienten mit der Diagnose RRMS 8,0 +/- 6,5 Jahre. 51 der teilnehmenden Patientinnen und Patienten befanden sich zum Zeitpunkt der Untersuchung in einer laufenden Therapie mit

immunmodulierenden Medikamenten. 35 von diesen Patientinnen und Patienten injizierten Interferon-beta, 8 Glatiramer-acetat, 6 erhielten Natalizumab und 2 erhielten intravenöse Immunglobuline. In Tabelle 4 sind die klinischen Daten der Patientinnen und Patienten angeführt.

Um die gemessenen Werte der Patientinnen und Patienten mit denen von gesunden Personen vergleichen zu können, wurden zusätzlich 58 Kontrollpersonen (HC) für das Projekt mittels MRT untersucht. Darunter befanden sich 48 weibliche Teilnehmerinnen und 10 männliche Teilnehmer mit einem Altersdurchschnitt von 29,1 +/- 7,4 Jahren.

Die lokale Ethikkommission hat dem vorliegenden Projekt zugestimmt. Die EK-Nummer dazu lautet 17-046 ex 05/06. Alle Teilnehmerinnen und Teilnehmer des Projektes wurden umfassend darüber aufgeklärt und haben eine Einverständniserklärung unterzeichnet.

Tabelle 4: Klinische Merkmale der Teilnehmerinnen und Teilnehmer

	Alter in Jahren (M+/-STD)	EDSS (MD, IQR)	Jährliche Schubrate (MD, IQR)
HC (n=58)	29,1 +/- 7,4	n/a	n/a
Patientinnen/Patienten (n=160)	32,1 +/- 8,9	1,3 (0,0-2,0)	0,00 (0,00-0,46)
CIS (n=91)	31,4 +/- 9,0	1,0 (0,0-2,0)	n/a
RRMS (n=69)	33,0 +/- 8,7	2,0 (1,0-2,5)	0,24 (0,00-0,67)
MS vs. HC	0,017 ^{a,c}	n/a	n/a
CIS vs. RRMS	0,238 ^c	0,016 ^{a,c}	n/a
CIS vs. HC	0,13 ^c	n/a	n/a
RRMS vs. HC	0,004 ^{b,c}	n/a	n/a

^aSignifikanzniveau $p < 0,05$

^bSignifikanzniveau $p < 0,01$

^cMann-Whitney U

^dalterskorrigiert

HC = Kontrollpersonen; MS = Multiple Sklerose; CIS = klinisch isoliertes Syndrom; RRMS = schubförmig-remittierende MS; EDSS = Expanded Disability Status Scale; M = Durchschnitt; STD = Standardabweichung; MD = Median; IQR = Interquartilsabstand; n/a = nicht anwendbar

2.2 Akquisition der MRT-Daten

Die Durchführung der MRT-Untersuchung erfolgte an der Universitätsklinik für Radiologie, klinische Abteilung für Neuroradiologie, vaskuläre und interventionelle Radiologie der Medizinischen Universität Graz, Österreich. Das verwendete Gerät war ein 3,0 Tesla Tim Trio System der Firma Siemens Medical Systems aus Erlangen in Deutschland. Die MRT-Untersuchung wurde mit einer 12-Kanal Kopfspule durchgeführt.

Mittels einer dreidimensionalen, schnellen Gradienten-Echo Sequenz (Repetitionszeit/Echozeit/Inversionszeit [TR/TE/TI] = 1,900ms/2,19ms/900ms) wurden T1-gewichtete Aufnahmen mit einer 1-mm isotropen Auflösung gewonnen.

Zusätzlich wurden T2-gewichtete FLAIR (fluid attenuated inversion recovery) Sequenzen (TR/TE/TI = 10,000ms/69ms/2,55ms; Flächenauflösung = 0,9×0,9 mm²; Schichtdicke = 3mm) mit jeweils 44 Schichten für die Quantifizierung der T2-Läsionen in der weißen Substanz aufgenommen.

2.3 Bearbeitung der MRT-Daten

Die T2-gewichteten FLAIR-Aufnahmen dienten in einem ersten Schritt der Identifikation sämtlicher hyperintenser Läsionen, mit MS typischem Erscheinungsbild. Für die Identifikation der Läsionen wurde ein konservativer Zugang gewählt, wobei Läsionen <3mm nicht berücksichtigt wurden. Mit Hilfe des Programmes DISPImage (Plummer 1992) wurden als nächstes Läsionsmasken erstellt. Die Läsionen wurden zu diesem Zweck durch eine geschulte Person halbautomatisch und über alle Schichten verfolgbar konturiert. Abbildung 7 zeigt zwei Beispiele dieses Arbeitsschrittes.

Im Anschluss daran wurde die Läsionslast errechnet. Dazu wurde die Fläche der T2-hyperintenseren Areale aller Masken mit der Schichtdicke der jeweiligen Sequenz multipliziert.

Die T2-gewichteten FLAIR-Aufnahmen wurden anschließend mit dem Programm FLIRT (Jenkinson et al. 2002) linear auf die T1-gewichteten Aufnahmen registriert. Die Grenze der trilinearen Interpolation wurde dabei auf 25% festgelegt.

Die Erstellung individueller Ventrikelmasken (Masken des inneren Liquorraumes) auf den T1-gewichteten Aufnahmen wurde durch das Programm SIENAX(FSL) (Smith et al. 2002) automatisiert durchgeführt.

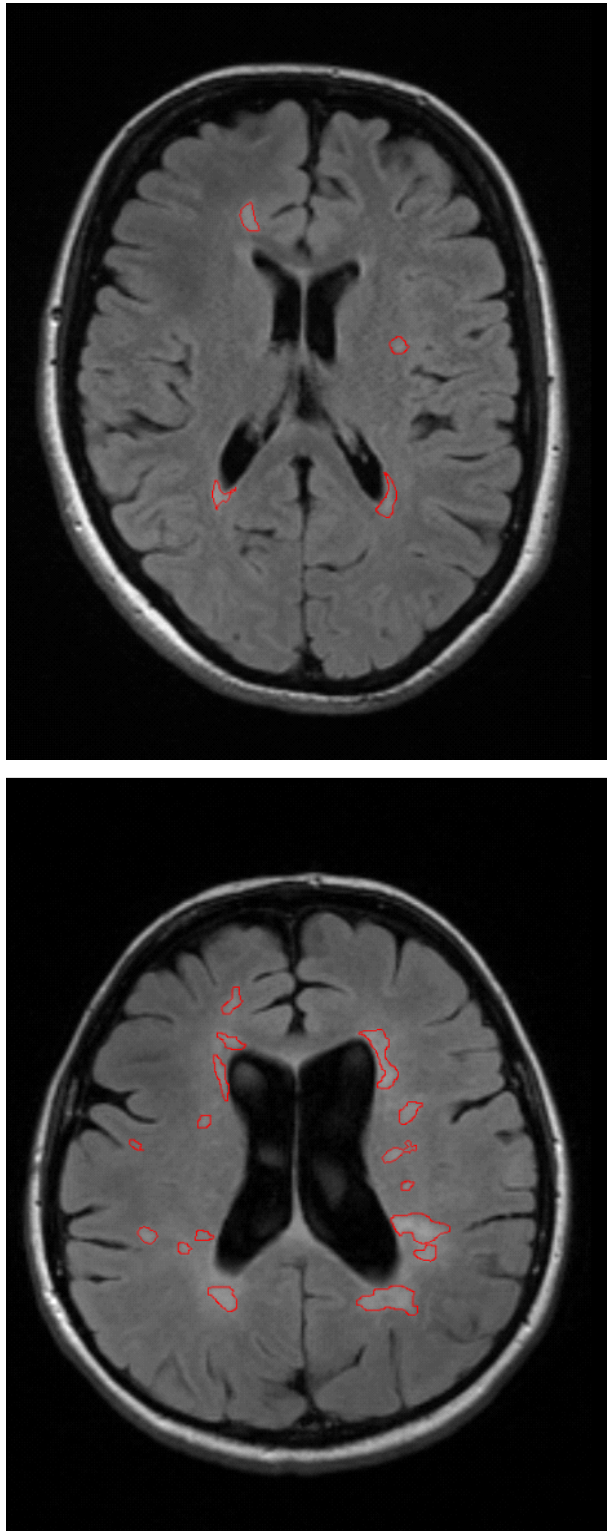


Abbildung 7: Halbautomatisierte Segmentierung der Läsionen mittels DISPIImage auf T2-gewichteten FLAIR-Aufnahmen. Representative Schichten zweier Patientinnen beziehungsweise Patienten.

2.4 Ermittlung der prozentuellen periventrikulären Läsionslast (PV-LL%)

Als Ergebnis der bisherigen Arbeitsschritte erhielt man nun, wie in Abbildung 8 (C) dargestellt, die aufeinander registrierten MRT-Aufnahmen mit den Ventrikelmasken (gelb) und den Läsionsmasken (blau).

Mit einem selbstgeschriebenen Algorithmus in MATLAB (Version R2013b) wurde die Klassifikation der Läsionen vorgenommen. Zu diesem Zweck wurden die Außengrenzen der Ventrikelmasken an allen Positionen um 3 Voxel (Bildpunkte; 1 Voxel entspricht 1 mm^3) erweitert. Läsionen, die sich nun zumindest mit einem Voxel ihrer Fläche innerhalb dieser erweiterten Ventrikelmasken befanden, wurden als periventrikuläre Läsionen klassifiziert. Die übrig gebliebenen Läsionen wurden folglich als nicht-periventrikuläre Läsionen klassifiziert.

Schlussendlich wurde für jede Patientin beziehungsweise für jeden Patienten die prozentuelle periventrikuläre Läsionslast (PV-LL%) errechnet, d. h. der Anteil an Läsionen in der weißen Substanz, welche sich innerhalb der erweiterten Ventrikelmasken befindet, bezogen auf die T2-Gesamtläsionslast. Die Formel dafür lautete: $(\text{Volumen der periventrikulären Läsionen} / \text{gesamtes Läsionsvolumen}) \times 100$.

In Abbildung 8 werden die vorgestellten Arbeitsschritte noch einmal genau illustriert. Alle Schritte wurden visuell auf Bearbeitungsfehler und Artefakte hin überprüft. Dabei wurde besonders auf Fehler bei der Identifikation der Läsionen, bei der Segmentierung der Ventrikelmasken, bei der Klassifikation periventrikulärer Läsionen sowie bei dem Vorgang der Registrierung der T2-gewichteten FLAIR Aufnahmen auf die T1-gewichteten Aufnahmen geachtet.

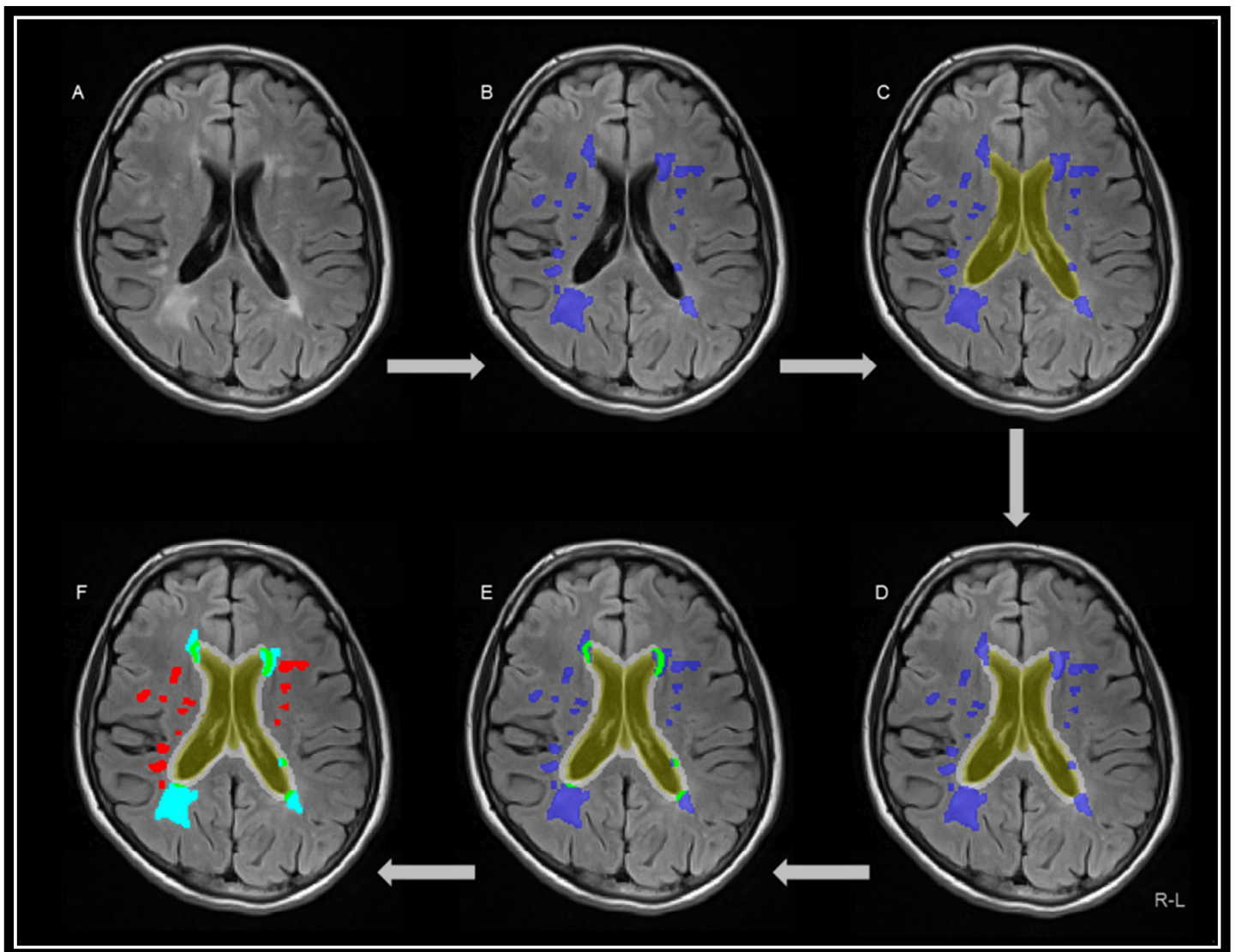


Abbildung 8: Arbeitsschritte zur Ermittlung der PV-LL%. (A) Ausgewählte, axiale T2-gewichtete FLAIR Aufnahme einer Patientin beziehungsweise eines Patienten; (B) Halbautomatisch generierte Läsionsmaske (blau); (C) Ventrikelmaske (gelb); (D) Erweiterte Ventrikelgrenze (weiß); (E) Läsionen innerhalb der erweiterten Ventrikelgrenze werden als periventrikulär klassifiziert (grün); (F) periventrikuläre (hellblau) und nicht-periventrikuläre (rot) Läsionen. FLAIR = fluid attenuated inversion recovery. (Jehna et al. 2015)

2.5 Volumetrische MRT-Parameter

Mit dem Programm SIENAX_(FSL) wurden folgende Volumina des Gehirns quantifiziert: das globale Gehirnvolumen, das Volumen der weißen Substanz, das Volumen der grauen Substanz sowie das Volumen der Ventrikel. Durch Summierung der Bildpunkte binärer Läsionsmasken wurden die totale Läsionslast, die periventrikuläre Läsionslast (PV-LL) und die nicht-periventrikuläre Läsionslast (NON-PV-LL) evaluiert. Zur Rekonstruktion des Kortex wurde die Freesurfer Bildanalysesoftware (v5.3.0) verwendet, welche unter dem Link: <http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/> aus dem Internet heruntergeladen werden kann. Die Freesurfer Bildanalysesoftware bietet unter anderem eine zuverlässige Methode zur Messung der kortikalen Dicke (Fischl & Dale 2000).

Für die Korrelationsanalysen wurde die prozentuelle periventrikuläre Läsionslast (PV-LL%) herangezogen, die für konfundierende Variablen, wie das ventrikuläre Volumen und die globale Läsionslast in den T2-gewichteten FLAIR-Aufnahmen korrigiert wurde. Zusätzlich wurde separat die Assoziation zwischen der PV-LL beziehungsweise NON-PV-LL und der mittleren kortikalen Dicke (CMT) analysiert. Alle volumetrischen Volumina wurden durch den von SIENAX_(FSL) gewonnen Skalierungsfaktor normiert. Die Standardisierung der CMT erfolgte hingegen über die Kubikwurzel des geschätzten totalen intrakraniellen Volumens, welches mit Freesurfer zuvor errechnet wurde.

2.6 Statistik

Die Volumina der Läsionen der weißen Substanz folgten keiner Normalverteilung. Wie in einer vorhergehenden Arbeit (He et al. 2009) wurden diese Volumina logarithmiert um die Voraussetzungen der inferentiellen Statistik zu erfüllen.

Zur statistischen Analyse wurde IBM SPSS Statistics Version 22.0.0.0 (IBM Corp. Armonk, NY) verwendet. Für die Testung der Normalverteilung wurde der Kolmogorov-Smirnov Test herangezogen. Wenn Daten nicht die Kriterien der parametrischen Testung erfüllten, wurde zur weiteren Analyse nicht-parametrische Tests (Mann-Whitney-U, Spearman) herangezogen.

Um die Gruppen untereinander vergleichen zu können, wurden die hochaufgelösten T1-gewichteten MRT-Aufnahmen der einzelnen Teilnehmerinnen und Teilnehmer aufeinander registriert um eine kohortenspezifische Schablone des Gehirns zu erstellen. Um nun die Zusammenhangshypothese bezüglich der CMT überprüfen zu können, wobei die PV-LL% als Regressionskoeffizient diente, wurde ein lineares Gleichungssystem verwendet (general linear model = GLM; $y = X \cdot \beta$; wobei y der Vektor der analysierten Daten ist = CMT, X ist die Designmatrix = PV-LL%, und β ist der Vektor unbekannter Parameterschätzungen).

Als Signifikanz-Niveau wurde ein Wert von $p < 0.01$ beziehungsweise $p < 0.0001$ festgelegt. Die Ergebnisse der topographischen Korrelationsanalyse wurden mit einem clusterbasiertem Korrekturverfahren (Z-Monte Carlo Simulation) überprüft.

3 Ergebnisse

In den folgenden Kapiteln sollen die Ergebnisse der analysierten Daten der einzelnen Gruppen sowie deren Vergleich untereinander präsentiert werden. Die topographische Verteilung der Regionen mit reduzierter kortikaler Dicke wurde zusätzlich graphisch dargestellt. Korrelationsanalysen dienten dazu, Zusammenhänge der gemessenen Werte innerhalb der Gruppen herauszufiltern. Zudem wurden die Daten auf mögliche Assoziationen zwischen der topographischen Verteilung von Regionen mit reduzierter kortikaler Dicke und der prozentuellen periventrikulären Läsionslast hin überprüft.

3.1 Vergleich der klinischen Phänotypen CIS und RRMS mit den gesunden Kontrollpersonen (HC)

3.1.1 CIS verglichen mit HC

Die untersuchten MRT-Daten dieser beiden Gruppen waren zu einem großen Teil vergleichbar ähnlich. Selbst eine Korrektur für das Alter musste nicht vorgenommen werden.

Allerdings wiesen CIS-Patientinnen und -Patienten eine signifikant geringere mittlere kortikale Dicke ($p = 0,003$) aufwiesen als Personen aus der Kontrollgruppe. Für die übrigen gemessenen Werte ergaben sich keine weiteren signifikanten Unterschiede.

In Tabelle 6 sind die erhobenen Daten der einzelnen Gruppen angeführt, in Tabelle 7 die Ergebnisse der Gruppenvergleiche.

Die topographische Verteilung der Regionen des Kortex, die innerhalb dieser beiden Gruppen signifikante Unterschiede ihrer Dicke zeigten, sind in Abbildung 9 graphisch dargestellt und umfassen den linken Gyrus precentralis, den rechten Gyrus postcentralis, die bilateralen Pericalcarineus, die bilateralen Gyri parietalis superiores, den linken transversalen temporalen Kortex sowie den linken Gyrus temporalis lateralis, den rechten Gyrus temporalis superior und die rechte Pars

opercularis, die rechte Pars triangularis und den rechten Gyrus fusiformis. Die dazugehörigen Werte sind in Tabelle 5 aufgelistet.

3.1.2 RRMS verglichen mit HC

Für diese beiden Gruppen musste eine Alterskorrektur durchgeführt werden.

Die mittlere kortikale Dicke der RRMS-Patientinnen und -Patienten war signifikant geringer ($p = 0,001$) als diejenige der gesunden Kontrollen. Der Unterschied stellte sich zudem ausgeprägter dar, als im Vergleich von HC mit CIS-Patientinnen und -Patienten.

Signifikante Unterschiede der kortikalen Dicke innerhalb dieser beiden Gruppen wurden in folgenden Regionen gemessen: dem linken Gyrus paracentralis, dem linken transversalen temporalen Kortex, in der linken Pars opercularis und dem linken Sulcus temporalis superior, dem linken Gyrus lingualis, dem linken Gyrus okzipitalis lateralis, in den bilateralen Gyri frontales superiores, in den bilateralen Gyri fusiforme, sowie auf der rechten Seite dem Gyrus temporalis superior, Gyrus precentralis, Gyrus parietalis inferior, dem kaudalen Teil des Gyrus frontalis medialis, dem Gyrus parahippocampalis, dem hinteren Teil des Cingulum und dem Gyrus temporalis medialis. In Abbildung 9 sind die genannten Unterschiede wiederum graphisch dargestellt. In Tabelle 5 sind die dazugehörigen Werte angeführt.

Zusätzlich zeigte sich eine signifikante Differenz bezüglich des Liquorvolumens ($p = 0,001$), welches bei RRMS-Patientinnen und -Patienten deutlich größer war als bei den Kontrollpersonen. In Tabelle 6 und 7 sind die entsprechenden Werte der beiden Gruppen ausführlich angeführt.

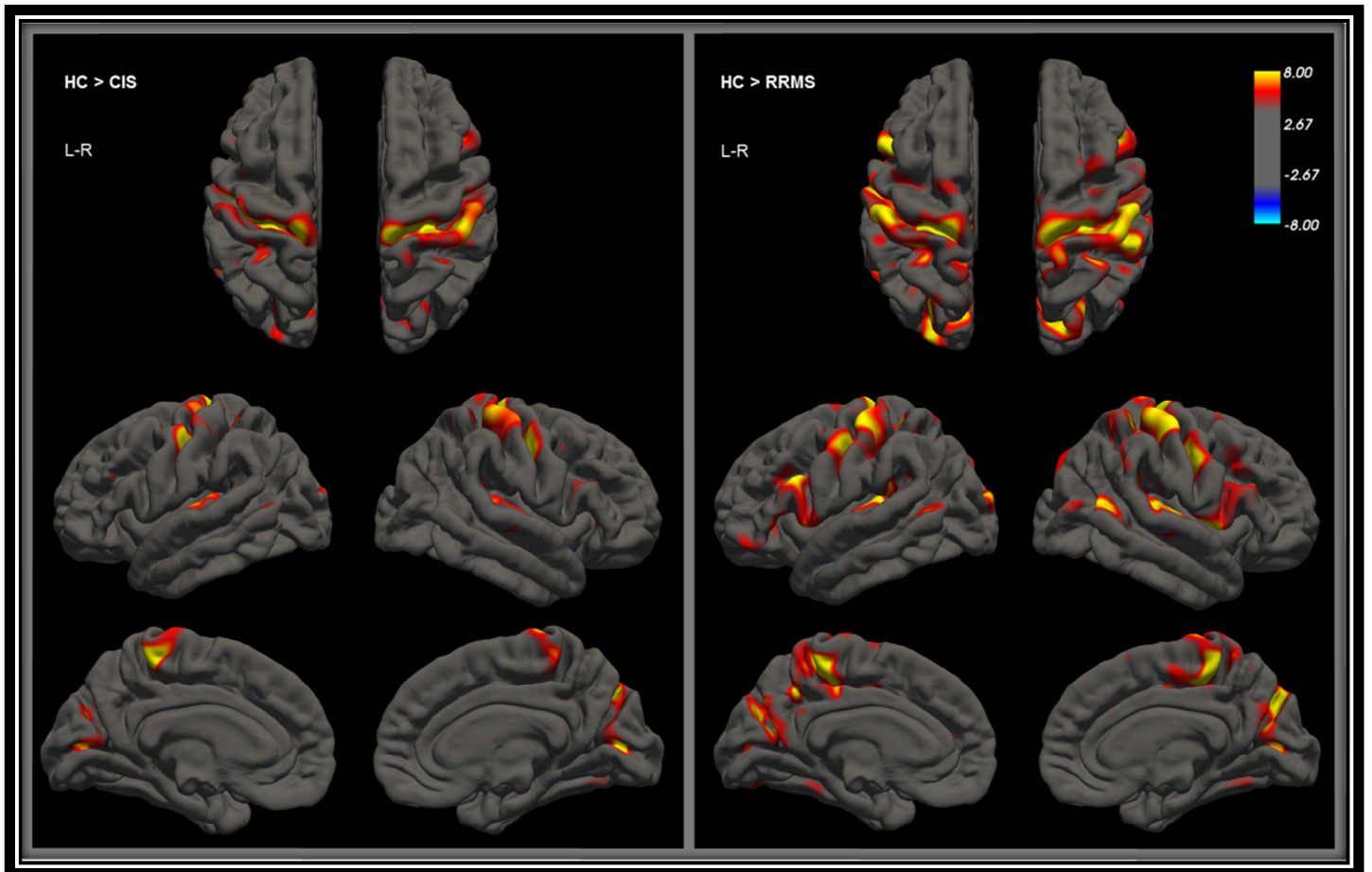


Abbildung 9: Topographische Verteilung der Kortexregionen mit signifikanten Differenzen bezüglich der kortikalen Dicke im Gruppenvergleich. Für HC versus CIS (links) sowie für HC versus RRMS (rechts). HC zeigten in verschiedenen Regionen höhere Werte der kortikalen Dicke als die beiden MS-Phänotypen (rot-gelb, signifikant bei $p = <0,001$; korrigiert für multiple Testverfahren mit Z Monte Carlo). Die Ergebnisse der Gruppenvergleiche bezüglich der mittleren kortikalen Dicke waren für RRMS-Patientinnen und -Patienten stärker ausgeprägt als für CIS-Patientinnen und -Patienten. HC = gesunde Kontrollpersonen; RRMS = schubförmig-remittierende Multiple Sklerose; CIS = klinisch isoliertes Syndrom. (Jehna et al. 2015)

Tabelle 5: Gruppenunterschiede bezüglich der kortikalen Dicke zwischen HC und CIS, HC und RRMS, CIS und RRMS, jeweils für die linke Hirnhemisphäre (IH) und die rechte Hirnhemisphäre (rH).

pWert Max (-log 10)	Größe (mm ²)	MNI X	MNI Y	MNI Z	p	Region
---------------------	--------------------------	-------	-------	-------	---	--------

HC>CIS kortikale Dicke IH						
12.836	4286.82	-26.4	-25.6	50.3	0.0002	Gyrus praecentralis
9.771	1458.10	-9.3	-79.5	12.2	0.0002	Pericalcarineus
8.723	779.75	-40.1	-25.7	8.7	0.0002	Gyrus temporalis transversus
6.269	199.18	-23.7	-92.2	13.7	0.0012	Gyrus temporalis lateralis
5.866	371.03	-24.6	-79.5	22.5	0.0002	Gyrus parietalis superior
5.433	94.06	-57.9	-55.4	3.6	0.0245	Gyrus temporalis medialis
4.896	97.98	-23.7	50.1	17.0	0.0219	Gyrus frontalis medialis, rostral
4.856	88.48	-38.9	0.9	47.5	0.0298	Gyrus frontalis medialis, kaudal
4.805	72.79	-59.0	-42.0	7.8	0.0482	Sulcus temporalis superior
4.448	75.49	-48.7	17.8	20.7	0.0429	Pars opercularis
4.224	97.37	-53.6	-30.6	19.9	0.0219	Gyrus supramarginalis

HC>CIS kortikale Dicke rH						
12.561	1832.78	10.0	-75.1	04.4	0.0002	Pericalcarineus
11.789	4186.45	26.4	-29.3	52.3	0.0002	Gyrus postcentralis
7.785	754.96	46.6	-32.2	09.7	0.0002	Gyrus temporalis superior
6.919	412.51	44.9	20.0	18.7	0.0002	Pars opercularis

6.611	107.49	31.1	-45.0	58.5	0.0134	Gyrus parietalis superior
5.756	107.62	45.7	28.2	2.7	0.0132	Pars triangularis
5.338	79.11	52.9	-21.2	-14.7	0.0382	Gyrus temporalis medialis
4.640	97.75	38.1	08.6	42.2	0.0185	Gyrus frontalis medialis, kaudal
4.635	344.82	29.1	-68.3	-12.7	0.0002	Gyrus fusiformis

HC>RRMS kortikale Dicke IH

14.697	13203.12	-8.0	-39.5	58.6	0.0002	Gyrus paracentralis
12.375	1491.92	-39.8	-25.5	7.7	0.0002	Gyrus temporalis transversus
9.863	2487.84	-48.7	17.0	21.7	0.0002	Pars opercularis
7.123	295.92	-55.0	-55.6	4.2	0.0002	Sulcus temporalis superior
5.758	210.35	-29.2	-48.3	-5.4	0.0010	Gyrus lingualis
5.619	270.11	-14.4	-6.3	68.9	0.0002	Gyrus frontalis superior
5.560	507.16	-30.0	-83.6	-14.4	0.0002	Gyrus occipitalis lateralis
5.513	83.85	-51.8	-46.5	26.0	0.0323	Gyrus supramarginalis
5.433	115.58	-19.8	-63.0	61.4	0.0122	Gyrus parietalis superior
5.292	153.49	-27.6	-43.9	-17.8	0.0044	Gyrus fusiformis

HC>RRMS kortikale Dicke rH

11.091	1640.87	53.2	-29.2	8.2	0.0002	Gyrus temporalis superior
11.082	12161.64	18.2	-23.4	64.5	0.0002	Gyrus praecentralis

9.205	468.37	54.1	-53.7	9.0	0.0002	Gyrus parietalis inferior
6.144	473.89	37.4	18.4	33.7	0.0002	Gyrus frontalis medialis, kaudal
5.677	388.48	33.0	-43.3	-7.6	0.0002	Gyrus parahippocampalis
5.570	229.22	9.5	-33.6	40.0	0.0002	Cingulum posterius
5.119	123.13	54.1	-25.5	-12.8	0.0089	Gyrus medialis temporalis
5.107	93.61	22.3	7.1	61.7	0.0229	Gyrus frontalis superior
4.961	242.45	28.3	-58.9	-13.4	0.0002	Gyrus fusiformis
4.329	76.60	27.8	-80.5	-8.1	0.0416	Gyrus lateralis occipitalis

CIS>RRMS kortikale Dicke IH

5.115	87.02	-5.9	-36.0	33.1	0.0302	Isthmus cingulae
4.894	86.64	-43.4	42.2	-10.5	0.0308	Pars orbitalis

CIS>RRMS kortikale Dicke rH

4.504	94.28	24.9	-80.2	20.7	0.0225	Gyrus parietalis superior
--------------	-------	------	-------	------	--------	---------------------------

Mit der Z Monte Carlo Simulation wurden die Ergebnisse korrigiert. pWert Max (-log 10): Maximum -log10 (pWert) im Cluster; Größe (mm²): Oberflächenbereich des Cluster; MNI (x, y, z): MNI305 Maximalcoordinate, p: Clusterweise-p-Wert

3.2 Vergleich der Phänotypen untereinander

3.2.1 RRMS verglichen mit CIS

Für diese beiden Gruppen musste aufgrund der ähnlichen Altersverteilung keine Alterskorrektur vorgenommen werden. Folgende signifikante Unterschiede innerhalb der beiden Gruppen konnten festgestellt werden:

RRMS-Patientinnen und -Patienten zeigten

- Höhere Werte auf der EDSS-Skala ($p = 0,016$),
- ein geringeres totales Gehirnvolumen ($p = 0,011$),
- geringere Volumina der weißen ($p = 0,016$) sowie der grauen Substanz ($p = 0,032$),
- ein höheres Volumen des Liquorraumes ($p = 0,001$),
- eine geringere mittlere kortikale Dicke ($p = 0,030$),
- eine höhere T2-Läsionslast ($p = 0,001$) und
- eine höhere periventrikuläre Läsionslast ($p = 0,001$)

als CIS-Patientinnen und -Patienten. Die Ergebnisse der Gruppenvergleiche sind in Tabelle 7 angeführt.

Tabelle 6: MRT-Daten der einzelnen Gruppen

Variablen	HC (n = 58)	Patientinnen/ Patienten (n = 160)	CIS (n = 91)	RRMS (n = 69)
Volumen Gehirn (cm ³) (M +/- STD)	1.589,1 +/- 68,5	1.566,1 +/-86,2	1.581,1 +/- 77,4	1.546,3 +/- 93,5
Volumen WM (cm ³) (M +/- STD)	777,7 +/- 33,7	767,7 +/- 43,7	774,9 +/- 38,7	758,2 +/- 48,1
Volumen GM (cm ³) (M +/- STD)	811,5 +/- 52,9	798,4 +/- 52,9	806,2 +/- 51,6	788,1 +/- 53,2
Volumen CSF (cm ³) (MD, IQR)	30,0 (26,2-36,7)	34,1 (25,9-43,3)	31,0 (23,4-39,1)	38,4 (29,5-47,6)
CMT (mm) (M +/- STD)	2,19 +/- 0,09	2,11 +/- 0,14	2,12 +/- 0,14	2,08 +/- 0,14
Volumen LL (cm ³) (MD, IQR)	n/a	7,62 (3,98-15,42)	5,44 (3,39-11,82)	10,60 (5,93-21,67)
Volumen PV-LL (cm ³) (MD, IQR)	n/a	3,78 (1,48-10,34)	2,80 (0,92-6,39)	5,83 (2,16-18,06)
PV-LL% (M +/- STD)	n/a	53,7 +/- 25,8	50,7 +/- 26,3	57,7 +/- 24,7

HC = gesunde Kontrollpersonen; CIS = klinisch isoliertes Syndrom; RRMS = schubförmig-remittierende Multiple Sklerose; WM = weiße Substanz; GM = graue Substanz; CSF =Liquor cerebrospinalis; CMT = mittlere kortikale Dicke; LL = Läsionslast; PV-LL = periventrikuläre Läsionslast; PV-LL% = prozentuelle periventrikuläre Läsionslast; M = Durchschnitt; MD = Median; STD = Standardabweichung; IQR = Interquartilsabstand; n/a = nicht anwendbar

Tabelle 7: Ergebnisse der Gruppenvergleiche

Variablen	MS vs. HC	CIS vs. RRMS	CIS vs. HC	RRMS vs. HC
Volumen Gehirn (cm ³) (M +/- STD)	0,428 ^d	0,011 ^a	0,513	0,091 ^d
Volumen WM (cm ³) (M +/- STD)	0,291 ^d	0,016 ^a	0,652	0,065 ^d
Volumen GM (cm ³) (M +/- STD)	0,106 ^d	0,032 ^a	0,540	0,290 ^d
Volumen CSF (cm ³) (MC, IQR)	0,046 ^{a,c}	0,001 ^{b,c}	0,758 ^c	0,001 ^{b,c}
CMT (mm) (M +/- STD)	0,001 ^{b,d}	0,030 ^a	0,003 ^a	0,001 ^{b,d}
Volumen LL (cm ³) (MD, IQR)	n/a	0,001 ^{b,c}	n/a	n/a
Volumen PV-LL (cm ³) (MD, IQR)	n/a	0,001 ^{b,c}	n/a	n/a
PV-LL% (M+/- STD)	n/a	0,089	n/a	n/a

^aSignifikant bei $p < 0,05$;

^bSignifikant bei $p < 0,01$;

^cMann-Whitney U;

^dalterskorrigiert.

HC = gesunde Kontrollen; MS = Multiple Sklerose; CIS = klinisch isoliertes Syndrom; RRMS = schubförmig-remittierende MS; WM = weiße Substanz; GM = graue Substanz; CSF = Liquor cerebrospinalis; CMT = mittlere kortikale Dicke; LL = Läsionslast; PV-LL = periventriculäre Läsionslast; PV-LL% = prozentuelle periventriculäre Läsionslast; M = Durchschnitt; MD = Median; STD = Standardabweichung; IQR = Interquartilsabstand; n/a = nicht anwendbar

3.2.2 Korrelation zwischen der periventrikulären Läsionslast und der mittleren kortikalen Dicke

Im Durchschnitt wurden 54% der Läsionen innerhalb der weißen Substanz als periventrikuläre Läsionen klassifiziert. Jedoch zeigte sich innerhalb der einzelnen Gruppen sowie im Vergleich zwischen den beiden Gruppen eine ausgeprägte Heterogenität dieses Wertes. Abbildung 10 demonstriert die weite Streuung der Werte auf der X-Achse.

Die Korrelationsanalyse hat gezeigt, dass weder die nicht-periventrikuläre Läsionslast (NON-PV-LL; rote Läsionen in Abbildung 8) noch die periventrikuläre Läsionslast (PV-LL; hellblaue Läsionen in Abbildung 8) der CIS-Patientinnen und -Patienten mit der mittleren kortikalen Dicke korreliert.

Anders verhielt es sich bei RRMS-Patientinnen und -Patienten. Hier ergab sich eine signifikante Korrelation zwischen der PV-LL und der mittleren kortikalen Dicke ($r = -0,293$; $p = 0,015$). Für die NON-PV-LL (vor allem der Läsionen in der tiefen weißen Substanz) konnte jedoch auch hier kein Zusammenhang ($r = -0,024$; $p = 0,444$) nachgewiesen werden.

In Abbildung 10 (B) sind die Verhältnisse der Korrelationen für RRMS-Patientinnen und -Patienten dargestellt. Die Volumangaben der NON-PV-LL und der PV-LL wurden logarithmiert und befinden sich auf der X-Achse, die mittlere kortikale Dicke auf der Y-Achse.

3.2.3 Korrelation der prozentuellen periventrikulären Läsionslast (PV-LL%) und der mittleren kortikalen Dicke korrigiert für das Liquorvolumen und die totale Läsionslast

Nach Korrektur für das Liquorvolumen und die totale Läsionslast ergab sich über die gesamte Kohorte der MS-Patientinnen und -Patienten keine signifikante Korrelation zwischen der PV-LL% und der mittleren kortikalen Dicke ($r = -0,088$; $p = 0,270$). Dieselbe Analyse innerhalb der einzelnen Gruppen zeigte jedoch eine signifikant negative Korrelation zwischen der PV-LL% und der mittleren kortikalen Dicke in RRMS-Patientinnen und -Patienten ($r = -0,295$; $p = 0,015$). Dieses Ergebnis

spricht für eine abnehmende kortikale Dicke mit zunehmender periventrikulärer Läsionslast. In der Gruppe der CIS-Patientinnen und -Patienten war diese Korrelation nicht signifikant ($r = 0,032$; $p = 0,768$). Die Streudiagramme in Abbildung 10 illustrieren diese Zusammenhänge.

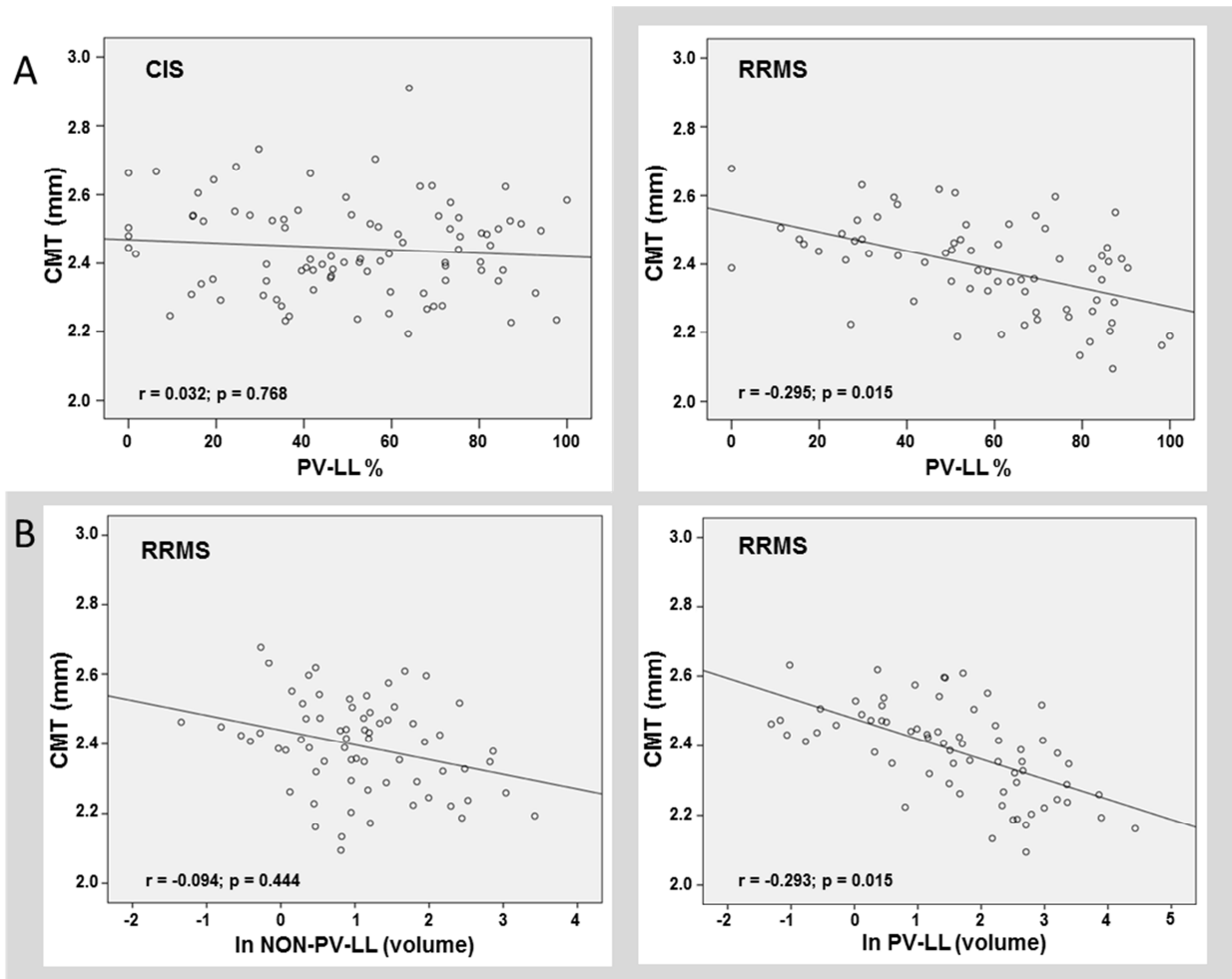


Abbildung 10: Streudiagramm (A) stellt die Korrelation zwischen der mittleren kortikalen Dicke und der prozentuellen periventrikulären Läsionslast bei Patientinnen und Patienten mit CIS (links) und RRMS (rechts) dar. Die Heterogenität der prozentuellen periventrikulären Läsionslast in beiden Gruppen kann anhand des Diagrammes abgelesen werden. In Streudiagramm (B) sind die Korrelationen zwischen der logarithmierten nicht-periventrikulären (links) und periventrikulären (rechts) Läsionslast und der mittleren kortikalen Dicke bei RRMS-Patientinnen und -Patienten dargestellt. Die Korrelation zwischen der periventrikulären Läsionslast und der mittleren kortikalen Dicke war nur bei RRMS-Patientinnen und -Patienten signifikant. CIS = klinisch isoliertes Syndrom; RRMS = schubförmig-remittierende Multiple Sklerose. (Jehna et al. 2015)

3.2.4 Die topographische Verteilung der betroffenen Kortexregionen

Um zusätzlich topographische Zusammenhänge zwischen der prozentuellen periventrikulären Läsionslast und Veränderungen der mittleren kortikalen Dicke zu untersuchen, wurde die Korrelation dieser Faktoren anhand eines generellen linearen Modells analysiert.

CIS-Patientinnen und -Patienten zeigten eine Assoziation zwischen PV-LL% und der mittleren kortikalen Dicke für die linke, kaudale Region des vorderen Cingulum sowie für den rechten Gyrus frontalis superior.

In der Gruppe der RRMS-Patientinnen und -Patienten konnten weitere und stärker ausgeprägte Assoziationen nachgewiesen werden. Signifikante Korrelationen mit der PV-LL% ergaben sich für den bilateralen Praecuneus, den Gyrus lingualis auf der linken Seite, den linken Gyrus occipitalis lateralis, die bilateralen Gyri parietalis superior, den linken Gyrus temporalis medialis, den rechten rostralen Teil des Gyrus frontalis medialis, den linken Gyrus frontalis superior sowie den rechten Gyrus parietalis inferior.

In Abbildung 11 sind diese topographischen Zusammenhänge zwischen der prozentuellen periventrikulären Läsionslast und der mittleren kortikalen Dicke graphisch dargestellt. Die dazugehörigen Werte sind in Tabelle 8 angeführt.

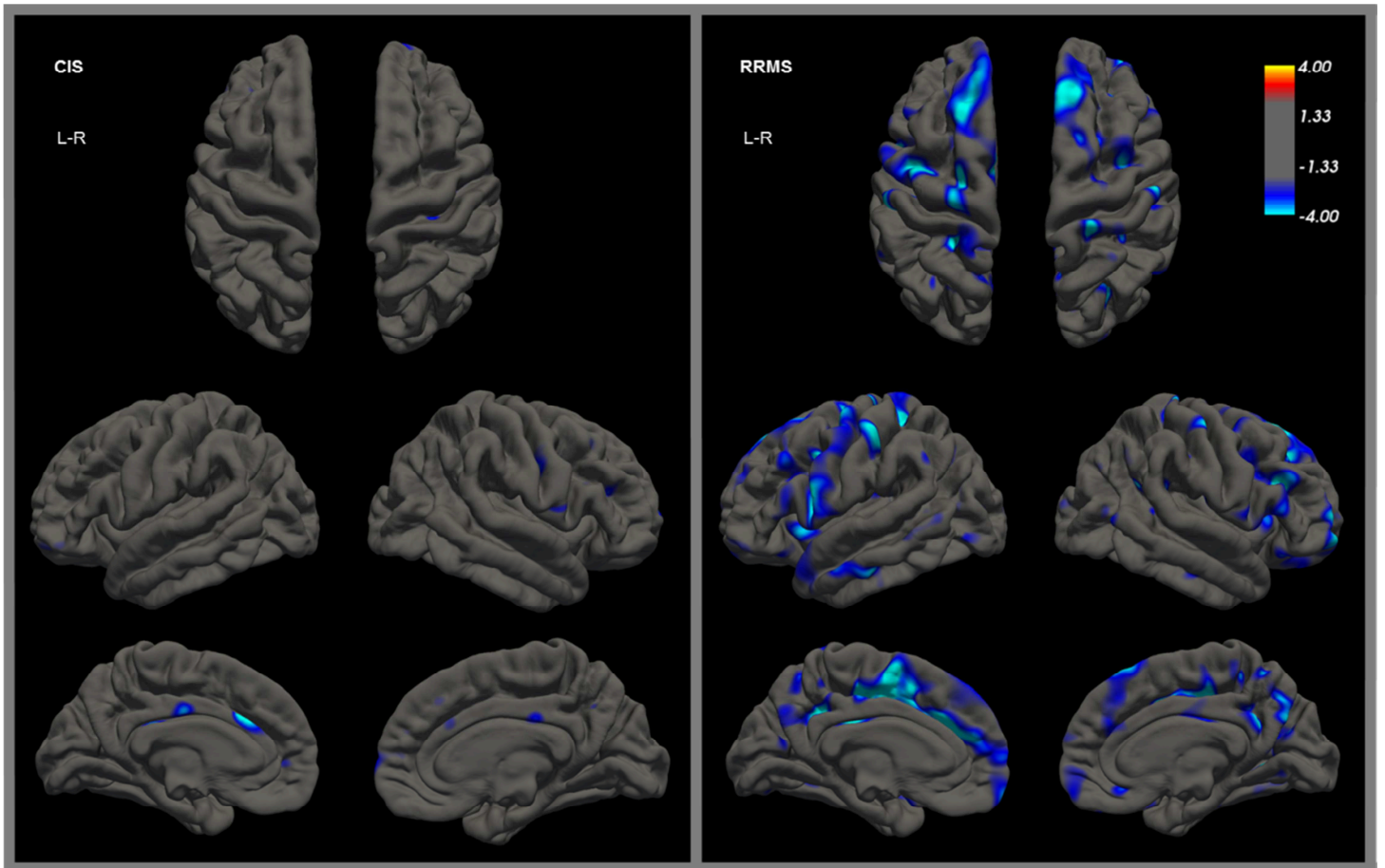


Abbildung 11: Topographische Verteilung der kortikalen Regionen, die signifikant negativ ($p < 0,01$, korrigiert) mit der prozentuellen periventriculären Läsionslast in CIS- (links) und RRMS- (rechts) Patientinnen und -Patienten korrelieren. CIS = klinisch isoliertes Syndrom; RRMS = schubförmig-remittierende Multiple Sklerose; L = links; R = rechts. (Jehna et al. 2015)

Tabelle 8: Korrelationen der prozentuellen periventrikulären Läsionslast (PV-LL%) mit der mittleren kortikalen Dicke (CMT) für die linke Hirnhemisphäre (lh) und die rechte Hirnhemisphäre (rh).

pValue Max (-log 10)	Size (mm ²)	MNI X	MNI Y	MNI Z	p	Region
----------------------	-------------------------	-------	-------	-------	---	--------

CIS PVLL% x Mittlere kortikale Dicke lh

-4.728	76.87	-7.1	20.2	28.5	0.0466	Cingulum anterior, kaudal
--------	-------	------	------	------	--------	---------------------------

CIS PVLL% x Cortical Thickness rh

-3.258	818.63	12.3	64.2	4.4	0.0030	Gyrus superior frontalis
--------	--------	------	------	-----	--------	--------------------------

RRMS PVLL% x Cortical Thickness lh

-6.034	6733.36	-14.8	-19.8	44.0	0.0002	Gyrus paracentralis
-5.422	6162.20	-33.3	-21.5	40.6	0.0002	Gyrus praecentralis
-5.401	594.66	-20.9	-42.2	57.9	0.0187	Gyrus superior parietalis
-5.105	754.42	-17.5	-10.1	60.8	0.0040	Gyrus superior frontalis
-5.051	1403.79	-15.9	-47.3	33.8	0.0002	Praecuneus
-4.621	1243.45	-22.9	-54.5	-5.6	0.0002	Gyrus lingualis
-3.853	1777.86	-57.9	-21.3	-21.4	0.0002	Gyrus medialis temporalis
-2.807	558.98	-44.6	-73.3	-7.2	0.0282	Gyrus lateralis occipitalis

RRMS PVLL% x Cortical Thickness rh

-6.382	7304.22	42.0	26.5	20.7	0.0002	Gyrus medialis, pars rostralis frontalis
-5.516	1913.58	13.3	-20.1	46.6	0.0002	Gyrus paracentralis
-5.410	823.26	29.4	-61.2	32.7	0.0028	Gyrus superior parietalis
-4.816	543.76	21.0	-33.9	68.8	0.0384	Gyrus postcentralis

-4.710	2713.53	15.5	-68.9	38.3	0.0002	Praecuneus
-4.222	540.23	48.5	-49.0	23.3	0.0396	Gyrus inferior parietalis
-3.494	972.00	27.8	-72.3	-6.6	0.0006	Gyrus fusiforme

Die Ergebnisse wurden mit der Z Monte Carlo Simulation korrigiert. pWert Max (-log 10): Maximum -log10 (pWert) im Cluster; Größe (mm²): Oberflächenbereich des Cluster; MNI (x, y, z): MNI305 Maximalkoordinate, p: Clusterweise-p-Wert

4 Diskussion

Im Rahmen dieser Diplomarbeit sollte die Fragestellung überprüft werden, ob die für MS typischen strukturellen Gewebeschäden in liquornahen Regionen des Gehirns, im Speziellen dem periventrikulären Bereich, mit dem Ausmaß der Pathologie im Kortex korrelieren. Grund zu der Annahme, dass es diesbezüglich einen Zusammenhang geben könnte, lieferten vorbestehende Arbeiten, deren Ergebnisse daraufhin deuten, dass die kortikale Pathologie bei MS durch derzeit unbekannte Faktoren im Liquor verursacht werden könnte (Howell et al. 2011;Choi et al. 2012;Magliozzi et al. 2010). Geht man von der Existenz eines solchen Faktors aus, kann man annehmen, dass dieser ebenso für die Demyelinisierung in der weißen Substanz mitverantwortlich sein könnte (Lassmann 2014).

Um die Hypothese zu überprüfen wurde eine umfassende Kohorte an MS-Patientinnen und -Patienten in frühen Stadien der Erkrankung (CIS oder RRMS mit geringem Behinderungsniveau) anhand aufwändiger, fortgeschrittener MRT-Techniken analysiert. Die Analyse inkludierte im Besonderen die Messung der kortikalen Dicke sowie einem neuen Algorithmus zur Bestimmung der periventrikulären Läsionslast. Durch Korrelationsanalysen wurden anschließend mögliche Zusammenhänge der erhobenen MRT-Parameter geprüft.

4.1 Die periventrikuläre Läsionslast korreliert mit verminderter kortikaler Dicke in RRMS-Patientinnen und -Patienten

Die Ergebnisse der Analysen machen deutlich, dass es eine signifikante Korrelation zwischen der zunehmenden prozentuellen periventrikulären Läsionslast und der abnehmenden kortikalen Dicke bei Patientinnen und Patienten mit schubförmig-remittierender MS gab. Selbst die Korrektur für das ventrikuläre Volumen und der totalen Läsionslast bei diesen Patientinnen und Patienten führte zu keiner wesentlichen Veränderung dieses Ergebnisses. Zudem zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen der mittleren kortikalen Dicke und dem Volumen periventrikulärer Läsionen in derselben Patientengruppe.

Dabei muss betont werden, dass diese Ergebnisse ausschließlich für Läsionen, die sich innerhalb des in dieser Arbeit definierten periventrikulären Bereichs befinden, jedoch nicht für die übrigen Läsionen der weißen Substanz außerhalb dieses Bereichs, gelten. Auch in der Gruppe der CIS-Patientinnen und -Patienten konnten keine entsprechenden signifikanten Zusammenhänge gefunden werden.

Aus den dargelegten Gründen bestätigen die Ergebnisse dieser Arbeit die Hypothese, dass es einen Zusammenhang zwischen periventrikulär gelegenen Läsionen in der weißen Substanz und der Pathologie im Kortex bei MS zu geben scheint. Zudem sprechen diese Befunde für die Annahme, dass zumindest ein Teil der kortikalen Gewebedegeneration bei RRMS-Patientinnen und -Patienten mit einem Faktor im Liquor, der das gewebeschädigende Geschehen triggert, in Zusammenhang stehen könnte (Geurts et al. 2012). Auch das Konzept, dass derartige Faktoren nicht nur die pathogenetischen Mechanismen innerhalb der grauen Substanz vorantreiben, sondern ebenso mitverantwortlich für die Entstehung der Läsionen in der weißen Substanz sein könnten (Lassmann 2014), wird durch diese Resultate unterstützt.

Evidenz für die Assoziation zwischen der Abnahme der kortikalen Dicke und einem entzündlichen Geschehen besteht durch histologische post-mortem Untersuchungen an Gehirnen von MS-Patientinnen und -Patienten. Das Ausmaß axonalen Zellschadens in MS-Gehirnen korreliert mit der zugrunde liegenden entzündlichen Aktivität, die sich durch Infiltration des Parenchyms und der

Meningen durch Entzündungszellen wie T-Lymphozyten, B-Lymphozyten und Plasmazellen äußert, unabhängig vom Erkrankungsstadium (Frischer et al. 2009). Zudem kommt es, wie bei SPMS-Patientinnen und -Patienten mit ausgeprägter entzündlicher Aktivität gezeigt werden konnte, zur Bildung ektooper, lymphfollikel-ähnlicher Strukturen in den Meningen (Serafini et al. 2004), deren Auftreten wiederum mit vermehrtem neuronalen Zelluntergang im Kortex in Zusammenhang steht (Magliozzi et al. 2010).

4.2 Die zerebrale Atrophie und die topographische Verteilung pathologischer Veränderungen im Kortex

Es ist bekannt, dass es im Verlauf der MS zu einer generalisierten, progredienten Abnahme des Gehirnvolumens kommt (Losseff et al. 1996). Studien haben gezeigt, dass die kortikale Atrophie bereits zu Beginn der Erkrankung gemessen werden kann (Dalton et al. 2004; Calabrese et al. 2007b) und einzelne Regionen des Kortex in der Folge besonders stark betroffen sind (Sailer et al. 2003). In der vorliegenden Arbeit konnte diese Beobachtung bestätigt werden.

Im Vergleich mit den gesunden Kontrollpersonen wurde bereits bei CIS-Patientinnen und -Patienten eine signifikante Abnahme der mittleren kortikalen Dicke gemessen. Dieses Ergebnis spricht für eine bereits bestehende, diffuse kortikale Pathologie zum Zeitpunkt der erstmaligen Manifestation der Erkrankung in Form klinischer Symptome (Filippi et al. 2015). Wie zu erwarten, zeigte auch die Gruppe der RRMS-Patientinnen und -Patienten gegenüber den gesunden Kontrollpersonen eine signifikant verringerte kortikale Dicke. Die Differenz fiel zudem im Vergleich mit CIS-Patientinnen und -Patienten stärker aus.

Des Weiteren konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen einer erhöhten periventrikulären Läsionslast und verringerter kortikaler Dicke bei RRMS-Patientinnen und -Patienten gefunden werden. In beiden Patientengruppen, jedoch stärker ausgeprägt in der Gruppe der RRMS-Patientinnen und -Patienten, umfassen die Regionen, die von der Reduktion der kortikalen Dicke besonders betroffen sind, das Cingulum, frontale, parietale und okzipitale Regionen sowie den Gyrus praecentralis und postcentralis beider Hirnhemisphären. Diese Beobachtungen stimmen mit denen vorangehender Arbeiten über die regionale kortikale Läsionsverteilung bei MS überein (Kutzelnigg & Lassmann 2006; Lassmann et al. 2007; Calabrese et al. 2007b; Jehna et al. 2013; Enzinger & Fazekas 2015).

Die topographische Verteilung deutet darauf hin, dass Regionen im Gehirn von MS-Patientinnen und -Patienten, die sich in unmittelbarer Nähe des Liquor cerebrospinalis befinden, so zum Beispiel in den tiefen Einkerbungen des Kortex, „anfälliger“ für die Entstehung kortikaler Pathologien sind. Dieser Umstand

unterstützt wiederum die Hypothese, dass ein Faktor im Liquor für die Genese und Progression der kortikalen Pathologie verantwortlich sein könnte.

4.3 Die Progression der kortikalen Pathologie mit dem Erkrankungsfortschritt

Zusammenfassend zeigten RRMS-Patientinnen und -Patienten im Vergleich mit CIS-Patientinnen und -Patienten eine verringerte mittlere kortikale Dicke, eine höhere totale T2-Läsionslast, eine höhere periventrikuläre Läsionslast, eine Volumenreduktion des Gewebes in der grauen Substanz und höhere Volumina der Ventrikel.

Die Beobachtungen der Veränderungen im MRT als Hinweis auf Gewebeschädigung sprechen für eine Progression der Pathologie, vor allem im Kortex, mit dem Fortschreiten der Erkrankung. Diese Zusammenhänge erscheinen plausibel, vor dem Hintergrund der bereits diskutierten pathologischen Befunde.

Dem hinzuzufügen ist die Tatsache, dass diese Unterschiede weder durch das Alter der Patientinnen und Patienten noch durch das globale Hirnvolumen beeinflusst wurden, da diese Parameter zwischen den beiden klinischen Phänotypen vergleichbar waren.

4.4 Heterogenität in der Frequenz des Auftretens periventrikulärer Läsionen

Es wird im Allgemeinen anerkannt, dass entzündlich-demyelinisierende Läsionen in der weißen Substanz die grundlegenden pathologische Veränderungen bei akuter und schubförmig-remittierender MS darstellen (Lassmann et al. 2007). Diese zeigen sich bevorzugt in der Nähe der Ventrikel, häufig unmittelbar an diese angrenzend (Fazekas et al. 1999; Filippi et al. 2011). Trotz der Tatsache, dass diese Regionen Prädilektionsstellen der fokalen morphologischen Veränderungen bei MS darstellen, existiert in dieser Hinsicht interindividuelle Heterogenität in der Frequenz der Beteiligung dieses Kompartiments. Diese Beobachtung wurde bereits durch vorangehende Studien, die mit Hilfe sogenannter „lesion-probability-maps“ die topographische Verteilung der Läsionen zu charakterisieren versuchten (Kincses et al. 2011; Giorgio et al. 2013), gemacht und hat sich auch in der vorliegenden Untersuchung bestätigt (siehe Abbildung 10). Das Auftreten periventrikulär gelegener Läsionen der weißen Substanz unterliegt weder in den einzelnen Gruppen noch über die ganze Kohorte der MS-Patientinnen und -Patienten einer Normalverteilung.

Zusätzlich zu der fehlenden Normalverteilung fiel auf, dass, obwohl die für dieses Projekt ausgewählten Patientinnen und Patienten durchgehend eher gutartige Verläufe mit lediglich geringgradiger körperlicher Beeinträchtigung (siehe Tabelle 4) aufwiesen, die Gesamtläsionslast in den T2-gewichteten FLAIR Aufnahmen der einzelnen Patientinnen und Patienten unterschiedlich stark ausgeprägt war. Diese Diskrepanz zwischen Bildgebung und klinischer Präsentation ist bekannt (Barkhof 2002). Siehe dazu auch Kapitel 1.6.3; „Das klinisch-radiologische Paradoxon“, und belegt die Überlegenheit objektiver MR-Marker der Krankheitsbezogenen morphologischen Veränderungen gegenüber klinischen Skalen.

Diese Beobachtungen scheinen teilweise übereinstimmend mit dem Konzept der Patienten-abhängigen immunopathologischen Heterogenität der Läsionen der weißen Substanz, welches kürzlich in publizierten Arbeiten erläutert wurde. Demnach wird angenommen, dass in unterschiedlichen Patientinnen und Patienten unterschiedliche Targets und Mechanismen der Demyelinisierung zur Bildung von Läsionen führen (Lucchinetti et al. 2000; Metz et al. 2014). Eine

derartige interindividuelle Heterogenität könnte nicht nur die morphologische Erscheinung innerhalb von Läsionen erklären, sondern ebenso die topographische Verteilung der Läsionen im ZNS und deren klinischen Auswirkungen.

4.5 Läsionen in unmittelbarer Nähe zum Liquorraum

Die analysierten Daten in der vorliegenden Arbeit haben gezeigt, dass die prozentuelle periventrikuläre Läsionslast signifikant mit verminderter kortikaler Dicke in der Gruppe der RRMS-Patientinnen und -Patienten, jedoch nicht in der Gruppe der CIS-Patientinnen und -Patienten, korreliert. Dieses Ergebnis spricht dafür, dass die Relevanz akkumulierender, pathogenetischer Prozesse, welche möglicherweise durch Faktoren im Liquor cerebrospinalis bedingt sind, mit Progression der Erkrankung für die Entstehung der zerebralen Gewebeschädigung zunimmt.

Geht man von der Existenz derartiger Faktoren im Liquor cerebrospinalis aus, die Einfluss auf die Entstehung struktureller Gewebeschädigungen sowohl in periventrikulären als auch in oberflächlichen, kortikalen Regionen haben, so würde man vermuten, dass die Läsionslast in diesen beiden Bereichen miteinander korrelieren. Die vorliegenden Ergebnisse bestätigen diese Annahme. In diesem Fall würde man sich im Weiteren erwarten, dass tiefergelegene Läsionen, also Läsionen die nicht direkt an den äußeren oder inneren Liquorraum angrenzen, entweder gar nicht oder zumindest weniger mit der Abnahme der mittleren kortikalen Dicke korrelieren als Läsionen die in nächster Nähe zu den Liquorräumen gelegen sind. Tatsächlich weisen die Daten in der hier präsentierten Arbeit auf ein solches Verhältnis hin.

4.6 Limitationen der Arbeit & zukünftige Schwerpunkte der Forschung

Hinsichtlich der verwendeten Methoden in dieser Arbeit muss darauf hingewiesen werden, dass die zahlreichen einzelnen Schritte der Messung und Analyse für sich eine Quelle für Bearbeitungsfehler darstellen. Um die Fehlerrate so gering wie möglich zu halten, wurden sämtliche Arbeitsschritte visuell genau überprüft, eine Akkumulation von Fehlern im Prozess der Datengewinnung kann jedoch nicht ausgeschlossen werden.

Es muss zudem erwähnt werden, dass das totale Volumen des periventrikulären Bereichs durch das ventrikuläre Volumen selbst direkt beeinflusst wird und infolge dessen die Wahrscheinlichkeit der Klassifizierung einer Läsion als periventrikulär erhöht ist. Um diesen Effekt so gut wie möglich zu kontrollieren, wurden partielle Korrelationsanalysen für die prozentuelle periventrikuläre Läsionslast und die mittlere kortikale Dicke, korrigiert für die Volumina der Ventrikel und der totalen Läsionslast, durchgeführt. Die Analysen ergaben zwar keine signifikante Korrelation über die gesamte Kohorte, aber dennoch für die Gruppe der RRMS-Patientinnen und -Patienten. Durch diese verwendeten Methoden wird die Aussagekraft der beobachteten Assoziation zwischen periventrikulären Läsionen und der Abnahme der kortikalen Dicke in Patientinnen und Patienten mit schubförmig-remittierender MS erhöht.

Insbesondere der erste Arbeitsschritt, die Segmentierung der Läsionen auf T2-gewichteten FLAIR-Aufnahmen, stellt eine Fehlerquelle dar. Die Segmentierung wurde durch eine einzelne Person manuell und halbautomatisiert durchgeführt, insofern basierte die Läsionsidentifikation der subjektiven Beurteilung dieser Person. Auch dieser Arbeitsschritt wurde visuell genau überprüft, dennoch kann nicht ausgeschlossen werden, dass einzelne Läsionen nicht als solche identifiziert wurden und Läsionsränder nicht genau konturiert wurden. Besonders Artefakte, physiologische Hyperintensitäten vor allem in Bereichen, die direkt an die Ventrikel heranreichen sowie die zum Teil unterschiedliche Bildqualität und Kontrastierung

der MRT-Aufnahmen tragen dazu bei, dass Bearbeitungsfehler in diesem ersten Arbeitsschritt nicht ausgeschlossen werden können.

Die wichtigste Limitation der Arbeit stellt die Tatsache dar, dass die gewonnenen Ergebnisse ausschließlich beschreibend für die Korrelationen zwischen den untersuchten MRT-Parametern interpretiert werden können. Diese Untersuchung liefert damit weder Aussagen zur Kausalität noch kann sie mögliche immunopathologische Faktoren, die Einfluss auf die Pathogenese haben könnten, identifizieren. Dennoch stellt die vorliegende Studie nach aktuellem Wissen die erste dar, die die beschriebenen Zusammenhänge in vivo in einer großen Kohorte untersuchte und deren Korrelation bestätigen konnte, und sollte damit Anlass zu weiterer Forschung in diesem Bereich geben.

Eine Reihe von Studien hat gezeigt, dass bei progredienten Formen der Erkrankung, wie der primär-progredienten MS oder der sekundär-progredienten MS, die Läsionen der grauen Substanz nur wenig bis keinen inflammatorischen Charakter besitzen. Sowohl die Infiltration durch T- und B-Lymphozyten als auch die Ablagerung von Komplementfaktoren sind in diesen Stadien deutlich geringer ausgeprägt. Auch für die Schädigung der Blut-Hirn-Schranke gibt es bei diesen Formen nur wenig Hinweise (Peterson et al. 2001; Bo et al. 2003b; Van Horssen et al. 2007; Brink et al. 2005). Die unterschiedlichen Eigenschaften der Läsionen in unterschiedlichen Stadien der Erkrankung sowie der fehlende Zusammenhang zwischen zunehmender kortikaler Pathologie und der Neubildung von Läsionen in der weißen Substanz in progredienten Stadien, hat folglich zu der Vermutung geführt, dass sich die Pathologie im Kortex ab einem gewissen Zeitpunkt zumindest teilweise unabhängig von der Pathologie in der weißen Substanz weiterentwickeln könnte (Bo et al. 2007; Kooi et al. 2009; Steenwijk et al. 2014; Steenwijk et al. 2015).

Aufgrund dieser Beobachtungen hat man sich bei dem vorliegenden Projekt dazu entschieden, sich bei der Auswahl der Patientinnen und Patienten auf jene mit frühen Stadien der Erkrankung, wie dem CIS und der schubförmig-remittierenden MS, zu beschränken. Man nimmt an, dass die pathologischen Prozesse zu Beginn der Erkrankung weniger ausgeprägt und klarer voneinander abgegrenzt sind als

bei fortgeschrittener MS. Zudem scheint der Einfluss neurodegenerativer Prozesse zu Erkrankungsbeginn geringer zu sein.

Zukünftige Studien mit umfassenden Patientenkohorten, die sämtliche MS-Phänotypen, insbesondere auch SPMS-Patientinnen und -Patienten, inkludieren und derartige Befunde vergleichend gegenüber stellen, würden in diesem Zusammenhang wichtige Erkenntnisse bezüglich der Dynamik und der Korrelationen entzündlicher und neurodegenerativer Prozesse in verschiedenen Stadien der MS bringen. Dazu zählt auch die Notwendigkeit von Untersuchungen im Längsschnitt über längere zeitliche Perioden, um die Dynamik dieser komplexen Prozesse zu erfassen.

Die pathophysiologischen Vorgänge der MS besser zu verstehen und die komplexen Zusammenhänge zu entschlüsseln stellt jedenfalls eine dringende Bemühung in der Forschung dar. Die Definition von Subtypen anhand der MRT liefert dabei einen wesentlichen Ansatzpunkt. Sowohl die klinische Beurteilung der Patientinnen und Patienten als auch die Auswahl von Therapien würde von genaueren Kenntnissen über die immunopathologischen Vorgänge und Zusammenhänge verschiedener pathologischer Prozesse innerhalb des einzelnen Patientinnen und Patienten profitieren. Insofern wäre es auch von großem Interesse gewesen, mögliche immunotheapeutische Effekte auf die gewonnenen Ergebnisse zu untersuchen. Das Design der Arbeit lässt derartige Aussagen jedoch nicht zu. Zudem haben nur etwa 30% der teilnehmenden Patientinnen und Patienten zum Zeitpunkt der Untersuchung eine immunmodulierende Therapie erhalten. Hierzu wäre eine groß angelegte, longitudinale, randomisierte Studien vonnöten.

Zusätzlich hätte die Untersuchung funktioneller Auswirkungen (Calabrese et al. 2009) der beobachteten Korrelationen weitere wertvolle Informationen liefern können. Leider wurden jedoch insbesondere keine kognitiven Tests (welche im Vergleich mit der EDSS relevanter erscheinen würden) bei den Teilnehmerinnen und Teilnehmern durchgeführt.

In zukünftigen Arbeiten, die sich mit dem Thema der Korrelation der Pathologien in verschiedenen Regionen des Gehirnes auseinandersetzen, sollte die Kohorte um

Patientinnen und Patienten mit progredienten Formen der MS erweitert werden, da Studien belegen, dass die kortikale Pathologie besonders in diesen Patientinnen und Patienten stark zunimmt (Kutzelnigg et al. 2005). Zusätzlich wäre es von großem Interesse, auch die Relation zwischen der Abnahme der kortikalen Dicke mit tiefergelegenen Strukturen der grauen Substanz, wie dem Thalamus und den Basalganglien, anhand geeigneter Methoden zu untersuchen. Die genannten Regionen grenzen an die Ventrikel, liegen damit ebenfalls in unmittelbarer Nähe zum Liquor cerebrospinalis, und sind bei der MS ebenso von strukturellen Schädigungen betroffen (Huitinga et al. 2001; Kooi et al. 2009). Diese Relationen stellen sich möglicherweise komplexer dar, da innerhalb solch tiefer Strukturen im Gehirn graue und weiße Substanz gemischt vorliegen und ihre sphärische Form die Analyse erschweren würde.

Literaturverzeichnis

- Al-Araji, A. H., & Oger, J. (2005). Reappraisal of Lhermitte's sign in multiple sclerosis. *Multiple sclerosis*, *11*(4), 398-402.
- Albert, M., Antel, J., Brück, W., & Stadelmann, C. (2007). Extensive cortical remyelination in patients with chronic multiple sclerosis. *Brain Pathology*, *17*(2), 129-138.
- Alonso, A., & Hernán, M. A. (2008). Temporal trends in the incidence of multiple sclerosis. A systematic review. *Neurology*, *71*(2), 129-135.
- Ascherio, A., Munger, K. L., Lennette, E. T., Spiegelman, D., Hernán, M. A., Olek, M. J., Hankinson, S.E., & Hunter, D. (2001). Epstein-Barr virus antibodies and risk of multiple sclerosis: a prospective study. *Jama*, *286*(24), 3083-3088.
- Ascherio, A., & Munger, K. L. (2007). Environmental risk factors for multiple sclerosis. Part II: Noninfectious factors. *Annals of neurology*, *61*(6), 504-513.
- Bakshi, R., Ariyaratana, S., Benedict, R. H., & Jacobs, L. (2001). Fluid-attenuated inversion recovery magnetic resonance imaging detects cortical and juxtacortical multiple sclerosis lesions. *Archives of neurology*, *58*(5), 742-748.
- Barkhof, F. (2002). The clinico-radiological paradox in multiple sclerosis revisited. *Current opinion in neurology*, *15*(3), 239-245.
- Bertrams, J., & Kuwert, E. (1972). HL-A antigen frequencies in multiple sclerosis. *European neurology*, *7*(1-2), 74-78.
- Bitsch, A., Kuhlmann, T., Stadelmann, C., Lassmann, H., Lucchinetti, C., & Brück, W. (2001). A longitudinal MRI study of histopathologically defined hypointense multiple sclerosis lesions. *Annals of neurology*, *49*(6), 793-796.
- Bö, L., Vedeler, C. A., Nyland, H. I., Trapp, B. D., & Mørk, S. J. (2003a). Subpial demyelination in the cerebral cortex of multiple sclerosis patients. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, *62*(7), 723-732.
- Bö, L., Vedeler, C. A., Nyland, H., Trapp, B. D., & Mørk, S. J. (2003b). Intracortical multiple sclerosis lesions are not associated with increased lymphocyte infiltration. *Multiple Sclerosis*, *9*(4), 323-331.
- Bö, L., Geurts, J. J., van der Valk, P., Polman, C., & Barkhof, F. (2007). Lack of correlation between cortical demyelination and white matter pathologic changes in multiple sclerosis. *Archives of neurology*, *64*(1), 76-80.
- Brink, B. P., Veerhuis, R., Breij, E. C., van der Valk, P., Dijkstra, C. D., & Bö, L. (2005). The pathology of multiple sclerosis is location-dependent: no significant

complement activation is detected in purely cortical lesions. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 64(2), 147-155.

Brosnan, C. F., & Raine, C. S. (2013). The astrocyte in multiple sclerosis revisited. *Glia*, 61(4), 453-465.

Calabrese, M., De Stefano, N., Atzori, M., Bernardi, V., Mattisi, I., Barachino, L., Morra, A., Rinaldi, L., Romualdi, C., Perini, P., Battistin, L., Gallo, P. (2007a). Detection of cortical inflammatory lesions by double inversion recovery magnetic resonance imaging in patients with multiple sclerosis. *Archives of Neurology*, 64(10), 1416-1422.

Calabrese, M., Atzori, M., Bernardi, V., Morra, A., Romualdi, C., Rinaldi, L., McAuliffe, M.J., Barachino, L., Perini, P., Fischl, B., Battistin, L., & Gallo, P. (2007b). Cortical atrophy is relevant in multiple sclerosis at clinical onset. *Journal of neurology*, 254(9), 1212-1220.

Calabrese, M., Agosta, F., Rinaldi, F., Mattisi, I., Grossi, P., Favaretto, A., Atzori, M., Bernardi, V., Barachino, L., Rinaldi, L., Perini, P., Gallo, P., & Filippi, M. (2009a). Cortical lesions and atrophy associated with cognitive impairment in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Archives of neurology*, 66(9), 1144-1150.

Calabrese, M., & Gallo, P. (2009b). Magnetic resonance evidence of cortical onset of multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis*, 15(8), 933-941.

Calabrese, M., Rocca, M. A., Atzori, M., Mattisi, I., Favaretto, A., Perini, P., Gallo, P., & Filippi, M. (2010). A 3-year magnetic resonance imaging study of cortical lesions in relapse-onset multiple sclerosis. *Annals of neurology*, 67(3), 376-383.

Calabrese, M., Rinaldi, F., Seppi, D., Favaretto, A., Squarcina, L., Mattisi, I., Perini, P., Bertoldo, A., & Gallo, P. (2011). Cortical diffusion-tensor imaging abnormalities in multiple sclerosis: a 3-year longitudinal study. *Radiology*, 261(3), 891-898.

Cermelli, C., Berti, R., Soldan, S. S., Mayne, M., James, M., Ludwin, S. K., & Jacobson, S. (2003). High frequency of human herpesvirus 6 DNA in multiple sclerosis plaques isolated by laser microdissection. *Journal of Infectious Diseases*, 187(9), 1377-1387.

Chard, D. T., Griffin, C. M., Parker, G. J. M., Kapoor, R., Thompson, A. J., & Miller, D. H. (2002). Brain atrophy in clinically early relapsing–remitting multiple sclerosis. *Brain*, 125(2), 327-337.

Choi, S. R., Howell, O. W., Carassiti, D., Magliozzi, R., Gveric, D., Muraro, P. A., Nicholas, R., Roncaroli, R., & Reynolds, R. (2012). Meningeal inflammation plays a role in the pathology of primary progressive multiple sclerosis. *Brain*, 135(10), 2925-2937.

- Compston, A. (1997). Genetic epidemiology of multiple sclerosis. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, 62(6), 553.
- Confavreux, C., Vukusic, S., Moreau, T., & Adeleine, P. (2000). Relapses and progression of disability in multiple sclerosis. *New England Journal of Medicine*, 343(20), 1430-1438.
- Confavreux, C., Vukusic, S., & Adeleine, P. (2003). Early clinical predictors and progression of irreversible disability in multiple sclerosis: an amnesic process. *Brain*, 126(4), 770-782.
- Cutter, G. R., Baier, M. L., Rudick, R. A., Cookfair, D. L., Fischer, J. S., Petkau, J., Syndulko, K., Weinshenker, B.G., Antel, J.P., Confavreux, C., Ellison, G.W., Lublin, F., Miller, A.E., Rao, S.M., Reingold, S., Thompson, A., & Willoughby, E. (1999). Development of a multiple sclerosis functional composite as a clinical trial outcome measure. *Brain*, 122(5), 871-882.
- Daams, M., Geurts, J. J., & Barkhof, F. (2013). Cortical imaging in multiple sclerosis: Recent findings and 'grand challenges'. *Current opinion in neurology*, 26(4), 345-352.
- Dalton, C. M., Chard, D. T., Davies, G. R., Miskiel, K. A., Altmann, D. R., Fernando, K., Plant, G.T., Thompson, A.J., & Miller, D. H. (2004). Early development of multiple sclerosis is associated with progressive grey matter atrophy in patients presenting with clinically isolated syndromes. *Brain*, 127(5), 1101-1107.
- Dean, G., McLoughlin, H., Brady, R., Adelstein, A. M., & Tallett-Williams, J. (1976). Multiple sclerosis among immigrants in Greater London. *British Medical Journal*, 1(6014), 861-864.
- De Stefano, N., Matthews, P. M., Fu, L., Narayanan, S., Stanley, J., Francis, G. S., Antel, J. P., & Arnold, D. L. (1998). Axonal damage correlates with disability in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. *Brain*, 121(Pt 8), 1469-1477.
- De Stefano, N., Narayanan, S., Francis, G. S., Arnaoutelis, R., Tartaglia, M. C., Antel, J. P., Matthews, P. M., & Arnold, D. L. (2001). Evidence of axonal damage in the early stages of multiple sclerosis and its relevance to disability. *Archives of neurology*, 58(1), 65-70.
- De Stefano, N., Matthews, P. M., Filippi, M., Agosta, F., De Luca, M., Bartolozzi, M. L., Guido, L., Ghezzi, A., Montanari, E., Cifelli, A., Federico, A., & Smith, S. M. (2003). Evidence of early cortical atrophy in MS: Relevance to white matter changes and disability. *Neurology*, 60(7), 1157-1162.
- Dyment, D. A., Sadnovich, A. D., & Ebers, G. C. (1997). Genetics of multiple sclerosis. *Human Molecular Genetics*, 6(10), 1693-1698.

Ebers, G. C., Bulman, D. E., Sadovnick, A. D., Paty, D. W., Warren, S., Hader, W., Murray, T. J., Seland, T. P., Duquette, P., Grey, T., Nelson, R., Nicolle, M., & Brunet, D. (1986). A population-based study of multiple sclerosis in twins. *New England Journal of Medicine*, 315(26), 1638-1642.

Ebers, G. C., Sadovnick, A. D., Dyment, D. A., Yee, I. M. L., Willer, C. J., & Risch, N. (2004). Parent-of-origin effect in multiple sclerosis: observations in half-siblings. *The Lancet*, 363(9423), 1773-1774.

Elian, M., Nightingale, S., & Dean, G. (1990). Multiple sclerosis among United Kingdom-born children of immigrants from the Indian subcontinent, Africa and the West Indies. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 53(10), 906-911.

Enzinger, C., & Fazekas, F. (2015). Measuring gray matter and white matter damage in MS: Why this is not enough. *Frontiers in neurology*, 17(6), 56.

Evangelou, N., Esiri, M. M., Smith, S., Palace, J., & Matthews, P. M. (2000). Quantitative pathological evidence for axonal loss in normal appearing white matter in multiple sclerosis. *Annals of neurology*, 47(3), 391-395.

Fazekas, F., Barkhof, F., Filippi, M., Grossman, R. I., Li, D. K. B., McDonald, W. I., McFarland, H. F., Paty, D. W., Simson, J. H., Wolinski, J. S., & Miller, D. H. (1999). The contribution of magnetic resonance imaging to the diagnosis of multiple sclerosis. *Neurology*, 53(3), 448-448.

Filippi, M., Horsfield, M. A., Morrissey, S. P., MacManus, D. G., Rudge, P., McDonald, W. I., & Miller, D. H. (1994). Quantitative brain MRI lesion load predicts the course of clinically isolated syndromes suggestive of multiple sclerosis. *Neurology*, 44(4), 635-635.

Filippi, M., Paty, D. W., Kappos, L., Barkhof, F., Compston, D. A. S., Thompson, A. J., Zhao, G. J., Wiles, C. M., McDonald, W. I., & Miller, D. H. (1995). Correlations between changes in disability and T2-weighted brain MRI activity in multiple sclerosis A follow-up study. *Neurology*, 45(2), 255-260.

Filippi, M., Yousry, T., Baratti, C., Horsfield, M. A., Mammi, S., Becker, C., Voltz, R., Spuler, S., Campi, A., Reiser, M.F., & Comi, G. (1996). Quantitative assessment of MRI lesion load in multiple sclerosis. A comparison of conventional spin-echo with fast fluid-attenuated inversion recovery. *Brain*, 119(4), 1349-1355.

Filippi, M., Rocca, M. A., De Stefano, N., Enzinger, C., Fisher, E., Horsfield, M. A., Inglese, M., Pelletier, D., & Comi, G. (2011). Magnetic resonance techniques in multiple sclerosis: the present and the future. *Archives of neurology*, 68(12), 1514-1520.

Filippi, M. (2015). MRI measures of neurodegeneration in multiple sclerosis: implications for disability, disease monitoring, and treatment. *Journal of neurology*, 262(1), 1-6.

- Fischer, M. T., Wimmer, I., Höftberger, R., Gerlach, S., Haider, L., Zrzavy, T., Hametner, S., Mahad, D., Binder, C.J., Krumbholz, M., Bauer, J., Bradl, M., & Lassmann, H. (2013). Disease-specific molecular events in cortical multiple sclerosis lesions. *Brain*, 136(Pt 6),1799-815.
- Fischl, B., & Dale, A. M. (2000). Measuring the thickness of the human cerebral cortex from magnetic resonance images. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(20), 11050-11055.
- Frischer, J. M., Bramow, S., Dal-Bianco, A., Lucchinetti, C. F., Rauschka, H., Schmidbauer, M., Laursen, H., Sorensen, P. S., & Lassmann, H. (2009). The relation between inflammation and neurodegeneration in multiple sclerosis brains. *Brain*, 132(5), 1175-1189.
- Gale, C. R., & Martyn, C. N. (1995).Migrant studies in multiple sclerosis. *Progress in neurobiology*, 47(4), 425-448.
- Gass, A., Filippi, M., Rodegher, M. E., Schwartz, A., Comi, G., & Hennerici, M. G. (1998). Characteristics of chronic MS lesions in the cerebrum, brainstem, spinal cord, and optic nerve on T1-weighted MRI. *Neurology*, 50(2), 548-550.
- Ge, Y., Grossman, R. I., Udupa, J. K., Wei, L., Mannon, L. J., Polansky, M., & Kolson, D. L. (2000). Brain Atrophy in Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis and Secondary Progressive Multiple Sclerosis: Longitudinal Quantitative Analysis 1. *Radiology*, 214(3), 665-670.
- Geurts, J. J., Pouwels, P. J., Uitdehaag, B. M., Polman, C. H., Barkhof, F., & Castelijns, J. A. (2005a). Intracortical Lesions in Multiple Sclerosis: Improved Detection with 3D Double Inversion-Recovery MR Imaging 1. *Radiology*, 236(1), 254-260.
- Geurts, J. J., Bö, L., Pouwels, P. J., Castelijns, J. A., Polman, C. H., & Barkhof, F. (2005b). Cortical lesions in multiple sclerosis: combined postmortem MR imaging and histopathology. *American Journal of Neuroradiology*, 26(3), 572-577.
- Geurts, J. J. G., Roosendaal, S. D., Calabrese, M., Ciccarelli, O., Agosta, F., Chard, D. T., Gass, A., Huerga, E., Moraal, B., Pareto, D., Rocca, M. A., Wattjes, M. P., Yousry, T. A., Uitdehaag, B. M., & Barkhof, F. (2011). Consensus recommendations for MS cortical lesion scoring using double inversion recovery MRI. *Neurology*, 76(5), 418-424.
- Geurts, J. J., Calabrese, M., Fisher, E., & Rudick, R. A. (2012). Measurement and clinical effect of grey matter pathology in multiple sclerosis. *The Lancet Neurology*, 11(12), 1082-1092.
- Gilmore, C. P., Bö, L., Owens, T., Lowe, J., Esiri, M. M., & Evangelou, N. (2006). Spinal cord gray matter demyelination in multiple sclerosis—a novel pattern of residual plaque morphology. *Brain pathology*, 16(3), 202-208.

- Giorgio, A., Battaglini, M., Rocca, M. A., De Leucio, A., Absinta, M., van Schijndel, R., Rovira, A., Tintore, M., Chard, D., Ciccarelli, O., Enzinger, C., Gasperini, C., Frederiksen, J., Filippi, M., Barkhof, F., & De Stefano, N. (2013). Location of brain lesions predicts conversion of clinically isolated syndromes to multiple sclerosis. *Neurology*, *80*(3), 234-241.
- Haahr, S., & Höllsberg, P. (2006). Multiple sclerosis is linked to Epstein-Barr virus infection. *Reviews in medical virology*, *16*(5), 297-310.
- Hawkins, S. A., & McDonnell, G. V. (1999). Benign multiple sclerosis? Clinical course, long term follow up, and assessment of prognostic factors. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, *67*(2), 148-152.
- He, Y., Dagher, A., Chen, Z., Charil, A., Zijdenbos, A., Worsley, K., & Evans, A. (2009). Impaired small-world efficiency in structural cortical networks in multiple sclerosis associated with white matter lesion load. *Brain*, *132*(12), 3366-3379.
- Hirtz, D., Thurman, D. J., Gwinn-Hardy, K., Mohamed, M., Chaudhuri, A. R., & Zalutsky, R. (2007). How common are the “common” neurologic disorders? *Neurology*, *68*(5), 326-337.
- Hjelmström, P. (2001). Lymphoid neogenesis: de novo formation of lymphoid tissue in chronic inflammation through expression of homing chemokines. *Journal of Leukocyte Biology*, *69*(3), 331-339.
- Hochmeister, S., Grundtner, R., Bauer, J., Engelhardt, B., Lyck, R., Gordon, G., Korosec, T., Kutzelnigg, A., Berger, J. J., Bradl, M., Bittner, R. E., & Lassmann, H. (2006). Dysferlin is a new marker for leaky brain blood vessels in multiple sclerosis. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, *65*(9), 855-865.
- Honig, L. S., & Sheremata, W. A. (1989). Magnetic resonance imaging of spinal cord lesions in multiple sclerosis. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, *52*(4), 459-466.
- Howell, O. W., Reeves, C. A., Nicholas, R., Carassiti, D., Radotra, B., Gentleman, S. M., Serafini, B., Aloisi, F., Roncaroli, F., Magliozzi, R., & Reynolds, R. (2011). Meningeal inflammation is widespread and linked to cortical pathology in multiple sclerosis. *Brain*, *134*(9), 2755-2771.
- Huitinga, I., De Groot, C. J., Van der Valk, P., Kamphorst, W., Tilders, F. J., & Swaab, D. F. (2001). Hypothalamic lesions in multiple sclerosis. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, *60*(12), 1208-1218.
- Jehna, M., Langkammer, C., Khalil, M., Fuchs, S., Reishofer, G., Fazekas, F., Ebner, F., & Enzinger, C. (2013). An exploratory study on the spatial relationship between regional cortical volume changes and white matter integrity in multiple sclerosis. *Brain connectivity*, *3*(3), 255-264.

- Jehna, M., Pirpamer, L., Khalil, M., Fuchs, S., Ropele, S., Langkammer, C., Pichler, A., Stulnig, F., Deutschmann, H., Fazekas, F., & Enzinger, C. (2015). Periventricular lesions correlate with cortical thinning in multiple sclerosis. *Annals of neurology*, 78(4), 530-539.
- Jenkinson, M., Bannister, P., Brady, M., & Smith, S. (2002). Improved optimization for the robust and accurate linear registration and motion correction of brain images. *Neuroimage*, 17(2), 825-841.
- Kantarci, O., & Wingerchuk, D. (2006). Epidemiology and natural history of multiple sclerosis: new insights. *Current opinion in neurology*, 19(3), 248-254.
- Kidd, D., Barkhof, F., McConnell, R., Algra, P. R., Allen, I. V., & Revesz, T. (1999). Cortical lesions in multiple sclerosis. *Brain*, 122(1), 17-26.
- Kincses, Z. T., Ropele, S., Jenkinson, M., Khalil, M., Petrovic, K., Loitfelder, M., Langkammer, C., Aspeck, E., Wallner-Blazek, M., Fuchs, S., Jehna, M., Schmidt, R., Vécsei, L., Fazekas, F., & Enzinger, C. (2011). Lesion probability mapping to explain clinical deficits and cognitive performance in multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis Journal*, 17(6), 681-689.
- Kooi, E. J., Geurts, J. J., van Horssen, J., Bø, L., & van der Valk, P. (2009). Meningeal inflammation is not associated with cortical demyelination in chronic multiple sclerosis. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 68(9), 1021-1028.
- Kurtzke, J. F. (1983). Rating neurologic impairment in multiple sclerosis an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology*, 33(11), 1444-1444.
- Kutzelnigg, A., Lucchinetti, C. F., Stadelmann, C., Brück, W., Rauschka, H., Bergmann, M., Schmidbauer, M., Parisi, J. E., & Lassmann, H. (2005). Cortical demyelination and diffuse white matter injury in multiple sclerosis. *Brain*, 128(11), 2705-2712.
- Kutzelnigg, A., & Lassmann, H. (2006). Cortical demyelination in multiple sclerosis: a substrate for cognitive deficits? *Journal of the neurological sciences*, 245(1), 123-126.
- Kutzelnigg, A., Faber-Rod, J. C., Bauer, J., Lucchinetti, C. F., Sorensen, P. S., Laursen, H., Stadelmann, C., Brück, W., Rauschka, H., Schmidbauer, M., & Lassmann, H. (2007). Widespread demyelination in the cerebellar cortex in multiple sclerosis. *Brain pathology*, 17(1), 38-44.
- Lassmann, H., Brück, W., & Lucchinetti, C. F. (2007). The immunopathology of multiple sclerosis: an overview. *Brain Pathology*, 17(2), 210-218.
- Lassmann, H. (2014). Multiple sclerosis: lessons from molecular neuropathology. *Experimental neurology*, 262, 2-7.

- Lechner, G. & Breitenseher, M. (2003). Lehrbuch der radiologisch-klinischen Diagnostik. Wien: Verlag Wilhelm Maudrich
- Levin, L. I., Munger, K. L., O'Reilly, E. J., Falk, K. I., & Ascherio, A. (2010). Primary infection with the Epstein-Barr virus and risk of multiple sclerosis. *Annals of neurology*, 67(6), 824-830.
- Li, D. K. B., Held, U., Petkau, J., Daumer, M., Barkhof, F., Fazekas, F., Frank, J. A., Kappos, L., Miller, D. H., Simon, J. H., Wolinsky, J. S., & Filippi, M. (2006). MRI T2 lesion burden in multiple sclerosis. A plateauing relationship with clinical disability. *Neurology*, 66(9), 1384-1389.
- Lill, C. M. (2014). Recent advances and future challenges in the genetics of multiple sclerosis. *Frontiers in neurology*, 14(5), 130.
- Lisak, R. P., Benjamins, J. A., Nedelkoska, L., Barger, J. L., Ragheb, S., Fan, B., Ouamara, N., Johnson, T. A., Rajasekharan, S., & Bar-Or, A. (2012). Secretory products of multiple sclerosis B cells are cytotoxic to oligodendroglia in vitro. *Journal of neuroimmunology*, 246(1), 85-95.
- Losseff, N. A., Wang, L., Lai, H. M., Yoo, D. S., Gawne-Cain, M. L., McDonald, W. I., Miller, T. H., & Thompson, A. J. (1996). Progressive cerebral atrophy in multiple sclerosis. A serial MRI study. *Brain*, 119(6), 2009-2019.
- Lublin, F. D., & Reingold, S. C. (1996). Defining the clinical course of multiple sclerosis results of an international survey. *Neurology*, 46(4), 907-911.
- Lublin, F. D., Reingold, S. C., Cohen, J. A., Cutter, G. R., Sørensen, P. S., Thompson, A. J., Wolinsky, J. S., Balcer, L. J., Banwell, B., Barkhof, F., Bebo, B. Jr., Calabresi, P. A., Clanet, M., Comi, G., Fox, R. J., Freedman, M. S., Goodman, A. D., Inglese, M., Kappos, L., Kieseier, B. C., Lincoln, J. A., Lubetzki, D., Miller, A.E., Montalban, X., O'Connor, P.W., Petkau, J., Pozzilli, C., Rudick, R. A., Sormani, M. P., Stüve, O., Waubant, E., & Polman, C. H. (2014). Defining the clinical course of multiple sclerosis. The 2013 revisions. *Neurology*, 83(3), 278-286.
- Lucchinetti, C., Bruck, W., Parisi, J., Scheithauer, B., Rodriguez, M., & Lassman, H. (2000). Heterogeneity of multiple sclerosis lesions: implications for the pathogenesis of demyelination. *Annals of neurology*, 47(6), 707-717.
- Lucchinetti, C. F., Popescu, B. F., Bunyan, R. F., Moll, N. M., Roemer, S. F., Lassmann, H., Brück, W., Parisi, J. E., Scheithauer, B. W., Giannini, C., Weigand, S. D., Mandrekar, J., & Ransohoff, R. M. (2011). Inflammatory cortical demyelination in early multiple sclerosis. *New England Journal of Medicine*, 365(23), 2188-2197.

Lycklama, G., Thompson, A., Filippi, M., Miller, D., Polman, C., Fazekas, F., & Barkhof, F. (2003). Spinal-cord MRI in multiple sclerosis. *The Lancet Neurology*, 2(9), 555-562.

Magliozzi, R., Howell, O., Vora, A., Serafini, B., Nicholas, R., Puopolo, M., Reynolds, R., & Aloisi, F. (2007). Meningeal B-cell follicles in secondary progressive multiple sclerosis associate with early onset of disease and severe cortical pathology. *Brain*, 130(4), 1089-1104.

Magliozzi, R., Howell, O. W., Reeves, C., Roncaroli, F., Nicholas, R., Serafini, B., Aloisi, F., & Reynolds, R. (2010). A Gradient of neuronal loss and meningeal inflammation in multiple sclerosis. *Annals of neurology*, 68(4), 477-493.

Mainero, C., Benner, T., Radding, A., Van der Kouwe, A., Jensen, R., Rosen, B. R., & Kinkel, R. P. (2009). In vivo imaging of cortical pathology in multiple sclerosis using ultra-high field MRI. *Neurology*, 73(12), 941-948.

Marrie, R. A. (2004). Environmental risk factors in multiple sclerosis aetiology. *The Lancet Neurology*, 3(12), 709-718.

Mattle, H. & Mumenthaler, M. (2013). Neurologie. 13. Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag. Kapitel 5.1, Seite 351-365.

McDonald, W. I., Compston, A., Edan, G., Goodkin, D., Hartung, H. P., Lublin, F. D., McFarland, H. F., Paty, D. W., Polman, C. H., Reingold, S. C., Sandberg-Wollheim, M., Sibley, W., Thompson, A., van den Noort, S., Weinshenker, B. Y., & Wolinsky, J. S. (2001). Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. *Annals of neurology*, 50(1), 121-127.

Merkler, D., Ernsting, T., Kerschensteiner, M., Brück, W., & Stadelmann, C. (2006). A new focal EAE model of cortical demyelination: multiple sclerosis-like lesions with rapid resolution of inflammation and extensive remyelination. *Brain*, 129(8), 1972-1983.

Metz, I., Weigand, S. D., Popescu, B. F., Frischer, J. M., Parisi, J. E., Guo, Y., Lassmann, H., Brück, W., & Lucchinetti, C. F. (2014). Pathologic heterogeneity persists in early active multiple sclerosis lesions. *Annals of neurology*, 75(5), 728-738.

Miki, Y., Grossman, R. I., Udupa, J. K., Wei, L., Polansky, M., Mannon, L. J., & Kolson, D. L. (1999). Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis: Longitudinal Analysis of MR Images—Lack of Correlation between Changes in T2 Lesion Volume and Clinical Findings 1. *Radiology*, 213(2), 395-399.

- Miller, D. H., Barkhof, F., Frank, J. A., Parker, G. J., & Thompson, A. J. (2002). Measurement of atrophy in multiple sclerosis: pathological basis, methodological aspects and clinical relevance. *Brain*, *125*(8), 1676-1695.
- Miller, D., Barkhof, F., Montalban, X., Thompson, A., & Filippi, M. (2005). Clinically isolated syndromes suggestive of multiple sclerosis, part I: natural history, pathogenesis, diagnosis, and prognosis. *The Lancet Neurology*, *4*(5), 281-288.
- Miller, D. H., & Leary, S. M. (2007). Primary-progressive multiple sclerosis. *The Lancet Neurology*, *6*(10), 903-912.
- Minagar, A., Toledo, E. G., Alexander, J. S., & Kelley, R. E. (2004). Pathogenesis of brain and spinal cord atrophy in multiple sclerosis. *Journal of Neuroimaging*, *14*(3), 5S-10.
- Moore, G. R. W., Laule, C., Mackay, A., Leung, E., Li, D. K. B., Zhao, G., Traboulsee, A. L., & Paty, D. W. (2008). Dirty-appearing white matter in multiple sclerosis. *Journal of neurology*, *255*(11), 1802-1811.
- Munger, K. L., Zhang, S. M., O'reilly, E., Hernan, M. A., Olek, M. J., Willett, W. C., & Ascherio, A. (2004). Vitamin D intake and incidence of multiple sclerosis. *Neurology*, *62*(1), 60-65.
- Munger, K. L., Levin, L. I., Hollis, B. W., Howard, N. S., & Ascherio, A. (2006). Serum 25-hydroxyvitamin D levels and risk of multiple sclerosis. *Jama*, *296*(23), 2832-2838.
- Naito, S., Namerow, N., Mickey, M. R., & Terasaki, P. I. (1972). Multiple Sclerosis: Association with HL—A3. *Tissue antigens*, *2*(1), 1-4.
- aNijeholt, G. L., Van Walderveen, M. A. A., & Castelijns, J. A. (1998). Brain and spinal cord abnormalities in multiple sclerosis. *Brain*, *121*, 687-697.
- Offenbacher, H., Fazekas, F., Schmidt, R., Freidl, W., Flooh, E., Payer, F., & Lechner, H. (1993). Assessment of MRI criteria for a diagnosis of MS. *Neurology*, *43*(5), 905-905.
- Oreja-Guevara, C., Rovaris, M., Iannucci, G., Valsasina, P., Caputo, D., Cavarretta, R., Sormani, M. P., Ferrante, P., Comi, G., & Filippi, M. (2005). Progressive gray matter damage in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis: a longitudinal diffusion tensor magnetic resonance imaging study. *Archives of Neurology*, *62*(4), 578-584.
- O'Riordan, J. I., Thompson, A. J., Kingsley, D. P., MacManus, D. G., Kendall, B. E., Rudge, P., McDonald, W.I., & Miller, D. H. (1998). The prognostic value of brain MRI in clinically isolated syndromes of the CNS. A 10-year follow-up. *Brain*, *121*, 495-503.

Ormerod, I. E. C., Miller, D. H., McDonald, W. I., Boulay, E. D., Rudge, P., Kendall, B. E., Moseley, I. F., Johnson, G., Tofts, P. S., Halliday, A. M., Bronstein, H. M., Scaravilli, F., Harding, H. E., Barnes, D., & Zilkha, K. J. (1987). The role of NMR imaging in the assessment of multiple sclerosis and isolated neurological lesions. A quantitative study. *Brain*, *110*(6), 1579-1616.

Peterson, J. W., Bö, L., Mörk, S., Chang, A., & Trapp, B. D. (2001). Transected neurites, apoptotic neurons, and reduced inflammation in cortical multiple sclerosis lesions. *Annals of neurology*, *50*(3), 389-400.

Plummer, D. L. (1992). Displmage: a display and analysis tool for medical images. *Rev Neuroradiol*, *5*, 489-495.

Polman, C. H., Reingold, S. C., Edan, G., Filippi, M., Hartung, H. P., Kappos, L., Lublin, F. D., Metz, L. M., McFarland, H.F., O'Connor, P.W., Sandberg-Wollheim, M., Thompson, A. J., Weinshenker, B. G., & Wolinsky, J. S. (2005). Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the "McDonald Criteria". *Annals of neurology*, *58*(6), 840-846.

Polman, C. H., Reingold, S. C., Banwell, B., Clanet, M., Cohen, J. A., Filippi, M., Fujihara, K., Havrdova, E., Hutchinson, M., Kappos, L., Lublin, F. D., Montalban, X., O'Connor, P., Sandberg-Wollheim, M., Thompson, A. J., Waubant, E., Weinshenker, B., & Wolinsky, J. S. (2011). Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria. *Annals of neurology*, *69*(2), 292-302.

Popescu, B. G., Bunyan, R. F., Parisi, J. E., Ransohoff, R. M., & Lucchinetti, C. F. (2011). A case of multiple sclerosis presenting with inflammatory cortical demyelination. *Neurology*, *76*(20), 1705-1710.

Popescu, V., Klaver, R., Voorn, P., Galis-de Graaf, Y., Knol, D. L., Twisk, J. W. R., Versteeg, A., Schenk, G. F., Van der Valk, P., Barkhof, F., De Vries, H. E., Vrenken, H., & Geurts, J. J. G. (2015). What drives MRI-measured cortical atrophy in multiple sclerosis? *Multiple Sclerosis Journal*, *21*(10), 1280-90.

Prineas, J. W., Kwon, E. E., Cho, E. S., Sharer, L. R., Barnett, M. H., Oleszak, E. L., Hoffmann, B., & Morgan, B. P. (2001). Immunopathology of secondary-progressive multiple sclerosis. *Annals of neurology*, *50*(5), 646-657.

Pugliatti, M., Rosati, G., Carton, H., Riise, T., Drulovic, J., Vécsei, L., & Milanov, I. (2006). The epidemiology of multiple sclerosis in Europe. *European journal of Neurology*, *13*(7), 700-722.

Reddy, H., Narayanan, S., Arnoutelis, R., Jenkinson, M., Antel, J., Matthews, P. M., & Arnold, D. L. (2000). Evidence for adaptive functional changes in the cerebral cortex with axonal injury from multiple sclerosis. *Brain*, *123*(11), 2314-2320.

Riise, T., Grønning, M., Fernandez, O., Lauer, K., Midgard, R., Minderhoud, J. M., Nyland, H., Pálffy, G., Poser, S., & Aarli, J. A. (1992). Early prognostic factors for disability in multiple sclerosis, a European multicenter study. *Acta neurologica scandinavica*, 85(3), 212-218.

Robertson, N. P., Fraser, M., Deans, J., Clayton, D., Walker, N., & Compston, D. A. S. (1996). Age-adjusted recurrence risks for relatives of patients with multiple sclerosis. *Brain*, 119(2), 449-456.

Rosati, G. (2001). The prevalence of multiple sclerosis in the world: an update. *Neurological sciences*, 22(2), 117-139.

Rovaris, M., Bozzali, M., Iannucci, G., Ghezzi, A., Caputo, D., Montanari, E., Bertolotto, A., Bergamaschi, R., Capra, R., Mancardi, G. L., Martinelli, V., Comi, G., & Filippi, M. (2002). Assessment of normal-appearing white and gray matter in patients with primary progressive multiple sclerosis: a diffusion-tensor magnetic resonance imaging study. *Archives of Neurology*, 59(9), 1406-1412.

Runmarker, B. R., & Andersen, O. (1993). Prognostic factors in a multiple sclerosis incidence cohort with twenty-five years of follow-up. *Brain*, 116(1), 117-134.

Sadovnick, A. D., Baird, P. A., Ward, R. H., Optiz, J. M., & Reynolds, J. F. (1988). Multiple sclerosis. Updated risks for relatives. *American journal of medical genetics*, 29(3), 533-541.

Sadovnick, A. D., Armstrong, H., Rice, G. P. A., Bulman, D., Hashimoto, L., Party, D. W., Hashimoto, S. A., Warren, S., Hader, W., Murray, T. J., Seland, T. P., Metz, L., Bell, R., Duquette, P., Gray, T., Nelson, R., Weinshenker, B., Brunt, D., & Ebers, G. C. (1993). A population-based study of multiple sclerosis in twins: update. *Annals of neurology*, 33(3), 281-285.

Sailer, M., Fischl, B., Salat, D., Tempelmann, C., Schönfeld, M. A., Busa, E., Bodammer, N., Heinze, H. J., & Dale, A. (2003). Focal thinning of the cerebral cortex in multiple sclerosis. *Brain*, 126(8), 1734-1744.

Sawcer S, Hellenthal G, Pirinen M, Spencer CC, et al. International Multiple Sclerosis Genetics Consortium, & Wellcome Trust Case Control Consortium 2. (2011). Genetic risk and a primary role for cell-mediated immune mechanisms in multiple sclerosis. *Nature*, 476(7359), 214-219.

Scalfari, A., Neuhaus, A., Degenhardt, A., Rice, G. P., Muraro, P. A., Daumer, M., & Ebers, G. C. (2010). The natural history of multiple sclerosis, a geographically based study 10: relapses and long-term disability. *Brain*, 133(7), 1914-1929.

Schmidt, R. M. & Hoffmann, F. (2002). Multiple Sklerose. München: Urban & Fischer Verlag

- Schmierer, K., Parkes, H. G., So, P. W., An, S. F., Brandner, S., Ordidge, R. J., Yousry, T. A., & Miller, D. H. (2010). High field (9.4 Tesla) magnetic resonance imaging of cortical grey matter lesions in multiple sclerosis. *Brain*, *133*(3), 858-867.
- Seewann, A., Vrenken, H., Kooi, E. J., van der Valk, P., Knol, D. L., Polman, C. H., Pouwels, P. J., Barkhof, F., & Geurts, J. J. (2011). Imaging the tip of the iceberg: visualization of cortical lesions in multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis Journal*, *17*(10), 1202-1210.
- Seewann, A., Kooi, E. J., Roosendaal, S. D., Pouwels, P. J. W., Wattjes, M. P., Van Der Valk, P., Barkhof, F., Polman, C. H., & Geurts, J. J. G. (2012). Postmortem verification of MS cortical lesion detection with 3D DIR. *Neurology*, *78*(5), 302-308.
- Serafini, B., Rosicarelli, B., Magliozzi, R., Stigliano, E., & Aloisi, F. (2004). Detection of ectopic B-cell follicles with germinal centers in the meninges of patients with secondary progressive multiple sclerosis. *Brain pathology*, *14*(2), 164-174.
- Serafini, B., Rosicarelli, B., Franciotta, D., Magliozzi, R., Reynolds, R., Cinque, P., Andreoni, L., Trivedi, P., Salvetti, M., Faggioni, A., & Aloisi, F. (2007). Dysregulated Epstein-Barr virus infection in the multiple sclerosis brain. *The Journal of experimental medicine*, *204*(12), 2899-2912.
- Sharrack, B., & Hughes, R. A. (1996). Clinical scales for multiple sclerosis. *Journal of the neurological sciences*, *135*(1), 1-9.
- Siebert, R. J., & Abernethy, D. A. (2005). Depression in multiple sclerosis: a review. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, *76*(4), 469-475.
- Smith, S. M., Zhang, Y., Jenkinson, M., Chen, J., Matthews, P. M., Federico, A., & De Stefano, N. (2002). Accurate, robust, and automated longitudinal and cross-sectional brain change analysis. *Neuroimage*, *17*(1), 479-489.
- Soilu-Hänninen, M., Airas, L., Mononen, I., Heikkilä, A., Viljanen, M., & Hänninen, A. (2005). 25-Hydroxyvitamin D levels in serum at the onset of multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis*, *11*(3), 266-271.
- Soldan, S. S., & Jacobson, S. (2000). Role of viruses in etiology and pathogenesis of multiple sclerosis. *Advances in virus research*, *56*, 517-555.
- Sriram, S., Stratton, C. W., Yao, S. Y., Tharp, A., Ding, L., Bannan, J. D., & Mitchell, W. M. (1999). Chlamydia pneumoniae infection of the central nervous system in multiple sclerosis. *Annals of neurology*, *46*(1), 6-14.
- Steenwijk, M. D., Daams, M., Pouwels, P. J., Balk, L. J., Tewarie, P. K., Killestein, J., Uitdehaag, B. M., Geurts, J. J., Barkhof, F., & Vrenken, H. (2014). What

explains gray matter atrophy in long-standing multiple sclerosis?

Radiology, 272(3), 832-842.

Steenwijk, M. D., Daams, M., Pouwels, P. J., J Balk, L., Tewarie, P. K., Geurts, J. J., Barkhof, F., & Vrenken, H. (2015). Unraveling the relationship between regional gray matter atrophy and pathology in connected white matter tracts in long-standing multiple sclerosis. *Human brain mapping*, 36(5), 1796-1807.

Strasser-Fuchs, S., Enzinger, C., Ropele, S., Wallner, M., & Fazekas, F. (2008). Clinically benign multiple sclerosis despite large T2 lesion load: can we explain this paradox? *Multiple sclerosis*, 14(2), 205-211.

Thacker, E. L., Mirzaei, F., & Ascherio, A. (2006). Infectious mononucleosis and risk for multiple sclerosis: A meta-analysis. *Annals of neurology*, 59(3), 499-503.

Thorpe, J. W., Mumford, C. J., Compston, D. A., Kendall, B. E., MacManus, D. G., McDonald, W. I., & Miller, D. H. (1994). British Isles survey of multiple sclerosis in twins: MRI. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 57(4), 491-496.

Thorpe, J. W., Kidd, D., Moseley, I. F., Thompson, A. J., MacManus, D. G., Compston, D. A. S., McDonald, W. I., & Miller, D. H. (1996). Spinal MRI in patients with suspected multiple sclerosis and negative brain MRI. *Brain*, 119(3), 709-714.

Trapp, B. D., Peterson, J., Ransohoff, R. M., Rudick, R., Mörk, S., & Bö, L. (1998). Axonal transection in the lesions of multiple sclerosis. *New England Journal of Medicine*, 338(5), 278-285.

Van Horssen, J., Brink, B. P., de Vries, H. E., van der Valk, P., & Bø, L. (2007). The blood-brain barrier in cortical multiple sclerosis lesions. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 66(4), 321-328.

Van Waesberghe, J. H., Van Walderveen, M. A., Castelijns, J. A., Scheltens, P., a Nijeholt, G. L., Polman, C. H., & Barkhof, F. (1998). Patterns of lesion development in multiple sclerosis: longitudinal observations with T1-weighted spin-echo and magnetization transfer MR. *American Journal of Neuroradiology*, 19(4), 675-683.

Vercellino, M., Masera, S., Lorenzatti, M., Condello, C., Merola, A., Mattioda, A., Tribolo, A., Capello, E., Mancardi, G. L., Mutani, R., Giordana, M. T., & Cavalla, P. (2009). Demyelination, inflammation, and neurodegeneration in multiple sclerosis deep gray matter. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 68(5), 489-502.

Wallner-Blazek, M., Rovira, A., Fillipp, M., Rocca, M. A., Miller, D. H., Schmierer, K., Frederiksen, J., Gass, A., Gama, H., Tilbery, C. P., Rocha, A. J., Flores, J., Barkhof, F., Seewann, A., Palace, J., Yousry, T., Montalban, X., Enzinger, C., & Fazekas, F. (2013). Atypical idiopathic inflammatory demyelinating lesions:

prognostic implications and relation to multiple sclerosis. *Journal of neurology*, 260(8), 2016-2022.

Wegner, C., Esiri, M. M., Chance, S. A., Palace, J., & Matthews, P. M. (2006). Neocortical neuronal, synaptic, and glial loss in multiple sclerosis. *Neurology*, 67(6), 960-967.

Weinshenker, B. G., Bass, B., Rice, G. P. A., Noseworthy, J., Carriere, W., Baskerville, J., & Ebers, G. C. (1989). The natural history of multiple sclerosis: a geographically based study. *Brain*, 112(1), 133-146.

Westerlind, H., Ramanujam, R., Uvehag, D., Kuja-Halkola, R., Boman, M., Bottai, M., Lichtenstein, P., & Hillert, J. (2014). Modest familial risks for multiple sclerosis: a registry-based study of the population of Sweden. *Brain*, 137(3), 770-778.

Willer, C. J., Dyment, D. A., Risch, N. J., Sadovnick, A. D., Ebers, G. C., & Canadian Collaborative Study Group. (2003). Twin concordance and sibling recurrence rates in multiple sclerosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(22), 12877-12882.

Zhao, G. J., Li, D. K. B., Cheng, Y., Wang, X. Y., & Paty, D. W. (1998). Active multiple sclerosis lesions occur in dirty-appearing white matter as detected by serial magnetic resonance imaging. *Annals of neurology*, 44(3), 465-465.