

Zellgebundenes ICAM-1 auf Leukozyten im Blut bei Patienten mit schubförmig-remittierender Multipler Sklerose – Natürlicher Verlauf und Einfluss einer Therapie mit Interferon- β -1b

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
des Fachbereichs Humanmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von Roland Bauer

aus Landsberg am Lech

Gießen 2003

Aus dem Medizinischen Zentrum für Neurologie und Neurochirurgie
-Neurologische Klinik-
Leiter: Prof. Dr. med. M. Kaps
des Universitätsklinikums Gießen

Gutachter: PD Dr. P. Oschmann

Gutachter: Prof. Dr. H. Pralle

Tag der Disputation: 16.10.2003

1	EINLEITUNG.....	1
1.1	DAS KRANKHEITSBILD MULTIPLE SKLEROSE.....	1
1.1.1	<i>Epidemiologie und Ätiologie</i>	1
1.1.2	<i>Klinisches Bild und Verlaufsformen</i>	4
1.2	PATHOGENESE	10
1.2.1	<i>Pathologie und Histologie</i>	10
1.2.2	<i>Immunpathogenese</i>	11
1.3	BEDEUTUNG VON ZELLADHÄSIONSMOLEKÜLEN.....	13
1.3.1	<i>Einteilung</i>	13
1.3.2	<i>Struktur von ICAM-1</i>	14
1.3.3	<i>Pathogenetische Bedeutung von ICAM-1</i>	14
1.4	BEDEUTUNG VON ZYTKINEN	15
1.4.1	<i>Zytokine bei der Multiplen Sklerose</i>	16
1.4.2	<i>Funktion und Wirkung von Interferon-β</i>	16
1.5	THERAPIE DER MULTIPLLEN SKLEROSE	17
1.5.1	<i>Basistherapie</i>	17
1.5.2	<i>Symptomatische Therapie</i>	19
1.6	ZIELSETZUNG.....	20
2	MATERIAL UND METHODEN.....	21
2.1	KORRELATION VON IMMUNOLOGISCHEN, KLINISCHEN UND MRT-PARAMETERN BEI UNBEHANDELTEN PATIENTEN	21
2.1.1	<i>Patientengruppen</i>	21
2.1.2	<i>Studienaufbau</i>	22
2.2	VERÄNDERUNGEN DER ICAM-1-EXPRESSION IM ZEITLICHEN VERLAUF BEI BEHANDELTEN UND UNBEHANDELTEN PATIENTEN.....	22
2.2.1	<i>Patientengruppen</i>	22
2.2.2	<i>Studienaufbau und Patientenbeobachtung</i>	23
2.3	DIFFERENZIERUNG DER LEUKOZYTENSUBPOPULATIONEN MIT HILFE MONOKLONALER ANTIKÖRPER	24
2.4	BESTIMMUNG DER ICAM-1-EXPRESSION AUF LEUKOZYTEN MITTELS DURCHFLUSSZYTOMETRIE	25
2.4.1	<i>Testprinzip</i>	25

2.4.2	<i>Probenmaterial</i>	26
2.4.3	<i>Testablauf</i>	27
2.4.4	<i>Quantifizierbare Auswertung der Ergebnisse</i>	27
2.5	MAGNETRESONANZTOMOGRAFIE.....	32
2.5.1	<i>Anfertigung der MRT-Bilder</i>	32
2.5.2	<i>Auswertung der MRT-Bilder</i>	32
2.6	STATISTISCHE AUSWERTUNG	33
3	ERGEBNISSE	35
3.1	KORRELATION DER EXPRESSION VON cICAM-1 MIT KLINISCHEN UND NEURORADIOLOGISCHEN PARAMETERN.....	35
3.1.1	<i>Vergleich von Subgruppen mit unterschiedlicher Krankheitsaktivität im MRT</i> ...35	
3.1.2	<i>Korrelation der MRT-Parameter mit der Expression von cICAM-1</i>	35
3.1.3	<i>Vergleich von Subgruppen mit unterschiedlicher Krankheitsschwere im MRT</i> ...37	
3.1.4	<i>Korrelation von EDSS und cICAM-1-Expression</i>	38
3.2	NATÜRLICHER KRANKHEITSVERLAUF BEI UNTHERAPIERTEN PATIENTEN	38
3.2.1	<i>Klinischer Verlauf</i>	39
3.2.2	<i>Neuroradiologische Befunde</i>	39
3.2.3	<i>Natürlicher Verlauf von cICAM-1 bei den unbehandelten Patienten</i>	40
3.3	EINFLUSS VON INTERFERON- β AUF DIE EXPRESSION VON cICAM-1 UND DEN KRANKHEITSVERLAUF.....	42
3.3.1	<i>Einfluss auf den klinischen Verlauf</i>	42
3.3.2	<i>Einfluss auf neuroradiologische Parameter</i>	43
3.3.3	<i>Einfluss auf die Expression von cICAM-1</i>	44
3.4	KORRELATION VON ZELLGEBUNDENEM ICAM-1 MIT KLINISCHEN UND NEURORADIOLOGISCHEN VERLAUFSPARAMETERN.....	46
3.4.1	<i>Vergleich mit MRT-Parametern</i>	46
3.4.2	<i>Einteilung aufgrund klinischer Parameter</i>	49
4	DISKUSSION	50
4.1	METHODIK.....	50
4.1.1	<i>Aufbau der Studien</i>	50
4.1.2	<i>Laborchemische Genauigkeit</i>	52
4.2	ZELLGEBUNDENES ICAM-1 ALS IMMUNOLOGISCHER MARKER	52

4.2.1	<i>Korrelation mit Krankheitsschwere und -aktivität.....</i>	53
4.2.2	<i>Bedeutung hinsichtlich der Immunpathogenese</i>	53
4.3	EINFLUSS EINER THERAPIE MIT INTERFERON- β -1B AUF DEN KRANKHEITSVERLAUF .	55
4.3.1	<i>Klinischer Verlauf.....</i>	55
4.3.2	<i>Neuroradiologische Befunde</i>	56
4.3.3	<i>Einfluss einer Therapie mit Interferon-β-1b auf die Expression von cICAM-1 ...</i>	56
4.4	CICAM-1 ALS PROGNOTISCHER MARKER EINER THERAPIE MIT INTERFERON- β -1B.	58
4.4.1	<i>Korrelation mit klinischen Parametern.....</i>	58
4.4.2	<i>Korrelation mit neuroradiologischen Parametern</i>	58
4.4.3	<i>Prognostischer Wert der Expression von cICAM-1.....</i>	60
4.5	AUSBLICK.....	61
5	ZUSAMMENFASSUNG	62
6	LITERATURANGABEN.....	65
7	ANHANG.....	77
7.1	PROTOKOLL ZUR DURCHFÜHRUNG DER FACS-ANALYSE	77
7.2	TABELLEN	78
	ABKÜRZUNGEN	90
	BETEILIGUNG AN WISSENSCHAFTLICHEN PUBLIKATIONEN	93
	LEBENS LAUF	98
	DANKSAGUNG.....	99

1 Einleitung

1.1 Das Krankheitsbild Multiple Sklerose

Die Multiple Sklerose ist eine Entmarkungskrankheit, bei der es zu herdförmigen Läsionen in der weißen Substanz von Gehirn und Rückenmark kommt. Die im weiteren Verlauf durch Vernarbung entstehenden „sklerosierenden“ Plaques gaben der Erkrankung ihren Namen¹. Die Erstbeschreibung des Krankheitsbildes geht zurück bis in das 14. Jahrhundert. So erinnert die Leidensgeschichte der Hl. Lidwina von Schiedam (1380-1433) an die Symptome und den Verlauf einer Multiplen Sklerose². Seit Cruveilhier um das Jahr 1835 eine mögliche Ursache



Abbildung 1.1: Hl. Lidwina von Schiedam (Holland, 1380-1433; Quelle: Informationsmaterial der Multiple Sclerosis Society of Ireland)

im Unterdrücken des Schwitzens sah³, wurden viele Vermutungen über die Ätiologie angestellt, die allerdings bis heute nicht vollständig geklärt werden konnte. Charcot beschrieb 1868 erstmals die klinische Trias aus Nystagmus, skandierendem Sprechen und Intentionstremor⁴. Erkenntnisse über den klinischen Verlauf gewann er durch Beobachtung der Krankheitsentwicklung an seinem Hausmädchen⁵. Die Multiple Sklerose ist derzeit Gegenstand intensiver Forschung. Aufgrund des häufigen Auftretens, des frühen Krankheitsbeginns und des chronischen Verlaufes kommt ihr eine große gesellschaftliche und auch gesundheitsökonomische Bedeutung zu.

1.1.1 Epidemiologie und Ätiologie

Die Multiple Sklerose ist eine der häufigsten organischen Erkrankungen des Nervensystems. In Mitteleuropa wird die Inzidenz mit 3 bis 7, die Prävalenz mit 60 bis 100 Erkrankten pro

100000 Einwohnern angegeben. Somit leiden etwa 8% aller Patienten, die in Neurologischen Kliniken behandelt werden, an Multipler Sklerose⁶. Frauen erkranken um den Faktor 2 bis 3



Abbildung 1.2: Jean-Martin Charcot (1825-1893, Quelle: Informationsmaterial der Multiple Sclerosis Society of Ireland)

häufiger als Männer. Etwa zwei Drittel der Fälle manifestieren sich zwischen dem 20. und 40. Lebensjahr, von den verbleibenden beginnen die meisten vor dem 20. Lebensjahr. Nur ein geringer Teil der Erkrankungen entwickelt sich im späteren Erwachsenenalter⁷.

1.1.1.1 Geographische Verteilung

Die Multiple Sklerose zeigt weltweit eine unterschiedliche geographische Verteilung (siehe Abb. 1.3). Hohe Prävalenzen finden sich in Europa zwischen dem 45. und 65. Breitengrad, im Norden der Vereinigten Staaten, im Süden Kanadas und auf der Südhalbkugel in Neuseeland und im Süden Australiens. Mit abnehmender Entfernung zum Äquator sinkt die Erkrankungshäufigkeit. Zudem zeigt sich ein vermehrtes Auftreten in Gebieten, in denen überwiegend Angehörige der kaukasischen Rasse wohnen⁸.

1.1.1.2 Genetische Faktoren

Es scheinen also neben geographischen auch genetische Faktoren eine Rolle zu spielen. Dies belegt auch eine epidemiologische Untersuchung, die zeigte, dass die Multiple Sklerose häufiger bei der weißen als der afroamerikanischen Bevölkerung der USA auftritt⁹. Familienangehörige von Multiple Sklerose Patienten haben gegenüber der Normalbevölkerung ein bis zu fünfzigfach erhöhtes Risiko, ebenso zu erkranken und zwischen 13 und 19 % der Patienten haben ein oder mehrere betroffene Familienmitglieder¹⁰.

¹¹. In Zwillingsstudien ergab sich eine erhöhte Konkordanz von monozygoten gegenüber dizygoten Paaren¹². So betrug das Risiko, ebenfalls zu erkranken, bei eineiigen Zwillingen etwa 30%. Bei zweieiigen Zwillingen lag die Konkordanzrate hingegen bei weniger als 5% und somit im Bereich von Geschwistern, die nicht als Zwillinge geboren wurden.

Außerdem wurde die Assoziation mit bestimmten Genen des HLA- („human leucocyte antigen“) Komplexes beschrieben¹³. So wurde zum Beispiel für Träger des HLA-DR2-Allels

im Vergleich zur Normalbevölkerung ein etwa sechsfach erhöhtes Risiko festgestellt, an Multipler Sklerose zu erkranken¹⁴.

1.1.1.3 Einfluss von Umweltfaktoren

Die Ergebnisse von Migrationsstudien legen zusätzlich den Einfluss eines Umweltfaktors nahe. So zeigte sich zum Beispiel, dass Menschen, die in den fünfziger Jahren von den westindischen Inseln, wo die Multiple Sklerose selten auftritt, nach England auswanderten, in ihrem neuen Heimatland nur eine geringe Inzidenz aufwiesen. Die zweite Generation

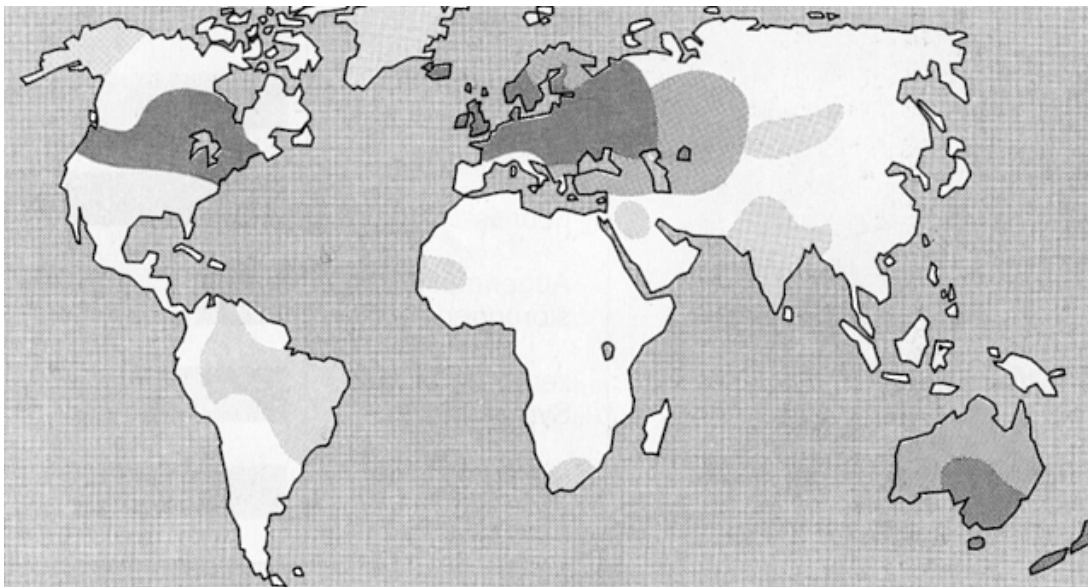


Abbildung 1.3: Weltweite Verteilung der Multiplen Sklerose (dunkel entspricht hoher, hell niedriger Prävalenz). Nach Masuhr K.F. (Stuttgart 1998).

erkrankte jedoch mit der gleichen Häufigkeit wie die heimische englische Bevölkerung¹⁵. Eine Untersuchung an Europäern, die nach Südafrika emigriert waren, ergab, dass diejenigen, die vor dem fünfzehnten Lebensjahr ausgewandert waren, das niedrigere Erkrankungsrisiko des Gastlandes annahmen, während diejenigen, die älter waren, das höhere Risiko ihres Geburtslandes behielten¹⁶. Das Auftreten mehrerer MS-Epidemien auf den Faroerinseln¹⁷ und der Nachweis erhöhter Antikörpertiter gegen verschiedene Viren bei Patienten mit Multipler Sklerose¹⁸ legte die Beteiligung einer viralen Infektion an der Krankheitsentstehung nahe, wobei vor allem das Masern-Virus angeschuldigt wurde¹⁹. Es ließen sich nämlich Kreuzreaktionen zytotoxischer T-Zellen gegen Masernantigen und myelinbasiertes Protein, einem wesentlichen Bestandteil der Myelinscheiden, nachweisen²⁰. In den letzten Jahren wurden Chlamydien als Verursacher der MS vermutet, ein eindeutiger Zusammenhang ließ sich aber auch hier nicht herstellen²¹. Eine Infektion als alleinige Erkrankungsursache ist jedoch unwahrscheinlich. Vielmehr könnte eine Infektion oder eine Impfung in der frühen Kindheit zu einer Sensibilisierung des Immunsystems führen²² und bei genetisch prädisponierten Personen eine Autoimmunreaktion initiieren, bei der irrtümlich Bestandteile des Zentralnervensystems als Antigen erkannt werden.

1.1.2 Klinisches Bild und Verlaufsformen

Charakteristisch für die Multiple Sklerose ist eine multilokuläre Symptomatik, wobei die Entmarkungsherde im Zentralnervensystem entsprechend ihrer Lage verschiedene neurologische Defizite verursachen können. Häufig finden sich jedoch auch asymptomatische Läsionen. Für die Entwicklung der Symptome lassen sich keine festen Regeln aufstellen,

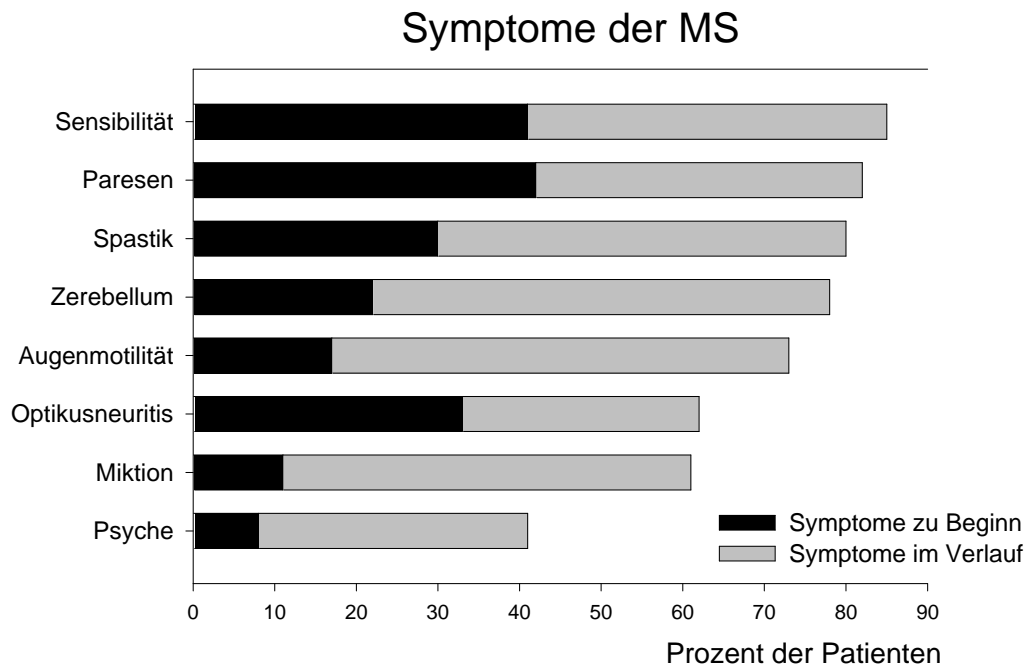


Abbildung 1.4: Symptome zu Beginn und im Verlauf der Multiplen Sklerose; modifiziert nach Masuhr K.F. (Stuttgart, 1998).

allerdings treten manche Krankheitserscheinungen bevorzugt zu Beginn, andere eher im weiteren Verlauf der MS auf (siehe Abb. 1.4).

1.1.2.1 Symptome

Zu Beginn der Erkrankung stehen häufig Ausfallerscheinungen der langen Bahnen im Vordergrund. So finden sich charakteristischerweise zentrale Paresen, die mit Spastik, gesteigerten Muskeleigenreflexen, Kloni und positiven Pyramidenbahnzeichen einhergehen. Weitere Frühsymptome sind abgeschwächte oder fehlende Bauchhautreflexe und ein positives Lhermitsches Zeichen. Dabei verspürt der Patient bei maximaler Kopfbeugung nach vorne Parästhesien in den Händen und elektrisierende Dysästhesien entlang der Wirbelsäule. Häufig treten Sensibilitätsstörungen auf, die Erkrankten klagen über Missempfindungen, Taubheit oder Kribbeln, vor allem an Händen und Füßen²³.

Sehstörungen aufgrund einer retrobulbären Optikusneuritis sind bei etwa einem Viertel der Betroffenen Erstsymptom⁶, allerdings entwickeln keineswegs alle Patienten mit dieser Krankheitserscheinung später eine definitive MS. Das Risiko hierfür wird für Frauen mit etwa 74%, für Männer mit 34% angegeben²⁴.

Weitere häufige Symptome, die im Verlauf der Erkrankung hinzutreten können, sind Augenmotilitäts- und zerebelläre Störungen. Meist erst im fortgeschrittenen Stadium leiden die Patienten unter Sprach- und Schluckproblemen sowie Blasen- und Sexualfunktionsstörungen.

Um den Schweregrad des neurologischen Defizits quantifizieren zu können, wurden verschiedene Skalen entwickelt, wie zum Beispiel die Expanded disability status scale (EDSS) nach Kurtzke²⁵. Dabei werden acht Funktionssysteme (Pyramidenbahn, Kleinhirn, Hirnstamm, Sensorium, Vegetativum, Sehen, Psyche) bewertet und zu einem gemeinsamen Maß von 0 (normaler neurologischer Befund) bis 10 (Tod durch MS) zusammengefasst. Es sind aber auch Zwischenstufen zu 0,5 möglich (Siehe Tab. 1.1 und Anhang Tab. 7.2.10 und 7.2.11). Auch wenn die EDSS wegen Nichtlinearität, teilweise mangelnder Präzision und Überbetonung des Gehvermögens kritisiert wurde²⁶, fand sie als klinischer Parameter in allen jüngeren und laufenden Therapiestudien Verwendung²⁷.

EDSS	Grad der Behinderung
0	Normaler neurologischer Befund
1	Keine Behinderung, minimale abnorme Untersuchungsbefunde
2	Minimale Behinderung in nur einem der folgenden funktionellen Systeme: Muskelkraft, Koordination, Sensibilität, Blase, Sehen, mental
3	Unabhängig gehfähig, aber mäßiggradige Behinderung in einem der funktionellen Systeme
4	Unabhängiges Gehen mindestens 500m, aber schwere Behinderung in einem der funktionellen Systeme
5	Gehfähig, ohne Hilfe über 200m, aber Behinderung so schwer, dass volle Arbeitsfähigkeit nicht mehr möglich
6	Stock, Krücke oder Schiene benötigt, um 100m zu gehen
7	Gehfähigkeit höchstens 5m mit Hilfe, aktiver Rollstuhlfahrer, Transfer ohne Hilfe
8	An Rollstuhl gebunden, Transfer nur mit Hilfe, Arme funktionell einsetzbar
9	Hilflos, weitgehend bettlägerig, Arme funktionell nicht einsetzbar
10	Tod infolge MS

Tabelle 1.1: Vereinfachte Darstellung der Behinderungsskala nach Kurtzke (EDSS, 1983).

1.1.2.2 Verlaufsformen der Multiplen Sklerose

Bereits 1884 unterschied Charcot die beiden wesentlichen Verlaufsformen der Multiplen Sklerose, die schubförmige und die chronisch progrediente Verschlechterung²⁸.

Beim schubförmigen Verlauf, der mit etwa 80% am häufigsten auftritt, findet sich im Intervall zwischen zwei Schüben keine Krankheitsprogression. Im allgemeinen werden Schübe definiert als akute, episodisch auftretende neurologische Symptome oder eine Verschlimmerung vorbestehender Beschwerden, die mindestens 24 Stunden anhalten und nicht durch Fieber oder Infektion erklärt sind²⁹. Eine Erhöhung der Körpertemperatur kann nämlich durch das sogenannte Uhthoff-Phänomen über eine Verschlechterung der Leitfähigkeit vorgeschädigter zentraler Bahnsysteme zu einer vorübergehenden Verschlimmerung der Symptome führen³⁰.

Entweder verbleiben Residuen oder es kommt zu einer kompletten Remission der Symptome. 30 bis 40% dieser Patienten entwickeln nach mehreren Jahren eine sekundär chronisch-

progrediente MS, die dann mit einer kontinuierlichen Zunahme des neurologischen Defizits einhergeht³¹.

Ein primär chronisch-progredienter Verlauf, mit einem schleichenden Fortschreiten der Behinderung von Beginn an, tritt bei 10-15% der Erkrankten auf. Betroffen sind vor allem

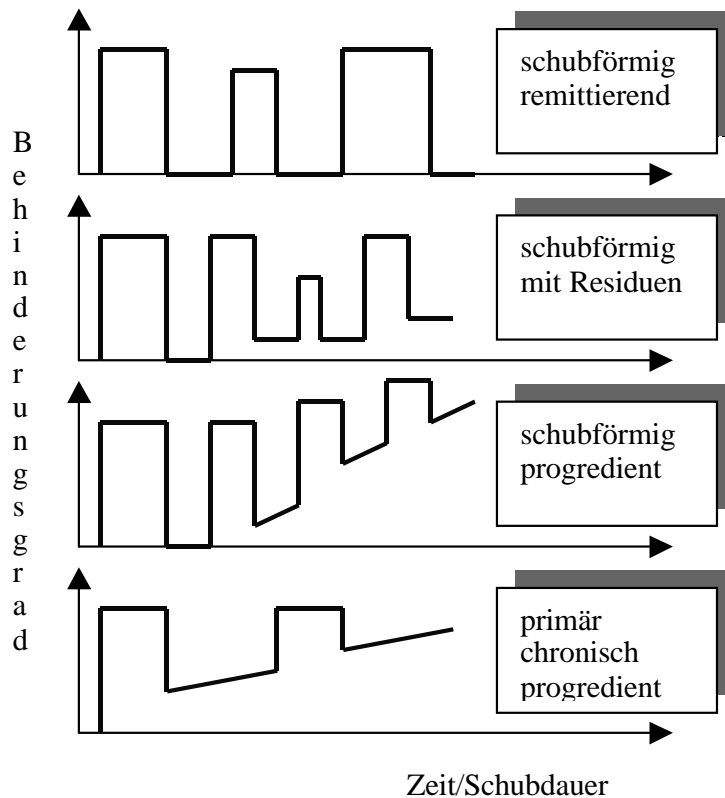


Abbildung 1.5: Die verschiedenen Verlaufsformen der MS (nach Hartung, H.P., 1995).

Patienten, bei denen sich die MS in höherem Alter manifestiert³². Im Unterschied zum schubförmig-remittierenden Verlauf ist hier der Anteil der Männer höher. Unter anderem auch deshalb wird vermutet, dass es sich bei dieser Form um eine eigenständige Erkrankung handeln könnte^{33, 34}. Einen Überblick über die verschiedenen Verlaufsformen gibt Abbildung 1.5.

1.1.2.3 Prognose und Lebenserwartung

Die durchschnittliche Lebenserwartung nach Ausbruch der Erkrankung wird mit etwa 25 bis 35 Jahren angegeben^{35, 36}, wobei ein Großteil der Patienten an sekundären Komplikationen, wie Bronchopneumonien und Lungenembolien, verstirbt³⁷. Als prognostisch günstige Faktoren werden ein schubförmiger Verlauf, niedriges Alter bei Diagnosestellung, Optikusneuritis und sensible Defizite als initiale Symptomatik und möglicherweise weibliches Geschlecht angesehen³⁸. Im Gegensatz dazu scheinen motorische und zerebelläre Störungen zu Beginn der Erkrankung, eine hohe Schubrate in den ersten Jahren, ein kurzes Intervall zwischen den ersten beiden Schüben und vor allem eine deutliche Behinderung nach bereits fünf Krankheitsjahren auf eine ungünstigere Entwicklung hinzuweisen³⁹. Als extreme Verläufe wurden die sogenannte benigne Multiple Sklerose mit einem äußerst langsamen

Voranschreiten der Symptome und eine maligne Form, bei der es rasch zu einer Invalidisierung kommt, beschrieben⁴⁰. Ein verlässlicher prognostischer Marker, der auch in Hinsicht auf die zunehmenden therapeutischen Möglichkeiten wünschenswert wäre, ist gegenwärtig noch nicht bekannt.

1.1.2.4 Diagnose und Differenzialdiagnose

1.1.2.4.1 Diagnosekriterien

Da sich die Multiple Sklerose zu Beginn häufig mit unspezifischen Symptomen, wie rascher Ermüdbarkeit oder Sensibilitätsstörungen äußert, wird die Diagnose nur in einem Drittel der Fälle primär richtig gestellt¹. Schumacher formulierte 1965 Kriterien, die eine standardisierte Diagnosefindung ermöglichen sollten. Diese basierten jedoch ausschließlich auf Anamnese und neurologischem Befund²⁹. Die wachsende Bedeutung apparativer Zusatzuntersuchungen in den letzten Jahrzehnten wurde 1983 in den Kriterien nach Poser et al. berücksichtigt.

Beurteilung	Schübe	klinischer Nachweis	zwei separater Läsionen		Liquor (OB/IgG)
				paraklinischer Nachweis	
A) klinisch gesichert					
A1)	2	2			
A2)	2	1	und	1	
B) laborunterstützt gesichert					
B1)	2	1	oder	1	+
B2)	1	2			+
B3)	1	1	und	1	+
C) klinisch wahrscheinlich					
C1)	2	1			
C2)	1	2			
C3)	1	1	und	1	
D) laborunterstützt wahrscheinlich					
D1)	2				+

Tabelle 1.2: Kriterien zur Diagnosestellung einer Multiplen Sklerose. Modifiziert nach Poser CM et al. (1983). OB/IgG: oligoklonale Banden oder erhöhtes IgG.

Neben positiven oligoklonalen Banden und intrathekalen IgG-Synthese als Laborparameter werden evozierte Potenziale und das Kernspintomogramm als sogenannte paraklinische Parameter herangezogen, um die Diagnose einer gesicherten oder wahrscheinlichen Multiplen Sklerose stellen zu können⁴¹ (siehe Tab. 1.2).

Kürzlich formulierten McDonald et al. aktualisierte Diagnosekriterien. Dabei wurde auf die Erfahrungen von MRT-Studien zurückgegriffen, um die Diagnose bei einem Teil der Patienten bereits nach dem ersten klinischen Schub stellen zu können⁴². Nach wie vor spielen Anamnese und neurologischer Befund im klinischen Alltag die wichtigste Rolle. Apparative Untersuchungen tragen mit unterschiedlicher Treffsicherheit zur Diagnose bei (siehe Tab. 1.3), liefern quantifizierbare Ergebnisse und können unter Umständen auch asymptomatische

Läsionen nachweisen. Es steht zwar noch kein Labortest zur Verfügung, der spezifisch für die Multiple Sklerose ist, dennoch finden sich im Liquor cerebrospinalis charakteristische Veränderungen, die die Diagnose stützen können (siehe Tab. 1.4).

Während sich die Kernspintomografie auf eine Darstellung der entzündlichen Herde beschränkt, können mit Hilfe der Ableitung evozierter Potenziale auch funktionelle Defizite in verschiedenen Systemen nachgewiesen werden. Am bedeutsamsten sind die Visuell evozierten Potenziale (VEP), die die Erkennung subklinischer Läsionen im Bereich des Sehnerven ermöglichen⁴³.

Diagnostik der MS	Kernspintomografie	Computertomografie	Liquorbefund	VEP
zu Beginn	85%	10%	60%	10%
im Verlauf	95%	40%	80%	80%

Tabelle 1.3: Treffsicherheit von Zusatzuntersuchungen bei MS; nach Masuhr K.F. (1998).

Liquorprofil	Häufigkeit
Gesamteiweißerhöhung	30%
mononukleäre Pleozytose	60%
intrathekale IgG-Bildung	80%
oligoklonale Banden	>90%

Tabelle 1.4: Liquorbefunde bei MS; nach Masuhr K.F. (1998).

1.1.2.4.2 Bedeutung der Kernspintomografie

Die Kernspintomografie als bildgebendes Verfahren ermöglichte zum ersten mal die direkte Darstellung der Entmarkungsherde und hat aufgrund ihrer hohen Sensitivität heute eine große Bedeutung⁴⁴. So lassen sich subklinische Läsionen, die keine neurologischen Symptome

Autoimmunerkrankungen	Infektionskrankheiten	genetisch bedingte Erkrankungen	weitere
systemischer Lupus erythematoses	HIV und HTLV1	Adrenomyeloneuropathie	raumfordernde Prozesse in Hirnstamm und Rückenmark
primäres Sjögren-Syndrom	Borreliose	mitochondriale Enzephalopathie	Vitamin-B12-Mangel
Morbus Behcet	Syphilis	olivoponto-zerebelläre Atrophie	
Polyarteriitis nodosa		Lebersche Optikusatrophie	

Tabelle 1.5: Differenzialdiagnose der MS (modifiziert nach Poser et al.⁷).

verursachen, in weit größerer Zahl nachweisen, als es den beobachteten klinischen Schüben entsprechen würde⁴⁵. Wird bei Patienten mit Verdacht auf Multiple Sklerose und monosymptomatischem Beginn mehr als ein Herd im kranialen MRT nachgewiesen,

entwickeln 88% dieser Patienten innerhalb von 10 Jahren eine manifeste MS. Wird dagegen kein Herd gefunden, beträgt die Wahrscheinlichkeit hierfür nur 10%⁴⁶. Neben dem reinen Nachweis MS-typischer Herde sind die Anzahl aller Läsionen und vor

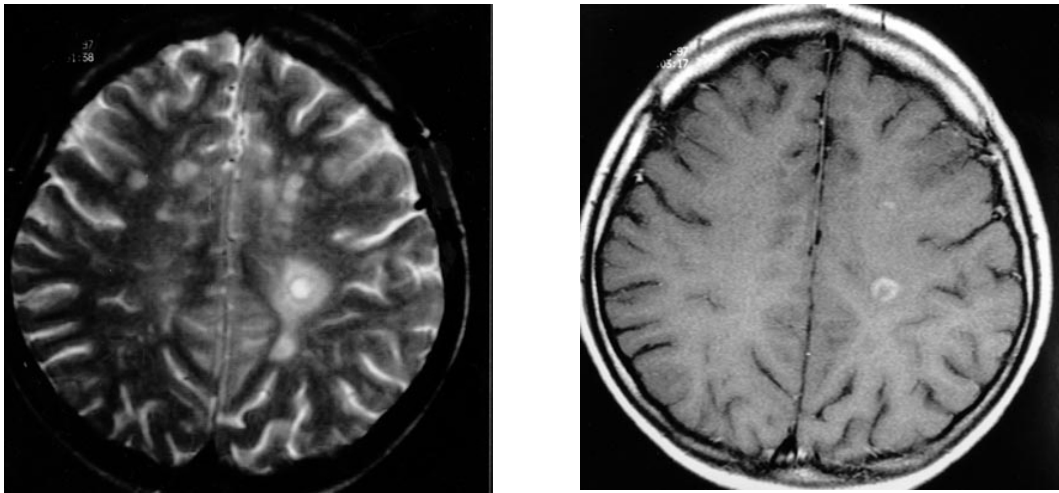


Abbildung 1.6: MRT-Aufnahmen eines 27-jährigen Patienten, der 5 Tage zuvor einen akuten Schub mit rechtsseitiger Hemiparese erlitten hatte. Die axialen T2-gewichteten Sequenzen (links) zeigen die typischen disseminierten hyperintensiven Herde in der weißen Substanz. In der T1-gewichteten Aufnahme (rechts) kommen in der linken Hemisphäre zwei gadoliniumanreichernde Herde zur Darstellung.

allem deren kumulative Gesamtfläche ein Maß für die Krankheitsschwere, im englischen Sprachgebrauch als „Disease Burden“ bezeichnet⁴⁷. Außerdem lässt sich eine Aussage über die Aktivität des Krankheitsprozesses und das Ausmaß der Störung der Blut-Hirn-Schranke (BHS) treffen. Zum einen eignet sich der Nachweis einer Anreicherung des Kontrastmittels Gadolinium (siehe Abb. 1.6), um aktive Herde mit einer Störung der BHS kenntlich zu machen⁴⁸. Mit dem Rückgang der Entzündungsaktivität und einer Restitution der gestörten BHS sistiert die Kontrastmittelaufnahme. So nehmen akute Herde in der Regel nicht länger als 4 bis 8 Wochen Gadolinium auf⁴⁹. Zum anderen deutet das Vorliegen eines perifokalen Ödems auf akute Krankheitsaktivität hin⁵⁰.

Allerdings ist insgesamt die Spezifität der Kernspintomografie relativ gering und die Größe der nachgewiesenen Läsionen entspricht nicht zwingend dem Schweregrad der neurologischen Symptomatik⁵¹.

1.1.2.4.3 Differenzialdiagnose

Zahlreiche Erkrankungen, die ebenfalls mit einer multifokalen Symptomatik und schubförmig-remittierendem Verlauf einhergehen, können als Multiple Sklerose fehlgedeutet werden. Dabei kommen vor allem verschiedene Autoimmun- und Infektionskrankheiten und einige genetisch bedingte Erkrankungen in Frage^{7, 52} (siehe Tab. 1.5).

1.2 Pathogenese

Aufgrund epidemiologischer, genetischer und immunologischer Untersuchungen ist man heute zu der Auffassung gelangt, dass es sich bei der Multiplen Sklerose um eine Autoimmunerkrankung handelt. Bei erblicher Prädisposition kann ein Virusinfekt in früher Kindheit den Prozess initiieren, nach Jahren kommt es dann, getriggert durch Umweltfaktoren, zum Ausbruch der Krankheit und zur Schädigung der die Axone umgebenden Myelinscheiden^{53, 54}.

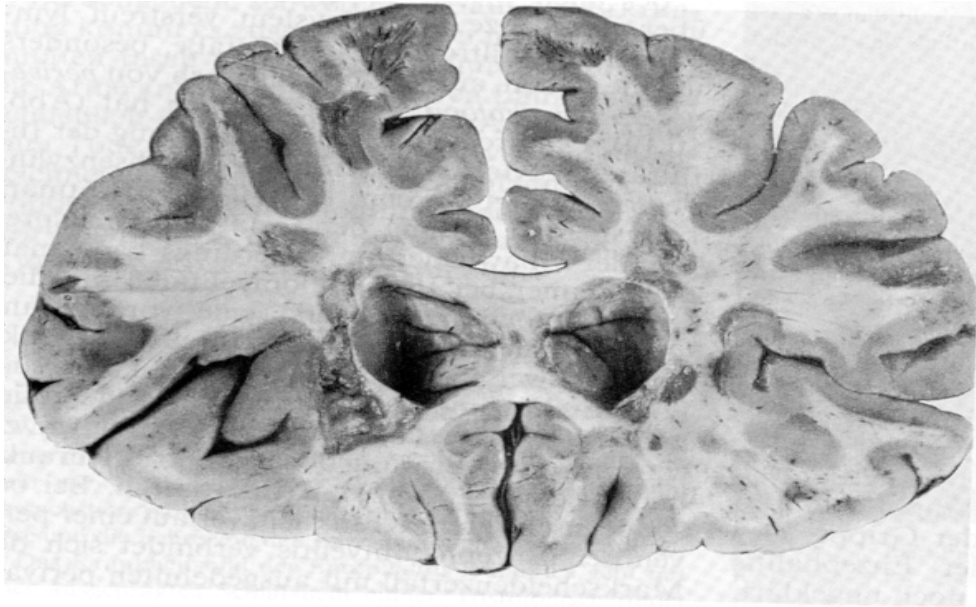


Abbildung 1.7: Unregelmäßig verteilte Herde in Mark und Rinde bei der Multiplen Sklerose, vor allem unter dem Ependym der Seitenventrikel (nach Eder und Gedigk, Springer 1990).

1.2.1 Pathologie und Histologie

Die herdförmigen Entmarkungen treten disseminiert, bevorzugt periventrikulär, in der weißen Substanz des ZNS auf⁵⁵. Makroskopisch erkennt man grau-rosa Läsionen, deren Größe von weniger als einem Millimeter bis zu einigen Zentimetern betragen kann⁵⁶ (vergleiche Abb. 1.7). Das histologische Bild ist vom Alter und der Aktivität des Prozesses abhängig. Relativ junge aktive Herde zeigen neben einer Demyelinisierung die Infiltration mononukleärer Zellen, vor allem Makrophagen und T-Lymphozyten, weniger B-Lymphozyten und Plasmazellen^{57, 58}. Längere Zeit bestehende chronische Läsionen setzen sich aus relativ zellarmem gliösen Gewebe zusammen⁵⁹. Das menschliche ZNS ist nur in begrenztem Maße zu einer Remyelinisierung fähig⁶⁰.

1.2.2 Immunpathogenese

1.2.2.1 Tiermodelle der Multiplen Sklerose

Wichtige Hinweise auf die Pathogenese der Multiplen Sklerose ergaben Beobachtungen am Tiermodell der Experimentellen allergischen Enzephalomyelitis (EAE). Durch Injektion von myelinbasischem Protein, aber auch anderer Bestandteile der Myelinscheiden, konnte an Mäusen, Ratten, Meerschweinchen und Affen eine der MS ähnliche Erkrankung ausgelöst

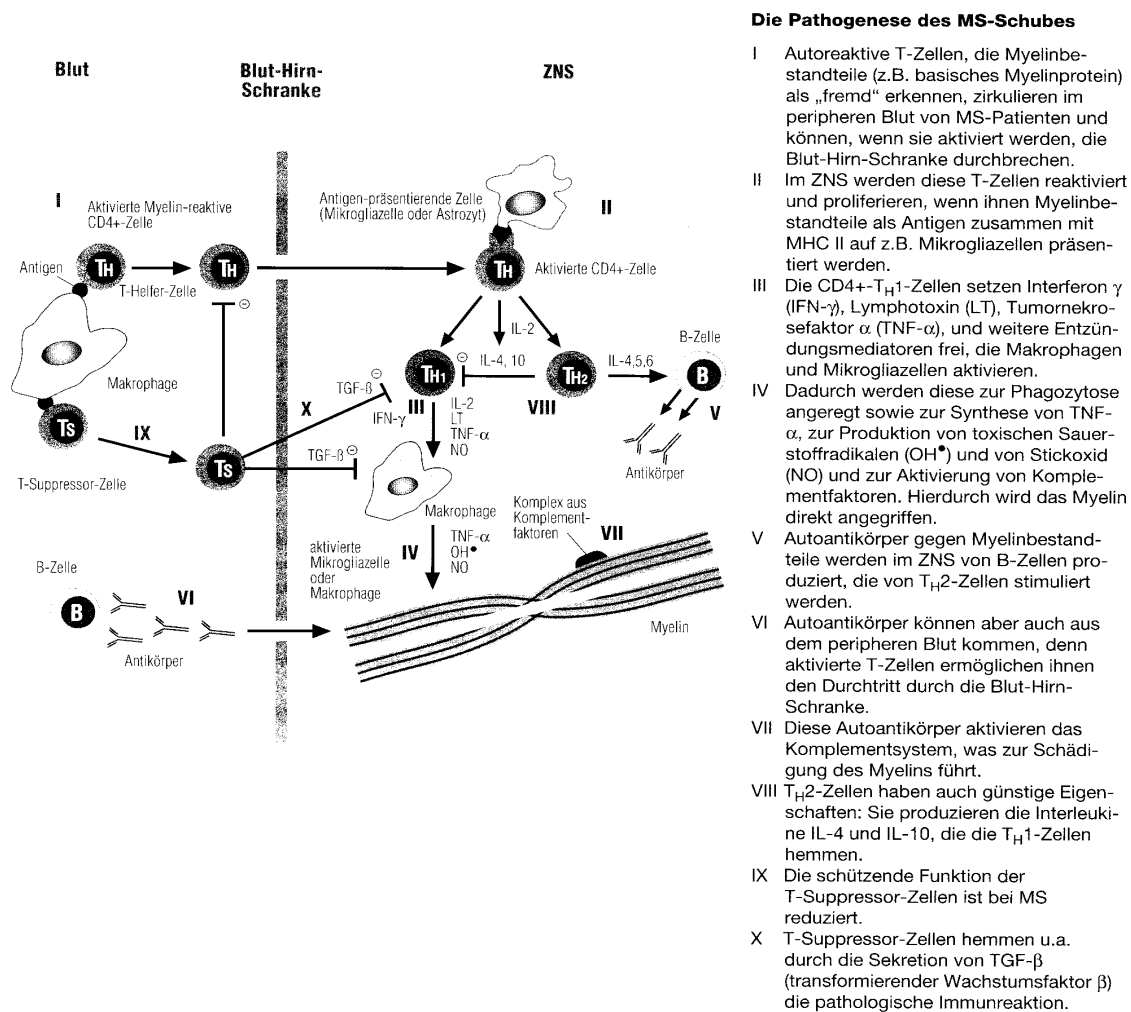


Abbildung 1.8: Die Pathogenese des MS-Schubes (schematisch nach Hartung et al. 1995).

werden, allerdings nur, wenn diese Substanzen in Verbindung mit Freundschem Adjuvanz (inaktiviertem Mykobakterium tuberculosis) verabreicht wurden⁶¹. Auch die Applikation autoreaktiver T-Lymphozyten kann eine EAE verursachen⁶², die in diesem Fall Transfer-EAE genannt wird. Dadurch wird die heute gängige Auffassung, dass es sich bei der Multiplen Sklerose um eine durch T-Zellen vermittelte Autoimmunreaktion handelt, bestärkt. Ein ähnliches tierexperimentell erzeugtes Krankheitsbild bei Nagetieren kann durch Infektion mit Theilers Mäuse-Encephalomyelitis-Virus hervorgerufen werden⁶³.

1.2.2.2 Differenzierung der T-Lymphozyten

Von den Leukozytensubpopulationen spielen die T-Lymphozyten in der Immunpathogenese der Multiplen Sklerose vermutlich die wichtigste Rolle.

Beim Menschen finden sich autoreaktive T-Zellen gegen Bestandteile der Markscheide sowohl im Blut von MS-Patienten als auch von Gesunden^{64, 65}. Bei gewissen T-Zell-Linien konnten Kreuzreaktionen zwischen Myelin- und bestimmten Virusantigenen nachgewiesen werden, die vermutlich auf Ähnlichkeiten der Oberflächenmerkmale beruhen^{66, 67}. Dieses, auch als „Molecular Mimicry“ bezeichnete Phänomen könnte erklären, wie ein Virusinfekt eine Autoimmunreaktion triggern kann.

Die T-Lymphozyten lassen sich im wesentlichen in zwei Subpopulationen unterteilen, die unterschiedliche Funktionen erfüllen: TH-1-Zellen schütten proinflammatorische Mediatoren, wie Interleukin-2 (IL-2), Interferon- γ (IFN- γ), Tumornekrosefaktor- α (TNF- α) und Lymphotoxin (LT) aus. Dadurch werden Makrophagen und Mikrogliazellen aktiviert und zur Phagozytose sowie zur Bildung toxischer Sauerstoffradikale und anderer Faktoren, die die Myelinscheide direkt schädigen können, angeregt.

TH-2-Zellen stimulieren B-Lymphozyten zur Bildung von Antikörpern, was über eine Aktivierung des Komplementsystems zur Demyelinisierung beiträgt und wirken somit vor allem auf das humorale Immunsystem⁶⁸. Während der akuten Entzündungsreaktion, die dem klinischen Schub bei der Multiplen Sklerose vorausgeht, scheint die durch Th1-Zellen vermittelte zelluläre Immunantwort zu überwiegen^{69, 70}.

Verschiedene entzündungshemmende Mechanismen versuchen, dieser Entwicklung entgegenzusteuern. So sezernieren unter anderem TH-2-Zellen antiinflammatorische Botenstoffe, wie IL-4, IL-10 und TGB- β . Zusätzlich scheint die Apoptose, der programmierte Zelltod der T-Lymphozyten, den Entzündungsprozess zu limitieren⁷¹.

1.2.2.3 Bedeutung der Blut-Hirn-Schranke

Die gegen bestimmte Antigene des ZNS gerichteten T-Zellen machen normalerweise nur einen sehr kleinen Teil des zirkulierenden Lymphozytenpools aus. Sie müssen nach ihrer Aktivierung in der Peripherie erst die Blut-Hirn-Schranke (BHS) überwinden, um den Entzündungsprozess in Gang setzen zu können. Die besondere Beschaffenheit des Endothels in diesem Bereich verhindert normalerweise den unkontrollierten Übertritt immunkompetenter Zellen in Gehirn und Rückenmark⁷². Die das Gefäßlumen auskleidenden Zellen der BHS sind durch sogenannte „Tight Junctions“ eng miteinander verbunden, zusätzlich stabilisieren Astrozytenausläufer den Zellverband⁷³. Außerdem werden in den Endothelzellen der BHS vergleichsweise wenige Vesikel, die normalerweise den Transport verschiedener Stoffe durch eine Zelle ermöglichen, gebildet^{74, 75}. Zusammengenommen bewirken diese Mechanismen, dass der Durchtritt mononukleärer Zellen, aber auch von Medikamenten und anderen Substanzen, in das Hirnparenchym erschwert ist.

Nach dem „Multi-Step-Modell“ (siehe Abb. 1.9) werden die aktivierten T-Lymphozyten mit dem Blutstrom angeschwemmt, verringern ihre Geschwindigkeit und rollen über einen zunächst losen Kontakt bestimmter Zelladhäsionsmoleküle, der Selektine, am Endothel entlang. Auf diese Weise sind die Entzündungszellen für chemotaktische Reize aus dem ZNS besser zugänglich. Unter der Vermittlung von Intercellular Adhesion Molecule-1 (ICAM-1) und Vascular Cell Adhesion Molecule-1 (VCAM-1) sowie deren Liganden, Leucocyte Function Antigen-1 (LFA-1) und $\alpha 4/\beta 1$ -integrin, kommt es zu einer stabileren Verbindung von T-Zelle und Endothel. Als nächster Schritt folgt dann die Transmigration in das ZNS-Parenchym⁷⁶. Auch beim Gesunden können aktivierte T-Lymphozyten die Blut-Hirn-Schranke überwinden⁷⁷. Um eine Entzündung auslösen zu können, müssen sie erneut aktiviert

werden. Dies geschieht, indem ihnen bestimmte antigenpräsentierende Zellen, wie Astrozyten und Mikrogliazellen, Bestandteile des Myelins in Verbindung mit MHC-Klasse-II-Molekülen auf ihrer Oberfläche anbieten. Dieser Interaktion schließt sich die eigentliche Entzündungskaskade an, die durch das gestörte Gleichgewicht pro- und antiinflammatorischer Faktoren geprägt ist.

1.3 Bedeutung von Zelladhäsionsmolekülen

Adhäsionsmoleküle spielen über die Vermittlung von Interaktionen zwischen Zellen eine wichtige Rolle in der Embryo- und Organogenese. Im Immunsystem ermöglichen sie die kurzfristige Bindung von Leukozyten an ihre Zielstruktur und die Migration von Abwehrzellen im Rahmen entzündlicher Reaktionen⁷⁸. Neben ihren physiologischen Funktionen besitzen sie auch eine große Bedeutung in der Pathogenese verschiedener Erkrankungen.

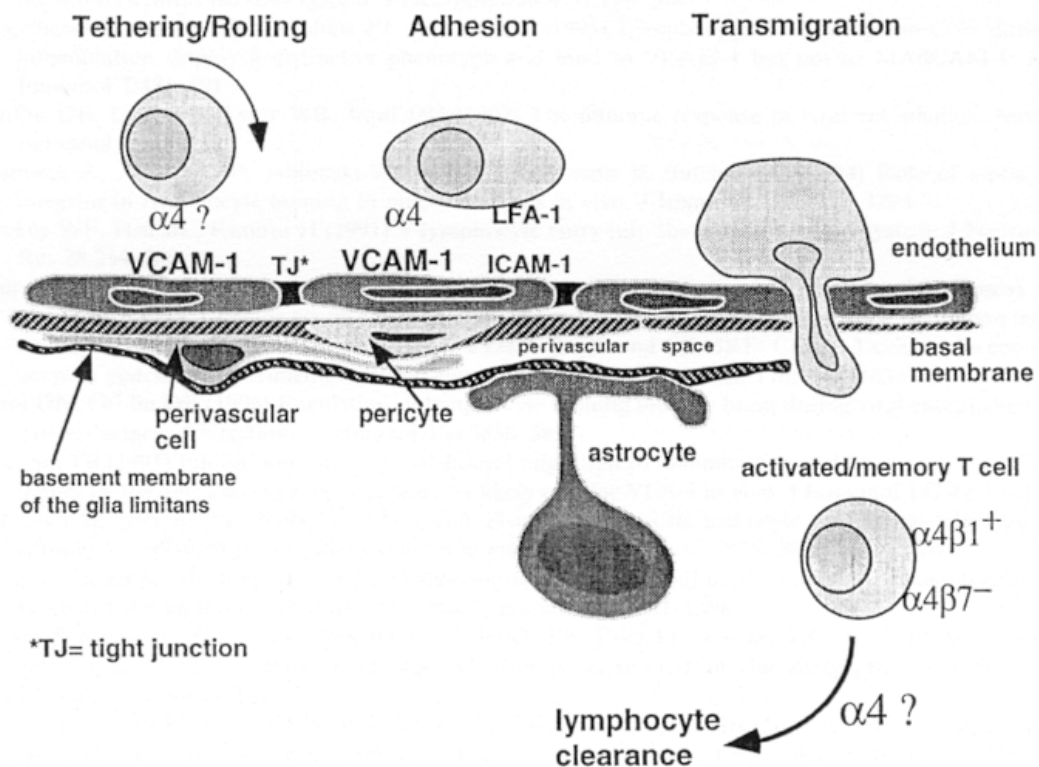


Abbildung 1.9: Schematische Darstellung der Leukozytenmigration über die Blut-Hirn-Schranke (nach Engelhardt et al, 1998).

1.3.1 Einteilung

Die Adhäsionsmoleküle werden aufgrund ihrer Struktur in drei Gruppen eingeteilt: Selektine, Integrine und die Moleküle der Immunglobulin-Gensuperfamilie, die an verschiedenen Schritten der Migration von Leukozyten durch das Gefäßendothel beteiligt sind.

Derzeit sind drei verschiedene Selektine bekannt, das sogenannte Leukozyten-Selektin (L-Selektin oder LECAM-1) und die vaskulären Selektine E-Selektin (ELAM-1) und P-Selektin

(GMP-140)⁷⁹. Bei den Integrinen werden ebenfalls drei Gruppen unterschieden, die Very-Late-Activation-Antigene (VLA 1-7), Leukozyten-Integrine (z.B. LFA-1 und Mac-1) und Zytoadhäsine. Zur Gruppe der Immunglobulin-Gensuperfamilie wird unter anderem das Intercellular adhesion molecule (ICAM-1 bis 3) gezählt⁸⁰.

1.3.2 Struktur von ICAM-1

Das Adhäsionsmolekül ICAM-1 (CD54) besteht aus einem zytoplasmatischen, einem transmembranen und einem extrazellulären Anteil. Letzterer setzt sich aus fünf immunglobulinähnlichen Domänen zusammen (siehe Abb. 1.10), weshalb das Molekül auch der Gruppe der Immunglobulin-Gensuperfamilie zugerechnet wird. Das einkettige

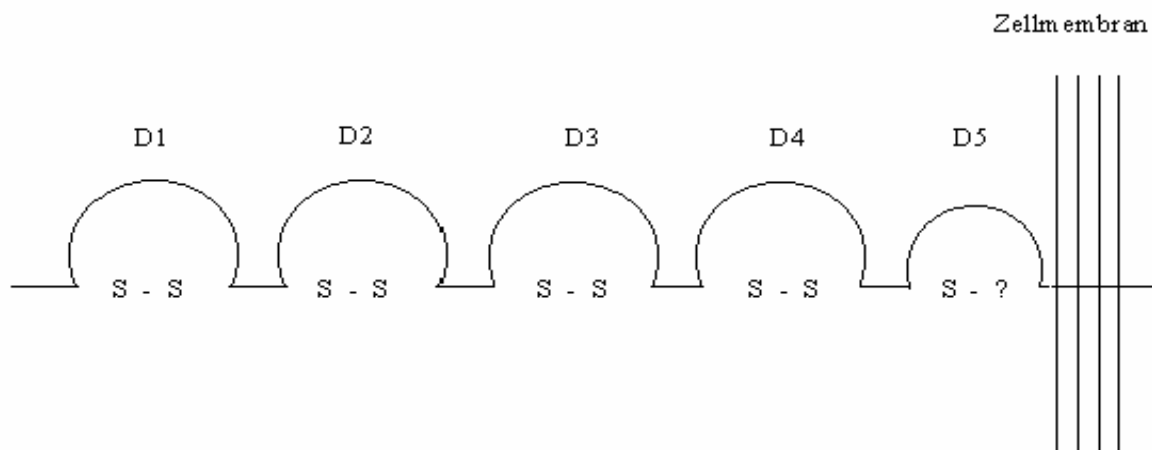


Abbildung 1.10: Schematischer Aufbau von ICAM-1 mit seinen 5 Domänen D1 bis D5 (nach Mally und Schaude, 1991).

Glykoprotein ICAM-1 besitzt ein Molekulargewicht von 90 bis 120 kD⁷⁹. Die membranständige Form (cICAM-1) findet sich nicht nur auf zahlreichen Zellen des Immunsystems, wie Lymphozyten, Monozyten/Makrophagen, Thymuszellen, Tonsillen und Peyerschen Plaques, sondern auch auf Epithel- und Endothelzellen, Mukosazellen, Fibroblasten, Keratinozyten und Astrozyten. Daneben existiert auch eine lösliche Form (sICAM-1), die sich in Blut und Liquor nachweisen lässt und wahrscheinlich durch eine proteolytische Abspaltung des extrazellulären Molekülanteils gebildet wird⁸¹. Mit Hilfe seiner extrazellulären Domäne kann ICAM-1 an die Integrine LFA-1 (CD11a/CD18), Mac-1 (CD11b/CD18) und P150/95 (CD11c/CD18) binden⁸².

1.3.3 Pathogenetische Bedeutung von ICAM-1

Eine Reihe von Autoimmunerkrankungen, Infektionen und Tumoren konnte mit einem vermehrten Nachweis von membranständigem beziehungsweise löslichem ICAM-1 in Verbindung gebracht werden^{83, 84}, ebenso verschiedene entzündliche Erkrankungen des

ZNS⁸⁵. Erhöhte Konzentrationen von sICAM-1 fanden sich bei der Multiplen Sklerose in aktiven Krankheitsphasen in Serum^{86, 87, 88} und Liquor^{89, 90, 91}. Zellgebundenes ICAM-1 wurde auf cerebralem Endothel, vor allem im Bereich von aktiven MS-Herden, nachgewiesen⁹². Die Hochregulation von cICAM-1 scheint vor allem zu Beginn der Immunantwort von Bedeutung zu sein und stellt somit einen wichtigen frühen Marker für die Aktivierung des Immunsystems dar^{93, 94}. Die Verabreichung von Antikörpern gegen ICAM-1 konnte bei Ratten die Entstehung einer EAE unterdrücken⁹⁵. Lösliches ICAM-1, durch Abspaltung von mononukleären und Endothelzellen freigesetzt, kann über eine Bindung an den Liganden LFA-1 die Zelladhäsion blockieren und somit der Entzündungsreaktion entgegenwirken⁹⁶. In vitro kann die Expression von ICAM-1 auf verschiedenen Zellen, wie Astrozyten, vaskulären Endothelzellen und Fibroblasten, durch Zytokine, vor allem Tumor-Nekrose-Faktor- α , Interleukin-1 und Interferon- γ , induziert werden^{97, 98}.

1.4 Bedeutung von Zytokinen

Zytokine sind eine Gruppe löslicher Polypeptide, die von immunkompetenten Zellen und Zellen der umgebenden Matrix, wie Fibroblasten, Astrozyten oder Mikrogliazellen, sezerniert werden. In die Gruppe der Zytokine gehören die Interferone, die Interleukine, der Tumornekrosefaktor und die Wachstumsfaktoren. Sie koordinieren Wachstum und

Proinflammatorisch	sezernierende Zellen	Eigenschaften
Interferon- γ (IFN- γ)	T-Zellen	Induktion von MHC-I u.-II, ICAM-1, IL-1 u. TNF- α , Permeabilitätserhöhung des Endothels
Tumornekrosefaktor- α (TNF- α)	Makrophagen, Monozyten, Mikroglia, Astrozyten, T-/B-Zellen, NK-Zellen	zytotoxisch für Oligodendrozyten, Induktion von Adhäsionsmolekülen, Astrozytenproliferation, Permeabilitätserhöhung des Endothels
Tumornekrosefaktor- β (TNF- β , Lymphotoxin)	T-Zellen, NK-Zellen, B-Zellen	Permeabilitätserhöhung des Endothels
Interleukin-1 (IL-1)	Makrophagen, Monozyten, Astrozyten, Endothelzellen, v.a.	Förderung von Chemotaxis, Adhärenz, TNF- α - u. ICAM-1-Expression, IL-2-Produktion, Permeabilitätserhöhung
Interleukin-2 (IL-2)	T-Zellen	Förderung der Proliferation von aktiv. T-, B-, NK-Zellen u. der Expression von IL-1, TNF, IFN- γ

Tabelle 1.6: Proinflammatorische Zytokine, sezernierende Zellen und Eigenschaften (nach Weber F., Rieckmann P., 1995).

Differenzierung von Zellen und beeinflussen zelluläre und humorale Immunreaktionen. Die Wirkung auf Zellen wird über spezifische Zytokinrezeptoren auf der Zelloberfläche vermittelt. Sie wirken auf der Ebene der Transkription und führen in der stimulierten Zelle zu

einer Neusynthese von mRNA und Proteinen. Dabei kann ein Zytokin mehrere unterschiedliche Zelltypen beeinflussen und verschiedene Effekte auf eine Zielzelle haben⁹⁹.

1.4.1 Zytokine bei der Multiplen Sklerose

Bezüglich ihrer Wirkungen bei entzündlichen Prozessen, wie der Multiplen Sklerose, kann man sie vereinfachend in zwei Gruppen einteilen, proinflammatorische beziehungsweise antiinflammatorische Zytokine (siehe Tab. 1.6 und 1.7). Die Eigenschaften eines jeden einzelnen Zytokins im Ablauf einer Entzündungsreaktion sind dabei mitunter jedoch sehr komplex. So wird die Wirkung zum Teil über die vermehrte oder verminderte Ausschüttung weiterer Substanzen und Einflüsse auf das zelluläre Immunsystem vermittelt.

Antiinflammatorisch	Zellen	Eigenschaften
Interferon- α (IFN- α)	Leukozyten	Hemmung der IFN- γ -Produktion u. der IFN- γ -induzierten MHC-II-Expression
Interferon- β (IFN- β)	Fibroblasten, Leukozyten	Hemmung der IFN- γ -Produktion u. der IFN- γ -induzierten MHC-II-Expression, Förderung der TGF- β -Produktion
Transforming-Growth-Factor- β (TGF- β)	T-, B-Zellen, Astrozyten, v.a.	Hemmung von <ul style="list-style-type: none"> • T-u. B-Zell-Aktivierung und Proliferation • IFN-γ-induzierter MHC-II-Expression • zytotoxischen Lymphozyten • Zytotoxizität von Mikroglia • IL-1-Produktion
Interleukin-10 (IL-10)	T-Zellen	Hemmung von T-Zellproliferation und Produktion von IL-2 u. IFN- γ

Tabelle 1.7: Antiinflammatorische Zytokine, sezernierende Zellen und Eigenschaften (nach Weber F., Rieckmann P., 1995).

1.4.2 Funktion und Wirkung von Interferon- β

Das Glykoprotein Interferon- β besteht aus 166 Aminosäuren und kann als Antwort auf eine virale Infektion oder einen anderen Reiz von unterschiedlichen Zellen des menschlichen Körpers synthetisiert werden. Es besitzt antivirale Eigenschaften, verlangsamt die Zellteilung und beeinflusst den Ablauf von Entzündungsreaktionen¹⁰⁰. Bei der Multiplen Sklerose wurde es in aktiven Plaques nachgewiesen¹⁰¹ und wirkt über verschiedene Mechanismen immunsupprimierend. So vermindert es die von Interferon- γ induzierte Expression von MHC-Klasse-II-Molekülen, die Voraussetzung für die Antigenpräsentation ist^{102, 103}. Es hat einen antiproliferativen Effekt auf T-Helfer-Zellen¹⁰⁴ und reduziert die Produktion von Interferon- γ ¹⁰⁵ und TNF- α ¹⁰⁶, zweier Zytokine, die in der Pathogenese der MS eine Schlüsselrolle einnehmen. Da letztere auch die Expression von Adhäsionsmolekülen induzieren, könnte Interferon- β zumindest indirekt der Migration von Entzündungszellen durch die Blut-Hirn-Schranke entgegenwirken. In-vitro-Studien gaben zudem Hinweise, dass IFN- β zusätzlich einen direkten Einfluss auf die BHS im Sinne einer Stabilisierung der Schrankenfunktion

haben könnte^{107, 108, 109}. Außerdem normalisiert Interferon- β in vivo und in vitro die Funktion der T-Suppressor-Zellen, die bei den Patienten häufig gestört ist. Einen Teil seiner Wirkung scheint IFN- β über die vermehrte Produktion von TGB- β , einem Zytokin mit ausgeprägt immunsupprimierenden Eigenschaften, zu vermitteln¹¹⁰. Im Tiermodell konnte IFN- β die Schwere einer Experimentellen Allergischen Enzephalomyelitis (EAE) abschwächen¹¹¹.

1.5 Therapie der Multiplen Sklerose

Durch symptomatische Maßnahmen, zum Beispiel Physiotherapie oder Pharmazeutika, können einzelne Symptome der MS, wie Spastik oder Blasenfunktionsstörungen, gelindert werden. Zur Basistherapie werden verschiedene Immunsuppressiva, wie Cyclophosphamid, Azathioprin oder Methotrexat eingesetzt. Während diese eine relativ unspezifische Unterdrückung des Immunsystems bewirken, wurden, ausgehend von den zunehmenden Kenntnissen über die Pathogenese der Erkrankung, verschiedene, sogenannte immunmodulierende Therapieansätze entwickelt, die versuchen, gezielt die zugrundeliegende Immunreaktion zu beeinflussen.

1.5.1 Basistherapie

1.5.1.1 Interferon- β -1b zur Behandlung der schubförmigen MS

Als erstes Interferon wurde im Januar 1996 in der Bundesrepublik Deutschland das rekombinante, in *E. coli* hergestellte Interferon- β -1b (Betaferon®) zur Behandlung der schubförmig-remittierenden Multiplen Sklerose zugelassen¹¹². Vom humanen IFN- β unterscheidet es sich durch die Substitution eines Zysteins durch ein Serin an Position 17 der Aminosäuresequenz, die fehlende Glykosylierung und das Fehlen des N-terminalen Methionins¹¹³.

In eine große randomisierte und doppelblinde nordamerikanische Multicenterstudie wurden insgesamt 372 Patienten mit schubförmig-remittierender MS eingeschlossen, die sich 8 Millionen oder 1,6 Millionen internationale Einheiten (8 bzw. 1,6 MIU) Interferon- β -1b beziehungsweise ein Placebo jeden zweiten Tag subkutan injizierten. Im Verlauf der bis zu 5 Jahre dauernden Beobachtung fand sich dosisabhängig bei den mit 8 MIU IFN- β therapierten Patienten eine ausgeprägtere Wirkung gegenüber der Placebogruppe mit einer Reduktion der Schubrate um ein Drittel, einer Verminderung des Anteils schwerer und mittelschwerer Schübe um die Hälfte, einer signifikanten Zunahme des Anteils schubfreier Patienten und einer Verlängerung der Zeit bis zum Auftreten des ersten Schubes¹¹⁴. Die regelmäßig zur Erfassung subklinischer Herde durchgeführten MRT-Untersuchungen ergaben in der Placebogruppe eine stetige Zunahme der Gesamtläsionsfläche, während diese bei den mit 8 MIU IFN- β behandelten Patienten innerhalb der ersten 3 Jahre sogar leicht zurückging und hier auch signifikant weniger aktive Herde pro Jahr auftraten¹¹⁵. Die Behandlungsgruppe zeigte auch eine geringere Zunahme des Behinderungsgrades, erfasst durch den EDSS, die jedoch nicht statistisch signifikant war¹¹⁶.

Als häufigste Nebenwirkungen unter einer Therapie mit Interferon- β -1b beobachtet man grippeähnliche Symptome, wie Fieber, Schüttelfrost und Muskelschmerzen sowie lokale Reaktionen an den Injektionsstellen. Seltener können eine Erhöhung der Transaminasen und zentralnervöse Störungen, wie Depression und Verwirrung, auftreten¹¹⁷. Aufgrund einer

Pharmakokinetik mit Spitzenspiegeln im Serum nach 8 bis 24 Stunden hat sich eine alternierende subkutane Injektion in zweitägigen Abständen bewährt¹¹⁸.

1.5.1.2 Weitere Interferon- β -Präparate

Seit April 1997 steht in der Bundesrepublik Deutschland auch Interferon- β -1a zur Behandlung der schubförmigen Multiplen Sklerose zur Verfügung, das dem humanen IFN- β identisch ist und je nach Präparat entweder einmal wöchentlich intramuskulär (Avonex®) oder dreimal in der Woche subcutan (Rebif®) appliziert wird^{119, 120}. Der klinische Effekt der Behandlung war in den jeweiligen Studien vergleichbar mit dem von Betaferon®. Neben der erwiesenen Wirksamkeit einer Interferon- β -Behandlung bei Patienten mit gesicherter Multipler Sklerose konnten Jacobs et al. zeigen, dass ein frühzeitiger Therapiebeginn mit intramuskulär injiziertem IFN- β -1a bereits nach einem ersten klinischen Schub einen positiven Einfluss auf den weiteren Krankheitsverlauf hat¹²¹. Die PRISMS-Studie, die den Effekt von subkutan verabreichtem Interferon- β -1a untersuchte, ergab Hinweise, dass eine höhere Dosierung des Präparates auch eine bessere Wirkung erzielt¹²².

Da der individuelle Behandlungseffekt schwankt und der Erfolg einer Therapie erst im Verlauf zu beurteilen ist, werden kommende Studien zeigen müssen, welches Medikament beziehungsweise welche Kombination von Pharmaka dem einzelnen Patienten den größten Nutzen bringt.

1.5.1.3 Weitere immunmodulatorische Therapieansätze

Das ebenfalls in Deutschland zur Behandlung der schubförmig-remittierenden MS zugelassene Copolymer-1 besteht aus den Aminosäuren L-Glutaminsäure, L-Lysin, L-Alanin und L-Tyrosin. Es ist in seinem Aufbau dem Myelinbasischen Protein (MBP) ähnlich¹²³. Es blockiert wahrscheinlich Bindungsstellen für MBP an MHC-II-Molekülen auf der Oberfläche von antigenpräsentierenden Zellen und verhindert somit die Aktivierung der spezifischen T-Zellen¹²⁴. Außerdem bewirkt es vermutlich eine Hemmung autoreaktiver T-Lymphozyten gegen MBP und eine Induktion von T-Suppressor-Zellen¹²⁵. Vor allem bei Patienten mit einem bisher leichten neurologischen Defizit zeigte sich eine Verminderung der Schubrate und ein günstiger Effekt auf verschiedene MRT-Parameter¹²⁶.

Die intravenöse Therapie mit Immunglobulinen (ivIG), die auch bei anderen Autoimmunerkrankungen eingesetzt wird, beeinflusste in einer kontrollierten, randomisierten und doppelblinden Studie ebenfalls Krankheitsprogression und Schubrate bei Patienten mit schubförmiger MS¹²⁷ und führte zu einer Reduktion gadoliniumreicher Herde im MRT¹²⁸. Allerdings ergaben sich in aktuellen Studien keine Hinweise für einen längerfristigen Effekt der Behandlung. Die Immunglobuline werden aus einem großen Pool von humanen Spendern gewonnen, so dass der Patient entsprechend über das mögliche Infektionsrisiko aufgeklärt werden muss. Die Wirkung scheint über eine Hemmung der T-Zellproliferation und der Phagozytose durch Mikrogliazellen vermittelt zu werden^{129, 130}. Auch fanden sich Hinweise, dass die Gabe von ivIG die Remyelinisierung betroffener ZNS-Areale bewirken kann¹³¹.

Eine Studie mit Interferon- γ musste abgebrochen werden, da sich unter der Therapie die Schubrate erhöhte¹³².

1.5.1.4 Therapie mit Immunsuppressiva

Verschiedene Studien haben den positiven Effekt einer langfristigen Behandlung mit Azathioprin (Imurek®) bei Patienten mit schubförmiger Multipler Sklerose aufgezeigt. So fanden sich Hinweise für eine Reduktion der Schubrate, jedoch unterschiedliche Angaben bezüglich des Einflusses auf die Krankheitsprogression¹³³. Allerdings liegen weder Untersuchungen an größeren Patientenkollektiven noch MRT-Kontrollen vor und ein breites Nebenwirkungsspektrum limitiert den Einsatz des Medikamentes.

Das alkylierende Zytostatikum Cyclophosphamid (Endoxan®) kommt wegen der schweren Nebenwirkungen nur bei rasch progredienten Verlaufsformen in Betracht, wobei in verschiedenen Anwendungsbeobachtungen ebenfalls über eine Reduktion der Schubrate berichtet wurde¹³⁴.

Als besser verträglich erwies sich Mitoxantron (Novantron®), ebenfalls ein Zytostatikum, das in verschiedenen Studien einen positiven Einfluss auf Klinik und MRT-Läsionen bei schubförmig-remittierender MS zeigte. Die Behandlung wird als Eskalationstherapie bei raschem Verlauf und unzureichender Wirkung einer IFN- β -Gabe empfohlen¹³⁵. Als Nebenwirkung muss eine kumulative Kardiotoxizität beachtet werden¹³⁶.

Bei Patienten mit primär und sekundär chronisch progredienten Verlaufsformen wurde eine Verlangsamung der Krankheitsprogression und ein Effekt auf die Läsionen im MRT unter einer niedrig dosierten oralen Methotrexatbehandlung beschrieben¹³⁷.

1.5.2 **Symptomatische Therapie**

1.5.2.1 Schubtherapie

Im akuten Schub hat sich die Behandlung mit hochdosierten Glukokortikoiden bewährt, wobei sich jedoch bis heute kein einheitliches Therapieschema durchgesetzt hat. Eine Stoßtherapie mit initial 500 bis 1000mg Prednisolonäquivalent über mehrere Tage, die anschließend oral ausgeschlichen wird, hat sich dabei als wirksamer erwiesen als eine rein orale Gabe¹³⁸. Eine Dauertherapie mit Kortikoiden ist dagegen aufgrund der zahlreichen Nebenwirkungen abzulehnen¹³⁹. Die Glukokortikoide bewirken vermutlich eine Stabilisierung der gestörten Blut-Hirn-Schranke und dadurch eine Verminderung des perifokalen Ödems, wodurch es zu einer schnelleren Rückbildung der Symptome kommt¹⁴⁰. Außerdem wirken sie antiinflammatorisch, was den Einsatz auch bei anderen Autoimmunerkrankungen ermöglicht¹⁴¹.

Bei sehr schwer verlaufenden lebensbedrohlichen Schüben, z.B. bei Hirnstammbeteiligung, kann eine Plasmapheresebehandlung zusätzlich zur medikamentösen Immunsuppression indiziert sein¹⁴².

1.5.2.2 Behandlung einzelner Symptome

Eine wichtige Rolle zur Behandlung der häufig auftretenden Spastiken spielen physiotherapeutische Übungen, evtl. begleitet von einer medikamentösen Therapie. Hier werden verschiedene Präparate, wie Baclofen, Tizanidin, Dantrolen, Tetrazepam, Diazepam oder Memantin erfolgreich eingesetzt¹⁴³. Bei Blasenentleerungsstörungen können, nach gegebenenfalls durchgeführter urologischer Funktionsdiagnostik, unter anderem das Führen eines Miktionsprotokolls, Selbstkatheterisierung und die antibiotische Behandlung eines eventuell vorliegenden Harnwegsinfektes nützlich sein¹⁴⁴. Bei Tremor ist ein Therapieversuch

mit verschiedenen Medikamenten, wie z.B. Propranolol, Clonazepam, Carbamazepin oder Odansetron möglich¹⁴³. Eine im Rahmen der Erkrankung auftretende depressive Verstimmung macht unter Umständen die Behandlung mit einem Antidepressivum erforderlich. Chronische Schmerzen bedeuten einen erheblichen Leidensdruck für zahlreiche MS-Patienten. Neben lokalen Maßnahmen und Krankengymnastik werden hier verschiedene Pharmaka, wie trizyklische Antidepressiva, Carbamazepin oder Gabapentin eingesetzt.

1.6 Zielsetzung

In der vorliegenden Arbeit wird zellgebundenes ICAM-1 auf CD3+ T-Zellen, CD19+ B-Zellen und CD14+ Monozyten/Makrophagen im peripheren Blut von Patienten mit schubförmig-remittierender Multipler Sklerose untersucht. Im Rahmen früherer Projekte der Arbeitsgruppe für Multiple Sklerose und Neuroimmunologie an der Justus-Liebig-Universität Gießen hatte sich bereits ein Zusammenhang zwischen Krankheitsaktivität und Expression von zellständigem ICAM-1 auf Leukozytensubpopulationen in Liquor und peripherem Blut gezeigt¹⁴⁵. Außerdem war der Einfluss einer Behandlung mit hochdosierten Glukokortikoiden auf die Adhäsionsmolekülexpression beschrieben worden¹⁴⁶.

Im Rahmen einer Querschnittstudie soll nun ein möglicher Zusammenhang zwischen klinischen und neuroradiologischen Parametern und der Expression von cICAM-1 auf verschiedenen Leukozytenpopulationen im Blut untersucht werden. Dabei soll beurteilt werden, ob sich cICAM-1 auf Leukozyten im Blut als Labormarker für Krankheitsschwere und -aktivität eignet.

In einer prospektiven Längsschnittstudie soll zum einen der Einfluss einer Therapie mit Interferon- β -1b (Betaferon®) auf die Expression des Adhäsionsmoleküls beurteilt werden. Zum anderen wird der Spontanverlauf von ICAM-1 bei Erkrankten ohne immunmodulatorische Therapie beobachtet. Durch den Vergleich der beiden Gruppen sollen Hinweise auf einen möglichen Wirkmechanismus der Interferon- β -Therapie gewonnen werden. Außerdem wird anhand klinischer und neuroradiologischer Parameter der Behandlungseffekt beurteilt und mit den Ergebnissen bereits durchgeführter Studien verglichen. Darüber hinaus soll untersucht werden, inwiefern die Bestimmung von zellgebundenem ICAM-1 sich als Parameter für die Effektivität einer Therapie mit Interferon- β -1b eignet. Daher wurden die gemessenen Werte für die Adhäsionsmolekülexpression mit den erhobenen klinischen und neuroradiologischen Daten in Zusammenhang gesetzt, um Patienten, die von einer Behandlung profitieren, von solchen unterscheiden zu können, die keinen Vorteil durch das Medikament haben. Zu diesem Zweck wurde die im folgenden beschriebene Studie durchgeführt. Dabei wurde zum ersten Mal die Expression von ICAM-1 auf Leukozytensubpopulationen im Blut im längerfristigen Verlauf einer Behandlung mit Interferon- β -1b untersucht.

2 Material und Methoden

Zur Beantwortung der im vorhergehenden Kapitel formulierten Fragen wurden die im Folgenden näher beschriebenen Untersuchungen in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe für Multiple Sklerose und Neuroimmunologie der Justus-Liebig-Universität Gießen und der Abteilung für Vaskuläre Zellbiologie des Max-Planck-Institutes für Physiologische und Klinische Forschung Bad Nauheim durchgeführt. Im Rahmen einer Querschnittstudie wurde bei 77 Patienten mit schubförmig-remittierender Multipler Sklerose die Expression von cICAM-1 auf Leukozytensubpopulationen im peripheren Blut gemessen und zu den Ergebnissen klinischer und neuroradiologischer Untersuchungen in Beziehung gesetzt.

Im Rahmen einer Längsschnittstudie wurden bei 38 Patienten über einen Zeitraum von 18 Monaten der Spontanverlauf der Expression von ICAM-1 auf Leukozytenpopulationen im peripheren Blut, der Verlauf der neurologischen Symptomatik und Veränderungen der MRT-Parameter beobachtet und mit den Befunden bei 30 Patienten unter einer immunmodulatorischen Therapie mit Interferon- β -1b verglichen.

2.1 Korrelation von immunologischen, klinischen und MRT-Parametern bei unbehandelten Patienten

2.1.1 Patientengruppen

Im Zeitraum von August 1997 bis Dezember 1999 wurden 77 Patienten (54 Frauen und 23 Männer), bei denen nach den Kriterien von Poser et al. eine schubförmig-remittierende Multiple Sklerose diagnostiziert worden war, in die Querschnittstudie aufgenommen. Zuvor war jeder Patient über Ziel und Umfang des Projektes ausführlich aufgeklärt worden und das Einverständnis zur Teilnahme an der Untersuchung eingeholt worden.

Bei allen Patienten konnten zwei oder mehr Herde im kranialen oder spinalen MRT nachgewiesen werden. Das mittlere Alter betrug 33 Jahre (Minimum 19, Maximum 59 Jahre). Der EDSS (Expanded Disability Status Scale) nach Kurtzke et al.²⁵ war bei keinem Patienten größer als 6 (Median 2,0; 0 bis 6,0). Bei allen Patienten waren innerhalb der letzten beiden Jahre zwei oder mehr Schübe (Mittelwert 3,1) aufgetreten, bei einer vorausgegangenen Erkrankungsdauer von im Mittel 5,6 Jahren. Ein Schub wurde definiert als das Auftreten neuer klinischer Symptome oder eine signifikante Verschlechterung bereits bestehender Symptome durch die Grunderkrankung für mindestens 24 Stunden ohne das gleichzeitige Auftreten von Fieber bzw. das Vorliegen einer Infektionskrankheit.

Ausschlusskriterien waren eine immunsuppressive Behandlung, z.B. mit Cortison oder Azathioprin, sechs Monate vor Aufnahme in die Studie, ebenso wie eine immunmodulatorische Therapie, z.B. mit Interferon- β oder Glatirameracetat bzw. die Einnahme von nichtsteroidalen Antiphlogistika (z.B. Ibuprofen, Diclofenac) innerhalb eines Zeitraumes von 3 Monaten vor Studieneintritt.

2.1.2 Studienaufbau

Alle Patienten wurden nach Aufnahme in die Studie neurologisch untersucht und der EDSS als Maß für das neurologische Defizit bestimmt. Am selben Tag erfolgte als Bestandteil der Routinediagnostik an der Neurologischen Universitätsklinik Gießen eine Blutentnahme. In diesem Rahmen wurde auch das Probenmaterial für die Bestimmung der Expression von cICAM-1 auf Leukozytensubpopulationen im Blut gewonnen. Ebenfalls am gleichen Tag wurde ein kraniales MRT angefertigt. Dabei wurden sowohl Parameter zur Beschreibung der subklinischen Krankheitslast als auch der Krankheitsaktivität ausgewertet.

2.2 Veränderungen der ICAM-1-Expression im zeitlichen Verlauf bei behandelten und unbehandelten Patienten

2.2.1 Patientengruppen

Im Zeitraum von März 1996 bis Januar 1999 wurden insgesamt 68 Patienten in eine Längsschnittstudie aufgenommen. Darunter befanden sich 52 Frauen und 16 Männer. Das durchschnittliche Alter betrug 35,0 Jahre (18 bis 57 Jahre). Bei allen Patienten war nach den

Patientengruppen	<i>Therapiegruppe</i>		<i>Kontrollgruppe</i>	
• Patientenzahl	n = 30		n = 38	
• Geschlecht (weibl./männl.)	weibl. = 18; männl. = 12		weibl. = 34; männl. = 4	
• Alter (Jahre)	m = 35,4	s = 8,7	m = 34,6	s = 9,0
• Zahl der Schübe innerhalb der letzten 3 Jahre vor Studienbeginn	M = 4,5	2-11	M = 3,0	2-8
• bisherige Krankheitsdauer (in Jahren)	M = 6,4	1-35,3	M = 3,0	1-25,2
• EDSS	M = 2,0	0,0 - 5,0	M = 2,0	0,0 - 4,0
• kumulative Gesamtfläche der Läsionen im MRT	M = 1533	66-21812	M = 811	83-9338

Tabelle 2.1: Vergleich klinischer und neuroradiologischer Daten zu Studienbeginn in Therapie- und Kontrollgruppe; normalverteilte Daten als Mittelwert (m) und Standardabweichung (s) dargestellt, nicht normalverteilte Daten als Median (M) und Minimal- bzw. Maximalwert.

Kriterien von Poser et al.⁴¹ eine Multiple Sklerose diagnostiziert worden und jeder Patient wies einen schubförmig-remittierenden Krankheitsverlauf mit jeweils mindestens zwei Schüben in den letzten beiden Jahren auf. Der EDSS lag bei Eintritt in die Studie bei allen Patienten bei fünf oder weniger (Median 2,0). Das bedeutet, dass nur Erkrankte aufgenommen wurden, die noch ohne Hilfe gehfähig waren.

Kein Patient war innerhalb der letzten sechs Monate vor Studieneintritt immunsuppressiv (z.B. mit Azathioprin oder Methotrexat) bzw. innerhalb der letzten drei Monate immunmodulatorisch (z.B. mit einem Interferon- β -Präparat) behandelt worden.

Vor Aufnahme in die Studie wurde jeder Patient ausführlich über die verschiedenen Behandlungsmöglichkeiten der Multiplen Sklerose informiert und ausdrücklich über die Teilnahme an der Studie aufgeklärt. Bei allen Patienten war aufgrund klinischer und apparativer Befunde die Indikation zu einer immunmodulatorischen Behandlung gegeben. Die Entscheidung, ob eine Therapie mit Interferon- β -1b durchgeführt werden sollte, war unabhängig vom Einschluss in die Untersuchung und wurde von jedem Erkrankten selbst getroffen. Es wurden nur Patienten in die Studie aufgenommen, die ausdrücklich ihr Einverständnis dafür erklärt hatten. 30 Erkrankte entschieden sich für eine Behandlung, während 38 sich vorerst dagegen aussprachen und die Kontrollgruppe bildeten (siehe Tab. 2.1).

Signifikante Unterschiede in der Zusammensetzung beider Patientengruppen zeigten sich sowohl hinsichtlich der Geschlechtsverteilung (18 Frauen und 12 Männer bei den behandelten gegenüber 34 Frauen und 4 Männern bei den unbehandelten Patienten; $p < 0,005$, Chi-Quadrat-Test) als auch bezüglich der Anzahl der Schübe innerhalb der letzten 3 Jahre und der bisherigen Krankheitsdauer. So waren bei den Therapiepatienten mehr Schübe (Median 4,5 im Vergleich zu $M = 3,0$ bei den Kontrollpatienten; $p < 0,05$) aufgetreten. Zudem lag die Diagnosestellung länger zurück (6,4 Jahre gegenüber 3,0 Jahre; $p < 0,05$). Auch hinsichtlich der kumulativen Gesamtfläche der Herde im MRT fanden sich bei Aufnahme in die Studie signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) in beiden Kollektiven mit einer größeren kernspintomografischen Krankheitsschwere bei den Patienten der Therapiegruppe. Bezüglich des durchschnittlichen Alters der Patienten, des Behinderungsgrades und der Schubrate im Jahr vor Aufnahme in die Studie zeigten sich keine relevanten Differenzen in der Gruppenzusammensetzung.

Bei den Patienten, die sich für eine Behandlung entschieden hatten, wurde eine Therapie mit Interferon- β -1b (Betaferon®, Schering) begonnen. Zur Reduktion von Nebenwirkungen erfolgte eine einschleichende Dosierung mit initial 2 Mio. IE subcutan. Mit der vierten Injektion wurde die endgültige Dosis von jeweils 8 Mio. IE des Medikamentes, die jeden zweiten Tag subkutan injiziert wurden, erreicht.

2.2.2 Studienaufbau und Patientenbeobachtung

Der Aufbau der Studie ist in Tabelle 2.2 dargestellt. Bei allen Patienten wurden anamnestisch und mit Hilfe vorhandener Krankenunterlagen retrospektiv bisher aufgetretene klinische Schübe innerhalb der letzten drei Jahre erfasst, um daraus die Schubrate (durchschnittliche Anzahl der Schübe pro Jahr) zu ermitteln. Außerdem wurden alle Patienten bei Aufnahme in die Studie neurologisch untersucht und dabei anhand des EDSS der Grad der Behinderung beurteilt. Zusätzlich wurde ein MRT des Kopfes angefertigt und es erfolgte eine Blutentnahme zur Kontrolle der Routinelaborparameter und Gewinnung einer Probe für die anschließende FACS-Analyse. In der Therapiegruppe wurden diese Untersuchungen unmittelbar vor Beginn der Behandlung durchgeführt.

Im weiteren Verlauf der Studie stellten sich die Patienten in dreimonatigen Abständen über einen Zeitraum von insgesamt 18 Monaten jeweils wieder in der Poliklinik der Neurologischen Universitätsklinik Gießen vor, wobei zu jedem Termin wiederum eine ausführliche Exploration und eine Blutentnahme erfolgten. Die Patienten der Therapiegruppe wurden zudem bezüglich möglicher Nebenwirkungen überprüft.

Besonderes Augenmerk wurde auf das Auftreten neuer Schübe während des Beobachtungszeitraums gelegt, um die Aktivität der Erkrankung einschätzen zu können.

<i>Vor Beginn</i>	<i>Nach 3 Monaten</i>	<i>Nach 6 Monaten</i>	<i>Nach 9 Monaten</i>
EDSS	EDSS	EDSS	EDSS
bisherige Schubrate	neu aufgetretene Schübe	neu aufgetretene Schübe	neu aufgetretene Schübe
FACS-Analyse	FACS-Analyse	FACS-Analyse	FACS-Analyse
MRT		MRT	

<i>Nach 12 Monaten</i>	<i>Nach 15 Monaten</i>	<i>Nach 18 Monaten</i>
EDSS	EDSS	EDSS
neu aufgetretene Schübe	neu aufgetretene Schübe	neu aufgetretene Schübe
FACS-Analyse	FACS-Analyse	FACS-Analyse
MRT		MRT

Tabelle 2.2: Untersuchungsprotokoll der Längsschnittstudie.

Zusätzlich wurden bei allen Erkrankten im Abstand von 6 Monaten MRT-Aufnahmen angefertigt, um das Vorliegen subklinischer Krankheitsaktivität bzw. –progression erkennen zu können.

2.3 Differenzierung der Leukozytensubpopulationen mit Hilfe monoklonaler Antikörper

In der vorliegenden Arbeit wurden zur Unterscheidung der untersuchten Leukozytensubpopulationen monoklonale Antikörper zur Markierung von CD3 (T-Zellen), CD19 (B-Zellen) und CD14 (Monozyten/Makrophagen) verwendet. Zur späteren Messung

Monoklonaler Antikörper	Funktion/Marker	Hersteller
IgG1-FITC	Negativkontrolle	exalpha, Boston (MA), USA
IgG1-PE	Negativkontrolle	exalpha, Boston (MA), USA
CD45-FITC	Positivkontrolle	Immunotech, Hamburg
CD45-PE	Positivkontrolle	Immunotech, Hamburg
CD3-PE	T-Lymphozyten	Immunotech, Hamburg
CD19-PE	B-Lymphozyten	Immunotech, Hamburg
CD14-PE	Monozyten/Makrophagen	Immunotech, Hamburg
ICAM-1-FITC	zellgebundenes ICAM-1	Bender MedSystems, Wien, Österreich

Tabelle 2.3: Verwendete monoklonale Antikörper, Funktion und Herstellerfirma.

der Fluoreszenzintensität mit Hilfe des Durchflusszytometers wurden mit dem Fluoreszenzfarbstoff Phycoerythrin (PE) markierte Antikörper benutzt.

Zur Bestimmung der Adhäsionsmolekülexpression wurden monoklonale Antikörper gegen CD 54 (ICAM-1) verwendet, an die der Farbstoff Fluorescein-Isothiocyanat (FITC) gekoppelt war. Die Messung von ICAM-3 (CD50) auf CD3⁺ T-Zellen, CD19⁺ B-Zellen und CD14⁺ Monozyten/Makrophagen am gleichen Patientenkollektiv war Gegenstand einer weiteren Promotionsarbeit.

Als Positivkontrolle diente eine Probe, die mit monoklonalen Antikörpern gegen CD45, das auf der Oberfläche aller Leukozyten exprimiert wird, markiert wurde. Als Negativ- bzw. Isotypkontrolle zur Elimination der unspezifischen Bindung wurden Antikörper gegen IgG benutzt. Tabelle 2.3 gibt einen Überblick über die verwendeten monoklonalen Antikörper.

2.4 Bestimmung der ICAM-1-Expression auf Leukozyten mittels Durchflusszytometrie

Die Durchflusszytometrie ist eine relativ neue Methode, welche die Analyse von einzelnen Zellen in einer Suspension auf der Grundlage von Fluoreszenz- und Streulichteigenschaften ermöglicht. Während die ersten Durchflusszytometer noch als reine Zählgeräte verwendet wurden, was ihnen die Bezeichnung Fluorescence Activated Cell Sorter (FACS) gab, können heute verschiedene physikalische und chemische Eigenschaften einer Zelle gleichzeitig gemessen werden¹⁴⁷.

Das für diese Arbeit verwendete FACScan (Fa. Becton Dickinson, Heidelberg) beinhaltet neben dem eigentlichen Durchflusszytometer auch einen Rechner, der mit Hilfe des Softwareprogrammes CellQuest die Steuerung des Gerätes sowie die Speicherung und Auswertung der Messergebnisse ermöglicht.

2.4.1 Testprinzip

Die vorliegende Zellsuspension wird über eine Stahlkapillare durch Überdruck in die Messküvette transportiert. Durch eine Trägerflüssigkeit werden die Zellen beim Eintritt in die Messkammer stark beschleunigt und reihen sich wie Perlen einer Perlenkette aneinander. Dieser Vorgang, der auch als hydrodynamische Fokussierung bezeichnet wird, ist Voraussetzung dafür, dass der Argon-Laser, der kohärentes Licht der Wellenlänge 488 nm generiert, jede einzelne Zelle erfassen kann. Dabei können je nach Gerätetyp mit Hilfe des optischen Systems bis zu sechs verschiedene Parameter gleichzeitig bestimmt werden (siehe Abb. 2.4).

Zum einen wird das auf die Zelle auftreffende Licht nach vorne und zur Seite gestreut, was als Vorwärtsstreulicht (Forward Light Scatter, FSC) beziehungsweise Seitwärtsstreulicht (Sideward Light Scatter, SSC) gemessen wird. Während das FSC vor allem von der Zellgröße abhängt, ist das SSC hauptsächlich ein Maß für die intrazelluläre Granularität. Mit Hilfe dieser beiden Parameter lassen sich Leukozyten aufgrund der unterschiedlichen Morphologie in Subgruppen unterteilen.

Zum anderen emittieren die durch den Argon-Laser angeregten Zellen Licht, wobei je nach Bauart mit dem Durchflusszytometer über mehrere Kanäle verschiedene Fluoreszenzspektralbereiche gemessen werden können. Zusätzlich zum natürlichen Fluoreszenzspektrum der Zellen können durch monoklonale Antikörper, die mit

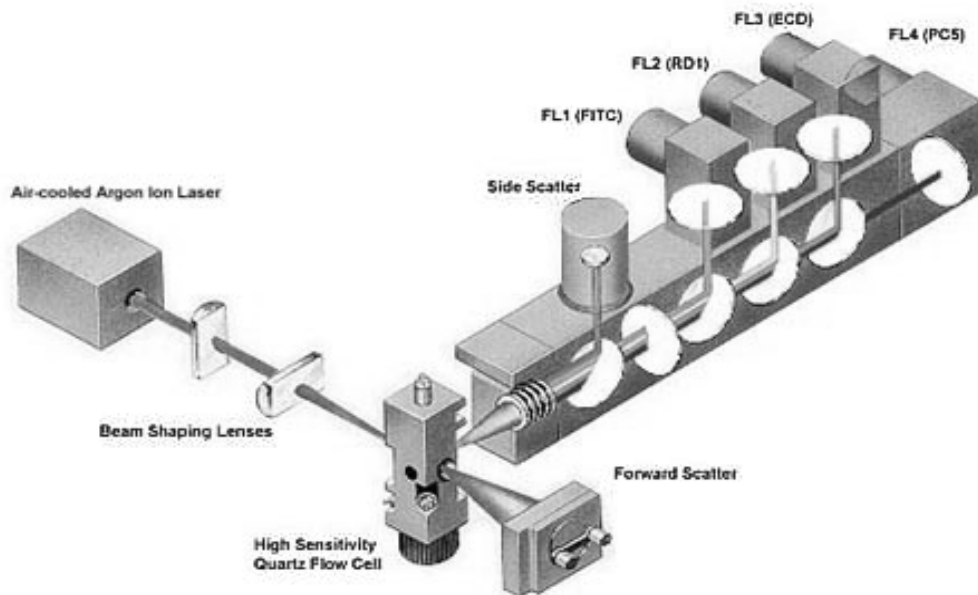


Abbildung 2.4: Optisches System eines Durchflusszytometers (nach Produktinformation der Fa. Coulter).

Fluoreszenzfarbstoffen gekoppelt sind, bestimmte Oberflächenmerkmale markiert werden. Zwei häufige Farbstoffe, die auch in dieser Studie verwendet wurden, sind Fluorescein-Isothiocyanat (FITC) und Phycoerythrin (PE). Beide können durch das Licht der Wellenlänge 488nm des Argon-Lasers angeregt werden. Während das Maximum des Emissionsspektrums von FITC bei 525nm liegt und über den Kanal FL 1 (Detektor $530\pm 30\text{nm}$) gemessen wird, liegt das von PE bei 575nm und wird über den Kanal FL 2 (Detektor $585\pm 42\text{nm}$) registriert¹⁴⁸. Die weiteren Fluoreszenzkanäle wurden in der vorliegenden Arbeit nicht benötigt.

2.4.2 Probenmaterial

Alle Blutentnahmen erfolgten im Rahmen der Routinediagnostik an der Neurologischen Klinik der Justus-Liebig-Universität Gießen. Die Citratblutproben wurden unmittelbar nach ihrer Abnahme im Neurochemischen Labor der Neurologischen Universitätsklinik Gießen bearbeitet. Die Messung des zellgebundenen ICAM-1 auf CD3⁺ T-Zellen, CD19⁺ B-Zellen und CD14⁺ Monozyten/Makrophagen wurde anschließend am Durchflusszytometer der Abteilung für Molekulare Zellbiologie des Max-Planck-Institutes Bad Nauheim durchgeführt.

2.4.3 Testablauf

Die Blutproben wurden anhand eines festen Protokolls (siehe Protokoll 7.1, Anhang) im Neurochemischen Labor der Neurologischen Universitätsklinik Gießen bearbeitet. Zunächst erfolgte mit Hilfe eines Ficoll-Paque-Gradienten die Isolation der Leukozyten (vor allem Lymphozyten und Monozyten) aus dem entnommenen Citratblut. Anschließend wurde die Probe in zwei weiteren Zentrifugationsschritten gereinigt. Nach Bestimmung der Zellkonzentration (mittels Sysmex, Fa. TOA Medical Electronics, Hamburg) wurden die Leukozyten in FACS-Puffer aufgenommen. Dieser enthält Natriumazid, ein Zellgift, das die Atmungskette inhibiert. Dadurch sollte erreicht werden, dass die Oberflächeneigenschaften der Zellen möglichst stabil bleiben. Aus diesem Grund wurden die Proben auch anschließend auf Eis gelagert, die weiteren Schritte erfolgten unter ständiger Kühlung in der Abteilung für Molekulare Zellbiologie des Max-Planck-Institutes Bad Nauheim.

Drei Stunden nach Aufnahme der peripheren Blutleukozyten (PBL) in Eis wurden dort die Proben nach Verdünnung in die Vertiefungen einer Mikrotiterplatte pipettiert, anschließend die fluoreszenzmarkierten Antikörper unter Lichtausschluss nach einem exakten Schema (siehe Tabelle 2.2) hinzugegeben. Nach Inkubation und drei weiteren Waschschritten wurden die Proben in FACS-Storage-Puffer, der Paraformaldehyd enthält, aufgenommen. Die durchflusszytometrische Analyse wurde innerhalb von fünf Tagen am FACScan (Fa. Becton Dickinson, Heidelberg) durchgeführt.

Probennummer	1	2	3	4	5	6	7	8
Antikörper	ungefärbt	IgG1-FITC	IgG1-PE	CD45-FITC	CD45-PE	CD3-PE ICAM-1-FITC	CD19-PE ICAM-1-FITC	CD14-PE ICAM-1-FITC
jeweilige Menge		5µl	5µl	10µl	10µl	10µl 5µl	10µl 5µl	10µl 5µl

Tabelle 2.2: Pipettierschema zur Markierung der verschiedenen Leukozytensubpopulationen und Adhäsionsmoleküle mit Hilfe monoklonaler, mit Fluoreszenzfarbstoffen markierter Antikörper.

2.4.4 Quantifizierbare Auswertung der Ergebnisse

Da die Einstellung des Durchflusszytometers zur Messung der Fluoreszenzintensität unter Umständen inter- und intraindividuellen Schwankungen unterliegt, wurde ein bereits etabliertes Verfahren angewandt, das den Vergleich verschiedener Messergebnisse ermöglicht. Mit der hier verwendeten Methode ließ sich aus den Blutproben die quantitative Expression von ICAM-1 auf der Oberfläche von CD3+ T-Zellen, CD19+ B-Zellen und CD14+ Monozyten/Makrophagen bestimmen.

2.4.4.1 Darstellung der verschiedenen Zelleigenschaften

Die mit Hilfe des Durchflusszytometers gewonnenen Daten können auf verschiedene Arten dargestellt werden. In der vorliegenden Arbeit wurde ein sogenannter „Dot-Plot“ verwendet. Jede einzelne Zelle wird dabei als ein Punkt in einem Diagramm dargestellt. Bei Messung der

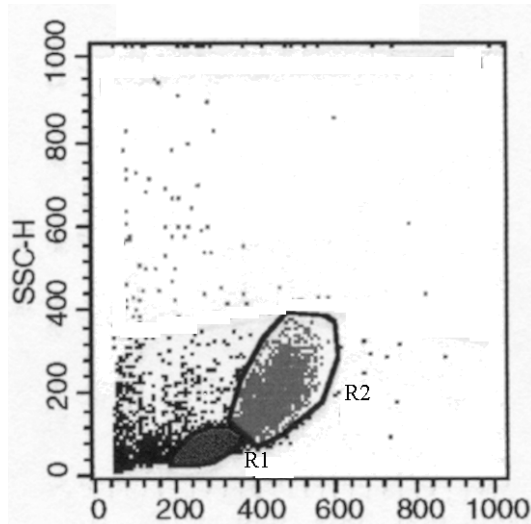


Abbildung 2.5: Einteilung der Leukozytensubpopulationen (R1: Lymphozyten; R2: Monozyten/Makrophagen) anhand von Forward (FSC) und Sideward Scatter (SSC).

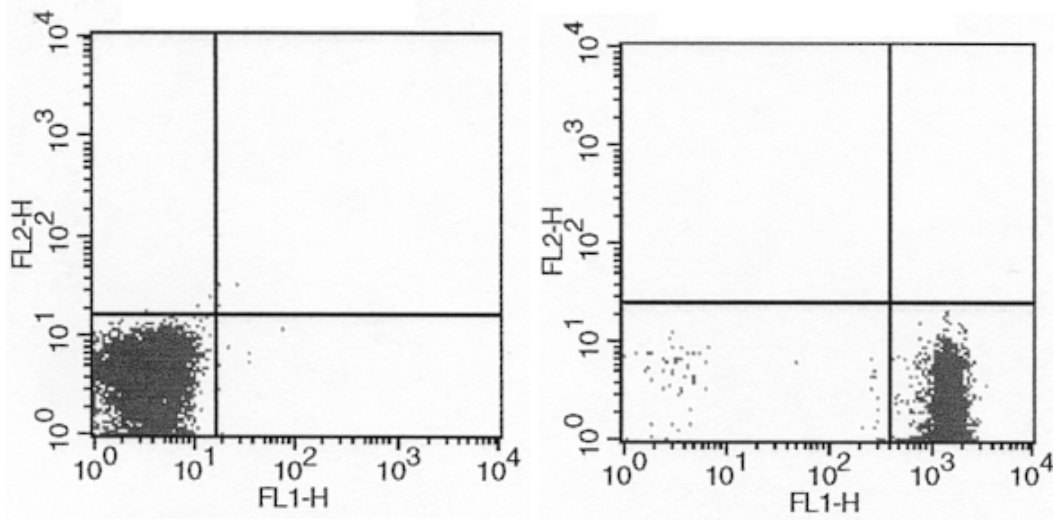


Abbildung 2.6: Punktwolken für Negativ- (links) und Positivkontrolle (rechts) im Lymphozytengate.

Streuung wird auf der X-Achse das Vorwärtsstreulicht (FSC) und auf der Y-Achse das Seitwärtsstreulicht (SSC) aufgetragen (siehe Abb. 2.5).

Mit Hilfe dieser Streulichteigenschaften (FSC, SSC) lassen sich aus einer Probe die Leukozyten in Lymphozyten und Monozyten/Makrophagen differenzieren. Letztere weisen aufgrund ihres größeren Durchmessers und der vermehrten Granularität höhere Werte für FSC und SSC auf und lassen sich somit als Punktwolke von den Lymphozyten abgrenzen. T-Zellen und B-Zellen können auf diese Weise allerdings nicht voneinander unterschieden werden, da sie sich in dieser Hinsicht sehr ähnlich sind. In Abbildung 2.6 und 2.7 sind die beiden „Gates“ für Lymphozyten (R1) und Monozyten/Makrophagen (R2) dargestellt. Für die anschließende Messung der Fluoreszenzintensität wird dann nur die Zellpopulation des

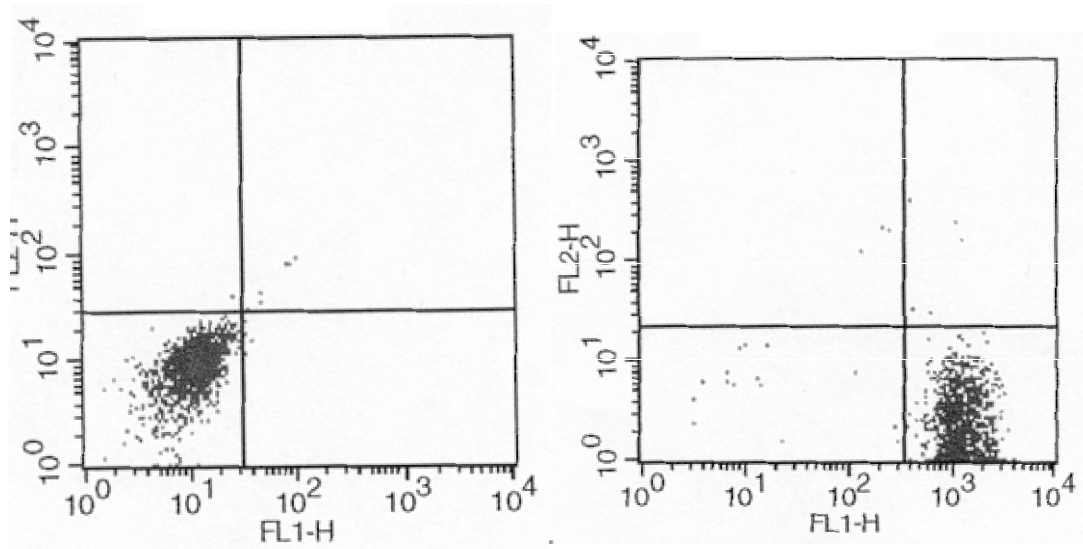


Abbildung 2.7: Punktwolken für Negativ- (links) und Positivkontrolle (rechts) im Monozyten/Makrophagen-Gate.

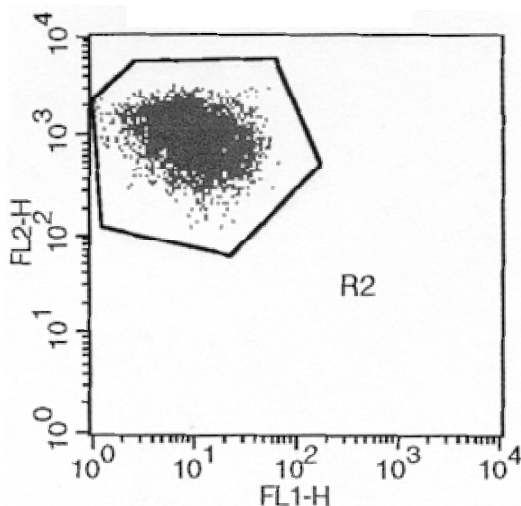


Abbildung 2.8: Darstellung der Fluoreszenzintensität von ICAM-1 (Fl 1, X-Achse) auf T-Zellen (Fl 2, Y-Achse) als Punktwolke im „Dot-Plot“.

jeweiligen Gates herangezogen. Neben einer möglichen Vorselektion der Leukozyten bietet dieses Verfahren den Vorteil, dass mögliche Verunreinigungen in Form von Erythrozyten und Zellbruchstücken zum Großteil eliminiert werden können.

Eine mit monoklonalen Antikörpern gegen das Oberflächenmerkmal CD45, das auf allen Leukozyten exprimiert wird, gefärbte Probe diente als Positivkontrolle. Als Isotypkontrolle wurden Antikörper gegen IgG verwendet. Da Lymphozyten und Monozyten/Makrophagen eine unterschiedliche Eigenfluoreszenz und damit auch unterschiedliche Werte für die Negativ- beziehungsweise Positivkontrolle aufweisen, wurden sie getrennt voneinander ausgewertet.

Die gemessenen Werte für die Fluoreszenzintensität werden ebenfalls in einem Diagramm dargestellt, wobei wiederum jeder Punkt mindestens eine Zelle repräsentiert. Dabei entspricht die X-Achse Kanal Fl 1, auf dem die Expression von ICAM-1 bestimmt wird und die Y-Achse Kanal Fl 2, auf dem die Fluoreszenzintensität der Leukozyten-Antigene CD3, CD19 und CD14 gemessen wird (siehe Abb. 2.8).

2.4.4.2 Bestimmung der relativen Fluoreszenzintensität von ICAM-1 auf Leukozyten

Aufgrund der logarithmischen Skalierung der Achsen wurde von den dargestellten Punktwolken durch das Softwareprogramm CellQuest jeweils der geometrische Mittelwert ("XGeoMean") bestimmt und daraus für jede Probe mit Hilfe einer Formel die relative Fluoreszenzintensität (rfi) errechnet.

Dazu wurde von der gemessenen Fluoreszenzintensität der ICAM-1-positiven Zellen und der Positivkontrolle (CD45) jeweils der Wert der Isotypkontrolle (IgG1) abgezogen. Durch die in Abbildung 2.9 beschriebene Formel wurde somit der Wert für die Isotypkontrolle gleich null und der Wert für die Positivkontrolle gleich 1000 gesetzt. Die errechnete relative Fluoreszenzintensität der ICAM-1-positiven Zellen ist somit ein Wert auf dieser Skala zwischen null und 1000. In Abbildung 2.9 sind zwei Beispiele für die Berechnung der relativen Fluoreszenzintensität dargestellt.

2.4.4.3 Inter-Observer-Reliabilität

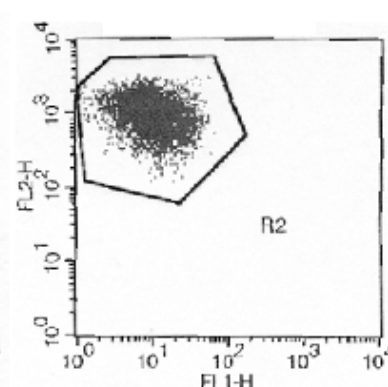
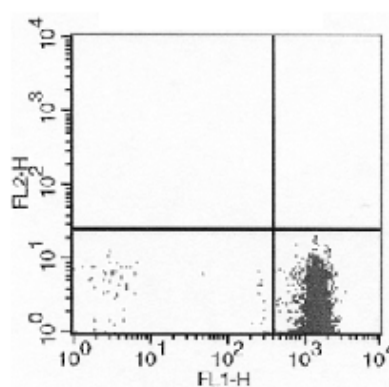
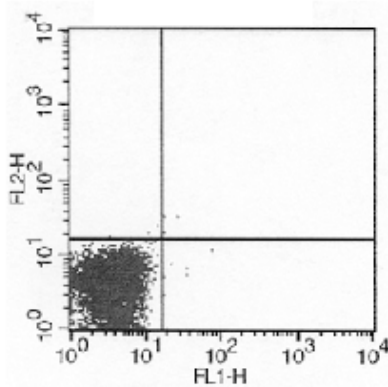
Aufgrund des langen Beobachtungszeitraumes wurden die FACS-Analysen von zwei Personen durchgeführt, von März 1996 bis Oktober 1997 vom Autor der vorliegenden Arbeit und bis Dezember 1999 von einem zweiten Untersucher. Neben der zuvor beschriebenen Messung der relativen Fluoreszenzintensität von ICAM-1 auf Leukozytensubpopulationen bei Patienten mit schubförmig-remittierender MS wurde in ähnlicher Weise die Expression des Adhäsionsmoleküls ICAM-3 bestimmt. Die entsprechenden Ergebnisse sind Gegenstand einer weiteren Promotionsarbeit durch den zweiten Untersucher. Durch die Berechnung der relativen Fluoreszenzintensität ergaben sich nur geringe interindividuelle Schwankungen. Anhand der Messung von insgesamt 18 Parametern, an identischen Patienten und zum gleichen Zeitpunkt durch beide Untersucher unabhängig voneinander durchgeführt, wurde der Variabilitätskoeffizient als Maß für die Verlässlichkeit der Methode bestimmt. Die entsprechenden Messergebnisse sind in Tabelle 7.2.1 des Anhangs aufgeführt, der durchschnittliche Variabilitätskoeffizient lag bei 2,67.

Beispiel 1

IgG-1 (X Geo Mean 3,6)

CD 45 (X Geo Mean 1479,3)

ICAM-1 (X Geo Mean 10,0)



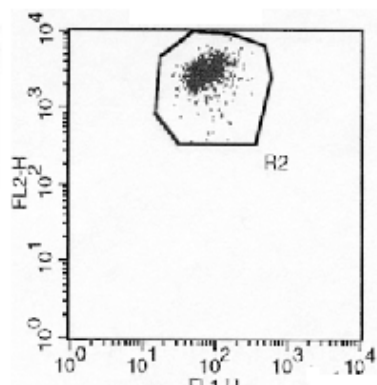
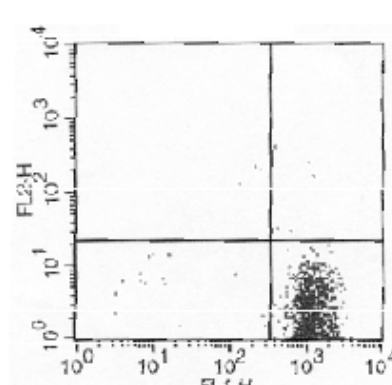
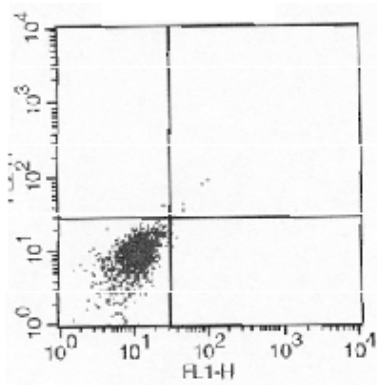
$$\text{Rfi} = \frac{\text{X Geo Mean (ICAM-1)} - \text{X Geo Mean (IgG1)}}{\text{X Geo Mean (CD45)} - \text{X Geo Mean (IgG1)}} \times 1000 = \frac{10,0 - 3,6}{1479,3 - 3,6} \times 1000 = 4,3$$

Beispiel 2

IgG-1 (X Geo Mean 10,4)

CD 45 (X Geo Mean 1267,8)

ICAM-1 (X Geo Mean 53,6)



$$\text{Rfi} = \frac{\text{X Geo Mean (ICAM-1)} - \text{X Geo Mean (IgG1)}}{\text{X Geo Mean (CD45)} - \text{X Geo Mean (IgG1)}} \times 1000 = \frac{53,6 - 10,4}{1267,8 - 10,4} \times 1000 = 34,4$$

Abbildung 2.9: Zwei Beispiele für die Berechnung der relativen Fluoreszenzintensität (rfi) von ICAM-1 auf CD3+ T-Zellen (Beispiel 1) bzw. CD14+ Monozyten/Makrophagen (Beispiel 2). Durch die Differenz der geometrischen Mittelwerte (auf der logarithmisch skalierten x-Achse) von Positiv-Kontrolle (CD45) und Negativ-Kontrolle (IgG1) wird eine neue logarithmische x-Achse definiert mit dem Wert der Isotypkontrolle (IgG1) als Nullpunkt und der Positiv-Kontrolle (CD45) als maximalem Wert 1000. Die relative Fluoreszenzintensität von ICAM-1 errechnet sich durch die angegebene Formel aus dem geometrischen Mittelwert der gemessenen Probe als Wert auf dieser neuen Skala zwischen 0 und 1000. Dadurch wird ein quantitativer Vergleich mit anderen Patientenproben ermöglicht.

2.5 Magnetresonanztomografie

Um die Krankheitsschwere und –aktivität zu beurteilen, wurden bei allen Patienten kraniale MRT-Aufnahmen mit Kontrastmittel in der Neuroradiologischen Abteilung der Universitätsklinik Gießen angefertigt. Bei den Patienten der Querschnittstudie wurde die Untersuchung am selben Tag, an dem auch die klinischen und immunologischen Daten erhoben wurden, durchgeführt. Bei den Erkrankten, die im Rahmen der Längsschnittstudie beobachtet wurden, erfolgte dies zu Studienbeginn und im weiteren Verlauf in sechsmonatigen Abständen. Die Auswertung wurde dabei unter Aufsicht von zwei erfahrenen Neuroradiologen vorgenommen.

Wichtung	Relaxationszeit	Aussendezeit
T1	500ms	10 bzw. 15ms
T2	3460ms	93ms
Protonen	3460ms	19ms

Tabelle 2.3: Relaxations- und Aussendezeiten bei Anfertigung der unterschiedlich gewichteten MRT- Aufnahmen.

2.5.1 Anfertigung der MRT-Bilder

Die MRT-Untersuchungen erfolgten am Gerät Magnetom SP63 (Siemens, Erlangen). Dabei wurden T2- und Protonen-gewichtete Aufnahmen sowie T1-gewichtete Bilder vor und nach intravenöser Gabe von Gadolinium-DTPA angefertigt. Die initialen MRT-Untersuchungen und die Verlaufskontrollen im Abstand von jeweils sechs Monaten erfolgten unter exakt den gleichen Untersuchungsbedingungen (u.a. Relaxations- und Aussendezeit, Positionierung des Kopfes und Schichtdicke). Dadurch sollte die bestmögliche Vergleichbarkeit der Bilder eines einzelnen Patienten zu den unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten erreicht werden. Tabelle 2.3 gibt einen Überblick über die verwendeten Aussende- und Relaxationszeiten.

2.5.2 Auswertung der MRT-Bilder

Um eine standardisierte Auswertung der MRT-Aufnahmen zu gewährleisten, wurden zur Quantifizierung der Läsionen jeweils die transversalen Schnittebenen vom Foramen magnum bis zum Vertex herangezogen. Sagittale und koronare Schichten wurden nicht berücksichtigt, ebensowenig Herde im Rückenmark, da die verwendete Technik keine ausreichende Beurteilung von Läsionen in diesem Bereich erlaubt¹¹⁵.

Die angewandte Methode zur Auswertung der MRT-Aufnahmen sollte eine Quantifizierung der MS-typischen Herde ermöglichen, um somit ein Maß für die Krankheitsschwere („Disease Burden“) zu erhalten. Außerdem wurde die Krankheitsaktivität anhand der Anreicherung des Kontrastmittels Gadolinium-DTPA in den T1-gewichteten Sequenzen bzw. des Vorliegens eines perifokalen Ödems in den T2-gewichteten Aufnahmen beurteilt.

Folgende 8 Parameter wurden dabei bestimmt:

- Kumulative Gesamtfläche aller MS-typischen Herde („Disease Burden“)
- Anzahl aller Läsionen

- Gesamtfläche aller gadoliniumanreichernden Herde als Zeichen einer entzündlichen Schädigung der Blut-Hirn-Schranke¹⁴⁹
- Anzahl der gadoliniumanreichernden Herde
- Gesamtfläche der Läsionen mit perifokalem Ödem als Hinweis auf das Vorliegen einer akuten Entzündungsreaktion bzw. lokalen Störung der BHS
- Anzahl aller Läsionen mit perifokalem Ödem
- Gesamtfläche der gadoliniumanreichernden Herde mit umgebendem Ödem
- Anzahl aller gadoliniumanreichernden Herde mit umgebendem Ödem

Da die heute möglichen computergestützten Bildbearbeitungen noch sehr zeitintensiv sind und die Vorteile vor allem im Bereich multizentrischer Studien mit mehreren Untersuchern liegen¹⁵⁰, erfolgte die Auswertung in der vorliegenden Arbeit manuell und semiquantitativ am Institut für Neuroradiologie durch zwei Auswerter. Dabei wurde darauf geachtet, dass die von einem Patienten im Verlauf der Längsschnittuntersuchung angefertigten MRT-Bilder möglichst jeweils vom gleichen Untersucher bearbeitet wurden. Der Variabilitätskoeffizient bei der Auswertung identischer MRT-Bilder durch verschiedene Personen lag im Mittel bei 0,09 (laut O. Fischer, persönliche Korrespondenz). Außerdem hatte der jeweilige Untersucher keine Kenntnis über den klinischen Verlauf des Patienten.

Bei der quantitativen Auswertung wurde jeder Herd auf Transparenzpapier übertragen und mittels Millimeterpapier die Querschnittsfläche auf jeder Schicht zweidimensional bestimmt. Unter Berücksichtigung des Maßstabes konnten dadurch die kumulativen Gesamtflächen der verschiedenen Parameter berechnet werden.

Somit war es möglich, zum einen den Spontanverlauf der MRT-Daten bei einer Gruppe von 38 Patienten mit schubförmig-remittierender MS zu beobachten. Zum anderen konnte vergleichend dazu der Effekt einer Therapie mit Interferon- β -1b auf die kernspintomografische Krankheitslast und -aktivität bei 30 Patienten unter der Therapie beurteilt werden.

Anhand der beschriebenen Parameter wurden schließlich die Patienten der Therapiegruppe in Responder, die von der Behandlung profitieren, und Nonresponder, bei denen kein positiver Effekt zu verzeichnen war, unterschieden. Zu diesem Zweck wurde für jeden MRT-Wert der Regressionsparameter berechnet. Wenn dieser kleiner als null war und somit eine Tendenz zu negativen Werten vorlag, wurde ein IFN- β -Effekt angenommen und der jeweilige Patient als Responder definiert. Bei einem Regressionsparameter größer oder gleich null wurde dementsprechend von einem Nonresponder ausgegangen. Diese Einteilung ergab je nach zugrunde gelegtem MRT-Parameter Subgruppen verschiedener Größe (siehe Tabelle 7.2.8, Anhang).

2.6 Statistische Auswertung

Die in dieser Arbeit erhobenen Daten wurden in einer im Softwareprogramm Microsoft Access erstellten Datenbank verwaltet. Die Ergebnisse der Querschnittstudie wurden mit Hilfe des Statistikprogrammes TBS analysiert. Dabei wurde bei normalverteilten Daten der Student t-test angewendet, bei nicht normalverteilten Daten der Wilcoxon-Test. Eine Korrelation der ermittelten MRT-Aktivitätsparameter mit der gemessenen Expression von cICAM-1 erfolgte mit Hilfe des Spearman-Rang-Testes durch Berechnung des entsprechenden Korrelationskoeffizienten.

Die Daten der Längsschnittstudie über die Auswirkungen einer Therapie mit Interferon- β -1b wurden vom Statistik-Büro Parexel (biodat), Berlin, das in der Bearbeitung ähnlicher Fragestellungen Erfahrung besitzt, ausgewertet. Die Zusammensetzung beider

Patientengruppen hinsichtlich klinischer und neuroradiologischer Charakteristika wurde mit Hilfe des Wilcoxon-Testes verglichen, da in der Regel die Werte für die verschiedenen Parameter nicht normalverteilt waren. Zur Bestimmung des Einflusses einer Interferon- β -1b-Therapie auf die Expression zellgebundener Adhäsionsmoleküle zu jedem einzelnen Beobachtungszeitpunkt im Vergleich zum Wert vor Therapiebeginn wurde der Vorzeichen-Rang-Test nach Wilcoxon für verbundene Stichproben verwendet. Der gleiche Test diente auch zur Berechnung eventuell auftretender spontaner Veränderungen in der Kontrollgruppe. Zur Analyse verschiedener Verläufe in der Interferongruppe im Vergleich zum Kollektiv der unbehandelten Patienten über den gesamten Beobachtungszeitraum von 18 Monaten fand der nichtparametrische ANOVA-Test für Verlaufsbeobachtungen Anwendung. Eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ wurde jeweils als statistisch signifikant angesehen.

3 Ergebnisse

3.1 Korrelation der Expression von cICAM-1 mit klinischen und neuroradiologischen Parametern

Insgesamt 77 Patienten wurden im Rahmen einer Querschnittstudie untersucht. Mittels FACS-Analyse wurde die Expression von cICAM-1 auf CD3+ T-Zellen, CD19+ B-Zellen und CD14+ Monozyten/Makrophagen im Blut bestimmt. Mit Hilfe der MRT-Parameter wurden die Erkrankten in zwei Subgruppen eingeteilt. Die subklinische Krankheits schwere wurde anhand der Fläche und Anzahl aller Herde beurteilt, während die Krankheitsaktivität durch das Auftreten gadoliniumreicher Herde und den Nachweis eines perifokalen Ödems bestimmt wurde.

3.1.1 Vergleich von Subgruppen mit unterschiedlicher Krankheitsaktivität im MRT

Von den 77 Patienten, die in die Querschnittstudie eingeschlossen wurden, konnten bei 28 aktive Herde im MRT, gadoliniumreichernd (n=23) oder mit perifokalem Ödem (n=11), nachgewiesen werden. Von allen an der Untersuchung beteiligten Erkrankten war nur bei 8 Patienten innerhalb der letzten 2 Wochen ein klinischer Schub aufgetreten. Bei jeder dieser 8 Personen fanden sich Zeichen von Krankheitsaktivität im kranialen MRT. Ein Vergleich der klinischen Daten der Subgruppen von Patienten mit oder ohne aktive Herde im MRT ergab eine fast identische Verteilung von Alter, Geschlecht, bisheriger Erkrankungsdauer und EDSS. Auch bezüglich der Expression von cICAM-1 auf Leukozyten im peripheren Blut zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in den beiden Kollektiven.

3.1.2 Korrelation der MRT-Parameter mit der Expression von cICAM-1

Um einen möglichen Zusammenhang zwischen den gemessenen immunologischen Markern und der Krankheitsaktivität und –schwere im MRT zu untersuchen, wurden die Werte für die cICAM-1-Expression auf den Leukozytensubpopulationen im Blut mit den verschiedenen MRT-Parametern in Beziehung gesetzt.

Dabei fand sich bei Betrachtung aller 77 Patienten bezüglich cICAM-1 auf CD3+ T-Zellen im peripheren Blut eine negative Korrelation ($p < 0,05$) sowohl zur kumulativen Gesamtfläche (Spearman Korrelationskoeffizient $r = -0,2790$) als auch zur Anzahl aller Herde ($r = -0,2382$) im MRT (siehe Abb. 3.1).

Ein noch etwas deutlicherer Zusammenhang konnte für die gleichen Parameter in der Gruppe von Patienten mit Zeichen subklinischer Krankheitsaktivität im MRT nachgewiesen werden. Auch hier zeigte sich eine negative Korrelation ($p < 0,05$) der cICAM-1-Expression auf CD3+ T-Zellen sowohl zur Gesamtfläche ($r = -0,4941$) als auch zur Anzahl ($r = -0,4554$) aller Läsionen.

Entsprechend wurde im gleichen Kollektiv der Erkrankten mit aktiven Herden im MRT auch eine negative Korrelation ($p < 0,05$) der Expression von cICAM-1 auf CD14+

Monozyten/Makrophagen zur kumulativen Gesamtfläche ($r = -0.4025$) und zur Anzahl aller Läsionen ($r = -0.4236$) festgestellt (siehe Abb. 3.2).

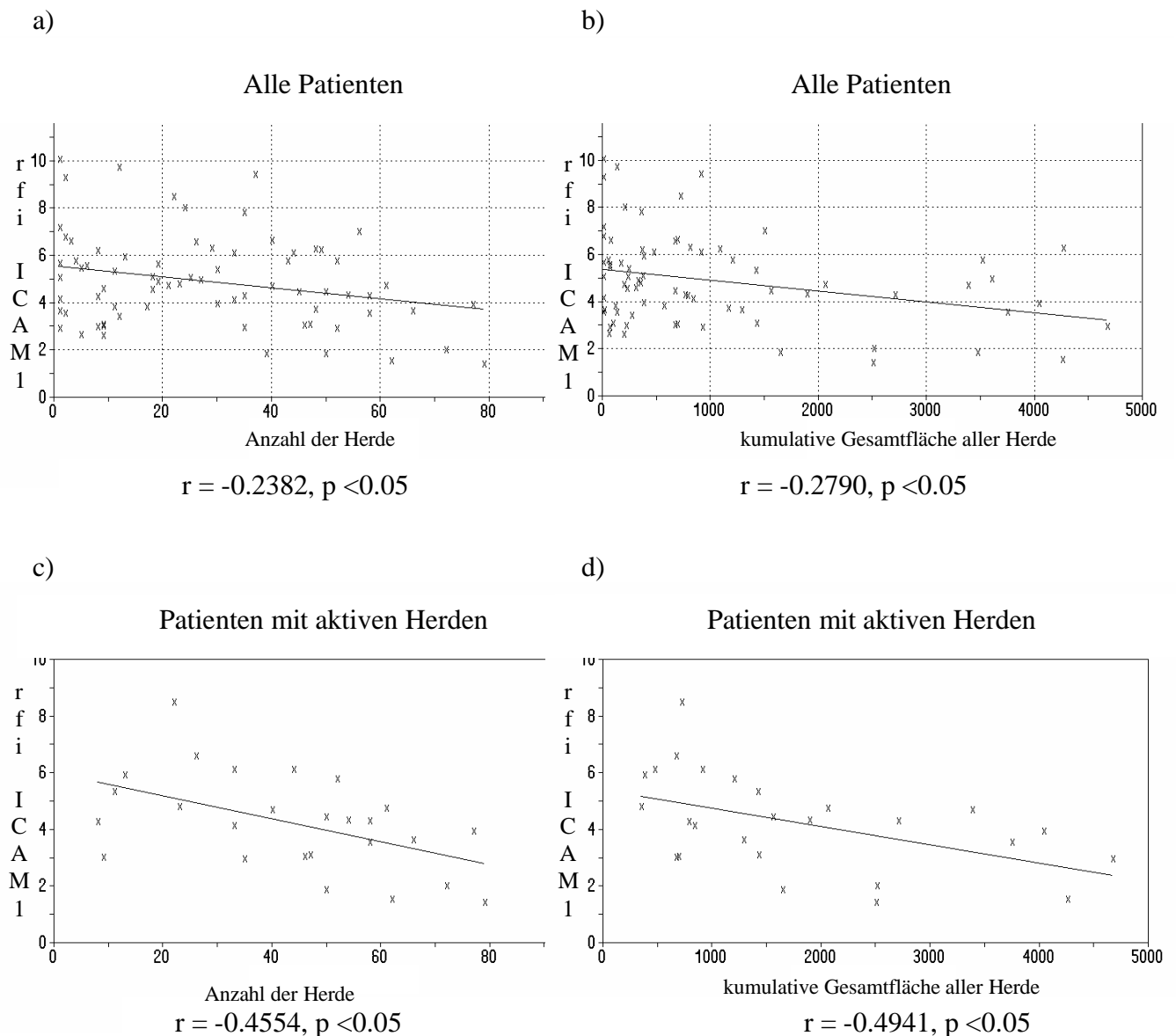


Abbildung 3.1: Korrelationsmatrices für die Expression von cICAM-1 auf CD3+ T-Zellen im peripheren Blut mit der Anzahl (a,c) und kumulativen Gesamtfläche (b,d) aller Herde im MRT (T2-gewichtete Aufnahmen). Die Ergebnisse für das Gesamtkollektiv aller Patienten ($n=77$) sind in a und b dargestellt, die Ergebnisse für die Subgruppe mit aktiven Herden im MRT ($n=28$) in c und d.

Bei isolierter Betrachtung der Gruppe von Patienten ohne subklinische Krankheitsaktivität im MRT fand sich kein statistischer Zusammenhang zwischen der cICAM-1-Expression und den verschiedenen MRT-Parametern.

3.1.3 Vergleich von Subgruppen mit unterschiedlicher Krankheitsschwere im MRT

Anschließend wurden die Patienten anhand der MRT-Befunde in zwei Gruppen mit vermehrter bzw. verminderter Krankheitsschwere eingeteilt. Die Anzahl aller MS-typischen Herde im Gesamtkollektiv der 77 Patienten betrug im Median 25. Entsprechend wurden die Erkrankten in zwei Subgruppen unterteilt, eine mit einer relativ geringen Zahl von Läsionen (weniger als 25) und eine mit 25 oder mehr Herden. Ähnlich wurde auch hinsichtlich der kumulativen Gesamtfläche aller Läsionen im MRT verfahren. Der Median der „Disease Burden“ bei allen 77 Patienten lag bei 567mm². Hier wurde eine Grenze bei 600mm² gezogen, um zwei Kollektive mit unterschiedlicher Krankheitsschwere zu erhalten.

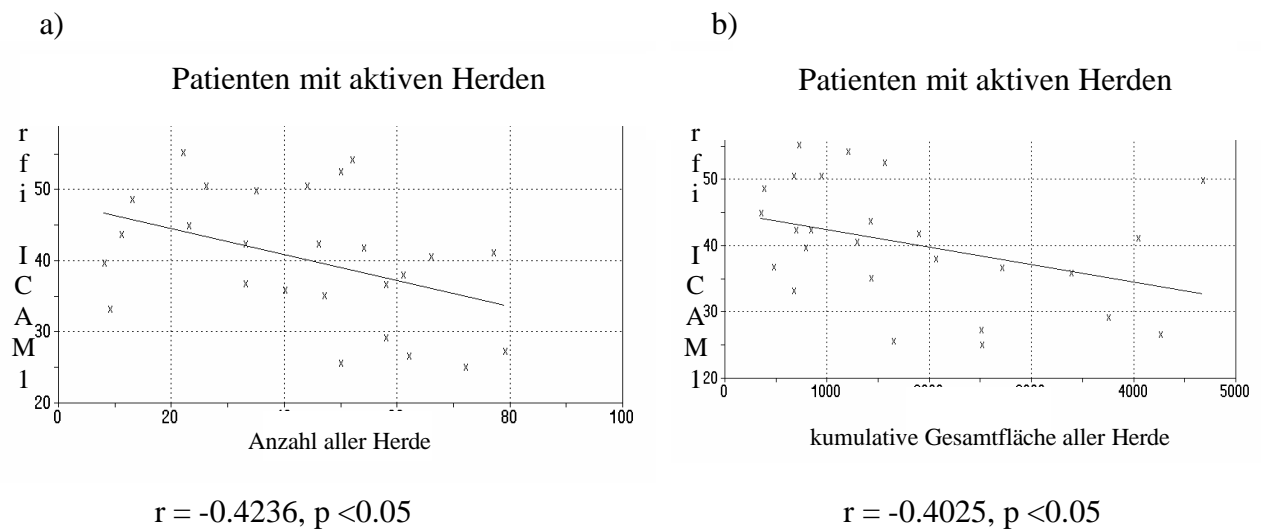


Abbildung 3.2: Korrelationsmatrices für die Expression von cICAM-1 auf CD14+ Monozyten/Makrophagen im peripheren Blut mit der Anzahl (a) bzw. kumulativen Gesamtfläche (b) aller Herde im kranialen MRT (T2-gewichtete Aufnahmen) für die Subgruppe von Patienten mit aktiven Herden (n=28).

Der Vergleich der klinischen Daten mit den radiologischen Befunden ergab einen signifikanten Zusammenhang zwischen neurologischem Defizit und der Krankheitsschwere im MRT. So fanden sich niedrigere Werte für den EDSS in den beiden Subgruppen mit einer geringeren Gesamtfläche bzw. einer verminderten Zahl von Herden (p<0,05).

Die Expression von cICAM-1 auf CD3+ T-Zellen im peripheren Blut war in der Subgruppe von Patienten mit 25 oder mehr Herden signifikant (p<0,05) vermindert (Median 4,3; Werte von 1,4 bis 7,0) verglichen mit den Erkrankten mit einer geringeren Anzahl von Läsionen (M = 5,1; 2,6 bis 10,0). Ähnliche Ergebnisse erbrachte die Beurteilung der subklinischen Krankheitsschwere anhand der „Disease Burden“. Es fand sich eine signifikant geringere Expression von cICAM-1 auf CD3+ T-Zellen in der Subgruppe der Patienten mit einer kumulativen Gesamtfläche von 600mm² oder mehr (M = 4,0; 1,4 bis 7,2) verglichen mit den geringer betroffenen Erkrankten (M = 5,1; 2,6 bis 10,0; siehe Abb. 3.3). Hinsichtlich der Expression von cICAM-1 auf CD19+ B-Zellen und CD14+ Monozyten/Makrophagen zeigte sich kein statistischer Zusammenhang zur Krankheitsschwere.

3.1.4 Korrelation von EDSS und cICAM-1-Expression

Außerdem wurde untersucht, ob ein Zusammenhang zwischen der Expression von cICAM-1 auf Leukozyten im peripheren Blut und der klinischen Krankheitsschwere, beurteilt anhand des EDSS, besteht. Eine signifikante Korrelation zwischen der Adhäsionsmolekülexpression und den EDSS-Werten ließ sich nicht nachweisen. Dies galt sowohl für das Gesamtkollektiv aller Patienten als auch nach Unterteilung in Subgruppen anhand der aktiven Läsionen im MRT.

Anschließend wurden die Patienten mit Hilfe des EDSS, ähnlich wie zuvor anhand der MRT-Parameter, in zwei Subgruppen unterteilt. Der Median des EDSS bei allen 77 Patienten lag bei 2,0. Entsprechend wurden zwei Kollektive unterschieden, zum einen Erkrankte mit einem EDSS von 2 oder weniger, zum anderen Patienten mit einem EDSS größer als 2. Im Gegensatz zu den Ergebnissen nach Einteilung der Krankheitsschwere anhand der MRT-Befunde konnten hier jedoch keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Expression von cICAM-1 auf Leukozyten im peripheren Blut in beiden Subgruppen beobachtet werden.

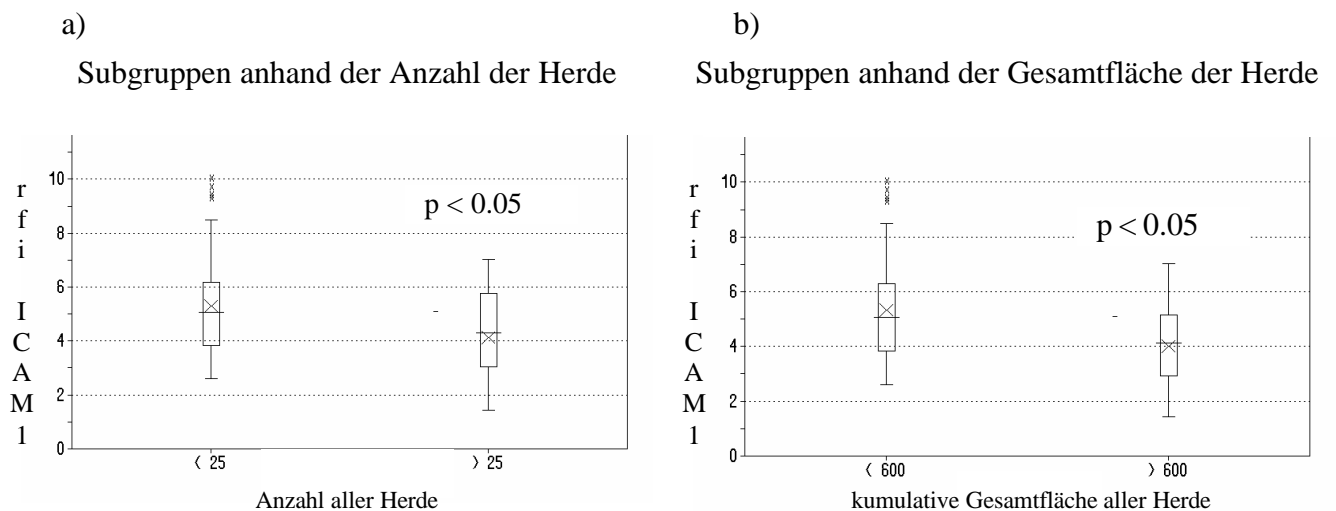


Abbildung 3.3: Box&Whisker Plots für die Expression von cICAM-1 auf CD3+ T-Zellen im peripheren Blut nach Einteilung der Patienten in Subgruppen anhand der Anzahl (a) bzw. kumulativen Gesamtfläche aller Herde (b) im MRT (T2-gewichtete Aufnahmen).

3.2 Natürlicher Krankheitsverlauf bei untherapierten Patienten

Bei 38 untherapierten Patienten konnte der Spontanverlauf der cICAM-1-Expression auf Leukozytensubpopulationen im Blut sowie klinischer und neuroradiologischer Parameter über einen Zeitraum von 18 Monaten beobachtet werden. Zu Beginn der Studie und im weiteren Verlauf in dreimonatigen Abständen wurden alle Patienten in der Neurologischen Poliklinik der Justus-Liebig-Universität Gießen am Tag der Blutentnahme klinisch untersucht. Dabei wurden neu aufgetretene Schübe dokumentiert und der EDSS zur Beurteilung des Behinderungsgrades bestimmt. Zudem wurden in halbjährlichen Abständen MRT-Aufnahmen des Kopfes angefertigt, um eine subklinische Krankheitsprogredienz erkennen zu können.

3.2.1 Klinischer Verlauf

Um eventuelle Veränderungen hinsichtlich neu auftretender Schübe beurteilen zu können, wurde bei jedem Patienten die Schubrate, das heißt, die errechnete Anzahl von Schüben pro Jahr während des Beobachtungszeitraumes, bestimmt. Diese wurde jeweils mit der Schubrate vor Aufnahme in die Studie verglichen. Dabei wurden nur Patienten mit einer Beobachtungsdauer von mindestens einem Jahr berücksichtigt, so dass in der Kontrollgruppe insgesamt 28 Patienten in die Auswertung eingingen.

Bei den unbehandelten Patienten betrug die retrospektiv ermittelte Schubrate bei Aufnahme in die Studie im Median 0,8 (0,3 bis 3,3). Im Verlauf der klinischen Beobachtung ergab sich umgerechnet auf das Intervall von 18 Monaten eine erhöhte Schubrate von im Median 1,5 (0,0 bis 4,3) Schüben pro Jahr, wobei der Unterschied statistisch nicht signifikant war. Demgegenüber fanden sich beim EDSS als Maß für den bleibenden Behinderungsgrad durch die Erkrankung keine wesentlichen Veränderungen.

3.2.2 Neuroradiologische Befunde

3.2.2.1 Beurteilung der Krankheitsschwere

Im Kollektiv der unbehandelten Patienten wurde innerhalb der ersten 12 Monate eine Reduktion der Gesamtläsionsfläche im MRT von initial im Median 811mm^2 auf 620mm^2 nach 6 Monaten und 590mm^2 nach einem Jahr beobachtet. Im weiteren Verlauf kam es jedoch zum Ende des Beobachtungszeitraumes wieder zu einem Anstieg auf 772mm^2 und somit zu einer weitgehenden Annäherung an den Ausgangswert.

Einen ähnlichen Verlauf zeigte die Anzahl aller Herde mit durchschnittlich 30 Läsionen im MRT zu Studienbeginn, einem Rückgang auf jeweils 24 zu den Zeitpunkten nach 6 und 12 Monaten, gefolgt von einem erneuten Anstieg auf 32 Herde nach eineinhalb Jahren.

3.2.2.2 Beurteilung der Krankheitsaktivität

Zur Beurteilung der Krankheitsaktivität wurde allen Patienten zusätzlich Gadolinium-DTPA verabreicht, um akute Entzündungsherde durch eine Kontrastmittelanreicherung im Bereich der gestörten Blut-Hirn-Schranke darstellen zu können. Allerdings waren nur bei einem geringen Teil der Patienten zum jeweiligen Beobachtungszeitpunkt entsprechende Befunde zu erheben, so dass der Median in den meisten Fällen null war.

Bei der Fläche aller gadoliniumanreichernden Herde war ein Rückgang des Mittelwertes von initial $168,7\text{mm}^2$ auf 25mm^2 nach 18 Monaten zu verzeichnen. Die Anzahl der kontrastmittelaufnehmenden Herde verminderte sich von im Mittelwert 0,86 auf 0,63. Hinsichtlich der Anzahl und Fläche von Herden mit Ödem und gadoliniumanreichernden Herden mit Ödem fanden sich keine richtungsweisenden Ergebnisse.

3.2.3 Natürlicher Verlauf von cICAM-1 bei den unbehandelten Patienten

3.2.3.1 ICAM-1 auf CD3+ T-Zellen

Auf den CD3+ T-Zellen zeigte sich in der Gruppe der unbehandelten Patienten ein kontinuierlicher tendenzieller Rückgang der cICAM-1-Expression. Zu Beginn der

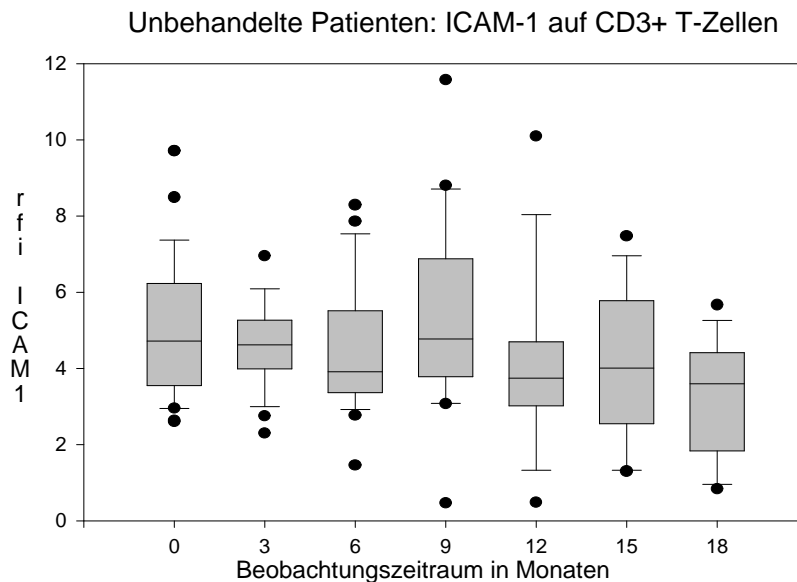


Abbildung 3.4: Verlauf von cICAM-1 auf CD3+ T-Zellen im Blut bei den unbehandelten Patienten. Darstellung als Box&Whisker-Plots.

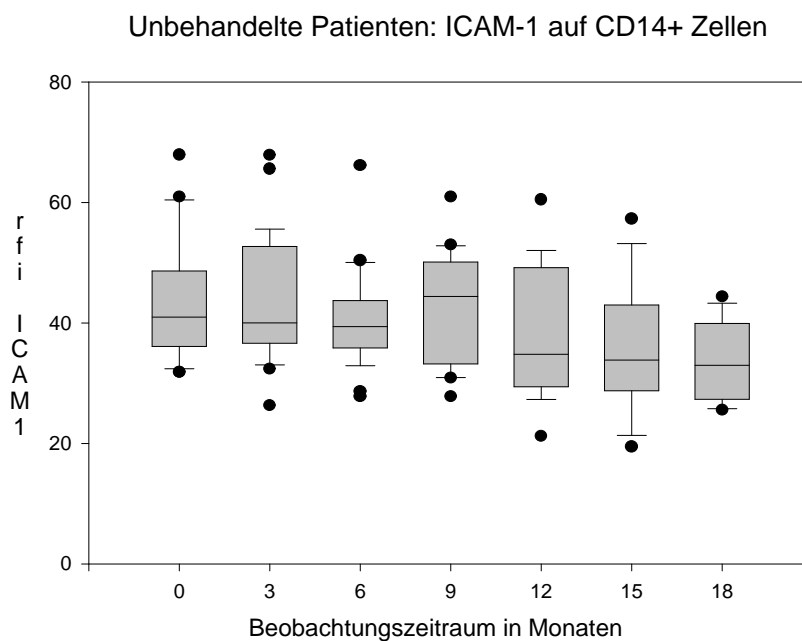


Abbildung 3.5: Verlauf von cICAM-1 auf CD14+ Monozyten/Makrophagen im Blut bei den unbehandelten Patienten. Darstellung als Box&Whisker-Plots.

Untersuchung lag der Median bei 4,7 (Werte von 2,6 bis 9,7). Nach 18 Monaten konnte ein Rückgang auf im Median 3,6 (0,8 bis 7,0) verzeichnet werden. Abgesehen von einem im Vergleich zum Ausgangswert leicht erhöhten Wert nach 9 Monaten (Median 4,8) waren im weiteren Verlauf alle Werte niedriger, wenn auch nicht statistisch signifikant (siehe Abb. 3.4).

3.2.3.2 ICAM-1 auf CD 14+ Monozyten/Makrophagen

Ein ähnlicher Verlauf konnte hinsichtlich der Expression von cICAM-1 auf CD14+ Monozyten/Makrophagen beobachtet werden. Im Vergleich zum Ausgangswert von im Median 41,4 (Werte von 31,8 bis 67,9) fand sich nach 18 Monaten ein deutlicher Rückgang auf im Median 33,0 (25,6 bis 44,4). Auch hier waren, abgesehen von einem einmalig erhöhten Wert nach 9 Monaten ($M = 44,4$), alle weiteren Mediane niedriger als zu Beginn der Untersuchung (siehe Abb. 3.5). Trotz der deutlich rückläufigen Tendenz waren diese Unterschiede jedoch nicht statistisch signifikant.

3.2.3.3 ICAM-1 auf CD19+ B-Zellen

Eine ähnliche Entwicklung zeigte auch die Expression von cICAM-1 auf CD19+ B-Zellen im Blut bei den unbehandelten Patienten. Im Vergleich zum Ausgangswert (Median 7,9; Werte von 4,2 bis 11,5) fanden sich erhöhte Werte nach 6 (Median 8,6) und nach 9 Monaten

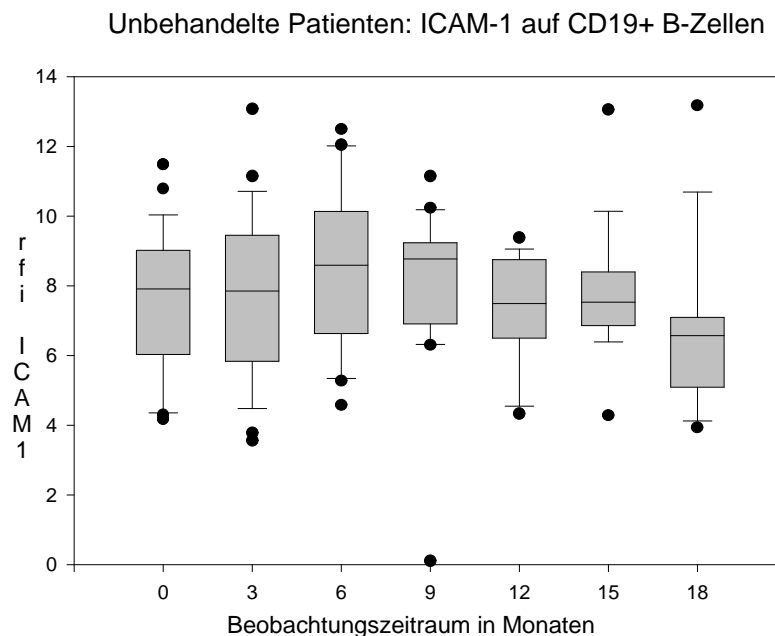


Abbildung 3.6: Verlauf von cICAM-1 auf CD19+ B-Zellen in der Gruppe der unbehandelten Patienten. Darstellung als Box&Whisker-Plots.

(Median 8,8). Zum Ende des Untersuchungszeitraumes hin zeigte sich jedoch wieder ein tendenzieller Rückgang mit einem Median von 6,6 (3,9 bis 13,2) nach 18 Monaten (siehe Abb. 3.6). Auch hier war der Vergleich der einzelnen Beobachtungszeitpunkte mit dem Ausgangswert in keinem Fall statistisch signifikant.

Insgesamt fand sich somit als Spontanverlauf der cICAM-1-Expression bei Patienten mit schubförmig-remittierender Multipler Sklerose ein tendenzieller Rückgang der Expression von cICAM-1 auf allen drei Leukozytensubpopulationen. Im längerfristigen Verlauf der Beobachtung über eineinhalb Jahre waren vom 12. Monat an alle 9 Mediane niedriger als bei Studienbeginn.

3.3 Einfluss von Interferon- β auf die Expression von cICAM-1 und den Krankheitsverlauf

3.3.1 Einfluss auf den klinischen Verlauf

Um die Auswirkungen einer Therapie mit Interferon- β -1b auf klinische, neuroradiologische und immunologische Parameter beurteilen zu können, wurden die Daten zu den jeweiligen Beobachtungszeitpunkten mit den Ausgangswerten mit Hilfe des Wilcoxon-Testes verglichen. Unterschiede in den Verläufen zwischen den beiden Kollektiven wurden unter Verwendung

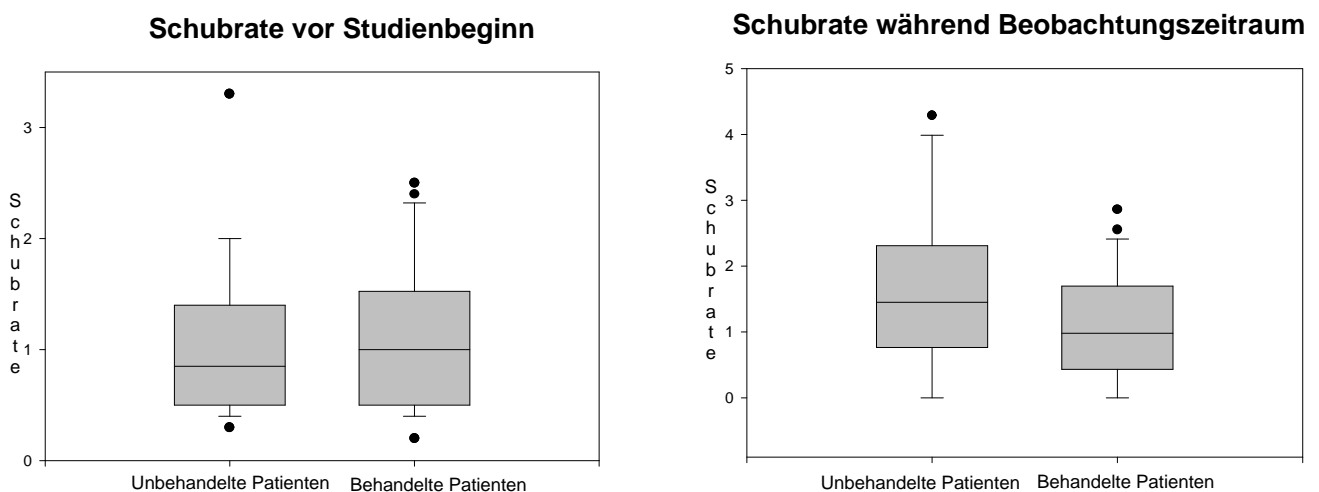


Abbildung 3.7: Vergleich der Schubraten bei unbehandelten und behandelten Patienten vor Aufnahme in die Studie und während des Beobachtungszeitraumes; Darstellung als Box&Whisker-Plots.

des ANOVA-Testes beurteilt.

In der Therapiegruppe wurde, wie beim unbehandelten Kollektiv, der klinische Verlauf bei den Patienten, die für mindestens 12 Monate beobachtet werden konnten, verfolgt, so dass hier insgesamt 30 Patienten in die Auswertung eingingen.

Bei Aufnahme in die Studie betrug der Median der Schubfrequenz 1,0 (Werte von 0,2 bis 2,5). Unter der Behandlung mit Interferon- β -1b zeigte sich bezüglich dieses Parameters keine Veränderung ($M = 1,0$; 0,0 bis 2,9). In der Kontrollgruppe der unbehandelten Patienten war dagegen eine leichte Zunahme der Schubrate festgestellt worden. Vergleicht man die mittlere Differenz der Schubraten in beiden Kollektiven (0,94 bei den Kontrollpatienten vs. 0,08 in der Interferon- β -Gruppe), ergibt sich ein signifikanter Unterschied ($p < 0,05$, Wilcoxon-Test, siehe Abb. 3.7).

Zudem wurde bei allen Patienten zu Beginn und im weiteren Verlauf zu jedem Beobachtungszeitpunkt der EDSS als Maß für das neurologische Defizit durch die Erkrankung bestimmt. Allerdings ergaben sich bei den behandelten, ähnlich wie bei den unbehandelten Patienten, keine relevanten Veränderungen.

3.3.2 Einfluss auf neuroradiologische Parameter

Zu Beginn der Untersuchung war die kumulative Gesamtfläche aller Herde im MRT in der Gruppe, die sich für eine Behandlung mit Interferon- β -1b entschied, größer als in der Kontrollgruppe. Im Verlauf der Therapie konnte jedoch eine kontinuierliche Reduktion der Läsionsfläche bei den Interferonpatienten von im Median 1533 mm² zu Beginn auf 1234mm² nach 6 Monaten, 1102mm² nach 12 Monaten und 955 mm² nach 18 Monaten beobachtet werden ($p < 0,005$). Die Verläufe in Therapie- und Kontrollgruppe unterschieden sich signifikant (ANOVA-Test, $p < 0,00005$).

Hinsichtlich der Anzahl der Herde im MRT zeigte sich ebenfalls eine Abnahme in der

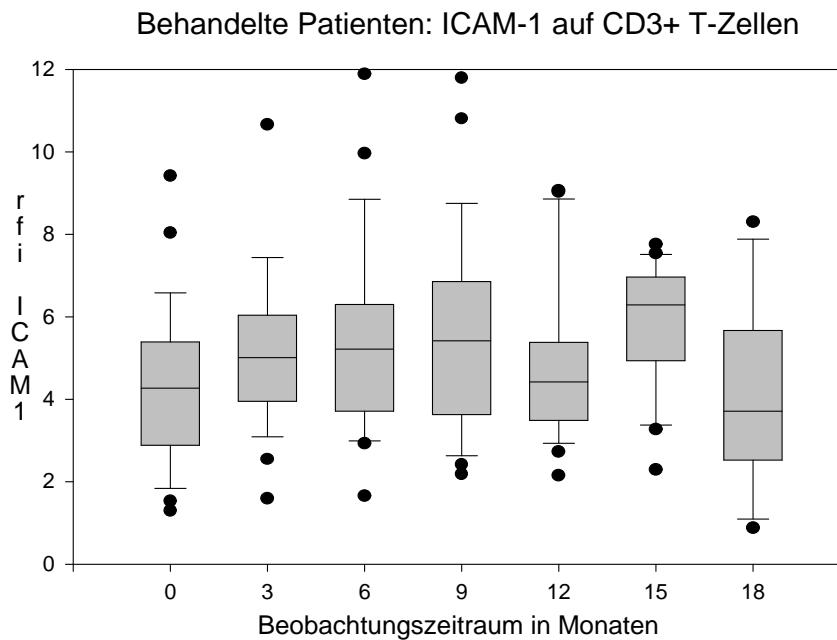


Abbildung 3.8: Verlauf von cICAM-1 auf CD3+ T-Zellen im Blut unter einer Therapie mit Interferon- β -1b.

Therapiegruppe (im Median 39 Herde zu Beginn vs. 36 nach 18 Monaten). Der Vergleich mit dem Verlauf in der Kontrollgruppe, in der sich eine leichte Zunahme feststellen ließ, ergab einen signifikanten Unterschied ($p < 0,05$).

Hinsichtlich der Fläche kontrastmittelaufnehmender Herde konnte ein deutlicher Rückgang des Mittelwertes von initial 189mm² auf 46mm² nach 6 Monaten, 31mm² nach 1 Jahr und 17mm² nach 18 Monaten beobachtet werden. Im Vergleich zu den unbehandelten Patienten fand sich hier ein signifikant unterschiedlicher Verlauf ($p < 0,05$).

Ähnliche Ergebnisse zeigten sich hinsichtlich der Anzahl gadoliniumanreichernder Herde mit einem Rückgang von im Mittel 1,1 zu Beginn auf 0,5 nach 18 Monaten. Auch hier fanden sich in beiden Patientenkollektiven unterschiedliche Verläufe ($p=0,01$).

3.3.3 Einfluss auf die Expression von cICAM-1

Wie bei den unbehandelten Patienten wurde in der Therapiegruppe zu Beginn der Studie und im weiteren Verlauf in dreimonatigen Abständen die Expression von cICAM-1 auf CD3+ T-Zellen, CD19+ B-Zellen und CD14+ Monozyten/Makrophagen im Blut mittels FACS-Analyse bestimmt.

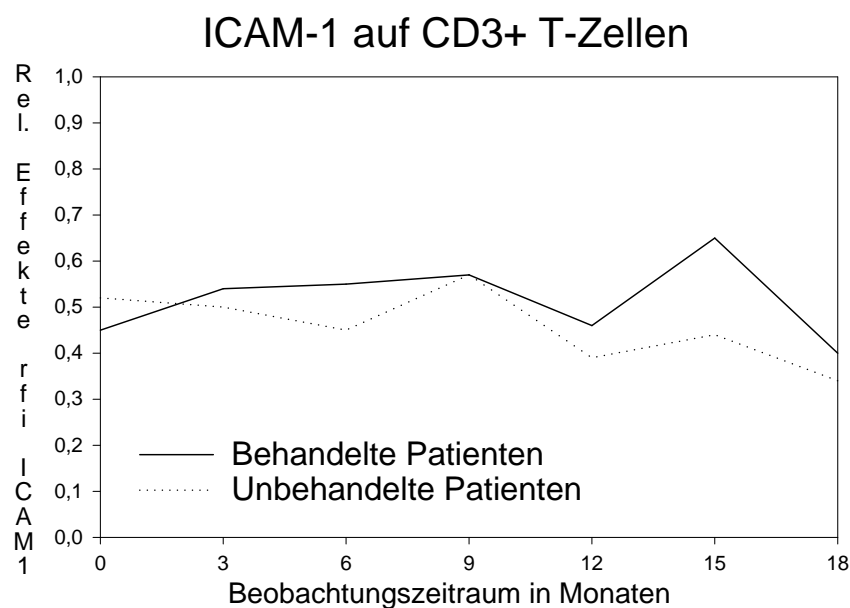


Abbildung 3.9: cICAM-1 auf CD3+ T-Zellen im Blut im Verlauf in Therapie- (durchgezogene Linie) und Kontrollgruppe (gestrichelte Linie), Darstellung der relativen Effekte.

3.3.3.1 cICAM-1 auf CD3+ T-Zellen

Auf den CD3+ T-Zellen im Blut zeigte sich, im Gegensatz zur Kontrollgruppe, im Verlauf eine Zunahme der Expression von cICAM-1. Im Vergleich zum Ausgangswert von im Median 4,3 (Werte von 1,5 bis 9,4) konnten zu jedem der folgenden 5 Beobachtungszeitpunkte höhere relative Fluoreszenzintensitäten gemessen werden. Allerdings waren die Unterschiede zum Ausgangswert, beurteilt mit Hilfe des Wilcoxon-Rang-Testes, zu keinem Zeitpunkt signifikant. Nach 15 Monaten fand sich ein Anstieg auf im Median 6,3. Zum Ende des Beobachtungszeitraumes nach 18 Monaten war jedoch mit 3,6 (0,8 bis 7,0) einmalig ein deutlich niedrigerer Wert zu verzeichnen (siehe Abb. 3.8). Hier lagen aber nur noch von etwa der Hälfte aller Patienten Proben vor.

Der bei Betrachtung der einzelnen Kollektive angedeutete Effekt von Interferon- β auf die Expression von cICAM-1 auf CD3+ T-Zellen im Blut bestätigte sich beim Vergleich beider Gruppen mithilfe des ANOVA-Testes. Für das Intervall von Studienbeginn bis zum Wert nach 15 Monaten fanden sich signifikant unterschiedliche Verläufe ($p < 0,05$). Durch den Rückgang der cICAM-1-Expression in der Therapiegruppe innerhalb der letzten 3 Monate, bei allerdings nur noch geringer Probenzahl, ergibt der Vergleich über den gesamten Beobachtungszeitraum von 18 Monaten keinen signifikanten Unterschied mehr. Abbildung 3.9 zeigt die Verläufe in beiden Gruppen. Auf der X-Achse ist der Beobachtungszeitraum von 18 Monaten dargestellt. Um den Effekt einer Therapie mit Interferon- β beurteilen zu können, wird für jeden Wert der Regressionsparameter für die jeweilige Expression von cICAM-1 auf CD3+ T-Zellen im Blut berechnet. Auf der Y-Achse entspricht dabei 1,0 dem Maximum aller beobachteten Werte und 0,0 dem Minimum. Bei 0,5 liegt der Median aller Werte in beiden Patientenkollektiven über den gesamten Beobachtungszeitraum.

3.3.3.2 cICAM-1 auf CD14+ Monozyten/Makrophagen

Ein ähnlicher Verlauf fand sich bezüglich der relativen Fluoreszenzintensität von cICAM-1 auf CD14+ Monozyten/Makrophagen im Blut. Hier konnte ein relativ kontinuierlicher Anstieg in der Behandlungsgruppe von im Median 38,9 (Werte von 25,1 bis 60,0) zu Beginn auf 45,9 (32,9 bis 89,8) nach 18 Monaten beobachtet werden. Dabei wurden, ähnlich wie bei

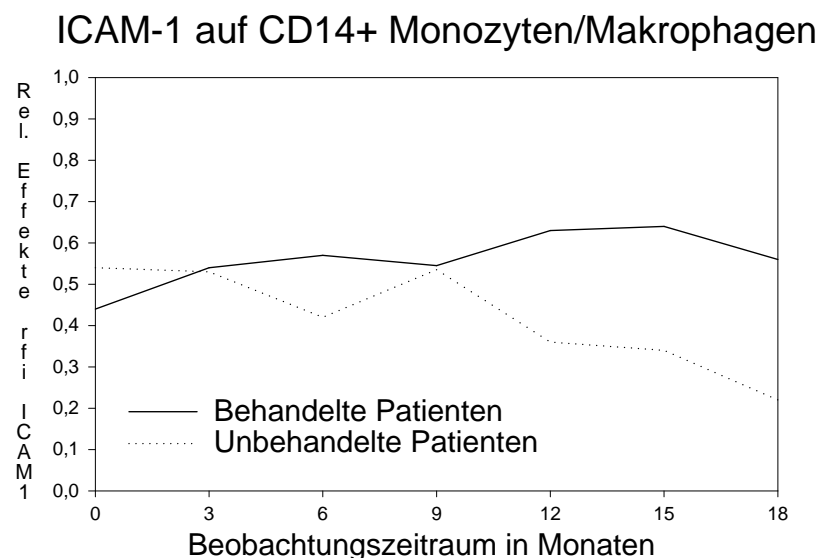


Abbildung 3.10: cICAM-1 auf CD14+ Monozyten/Makrophagen im Blut; Verläufe in Therapie- und Kontrollgruppe, Darstellung der relativen Effekte.

den CD3+ T-Zellen, nach Therapiebeginn zu allen Beobachtungszeitpunkten im Median höhere Werte als zu Studienbeginn gemessen, wobei sich jedoch in keinem Fall ein signifikanter Unterschied nachweisen ließ.

Im Vergleich der beiden Patientenkollektive zeigte sich jedoch ein signifikant unterschiedlicher Verlauf zwischen Patienten unter Behandlung mit Interferon- β -1b und solchen ohne immunmodulatorische Therapie. Dies galt für die Intervalle von Studienbeginn

bis Monat 6 ($p < 0,05$), Monat 12 ($p < 0,05$), Monat 15 ($p < 0,05$) und über den gesamten Beobachtungszeitraum vom 18 Monaten ($p < 0,005$).

Es zeigte sich ein deutlicher Anstieg der cICAM-1-Expression bei den therapierten Patienten und ein rückläufiger Spontanverlauf beim unbehandelten Kollektiv (siehe Abb. 3.10).

3.3.3.3 cICAM-1 auf CD19+ B-Zellen

Die Expression von cICAM-1 auf CD19+ B-Zellen im peripheren Blut zeigte demgegenüber einen tendenziellen Rückgang. Im Vergleich zum Ausgangswert von im Median 7,3 (Werte von 4,6 bis 13,6) waren die Mediane zu allen weiteren Beobachtungszeitpunkten niedriger (nach 18 Monaten $M = 6,9$; 2,2 bis 10,2). Allerdings war der Unterschied in keinem Fall statistisch signifikant. Die Therapiegruppe verhielt sich somit ähnlich wie die unbehandelten Patienten.

3.4 Korrelation von zellgebundenem ICAM-1 mit klinischen und neuroradiologischen Verlaufsparemtern

Neben der Abschätzung des Therapieeffektes von Interferon- β -1b auf klinische, immunologische und neuroradiologische Parameter war ein weiteres Ziel der vorliegenden Arbeit die Frage, ob sich zellgebundenes ICAM-1 auf Leukozytensubpopulationen als prognostischer Marker eines eventuellen Behandlungserfolges eignet. Zu diesem Zweck wurden die Patienten anhand des klinischen Verlaufes und der MRT-Befunde in sogenannte Responder, die von der Therapie profitieren und Nonresponder, die keinen oder nur einen geringen Vorteil von der Interferon-Gabe haben, eingeteilt.

3.4.1 Vergleich mit MRT-Parametern

Um subklinische Krankheitsaktivität erkennen zu können, wurde bei jedem Patienten zu Beginn der Studie und im weiteren Verlauf in sechsmonatigen Abständen ein kraniales MRT angefertigt. Da sich bezüglich der MRT-Aufnahmen bereits ein deutlicher Effekt der Interferontherapie gegenüber den unbehandelten Patienten hatte nachweisen lassen (s.o.), wurde die Behandlungsgruppe anhand des Verlaufes der MRT-Parameter in Responder und Nonresponder unterschieden. Dabei ergab sich das Problem, dass sich auch bei den untherapierten Patienten bereits bezüglich der kumulativen Gesamtfläche und verschiedener Aktivitätsparameter spontane Veränderungen zeigten. Ein reiner Rückgang der „Disease Burden“ alleine, zum Beispiel, konnte daher nicht als Kriterium für einen Behandlungserfolg gewertet werden. Auch hätte eine derartige Einteilung zu Subgruppen mit sehr unterschiedlichen Patientenzahlen geführt, die einen statistischen Vergleich nicht ermöglicht hätten.

Es wurde, wie zuvor beim Vergleich der ICAM-1-Expression in Therapie- und Kontrollgruppe, jeweils der Regressionsparameter für die entsprechenden Daten errechnet. Dabei entsprach 0,5 wiederum dem Median aller Werte. Patienten, die eine Tendenz zu niedrigeren Werten aufwiesen, wurden dementsprechend als Responder definiert, Behandelte mit einer Tendenz zu höheren Werten als Nonresponder.

3.4.1.1 Subgruppen nach Krankheitsschwere

Bezüglich der kumulativen Gesamtfläche aller Läsionen im MRT konnten auf diese Weise zwei in etwa gleich große Gruppen von Respondern (n=18) und Nonrespondern (n=14) unterschieden werden. Hinsichtlich der Expression von cICAM-1 auf CD3+ T-Zellen im Blut fanden sich in beiden Subgruppen ähnliche Verläufe, allerdings zeigte sich bei den Respondern ein Trend zu niedrigeren Werten, so dass sich die Kurven für beide Kollektive zu

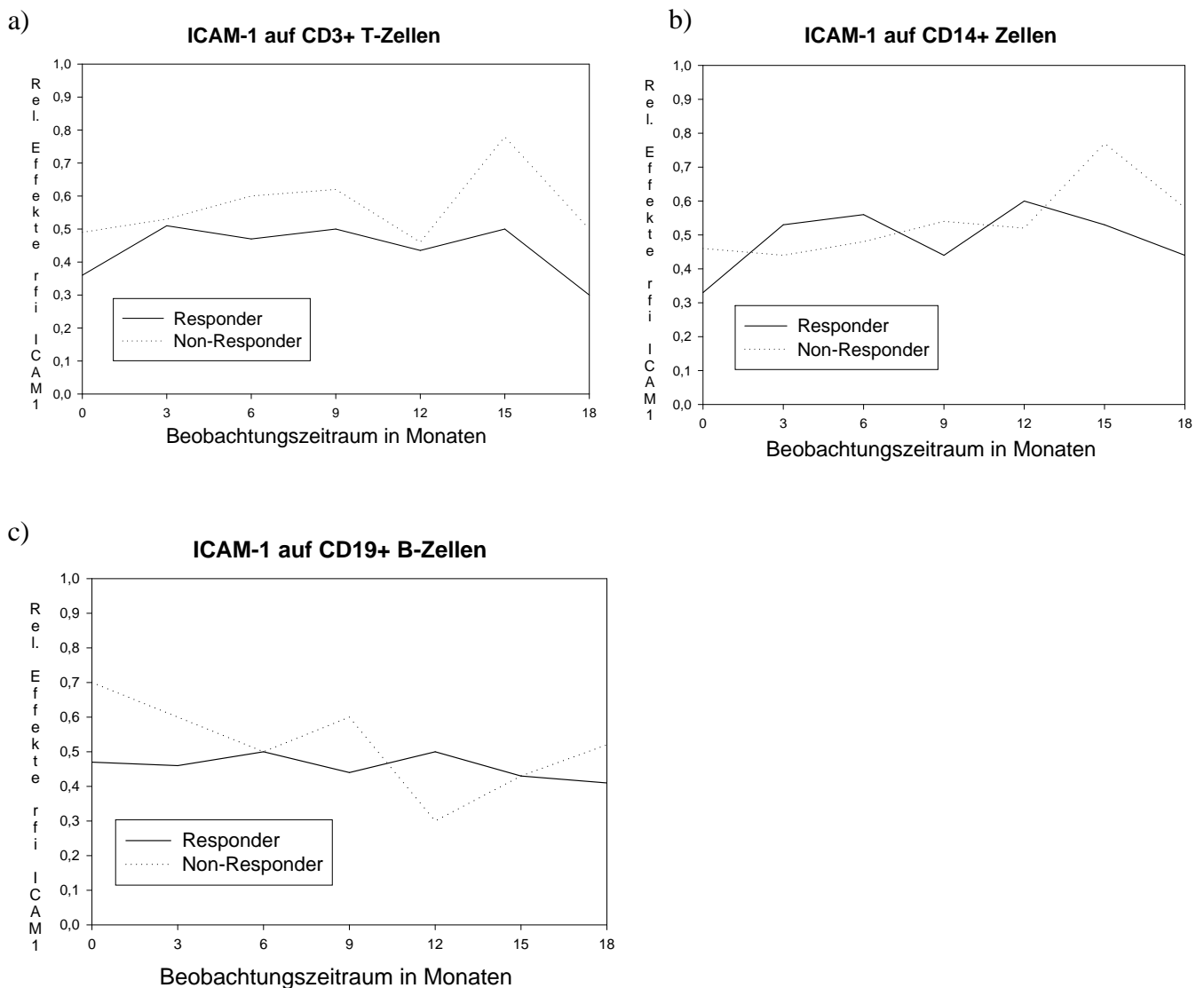


Abbildung 3.11: Einteilung der Therapiegruppe in Responder und Nonresponder anhand des MRT-Parameters kumulative Gesamtfläche aller Läsionen. Verläufe der Expression von cICAM-1 auf CD3+ T-Zellen (a), CD14+ Monozyten/Makrophagen (b) und CD19+ B-Zellen (c) in den jeweiligen Subgruppen.

keinem Zeitpunkt überschritten (siehe Abb. 3.11). Die relative Fluoreszenzintensität von cICAM-1 auf CD14+ Monozyten/Makrophagen zeigte in der Gruppe der Therapieresponder einen initialen Anstieg innerhalb der ersten 6 Monate, gefolgt von einem Rückgang, so dass der Wert nach 18 Monaten wieder unter dem der Nonresponder lag. Bei den CD19+ B-Zellen ließ sich, abgesehen davon, dass die Subgruppe der Responder einen etwas stabileren Verlauf

zeigte, kein eindeutiger Trend erkennen. Die Unterschiede, beurteilt mit Hilfe des ANOVA-Testes, waren in keinem Fall statistisch signifikant.

Hinsichtlich des zweiten Parameters für die Krankheitsschwere, der Anzahl aller MS-typischen Herde, konnte über den Beobachtungszeitraum von 18 Monaten kein erkennbarer Zusammenhang zwischen Therapieerfolg, beurteilt anhand der MRT-Verlaufskontrollen, und der Expression von zellgebundenem ICAM-1 beobachtet werden (siehe Anhang, Tab. 7.2.9).

3.4.1.2 Subgruppen nach Krankheitsaktivität

Die Einteilung der Patienten in Responder und Nonresponder anhand der Fläche aller gadoliniumanreichernden Herde ergab für die Expression von cICAM-1 auf CD3+ T-Zellen keinen erkennbaren Trend. Auf CD19+ B-Zellen und CD14+ Monozyten zeigten sich tendenziell gegenläufige Entwicklungen mit einem relativen Anstieg bei den Respondern, so

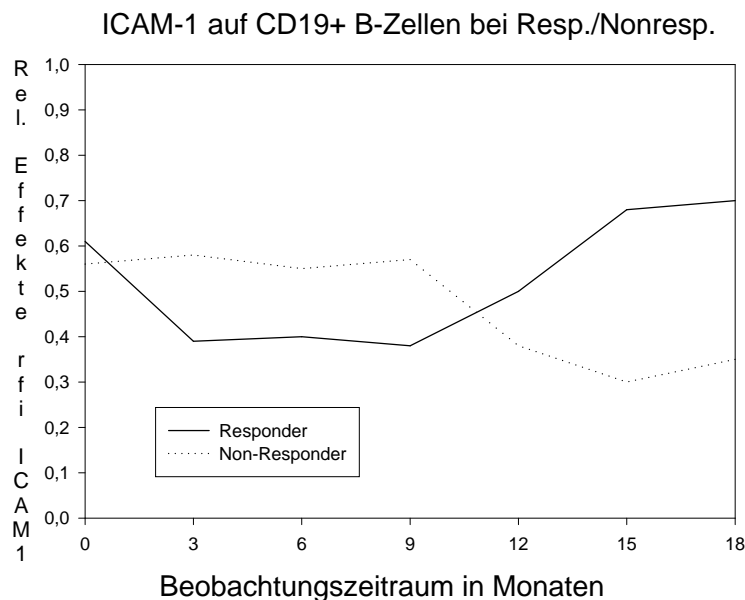


Abbildung 3.12: Einteilung der Therapiegruppe in Responder (durchgezogene Linie) und Nonresponder (gestrichelte Linie) anhand des MRT-Parameters Fläche aller gadoliniumanreichernden Herde mit Ödem; unterschiedliche Verläufe der Expression von cICAM-1 auf CD19+ B-Zellen im Blut.

dass ab dem 6. Beobachtungsmonat fast alle Werte für die relative Fluoreszenzintensität höher lagen als bei den Nonrespondern. Allerdings waren die Unterschiede in den Verläufen nicht statistisch signifikant.

Eine Einteilung in Responder und Nonresponder anhand der Fläche und Anzahl aller gadoliniumanreichernden Herde mit Ödem ergab jeweils zwei Gruppen von Patienten mit deutlich unterschiedlichen Verläufen hinsichtlich der Expression von cICAM-1 auf CD19+ B-Zellen im Blut. So fand sich bei Patienten mit positivem Therapieerfolg (Trend zu niedrigeren Werten für die Fläche bzw. Anzahl gadoliniumanreichernder Herde mit Ödem; $n = 7$) nach anfänglichem Rückgang ab etwa dem 9. Monat eine tendenzielle Zunahme von cICAM-1 auf CD19+ B-Zellen im Vergleich zu den Patienten mit ausbleibendem Behandlungserfolg ($n =$

28, siehe Abb. 3.12). Der Unterschied über den gesamten Beobachtungszeitraum von 18 Monaten war statistisch signifikant ($p < 0,05$).

3.4.2 Einteilung aufgrund klinischer Parameter

Die Therapiepatienten wurden anhand der errechneten Schubraten in zwei Gruppen unterteilt. Als Responder wurden diejenigen Patienten definiert, die während der Studie weniger oder gleich viele Schübe pro Jahr erlitten als vor Behandlungsbeginn. Die Patienten, deren Schubrate während des Beobachtungszeitraumes größer war als vor Therapie, wurden als Nonresponder bezeichnet. Diese Einteilung gewährleistete, dass beide Subgruppen in etwa gleich viele Patienten einschlossen (14 Responder bzw. 15 Nonresponder).

Der Vergleich der beiden Gruppen ergab jedoch keinen signifikanten Unterschied bezüglich des Verlaufes der gemessenen Parameter (cICAM-1 auf CD3+ T-Zellen, CD19+ B-Zellen und CD14+ Monozyten/Makrophagen). Anhand des EDSS als Maß für den bleibenden Behinderungsgrad ließ sich keine sinnvolle Unterteilung in Responder und Nonresponder vornehmen, da sich hier während des Beobachtungszeitraumes kaum Veränderungen ergaben (s.o.).

4 Diskussion

Im Rahmen einer Querschnittstudie wurde geprüft, inwiefern sich eine Korrelation zwischen der Expression von cICAM-1 auf Leukozyten im peripheren Blut und klinischer bzw. neuroradiologischer Krankheitsschwere sowie -aktivität herstellen lässt.

In einer Längsschnittstudie wurde der spontane Verlauf klinischer, neuroradiologischer und immunologischer Parameter bei Patienten mit schubförmig-remittierender Multipler Sklerose über einen Zeitraum von 18 Monaten untersucht und mit einem Kollektiv von Patienten unter einer Therapie mit Interferon- β -1b verglichen. Dabei wurde neben dem Einfluss einer immunmodulatorischen Behandlung auf die beschriebenen Parameter auch beurteilt, ob sich cICAM-1 als prognostischer Marker einer Interferon- β -1b-Therapie eignet. Daneben sollten die Ergebnisse Hinweise auf mögliche Wirkmechanismen des Zytokins geben.

Dabei wurde zum ersten Mal die quantitative Expression von zellgebundenem ICAM-1 auf Leukozytensubpopulationen im Blut im Verlauf einer Therapie mit Interferon- β -1b untersucht.

4.1 Methodik

4.1.1 Aufbau der Studien

4.1.1.1 Querschnittstudie

Bei einer Gruppe von Patienten mit schubförmig-remittierender Multipler Sklerose wurden klinische, neuroradiologische und immunologische Parameter erhoben und untersucht, ob die cICAM-1-Expression auf Leukozytensubpopulationen im peripheren Blut mit Krankheitsschwere und -aktivität korreliert. Bei allen Patienten war die Diagnose einer MS nach den Poser-Kriterien gesichert. Bei keinem Patienten bestand zum Beobachtungszeitpunkt eine immunmodulierende oder -suppressive Therapie und der Abstand zur letzten entsprechenden Behandlung lag bei jedem Studienteilnehmer jeweils lange genug zurück, um einen Einfluss auf die erhobenen Parameter ausschließen zu können.

Alle Daten wurden am selben Tag erhoben. Dadurch wurde eine entsprechende Vergleichbarkeit ermöglicht. Insgesamt konnten 77 Erkrankte in die Untersuchung eingeschlossen werden. Die große Patientenzahl gewährleistete, dass die beschriebenen Ergebnisse statistisch mit ausreichender Sicherheit belegt werden konnten. Die Einbeziehung der MRT-Daten ermöglichte eine sehr spezielle Unterteilung in Subgruppen mit verschiedener Krankheitsschwere und -aktivität.

Dabei zeigten die Betrachtung dieser Untergruppen und die Korrelation der immunologischen Daten mit den MRT-Parametern entsprechend vergleichbare Ergebnisse. Allerdings konnten anhand dieser Untersuchung keine Aussagen über den Zusammenhang der Expression von cICAM-1 auf Leukozyten im Blut mit klinischen und MRT-Daten im zeitlichen Verlauf der MS getroffen werden. Zur Beantwortung dieser Fragestellungen wurde eine Längsschnittstudie durchgeführt.

4.1.1.2 Längsschnittstudie

Insgesamt 68 Patienten wurden in eine Längsschnittstudie eingeschlossen. Die im Vergleich zu ähnlichen Studien relativ hohe Zahl von Patienten ermöglichte auch nach Unterteilung in Subgruppen eine gute statistische Belegbarkeit der getroffenen Aussagen. Aufgrund des langen Beobachtungszeitraumes von 18 Monaten konnten verlässliche Daten bezüglich des Verlaufs von immunologischen, klinischen und neuroradiologischen Parametern bei MS-Patienten erhoben werden. Durch das relativ enge Beobachtungsintervall von drei Monaten wurden auch kurzfristige Veränderungen der Adhäsionsmolekülexpression erfasst.

Die Durchführung von MRT-Untersuchungen in sechsmonatigen Abständen ermöglichte zudem valide Aussagen über den Verlauf von subklinischer Krankheits schwere und –aktivität bei behandelten und unbehandelten Patienten. Außerdem konnte, basierend auf diesen MRT-Daten, eine exakte Einteilung der therapierten Patienten in Responder und Nonresponder vorgenommen werden. Verschiedene neuroradiologische Studien bei MS-Patienten zeigten, dass MRT-Untersuchungen sowohl bezüglich des Ausmaßes der morphologischen Schädigung des ZNS als auch der subklinischen Krankheitsaktivität wesentlich sensitiver sind als klinische Befunde^{151, 152}. Entsprechend dienten MRT-Untersuchungen in den Zulassungsstudien für immunmodulatorische Medikamente, wie Interferon- β oder Glatirameracetat, als Parameter zur Beurteilung von Erkrankungsschwere und –aktivität^{119, 122, 126}.

Im Verlauf der Studie schieden mehrere Patienten, vor allem im unbehandelten Kollektiv, aus der Längsschnittuntersuchung aus. Ein Grund hierfür war, dass sich ein Teil dieser Patienten doch noch für die Einleitung einer immunmodulatorischen Therapie entschied und somit aus der Studie ausgeschlossen werden musste. Dennoch konnten zur Erhebung der klinischen Daten und Bestimmung der cICAM-1-Expression auf Leukozytensubpopulationen in der Kontrollgruppe 11 und in der Therapiegruppe 14 Patienten über den gesamten Zeitraum von 18 Monaten beobachtet werden, so dass sich auch über den längerfristigen Verlauf valide Aussagen treffen ließen.

Ähnlich wie bei den klinischen und immunologischen Daten lagen durch den hohen Anteil von Studienabbruchern gegen Ende des Beobachtungszeitraumes nur noch von einem Teil der Patienten MRT-Aufnahmen vor. Dies galt vor allem für die Kontrollgruppe. Allerdings waren in beiden Kollektiven die Ergebnisse statistisch sehr eindeutig, so dass die Aussagekraft der Daten dadurch nicht geschmälert wird.

Da das Medikament Interferon- β -1b (Betaferon®) zu Studienbeginn in Deutschland bereits zur Behandlung der schubförmig-remittierenden MS zugelassen war und ein Wirksamkeitsnachweis vorlag, konnte eine randomisierte Unterteilung und eine doppelblinde Beobachtung aus ethischen Gründen nicht vorgenommen werden. Vielmehr entschied jeder Patient nach ausführlicher Aufklärung über die Therapie selbst, ob er im jeweiligen Stadium der Erkrankung eine Behandlung beginnen wollte oder nicht. Durch das offene Studiendesign ergab sich eine unterschiedliche Zusammensetzung der beiden Beobachtungsgruppen, da sich Patienten mit einem aktiven Krankheitsverlauf eher für eine Therapie entschieden, als solche mit einer bisher geringeren Beeinträchtigung. Hinsichtlich der MRT-Ausgangswerte unterschieden sich beide Gruppen signifikant. Bezüglich anderer wesentlicher Parameter, wie des klinischen Behinderungsgrades, des Durchschnittsalters und der Schubrate im Jahr vor Studienbeginn, bestanden jedoch keine relevanten Unterschiede.

4.1.2 Laborchemische Genauigkeit

Die in dieser Studie angewandte Labormethode zur Quantifizierung der Expression von zellgebundenen Oberflächenmarkern wurde in der Abteilung für molekulare Zellbiologie des Max-Planck-Institutes Bad Nauheim für ähnliche Fragestellungen seit längerem durchgeführt. Die durchflusszytometrische Bestimmung der ICAM-1-Expression auf Leukozyten des peripheren Blutes war bereits in vorangegangenen Studien und im Rahmen einer früheren Dissertation an der Neurologischen Universitätsklinik Gießen in ähnlicher Weise verwendet worden^{145, 146, 153}.

Probenentnahme und -aufbewahrung sowie der weitere zeitliche Ablauf erfolgten anhand eines genauen Protokolls, um den Einfluss äußerer Faktoren und somit mögliche unsystematische Fehler zu minimieren. Die Zellzahl wurde eingestellt, um zu gewährleisten, dass die verwendete Zellsuspension bei jeder Messung im wesentlichen gleiche Zellkonzentrationen aufwies und bei den einzelnen Färbungsschritten jeweils mit Fluoreszenzfarbstoffen markierte monoklonale Antikörper im Überschuss zugeführt wurden. Die weiter oben beschriebene Verrechnung der gemessenen Rohwerte mit der jeweiligen Positiv- und Negativkontrolle ermöglichte einen quantitativen Vergleich der Messungen von Proben des gleichen Patienten zu unterschiedlichen Beobachtungszeitpunkten.

Aufgrund der Dauer der Längsschnittstudie wurden die FACS-Analysen von zwei Untersuchern durchgeführt. Die vergleichende Messung mehrerer Patientenproben ergab nur geringfügige Abweichungen. Der zur Quantifizierung der Inter-Observer-Reliabilität ermittelte Variabilitätskoeffizient bestätigte, dass die Verläufe der cICAM-1-Expression nicht durch methodische Unterschiede bedingt sind, sondern biologische Veränderungen wiedergeben.

4.2 Zellgebundenes ICAM-1 als immunologischer Marker

Die Anfertigung von MRT-Aufnahmen ist zu aufwendig und kostenintensiv, als dass sie zur routinemäßigen Verlaufskontrolle bei Patienten mit Multipler Sklerose eingesetzt werden könnte. Daher ist ein wichtiges Ziel in der Erforschung der MS die Suche nach einem Labormarker, der ähnlich wie bei manchen anderen Erkrankungen einen verlässlichen Hinweis auf die aktuelle Krankheitsschwere und -aktivität geben kann. In diesem Zusammenhang wurden in zahlreichen Studien erhöhte Spiegel der löslichen Form des Adhäsionsmoleküls ICAM-1 (sICAM-1) im Serum bei MS-Patienten beschrieben und als Marker für eine akute Entzündungsaktivität angesehen^{86, 87, 88, 90, 154}.

Allerdings fanden sich in neueren Untersuchungen teilweise widersprüchliche Angaben bezüglich der sICAM-1-Konzentration in Liquor und Serum bei Patienten mit Multipler Sklerose^{91, 155, 156}. Daher muss davon ausgegangen werden, dass sICAM-1 nicht uneingeschränkt als verlässlicher Parameter für klinische und subklinische Krankheitsaktivität geeignet ist.

Über die Bedeutung zellgebundener Adhäsionsmoleküle auf der Oberfläche von Leukozyten im Blut ist in diesem Zusammenhang bisher nur relativ wenig bekannt^{157, 158}. Im Rahmen früherer Untersuchungen an der Neurologischen Universitätsklinik Gießen fanden sich jedoch Hinweise, dass die Expression von cICAM-1 auf der Oberfläche von Leukozyten vor allem im Liquor, aber auch im peripheren Blut, ein verlässlicherer Marker für klinische und subklinische Krankheitsaktivität ist, als die Messung der löslichen Form^{145, 146, 159}.

Da die Entnahme einer ausreichenden Menge von Liquor eine invasive und mit möglichen Nebenwirkungen behaftete Methode ist, die sich für Routineuntersuchungen oder Verlaufskontrollen nicht eignet, konzentrierte sich die vorliegende Studie auf die besser

praktikable Bestimmung von cICAM-1 auf der Oberfläche von Zellen des peripheren Blutes. Zudem wurde erwartet, dass die Applikation eines immunmodulierenden Medikamentes sich auf die Expression von ICAM-1 auf Leukozyten im Blut auswirkt.

4.2.1 Korrelation mit Krankheitsschwere und -aktivität

In der vorliegenden Querschnittsuntersuchung fand sich eine negative Korrelation der Expression von cICAM-1 auf CD3+ T-Zellen im peripheren Blut sowohl zur kumulativen Gesamtfläche als auch zur Anzahl aller Herde im MRT. Dies galt sowohl für das Gesamtkollektiv aller Patienten als auch für die Subgruppe mit Hinweisen auf subklinische Krankheitsaktivität im MRT. Entsprechend war die Expression von ICAM-1 auf CD3+ T-Zellen im Blut in den Subgruppen von Patienten mit einer erhöhten Anzahl bzw. Fläche von Herden vermindert. Wurden die Patienten anhand des EDSS in zwei Gruppen mit unterschiedlicher Erkrankungsschwere eingeteilt, war in diesen die Expression von ICAM-1 jeweils gleich. Dieses Ergebnis bestätigt frühere Beobachtungen, wonach sich bildgebende Verfahren, wie die Kernspintomografie, besser zur Beurteilung der morphologischen ZNS-Schädigung eignen, als die reine Beurteilung des neurologischen Defizits anhand des EDSS¹⁵¹.

Die vorliegenden Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Expression von ICAM-1 auf der Oberfläche von CD3+ T-Zellen im peripheren Blut ein geeigneter Marker zur Beurteilung der subklinischen Krankheitsschwere sein könnte, unabhängig von EDSS und anderen klinischen Daten, wie Alter, Geschlecht und bisheriger Erkrankungsdauer. Hinsichtlich der Aussagekraft fanden sich keine wesentlichen Unterschiede in den beiden Subgruppen von Patienten, die anhand der subklinischen Krankheitsaktivität im MRT gebildet worden waren. In der Subgruppe von Patienten mit aktiven Herden zeigte sich im Vergleich lediglich eine etwas deutlichere Korrelation der Adhäsionsmolekülexpression sowohl zur Zahl als auch zur Gesamtfläche aller Läsionen.

Allerdings reicht die Aussagekraft des Parameters nicht aus, um die Krankheitsschwere verlässlich beim individuellen Patienten zu bestimmen. Dennoch könnte die Messung von cICAM-1 auf CD3+ T-Zellen im Blut zum Beispiel im Rahmen von Studien als Verlaufsparemeter Anwendung finden.

Ein weiterer laborchemischer Marker für die subklinische Krankheitsschwere könnte die Expression von ICAM-1 auf CD14+ Monozyten/Makrophagen sein. Allerdings fand sich nur in der Subgruppe von Patienten mit aktiven Herden im MRT eine signifikante Korrelation zur Anzahl und Gesamtfläche aller Läsionen.

4.2.2 Bedeutung hinsichtlich der Immunpathogenese

Zunächst scheint das Ergebnis der vorliegenden Untersuchung, die eine negative Korrelation der Expression von cICAM-1 zur Läsionsfläche im MRT aufzeigt, der gängigen Theorie zu widersprechen, nach der eine Zunahme von zellgebundenem und löslichem ICAM-1 in Blut und Liquor als Marker für eine Aktivierung des Immunsystems angesehen werden kann^{78, 94}. Ausgehend von dieser Hypothese würde man eigentlich annehmen, dass eine positive Korrelation zwischen der Expression des Adhäsionsmoleküls und der Gesamtfläche aller Herde besteht.

Bei näherer Betrachtung lassen sich die vorliegenden Ergebnisse jedoch durchaus mit dem gängigen Modell der Immunpathogenese vereinbaren. Ein wesentlicher Schritt im Rahmen der Entzündungsreaktion ist die Einwanderung aktivierter autoreaktiver T-Zellen aus dem

peripheren Blut über die Blut-Hirn-Schranke in das Hirnparenchym, bei der Zelladhäsionsmoleküle, wie ICAM-1, eine wichtige Rolle spielen^{61, 160}. Dieser beim Menschen postulierte Mechanismus konnte auch am Tiermodell der EAE nachvollzogen werden¹⁶¹. Außerdem konnte mit Hilfe monoklonaler Antikörper gegen ICAM-1 die Induktion einer EAE bei Ratten verhindert werden^{95, 162}.

Diese Einwanderung aktivierter T-Zellen in das ZNS könnte zu einer relativen Zunahme nicht aktivierter T-Zellen im peripheren Blut führen. Entsprechend hierzu wurde in verschiedenen neuropathologischen Untersuchungen eine vermehrte Expression von cICAM-1 auf Leukozyten in der Umgebung aktiver MS-Herde nachgewiesen^{92, 163}. Auch die Beobachtung einer etwas deutlicheren Korrelation der kernspintomografischen Krankheitsschwere zur Adhäsionsmolekülexpression auf Blut-Leukozyten in der Subgruppe von Patienten mit aktiven Herden im MRT bekräftigt diese Hypothese. Die Einwanderung aktivierter immunkompetenter Zellen in das Hirnparenchym, die zu einer relativen Abnahme aktivierter T-Zellen im Blutkompartiment führt, wäre nach dieser Theorie bei Patienten mit aktiven Herden, die auf eine hohe Zahl autoreaktiver T-Zellen im Bereich dieser Läsionen hinweisen, noch verstärkt.

Bezüglich der Expression von cICAM-1 auf der Subpopulation der CD14+ Monozyten/Makrophagen zeigte sich eine statistisch signifikante negative Korrelation zur subklinischen Krankheitsschwere nur in der Subgruppe von Patienten mit aktiven Herden. Diese Beobachtungen bestätigen die wesentliche Rolle der Makrophagen in der Pathogenese des akuten MS-Schubes, die letztlich die Schädigung der Myelinscheiden mitverursachen¹⁵⁴. Als morphologisches Korrelat dieses Entzündungsprozesses lassen sich während eines akuten MS-Schubes im MRT entsprechend ein perifokales Ödem, Kontrastmittelaufnahme oder neue Herde nachweisen¹⁶⁴.

Killestein et al. führten bei MS-Patienten monatliche MRT-Untersuchungen durch und fanden einen vorübergehenden Rückgang zytokinproduzierender T-Zellen im Blut bei Patienten mit aktiven Herden im MRT. Die Autoren führten dies auf eine vermehrte Transmigration aktivierter T-Zellen in das Hirnparenchym zurück¹⁶⁵.

Die Ergebnisse der Längsschnittstudie deuten in die gleiche Richtung. Bei den unbehandelten Patienten konnte der Spontanverlauf der Expression von cICAM-1 auf Leukozyten im Blut über einen Zeitraum von 18 Monaten beobachtet werden. Dabei fand sich auf allen drei Leukozytensubpopulationen eine rückläufige Tendenz der Expression des Adhäsionsmoleküls unabhängig vom klinischen Verlauf und der anhand neuroradiologischer Daten beurteilten Krankheitsschwere und -aktivität.

Die vorliegenden Ergebnisse mit einer negativen Korrelation der Expression von cICAM-1 auf CD3+ T-Zellen und CD14+ Monozyten/Makrophagen zur subklinischen Krankheitsschwere, beurteilt anhand von MRT-Befunden, bestätigen auch frühere Untersuchungen an der Neurologischen Universitätsklinik Gießen. So fanden sich in einer Studie signifikant verminderte Werte für die Expression von ICAM-1 auf CD3+ T-Zellen in Blut und Liquor und auf CD14+ Monozyten/Makrophagen im Liquor bei Patienten, die sich in einem klinisch bzw. anhand des MRT-Befundes definierten akuten Schub befanden¹⁶⁶. Auch die Daten einer früheren Längsschnittstudie an der Neurologischen Universitätsklinik Gießen weisen in diese Richtung. Patienten mit schubförmig-remittierender MS waren dabei über einen Zeitraum von drei Monaten beobachtet worden. Nach Einteilung der Patienten in Subgruppen mit unterschiedlicher Krankheitsaktivität zeigte sich ein zusätzlicher Rückgang der Expression von cICAM-1 auf CD3+ T-Zellen im peripheren Blut bei den Patienten, die innerhalb des Beobachtungszeitraumes zwei weitere Schübe erlitten¹⁴⁵.

Die durchschnittliche Erkrankungsdauer bei den an der vorliegenden Untersuchung beteiligten Patienten war relativ kurz. Bei den Patienten mit einer großen Gesamtfläche von Herden im MRT muss daher ein sehr aktiver Krankheitsverlauf mit einer relativ großen Zahl von klinischen bzw. subklinischen Schüben zugrunde liegen.

Duran et al. untersuchten durchflusszytometrisch die Expression von cICAM-1 und anderen Adhäsionsmolekülen auf der Oberfläche peripherer Blutleukozyten bei Patienten mit schubförmig-remittierender (RRMS), primär chronisch progredienter (PPMS) und sekundär chronisch progredienter (SPMS) MS und verglichen die Ergebnisse mit gesunden Probanden¹⁶⁷.

In früheren MRT-Untersuchungen hatten sich bereits Hinweise ergeben, dass den möglichen klinischen Verläufen auch eine unterschiedliche Pathophysiologie zugrunde liegt. So zeigten sich bei Patienten mit PPMS weniger und kleinere gadoliniumanreichernde Herde als bei SPMS¹⁶⁸.

Duran et al. fanden eine verminderte Expression fast aller untersuchter Adhäsionsmoleküle auf der Oberfläche von Leukozyten im Blut bei Patienten mit schubförmig-remittierendem und sekundär chronisch-progredientem Verlauf. Dagegen zeigten sich bei den Patienten mit primär chronisch-progredienter Form ähnliche Ergebnisse wie bei den gesunden Kontrollen. Der Anteil ICAM-1-positiver Zellen auf allen untersuchten Leukozytensubpopulationen (CD4+ Lymphozyten und Monozyten) war im Gesamtkollektiv der MS-Patienten und auch in der Subgruppe mit schubförmig-remittierendem Verlauf niedriger als bei den gesunden Kontrollen. Zwar unterscheidet sich diese Studie in Fragestellung und Methodik von der vorliegenden Arbeit, zum Beispiel wurde nicht die relative Fluoreszenzintensität anhand von Positiv- und Negativkontrolle errechnet. Dennoch bestätigen diese Aussagen die Beobachtung, dass bei Patienten mit schubförmig-remittierender MS eine verminderte Expression von cICAM-1 auf Leukozyten im Blut gefunden wird.

Nach dieser Hypothese käme es im Laufe der Erkrankung im Rahmen der wiederholten subklinischen und klinischen Krankheitsaktivität mehrmals zur Einwanderung aktivierter autoreaktiver T-Zellen über die Blut-Hirn-Schranke in das ZNS. Als morphologisches Korrelat dieser wiederholten Entzündungsreaktionen finden sich im kranialen MRT aktive Herde als Hinweis für akute Krankheitsaktivität beziehungsweise die Gesamtfläche aller Läsionen als Akkumulation der repetitiven klinischen und subklinischen Schübe.

Die Abwanderung aktivierter autoreaktiver Entzündungszellen würde somit im längerfristigen Verlauf der Erkrankung zu einer relativen Zunahme von Leukozyten mit niedriger cICAM-1-Expression im peripheren Blut führen.

4.3 Einfluss einer Therapie mit Interferon- β -1b auf den Krankheitsverlauf

4.3.1 Klinischer Verlauf

Der wichtigste Aspekt für den Patienten hinsichtlich einer relativ aufwendigen und kostenintensiven Therapie mit subkutan injiziertem Interferon- β -1b ist die Frage nach der individuellen Wirksamkeit. Die im Rahmen dieser Studie erhobenen Daten zeigten eine verminderte Schubrate (Anzahl der Schübe pro Jahr) in der Behandlungsgruppe im Vergleich zu den Patienten ohne immunmodulatorische Therapie. Hinsichtlich des Behinderungsgrades, beurteilt anhand des EDSS, konnte kein Effekt der IFN- β -Gabe nachgewiesen werden.

Diese Beobachtungen entsprechen denen der Zulassungsstudie für Interferon- β -1b in den USA, die bei ähnlichen Ein- bzw. Ausschlusskriterien zu vergleichbaren Ergebnissen kam¹¹⁴. Bei einer größeren Anzahl von Patienten über einen längeren Beobachtungszeitraum zeigte sich hier lediglich eine tendenziell geringere Progredienz der Behinderung durch die Interferon- β -1b-Gabe¹¹⁶.

Im Rahmen einer ebenfalls randomisierten, doppelblinden, plazebokontrollierten Studie über den Effekt von intramuskulär verabreichtem Interferon- β -1a (Avonex[®]) bei Patienten mit

schubförmig-remittierender Multipler Sklerose fand sich neben einer Reduktion der Schubrate auch eine signifikante Verminderung der Krankheitsprogredienz^{119, 120}. So war unter anderem die Zeitspanne bis zur Verschlechterung um 1 Punkt auf der EDSS-Skala bei den behandelten Patienten signifikant verlängert. Für die Zukunft werden Langzeitbeobachtungen an einem großen Patientenkollektiv zeigen müssen, inwieweit eine immunmodulatorische Therapie mit Interferon- β das Fortschreiten der Behinderung beeinflussen kann.

4.3.2 Neuroradiologische Befunde

Therapie- und Kontrollgruppe unterschieden sich bei Eintritt in die Studie signifikant bezüglich des Parameters Gesamtläsionsfläche im MRT. In der Gruppe der unbehandelten Patienten konnte, ähnlich wie in der Betaferon-Gruppe, initial ein Rückgang der Gesamtfläche aller Herde beobachtet werden. Zum Ende des Beobachtungszeitraumes war jedoch ungefähr wieder der Ausgangswert erreicht. Allerdings lagen von anfänglich 35 Patienten nach 18 Monaten nur noch von 8 Untersuchten MRT-Aufnahmen vor. In der Therapiegruppe fand sich eine Reduktion der Gesamtläsionsfläche unter einer Behandlung mit IFN- β -1b. Zwar war, bedingt durch Studienabbrüche, auch hier ein Rückgang der auswertbaren MRT-Untersuchungen von 30 zu Beginn auf 12 nach 18 Monaten zu verzeichnen. Allerdings war der Rückgang der „Disease Burden“ so deutlich, dass hier von einem biologischen Effekt der immunmodulatorischen Therapie ausgegangen werden kann.

Der Vergleich der Verläufe in beiden Kollektiven zeigte eine deutliche Verminderung der Gesamtfläche und Anzahl aller Herde und einiger Parameter für die Krankheitsaktivität durch eine Behandlung mit IFN- β .

4.3.3 Einfluss einer Therapie mit Interferon- β -1b auf die Expression von cICAM-1

Im Vergleich zu den unbehandelten Patienten fand sich in der Therapiegruppe eher ein Anstieg bzw. eine Stabilisierung der cICAM-1-Expression auf mononukleären Zellen im Blut mit signifikant unterschiedlichen Verläufen in beiden Kollektiven bei CD3+ T-Zellen und CD14+ Monozyten/Makrophagen. Bei den CD19+ B-Zellen ergaben sich keine wesentlichen Unterschiede zwischen den beiden Gruppen. Allerdings scheinen die B-Lymphozyten im Rahmen der vornehmlich zellvermittelten Immunreaktion eher eine untergeordnete Rolle zu spielen¹⁶⁹.

4.3.3.1 Einfluss auf Zytokinnetzwerk und Adhäsionsmolekülexpression

In einer Vielzahl von in-vitro-Studien wurde der Einfluss von IFN- β auf das Zytokinnetzwerk und die zellvermittelte Antigen-Präsentation untersucht. Dabei fanden sich Hinweise, dass zumindest ein Teil der Wirkung über eine Verminderung der proinflammatorischen Effekte von IFN- γ ¹⁷⁰ und TNF- α ¹⁰⁶ vermittelt wird.

Verschiedene Studien beschäftigten sich, ebenfalls in vitro, mit dem Einfluss von IFN- β auf die Expression von cICAM-1 auf Endothelzellen, wobei sich, ausgehend von unterschiedlichen Untersuchungsansätzen, teilweise divergente Ergebnisse zeigten.

Miller et al. fanden eine Zunahme der Expression von cICAM-1 auf menschlichen Nabelschnurvenenendothelzellen (HUVEC) nach Applikation von IFN- β . Allerdings konnte eine signifikante Verminderung der durch IFN- γ induzierten MHC-II-Expression nach IFN- β -1b-Gabe beobachtet werden¹⁷¹.

Jiang et al. untersuchten ebenfalls den Effekt von IFN- β auf die Expression verschiedener Adhäsionsmoleküle auf HUVEC, die vorher mit proinflammatorischen Zytokinen stimuliert worden waren. Auch hier zeigte sich eine leichte Zunahme der cICAM-1-Expression durch IFN- β -Gabe¹⁷².

In ähnlicher Weise beobachteten Soilu-Hänninen et al. den Einfluss von IFN- β auf die Expression von cICAM-1 auf menschlichem Nabelschnurvenenendothel. Nach vorhergehender Stimulation mit proinflammatorischen Zytokinen fand sich hier kein erkennbarer Effekt von IFN- β . Allerdings zeigte sich eine Verminderung der Expression von VLA-4 (very late activation antigen-4) auf Monozyten im Blut¹⁷³.

Defazio et al. fanden dagegen eine signifikante Verminderung der durch TNF- α induzierten ICAM-1-Expression auf mikrovaskulären Hirnendothelzellen von Ratten¹⁷⁴.

Bisher liegen noch keine Untersuchungen über den Einfluss einer Therapie mit IFN- β in vivo auf die Expression von cICAM-1 auf der Oberfläche von Leukozyten im peripheren Blut vor.

4.3.3.2 Einfluss auf die Blut-Hirn-Schranke

Die Adhäsion mononukleärer Zellen an die Endothelzellen der Blut-Hirn-Schranke und die anschließende Einwanderung in das Hirnparenchym stellen einen wichtigen Schritt in der Pathogenese eines MS-Schubes dar. Tsukada et al. konnten in vitro zeigen, dass bei MS-Patienten im akuten Schub die Adhäsion von T-Zellen an menschliche Hirnendothelzellen im Vergleich zu gesunden Kontrollen und Patienten in Remission gesteigert ist¹⁷⁵. Durch proinflammatorische Zytokine, wie IFN- γ und TNF- α , konnte eine weitere Zunahme der Adhäsion erreicht werden.

Die Beeinflussung der Transmigration mononukleärer Zellen auf der Ebene der BHS könnte ein wichtiger therapeutischer Ansatzpunkt bei der MS sein.

In klinischen Studien fand sich vor allem ein Effekt von IFN- β auf die Reduktion von Zahl und Größe der gadoliniumanreichernden Herde im kranialen MRT¹¹⁵. Gadoliniumaufnahme kann als ein Maß für die Schädigung der Blut-Hirn-Schranke (BHS) angesehen werden und korreliert daher mit der Entzündungsaktivität⁴⁸. Somit ist es naheliegend, dass IFN- β seine Wirkung zumindest zum Teil über eine direkte Stabilisierung der BHS vermitteln könnte. Verschiedene in vitro Studien deuten ebenfalls auf einen derartigen Effekt hin.

So wurde von Gaillard et al. berichtet, dass IFN- β -1b, ebenso wie Glukokortikoide, an einem in vitro Modell der BHS die Permeabilität der Endothelzellen verminderte¹⁰⁸. In einer Studie von Lou et al. konnte die transendotheliale Migration aktivierter Leukozyten durch eine Schicht humaner mikrovaskulärer Endothelzellen durch die Applikation von IFN- β -1b dosisabhängig gehemmt werden, ohne, dass ein direkter Einfluss auf die Expression von Adhäsionsmolekülen nachgewiesen wurde¹⁰⁷.

Um den in vivo Effekt von IFN- β bei der Multiplen Sklerose zu untersuchen, entnahmen Corsini et al. einer Gruppe von 10 MS-Patienten mononukleäre Zellen aus dem Blut vor Beginn und unter einer Therapie mit IFN- β . Dabei fand sich nach sechs Monaten eine deutlich verminderte Adhäsion von CD45+ und CD14+ Zellen an HUVECs¹⁰⁹. In ähnlicher Weise beschrieben Gelati et al. einen Rückgang der Adhäsion von Monozyten und mononukleären Zellen an eine Schicht menschlichen Nabelschnurvenenendothels bei MS-Patienten unter einer IFN- β -Therapie nach einem Jahr Behandlung¹⁷⁶.

In einer Untersuchung von Defazio et al. konnte gezeigt werden, dass in vitro die Applikation von IFN- β -1a zu einer Verringerung der Adhäsion von Blutleukozyten an Endothelzellen von menschlichen Nabelschnurvenen führt¹⁷⁷. Eguchi et al. stellten einen Rückgang der durch IFN- γ stimulierten Adhäsion von T-Zellen an HUVEC durch Applikation von IFN- α , das in Struktur und Funktion IFN- β ähnlich ist, fest¹⁷⁸.

Dhib-Jalbut konnte hingegen *in vitro* keinen Effekt von IFN- β auf die Adhäsion von Lymphozyten gesunder Kontrollen auf Kulturen von HUVEC nachweisen¹⁷⁹. Allerdings lässt sich nicht mit Sicherheit beurteilen, inwiefern diese *in vitro* durchgeführten Untersuchungen sich auf die Verhältnisse *in vivo* übertragen lassen, und ob sich menschliche Nabelschnurvenenendothelzellen als Modell für die spezielle Beschaffenheit der BHS eignen. Die vorliegende Arbeit bekräftigt die Hypothese einer direkten Stabilisierung der Blut-Hirn-Schranke unter einer Therapie mit Interferon- β auch *in vivo*. Die aktivierten immunkompetenten Zellen könnten diese stabilisierte BHS nicht durchwandern. Diese Leukozyten mit erhöhter Expression von cICAM-1 auf ihrer Oberfläche würden daher im peripheren Blut verbleiben.

Entsprechend fand sich in der IFN- β -Gruppe eine vermehrte Expression von cICAM-1 auf CD3+ T-Zellen und CD14+ Monozyten/Makrophagen im Blut im Vergleich zu den unbehandelten Patienten. Außerdem könnten diese Zellen nicht in das Hirnparenchym einwandern, um dort eine Entzündungsreaktion zu initiieren. Einen indirekten Hinweis hierauf gibt die Abnahme der Gesamtfläche aller Herde und aller gadoliniumanreichernden Läsionen im kranialen MRT unter der immunmodulatorischen Therapie.

4.4 cICAM-1 als prognostischer Marker einer Therapie mit Interferon- β -1b

Aufgrund der hohen Kosten und der möglichen Nebenwirkungen wäre es wünschenswert, sogenannte Responder, die von einer Behandlung profitieren, von Non-Respondern, bei denen die Therapie keinen positiven Einfluss auf den Krankheitsverlauf hat, frühzeitig mit Hilfe eines Labormarkers unterscheiden zu können. Daher wurde im Rahmen der vorliegenden Studie die durchflusszytometrisch gemessene Expression des Adhäsionsmoleküls ICAM-1 mit den erhobenen klinischen und neuroradiologischen Daten korreliert.

4.4.1 Korrelation mit klinischen Parametern

Zu jedem Beobachtungszeitpunkt wurde der EDSS als Maß für das neurologische Defizit bestimmt. Innerhalb des im Vergleich zur lebenslangen Progression der Erkrankung relativ kurzen Studienzeitraumes von 18 Monaten ergaben sich weder in der Therapiegruppe noch bei den unbehandelten Patienten wesentliche Veränderungen. Somit konnte ein möglicher Therapieerfolg anhand dieses Parameters nicht beurteilt werden.

Bezüglich der Schubrate hatte sich ein positiver IFN- β -1b-Effekt im Vergleich zur Kontrollgruppe gezeigt. Die Einteilung in Responder und Nonresponder anhand dieses Parameters ergab jedoch keine erkennbaren Unterschiede bezüglich der Expression von cICAM-1 auf Leukozyten im peripheren Blut.

Anhand der klinischen Parameter EDSS und Schubrate ließ sich somit nur eine sehr grobe Einteilung der Patienten durchführen.

4.4.2 Korrelation mit neuroradiologischen Parametern

Da auch schon vorhergehende Studien gezeigt hatten, dass klinische Parameter zu ungenau sind, um den Behandlungserfolg beim einzelnen Patienten zu beurteilen, wurden MRT-Verlaufskontrollen durchgeführt. Zum einen können mit Hilfe der Kernspintomografie subklinische Läsionen nachgewiesen werden, die einer rein klinischen Beobachtung entgehen.

Zum anderen kann über den Nachweis einer Gadoliniumanreicherung bzw. eines perifokalen Ödems auf das Vorliegen einer akuten Entzündungsreaktion und damit einer aktuellen Schädigung der Blut-Hirn-Schranke geschlossen werden. Daher sollten die Patienten hinsichtlich des Einflusses einer Therapie mit Interferon- β -1b sowohl auf Krankheitsschwere als auch -aktivität in Responder, die von der Behandlung profitieren, und Nonresponder, bei denen kein positiver Effekt zu verzeichnen ist, unterteilt werden.

Dazu wurde bei allen Patienten für jede der bestimmten MRT-Größen der Regressionsparameter über den gesamten Beobachtungszeitraum von 18 Monaten berechnet. Je nach Tendenz zu niedrigeren oder höheren Werten wurde der jeweilige Patient als Responder oder Nonresponder bezeichnet. Es wurden vor allem die Parameter Anzahl und Fläche aller Herde und Anzahl und Fläche aller gadoliniumanreichernden Herde betrachtet, da hier die beste Korrelation zu Krankheitsschwere bzw. -aktivität gegeben ist. Die Beurteilung des Behandlungserfolges anhand dieser MRT-Größen ergab vergleichbare Patientenzahlen in den jeweiligen Subgruppen.

4.4.2.1 Beurteilung der Krankheitsschwere

Bei Beurteilung des Therapieerfolges anhand des Einflusses auf die „Disease Burden“ zeigten sich in den untersuchten Leukozytensubpopulationen unterschiedliche Verläufe.

Auf den CD19+ B-Zellen blieb die cICAM-1-Expression bei den Respondern relativ konstant, während bei den Nonrespondern eher ein Rückgang zu verzeichnen war. Diese Beobachtung könnte wiederum auf einen stabilisierenden Effekt der IFN- β -Therapie auf die BHS hinweisen. Bei den Patienten, die nicht von der Behandlung profitieren, käme es zu einer weiteren Abwanderung aktivierter Leukozyten aus dem Blut über die BHS in das Hirnparenchym. Entsprechend würde ein Rückgang der cICAM-1-Expression auf mononukleären Zellen im Blut festgestellt werden. Demgegenüber würde die cICAM-1-Expression auf Leukozyten im Blut bei den Patienten mit positivem Behandlungserfolg konstant bleiben bzw. ansteigen.

Auf den CD3+ T-Zellen und CD14+ Monozyten/Makrophagen waren die Verläufe bei Respondern und Nonrespondern recht ähnlich. Interessanterweise lag jedoch bei allen drei Leukozytensubpopulationen der Ausgangswert der cICAM-1-Expression bei den Respondern niedriger als bei den Nonrespondern. Entsprechend der zuvor formulierten Hypothese, nach der bei Patienten mit einem aktiveren Krankheitsverlauf über eine vermehrte Einwanderung aktivierter Lymphozyten ein Rückgang der cICAM-1-Expression im peripheren Blut beobachtet werden kann, würde dies bedeuten, dass Patienten mit einer vermehrten Krankheitsaktivität stärker von einer Therapie profitieren.

Ähnliche Erkenntnisse erbrachten auch klinische Studien über die Wirksamkeit von IFN- β bei Patienten mit sekundär chronisch-progredienter MS. Hier zeigte sich ein positiver Behandlungseffekt vor allem bei den Patienten, bei denen weiterhin Schübe als Zeichen einer ausgeprägten Krankheitsaktivität auftraten¹⁸⁰.

Die Beurteilung des Behandlungserfolges anhand der Anzahl aller Läsionen war nicht richtungsweisend.

4.4.2.2 Beurteilung der Krankheitsaktivität

Wenn zur Beurteilung des Behandlungserfolges die Anzahl und die Fläche aller gadoliniumanreichernden Herde mit Ödem zugrunde gelegt wurden, ergaben sich erneut bei den CD19+ B-Zellen jeweils deutlich unterschiedliche Verläufe in beiden Subgruppen. Waren die Werte in beiden Kollektiven zu Beginn noch fast identisch, so konnte bei den Respondern

innerhalb der ersten 3 Monate ein deutlicher Rückgang beobachtet werden, gefolgt von einem Anstieg nach 9 Monaten. Bei den Nonrespondern zeigte sich zunächst ein konstanter Verlauf mit einem anschließenden deutlichen Rückgang nach 9 Monaten. Die Unterschiede in beiden Subgruppen waren statistisch signifikant.

Die beschriebene Entwicklung mit einem, wenn auch verzögerten, relativen Anstieg der cICAM-1-Expression bei den Respondern und einem etwa gleichzeitigen Rückgang bei den Nonrespondern bestätigt die zuvor formulierte Hypothese, nach der IFN- β -1b eine Stabilisierung der Blut-Hirn-Schranke bewirkt. So würde dieser Mechanismus im Verlauf der Therapie bei den Patienten mit einem positiven Behandlungserfolg zu einer verminderten Transmigration immunkompetenter Zellen führen und damit einen relativen Anstieg von Leukozyten mit einer hohen Expression von cICAM-1 im peripheren Blut bewirken. Im Gegensatz dazu käme es, wie hier beobachtet, bei den Patienten mit ausbleibendem Behandlungserfolg zu einer weiteren Einwanderung der aktivierten Lymphozyten in das Hirnparenchym und damit zu einer relativen Abnahme der messbaren ICAM-1-Expression.

Die Veränderungen zeigten sich am deutlichsten bei den CD19⁺ B-Zellen. Zwar scheint die Pathogenese der MS im wesentlichen zellvermittelt zu sein, die positiven Ergebnisse klinischer Studien, die zum Beispiel den Effekt von Plasmapherese und Immunglobulingabe aufzeigten, belegen jedoch die Bedeutung autoreaktiver Antikörper in der Immunreaktion^{127, 181}.

Der Nachweis gadoliniumanreichernder Herde bzw. eines perifokalen Ödems eignet sich vor allem als kurzfristiger Aktivitätsparameter, da die jeweiligen Merkmale nur für einen Zeitraum von 4 bis maximal 8 Wochen nachweisbar sind⁴⁹.

Dadurch war aber auch die Gesamtzahl der Patienten in diesem Fall gering, da nur bei einem relativ kleinen Teil der MRT-Aufnahmen gadoliniumanreichernde Herde mit gleichzeitigem perifokalen Ödem nachweisbar waren.

4.4.3 Prognostischer Wert der Expression von cICAM-1

Die vorliegende Untersuchung lieferte interessante Hinweise auf einen möglichen Wirkmechanismus von Interferon- β -1b bei Patienten mit schubförmig-remittierender Multipler Sklerose. Die Verlaufsbestimmung von zellgebundenem ICAM-1 auf verschiedenen Leukozytensubpopulationen im Blut ermöglicht jedoch keine Aussage bezüglich der Krankheitsentwicklung beim einzelnen Patienten. Die Veränderungen der Expression von ICAM-1 über die Zeit waren insgesamt relativ gering und die Messwerte zu Beginn und unter Therapie wiesen eine zu hohe Streubreite auf, so dass anhand der ICAM-1-Verläufe keine Zuordnung in homogene Patientengruppen möglich war. Grund hierfür könnten natürliche intra- und interindividuelle Schwankungen in der Expression von zellgebundenen Adhäsionsmolekülen ebenso, wie verschiedene nicht beeinflussbare Umweltfaktoren sein. Außerdem muss davon ausgegangen werden, dass Veränderungen in der relativ geringen Zahl von immunkompetenten Zellen, die letztlich an einer intrazerebralen Entzündungsreaktion beteiligt sind, durch Fluktuationen in der Gesamtpopulation der Leukozyten im peripheren Blut überlagert werden. In einem Kollektiv von Patienten, zum Beispiel im Rahmen klinischer Studien, könnte sich die Expression von cICAM-1 auf Leukozyten im Blut aber durchaus als Verlaufsparemeter eignen.

4.5 Ausblick

Im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen konnten interessante Zusammenhänge zwischen klinischen, immunologischen und neuroradiologischen Parametern in der Pathogenese der schubförmig-remittierenden Multiplen Sklerose aufgezeigt werden. Es wurden Hinweise gefunden, dass cICAM-1 auf der Oberfläche von CD3⁺ T-Zellen, CD19⁺ B-Zellen und CD14⁺ Monozyten/Makrophagen im peripheren Blut sich als immunologischer Marker für Krankheitsschwere und –aktivität eignet. Somit wäre zum Beispiel der Einsatz als Verlaufsparemeter bei klinischen Studien denkbar.

Im Rahmen der Längsschnittuntersuchung fanden sich neben pathogenetischen Aspekten auch Hinweise für mögliche Wirkmechanismen einer Therapie mit Interferon- β -1b. Hierdurch können sich wiederum Ansätze für weitere Behandlungsstrategien ergeben. Da die Pathogenese der MS sehr komplex ist und der genaue Einfluss einer immunmodulatorischen Therapie noch nicht vollständig nachvollzogen werden kann, werden derzeit an der Neurologischen Universitätsklinik Gießen weitere immunologische Parameter hinsichtlich ihrer Bedeutung in Krankheitsentstehung und –therapie untersucht.

5 Zusammenfassung

Die Multiple Sklerose ist die häufigste entzündliche Entmarkungserkrankung des Zentralen Nervensystems. Neben einer individuellen genetischen Disposition sind wahrscheinlich auch Umweltfaktoren von Bedeutung. Bei der Autoimmunerkrankung spielen vermutlich autoreaktive T-Zellen eine wesentliche Rolle. Nach Aktivierung im peripheren Blut überwinden diese die Blut-Hirn-Schranke, um dann im Hirnparenchym eine Entzündungsreaktion auszulösen. An dieser Transmigration durch das Endothel der zerebralen Gefäße sind verschiedene Adhäsionsmoleküle, wie zum Beispiel ICAM-1, beteiligt. Der Ablauf der Entzündungsreaktion wird dabei durch Zytokine vermittelt. Es gibt Hinweise dafür, dass ein Teil dieser Botenstoffe eher proinflammatorisch wirkt, wohingegen der andere antiinflammatorische Eigenschaften hat.

Genauere Kenntnisse der Pathogenese ermöglichen heute eine gezieltere Modulation der Autoimmunreaktion. Als erstes diesbezügliches Medikament stand in Deutschland Interferon- β -1b zur Verfügung, das einen deutlichen Effekt auf die Schubrate sowie die Gesamtläsionsfläche der Herde im kranialen MRT bei Patienten mit schubförmig-remittierender Multipler Sklerose zeigte. Da nicht alle Patienten von der relativ aufwendigen und kostenintensiven Behandlung profitieren, wäre ein Labormarker, der mit der Krankheitsaktivität korreliert und bereits frühzeitig einen Therapieerfolg bzw. dessen Ausbleiben anzeigt, wünschenswert.

Ziel der vorliegenden Arbeit war daher zum einen, die Bedeutung von cICAM-1 als immunologischem Marker bei Patienten mit schubförmig-remittierender MS bezüglich Krankheitsaktivität und –schwere zu beurteilen. Zum anderen sollte der mögliche Effekt einer Gabe von Interferon- β -1b auf die Expression von cICAM-1 auf CD3+ T-Zellen, CD19+ B-Zellen und CD14+ Monozyten/Makrophagen im peripheren Blut im Vergleich zu unbehandelten Erkrankten untersucht werden. Außerdem wurde die Eignung von cICAM-1 als laborchemischer Marker zur Abschätzung eines evtl. Therapieerfolges unter der IFN- β -Behandlung beurteilt. Die Expression von cICAM-1 auf den entsprechenden Leukozytensubpopulationen wurde mit Hilfe der Zweifarben-FACS-Analyse ermittelt, die Verrechnung mit einer Positiv- und Negativkontrolle ermöglichte den quantitativen Vergleich verschiedener Messungen.

Im Rahmen einer Querschnittsuntersuchung wurde bei 77 Patienten die Expression von cICAM-1 auf Leukozytensubpopulationen mit zum selben Zeitpunkt erhobenen klinischen und neuroradiologischen Daten korreliert. In eine Längsschnittstudie wurden insgesamt 68 Patienten aufgenommen, von denen sich 30 für und 38 gegen eine Behandlung entschieden hatten. Zu Beginn und im Verlauf in dreimonatigen Abständen wurde der klinische Befund anhand des EDSS erhoben, das Auftreten neuer Schübe dokumentiert und die Expression von cICAM-1 mittels FACS-Analyse bestimmt. Zusätzlich wurden halbjährlich MRT-Aufnahmen des Kopfes angefertigt, um subklinisch aufgetretene Läsionen erkennen zu können. Dabei konnten folgende Ergebnisse beobachtet werden:

a) Querschnittstudie:

- In der Querschnittsuntersuchung fand sich bei Betrachtung aller 77 Patienten eine signifikante negative Korrelation ($p < 0,05$) der Expression von cICAM-1 auf CD3+ T-Zellen im peripheren Blut sowohl zur kumulativen Gesamtfläche ($r = -0,2790$) als auch zur Anzahl aller Herde ($r = -0,2382$) im MRT.
- In einer Subgruppe von 28 Patienten mit Zeichen subklinischer Krankheitsaktivität im MRT zeigte sich ebenfalls eine signifikante negative Korrelation ($p < 0,05$) der

cICAM-1-Expression, sowohl auf CD3+ T-Zellen als auch auf CD14+ Monozyten/Makrophagen, zur Gesamtfläche ($r = -0,4941$ bzw. $-0,4025$) und zur Anzahl ($r = -0,4554$ bzw. $-0,4236$) aller Herde.

- Wurden die Patienten anhand der MRT-Daten in Subgruppen unterschiedlicher Krankheitsschwere unterteilt, ergab sich eine verminderte Expression von cICAM-1 auf CD3+ T-Zellen bei Patienten mit einer größeren Anzahl (Median 4,3 vs. 5,1; $p < 0,05$) bzw. kumulativen Gesamtfläche (Median 4,0 vs. 5,1; $p < 0,05$) aller Herde im Vergleich zu geringer betroffenen Erkrankten.

b) prospektive Längsschnittstudie:

- Während bei den unbehandelten Patienten eine Zunahme der Schubrate (Median vor Studienbeginn 0,8 vs. 1,5 während des Beobachtungszeitraumes von 18 Monaten) beobachtet wurde, blieb diese in der Therapiegruppe konstant (Median jeweils 1,0). Im Vergleich der beiden Kollektive war der Unterschied signifikant ($p < 0,05$).
- Bei den unbehandelten Patienten konnte eine rückläufige Tendenz der Adhäsionsmolekülexpression beobachtet werden. Auf CD3+ T-Zellen und CD14+ Monozyten/Makrophagen waren, bis auf jeweils eine Ausnahme, die Mediane zu jedem Beobachtungszeitpunkt niedriger als zu Beginn. Auf den CD14+ Monozyten/Makrophagen fand sich ein deutlicher Rückgang von im Median 41,4 am Anfang auf 33,0 nach 18 Monaten.
- In der Therapiegruppe zeigte sich im Verlauf eine Zunahme der Expression von cICAM-1 sowohl auf CD3+ T-Zellen als auch auf CD14+ Monozyten/Makrophagen. So war der Median in beiden Leukozytensubpopulationen zu jedem Beobachtungszeitpunkt bis auf eine Ausnahme größer als zu Beginn.
- Der Vergleich der Verläufe der cICAM-1-Expression in Therapie- und Kontrollgruppe mit Hilfe des ANOVA-Testes ergab signifikante Unterschiede bei den CD3+ T-Zellen im Intervall zwischen Studienbeginn und dem 15. Monat ($p < 0,05$) und auf den CD14+ Monozyten/Makrophagen über den gesamten Beobachtungszeitraum von eineinhalb Jahren ($p < 0,005$).
- Ein statistischer Zusammenhang zwischen der gemessenen Expression von cICAM-1 auf den verschiedenen Leukozytensubpopulationen und klinischen und neuroradiologischen Verlaufsparemtern als Maß für Aktivität und Schwere der Erkrankung ließ sich nicht herstellen.

Folgende Schlussfolgerungen können aus diesen Ergebnissen gezogen werden:

Aufgrund der Korrelation der Expression von cICAM-1 auf Leukozyten-Subpopulationen im Blut und neuroradiologischen Daten ergaben sich Hinweise, dass sich das Adhäsionsmolekül als immunologischer Labormarker zur Abschätzung von Krankheitsschwere und -aktivität eignet.

Eine Behandlung mit Interferon- β -1b hat sowohl einen positiven Einfluss auf die Schubrate als auch auf die Gesamtfläche aller Herde und verschiedene andere Parameter im MRT bei Patienten mit schubförmig-remittierender Multipler Sklerose. In der vorliegenden Untersuchung führte eine Therapie mit Interferon- β -1b zu einer Zunahme der Expression von cICAM-1 auf Leukozyten im peripheren Blut, während sich im spontanen Krankheitsverlauf bei unbehandelten Patienten ein Rückgang fand. Ursache hierfür könnte eine Stabilisierung der Blut-Hirn-Schranke unter der immunmodulatorischen Behandlung sein. Während im Laufe der natürlichen Krankheitsprogression durch Abwanderung immunkompetenter Zellen in das Hirnparenchym der Pool von Leukozyten mit hoher cICAM-1-Expression im Blut abnimmt, verbleiben diese, wenn die Transmigration durch den Einfluss des Zytokins erschwert wird, vermehrt im peripheren Blut. Diese Hypothese gibt einen Hinweis auf eine mögliche direkte Wirkung von Interferon- β -1b an der Blut-Hirn-Schranke. Außerdem konnte

gezeigt werden, dass sich cICAM-1 auf Leukozyten im Blut möglicherweise als Verlaufsparemeter im Rahmen von Therapiestudien bei Patienten mit schubförmig-remittierender MS eignet.

6 Literaturangaben

-
- ¹ Masuhr K.F. und Neumann M. (1998) Neurologie. 4., überarbeitete Auflage, Hippokrates Verlag GmbH, Stuttgart.
- ² Medaer R. (1979) Does the history of Multiple Sclerosis go back as far as the 14th century? *Acta Neurol. Scand.* 60: 189-192.
- ³ Cruveilhier J.: Anatomie pathologique du corps humain. Paris: Bailliere, 1842.
- ⁴ Charcot J.M. (1868) Histologie de la sclérose en plaques. *Gaz. Hôpital (Paris)* 41: 554.
- ⁵ Tollis D. (1996) Who was Charcot? *Nurs-Times* 92(8): 56.
- ⁶ Poeck K., Hacke W. (1998) Neurologie. 10., überarbeitete Auflage, Springer, Berlin.
- ⁷ Poser S., Adams R.D., Victor M. (1996) Taschenbuch Multiple Sklerose. Blackwell Wissenschaftsverlag, Berlin-Wien.
- ⁸ Kurtzke J.F. (1977) Geography in multiple sclerosis. *J. Neurol.* 215: 1-26.
- ⁹ Kurtzke J.F., Beebe G.W., Norman J.E. Jr (1979) Epidemiology of multiple sclerosis in U.S. veterans: 1. Race, sex and geographic distribution. *Neurology* 29: 1228-35.
- ¹⁰ Sadovnick A.D., Baird P.A., Ward R.A. (1988) Multiple sclerosis: updated risks for relatives. *Am. J. Med. Genet.* 29: 533-541.
- ¹¹ Sadovnick A.D., MacLeod P.M.J. (1981) The familial nature of multiple sclerosis: empiric recurrence risks for first-, second- and third-degree relatives of patients. *Neurology* 31: 1039-1041.
- ¹² Sadovnick A.D., Armstrong H., Rice G.P., Bulman D., Hashimoto L., Paty 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., Brunet D., Ebers G.C. (1993) A population-based study of multiple sclerosis in twins: update. *Ann. Neurol.* 33: 281-285.
- ¹³ Sommer N., Zipp F., Rösener M., Dichgans J., Martin R. (1996) Der Einfluß genetischer Faktoren auf die multiple Sklerose. *Nervenarzt* 67: 457-464.
- ¹⁴ Fauci A.S., Braunwald E., Isselbacher K.J., Wilson J.D., Martin J.B., Kasper D.L., Hauser S.L., Longo D.L. (1997) *Harrison's Principles Of Internal Medicine*, McGraw-Hill.
- ¹⁵ Elian M., Dean G. (1987) Multiple sclerosis among the United Kingdom-born children of immigrants from the West Indies. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* 50: 327-323.
- ¹⁶ Dean G., Kurtzke J.F., (1971) On the risk of multiple sclerosis according to age at immigration to South Africa. *Brit. Med. J.* 3: 725-729.
- ¹⁷ Kurtzke J.F., Hyllested K., Heltberg A. (1995) Multiple sclerosis in the Faroe Islands: transmission across four epidemics. *Acta Neurol. Scand.* 91: 321-325.
- ¹⁸ Compston D.A., Vakarelis B.N., Paul E., McDonald W.I., Batchelor J.R., Mims C.A. (1986) Viral infection in patients with multiple sclerosis and HLA-DR matched controls. *Brain* 109: 325-344.
- ¹⁹ Cendrowski W., Polna I., Nowicka K. (1976) Measles virus infection and multiple sclerosis: serological studies. *J. Neurol.* 213: 369-76.

-
- ²⁰ Matossian-Rogers A., Dos-Santos A., Festenstein H. (1987) Human cytotoxic T-cells against measles virus-infected and myelin basic protein-coated targets are cross-reactive. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* 84: 159-164.
- ²¹ Sriram S., Stratton C.W., Yao S., Tharp A., Ding L., Bannan J.D., Mitchell W.M. (1999) Chlamydia pneumoniae infection of the central nervous system in multiple sclerosis. *Ann. Neurol.* 46: 6-14.
- ²² Riikonen R. (1989) The role of infection and vaccination in the genesis of optic neuritis and multiple sclerosis in children. *Acta Neurol. Scand.* 80: 425-431.
- ²³ Bauer H.J., Seidel D. (1996) *MS-Ratgeber*. 5. Auflage. Gustav Fischer Verlag. Stuttgart, Jena, New York.
- ²⁴ Rizzo III J.F., Lessel S. (1988) Risk of developing multiple sclerosis after uncomplicated optic neuritis. A long-term prospective study. *Neurology* 38: 185-190.
- ²⁵ Kurtzke J.F. (1983) Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: An expanded disability status scale (EDSS). *Neurology* 33: 1444-1452.
- ²⁶ Willoughby E.W., Paty D.W. (1988) Scales for rating impairment in multiple sclerosis: A critique. *Neurology* 38: 1793-1798.
- ²⁷ Flachenegger P., Hartung H.P. (1996) Krankheitsverlauf und Prognose der multiplen Sklerose, 1. Teil: Der natürliche Krankheitsverlauf. *Nervenarzt* 67: 435-443.
- ²⁸ Charcot J.M. (1884) *Lecons sur les maladies du systeme nerveux faites a la salpetrière*. Delahage&Lecrosnier. Paris.
- ²⁹ Schumacher G., Beebe G., Kibler R., et al. (1965) Problems of experimental trials of therapy in multiple sclerosis: report by the panel on the evaluation of experimental trials of therapy in multiple sclerosis. *Ann. NY Acad. Sci.* 122: 552-568.
- ³⁰ Guthrie T.C., Nelson D.A. (1995) Influence of temperature changes on multiple sclerosis: critical review of mechanisms and research potential. *J. Neurol. Sci.* 129: 1-8.
- ³¹ 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. 1. clinical course and disability. *Brain* 112: 133-146.
- ³² Poser S., Wikström J., Bauer H.J. (1979) Clinical data and identification of special forms of multiple sclerosis in 1271 cases studied with a standardized documentation system. *J. Neurol. Sci.* 40: 159-168.
- ³³ Revesz T., Kidd D., Thompson A.J., Barnard R.O., McDonald W.I. (1994) A comparison of the pathology of primary and secondary progressive multiple sclerosis. *Brain* 117: 759-765.
- ³⁴ Thompson A.J., Kermodé A.G., Wicks D., MacManus D.G., Kendall B.E., Kingsley D.P., McDonald W.I. (1991) Major differences in the dynamics of primary and secondary progressive multiple sclerosis. *Ann. Neurol.* 29: 53-62.
- ³⁵ Phadke J.G. (1987) Survival pattern and cause of death in patients with multiple sclerosis: results from an epidemiological survey in north east Scotland. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* 50: 523-531.
- ³⁶ Bronnum-Hansen H., Koch-Henriksen N., Hyllested K. (1994) Survival of patients with multiple sclerosis in Denmark: A nationwide, long-term epidemiologic survey. *Neurology* 44: 1901-1907.

-
- ³⁷ Sadovnick A.D., Eisen K., Ebers G.C., Paty D.W. (1991) Cause of death in patients attending multiple sclerosis clinics. *Neurology* 41: 1193-1196.
- ³⁸ Riise T., Gronning M., Fernández O., Lauer K., Midgard R., Minderhoud J.M., Nyland H., Pálffy G., Poser G., Aarli J. (1992) Early prognostic factors for disability in multiple sclerosis, a European multicenter study. *Acta Neurol. Scand.* 85: 212-218.
- ³⁹ Weinshenker B.G., Rice G.P.A., Noseworthy J.H., Carriere W., Baskerville J., Ebers G.C. (1991) The natural history of multiple sclerosis: a geographically based study. 3. Multivariate analysis of predictive factors and models of outcome. *Brain* 114: 1045-1056.
- ⁴⁰ Poser S., Bauer H.J., Poser W. (1982) Prognosis in multiple sclerosis. *Acta Neurol. Scand.* 65: 347-354.
- ⁴¹ Poser C.M., Paty D.W., Scheinberg L., et al. (1983) New diagnostic criteria for multiple sclerosis: Guidelines for Research Protocols. *Ann. Neurol.* 13: 227-231.
- ⁴² McDonald W.I., Compston A., Edan G., Goodkin D., Hartung H.P., Lublin F.D., McFarland H.F., Paty D.W. et al. (2001) Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. *Ann. Neurol.* 50: 121-127.
- ⁴³ Lowitzsch K., Kuhnt U., Sakmann C., Maurer K., Hopf H.C., Schott D., Thater K. (1976) Visual pattern evoked responses and blink reflexes in assessment of MS diagnosis. A clinical study of 135 multiple sclerosis/pathol. *J.Neurol.* 213: 17-32.
- ⁴⁴ Paty D.W., Oger J.J.F., Kastrukoff L.F., Hashimoto S.A., Hooge J.P., Eisen A.A., Eisen K.A., Purves S.J., Low M.D., Brandeys V., Robertson W.D., Li D.K.B. (1988) MRI in the diagnosis of MS: A prospective study with comparison of clinical evaluation, evoked potentials, oligoclonal banding, and CT. *Neurology* 38: 180-185.
- ⁴⁵ Willoughby E.W., Grochowski E., Li D.K., Oger J., Kastrukoff L.F., Paty D.W. (1989) Serial magnetic resonance scanning in multiple sclerosis: a second prospective study in relapsing patients. *Ann. Neurol.* 25: 43-49.
- ⁴⁶ Filippi M., Horsfield M., Morissey S. et al. (1994) Quantitative brain MRI lesion load predicts the course of clinically isolated syndromes suggestive of multiple sclerosis. *Neurology* 44: 635-641.
- ⁴⁷ Filippi M., Horsfield M.A., Tofts P.S., Barkhof F., Thompson A.J., Miller D.H. (1995) Quantitative assessment of MRI lesion load in monitoring the evolution of multiple sclerosis. *Brain* 118: 1601-1612.
- ⁴⁸ McFarland H.F., Frand J.A., Alberts P.S., et al. (1992) Using gadolinium-enhanced magnetic resonance imaging lesions to monitor disease activity in multiple sclerosis. *Ann. Neurol.* 32: 758-766.
- ⁴⁹ Barkhof F.P., Scheltens S.T., Frequin F.M. et al (1992) Relapsing-remitting multiple sclerosis: sequential enhanced MR Imaging vs. clinical findings in determining disease activity. *AJR* 159: 1041-1047.
- ⁵⁰ Ormerod I.E., Miller D.H., McDonald W.I., du Boulay E.P., Rudge P., Kendall B.E., Moseley I.F., Johnson G., Tofts P.S., Halliday A.M. (1987) The role of NMR imaging in the assessment of multiple sclerosis and isolated neurological lesions. A quantitative study. *Brain* 110 (6): 1579-1616.
- ⁵¹ Filippi M., Paty D., Kappos L. et al. (1995) Correlations between changes in disability and T2-weighted brain MRI activity in multiple sclerosis. *Neurology* 45: 255-260.

-
- ⁵² Natowicz M.R., Bejjani B. (1994) Genetic disorders that masquerade as multiple sclerosis. *Am. J. Med. Gen.* 49: 149-169.
- ⁵³ Russell W.C. (1997) Multiple Sclerosis – a molecular conundrum. In Russell W.C. (ed.) *Molecular biology of Multiple Sclerosis*. John Wiley & Sons. England.
- ⁵⁴ Sibley W.A., Bamford C.R., Clark K. (1985) Clinical viral infections and multiple sclerosis. *Lancet* 1: 1313-1315.
- ⁵⁵ Eder M., Gedigk P. (1990) *Allgemeine Pathologie und Pathologische Anatomie*. 33., neubearbeitete Auflage. Springer-Verlag. Berlin, Heidelberg.
- ⁵⁶ Genain C.P., Hauser S.L. (1997) Autoimmune Demyelinating Diseases of the Central Nervous System. In Keane R.W., Hickey W.F. (eds.) *Immunology of the Nervous System*. Oxford University Press, New York, Oxford.
- ⁵⁷ Adams C.W.M., Poston R.N., Buk S.J. (1989) Pathology, histochemistry and immunocytochemistry of lesions in acute multiple sclerosis. *J. Neurol. Sci.* 92: 291-306.
- ⁵⁸ Hartung H.-P. (1993) Immune-Mediated Demyelination. *Ann. Neurol.* 33: 563-567.
- ⁵⁹ Allen I.V., Kirk J. (1997) The anatomical and molecular pathology of multiple sclerosis. In Russell W.C. (ed.) *Molecular biology of multiple sclerosis*, 9-22. John Wiley & Sons.
- ⁶⁰ Raine C.S., Wu E. (1993) Multiple sclerosis: remyelination in acute lesions. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 52: 199-204.
- ⁶¹ Hafler D.A., Weiner H.L. (1989) MS: a CNS and systemic autoimmune disease. *Immunology Today* 10: 104-107.
- ⁶² Raine C.S., Cannella B., Duijvestijn A.M., Cross A.H. (1990) Homing to Central Nervous System Vasculature by Antigen-Specific Lymphocytes. II. Lymphocyte/Endothelial Cell Adhesion during the Initial Stages of Autoimmune Demyelination. *Lab. Invest.* 63: 476-489.
- ⁶³ Tsunoda I., Fujinami R.S. (1996) Two models for multiple sclerosis: experimental allergic encephalomyelitis and Theiler's murine encephalomyelitis virus. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 55: 673-686.
- ⁶⁴ Jingwu Z.R., Madaer R., Hashim G.A., Chin Y., Van den Berg-Loonen E., Raus J.C.M. (1992) Myelin basic protein-specific T lymphocytes in multiple sclerosis and controls. Precursor frequency, fine specificity and cytotoxicity. *Ann. Neurol.* 32: 330-338.
- ⁶⁵ Joshi N., Usuku K., Hauser S.L. (1993) The T-cell response to myelin basic protein in familial multiple sclerosis: diversity of fine specificity, restricting elements, and T-cell receptor usage. *Ann. Neurol.* 34: 385-393.
- ⁶⁶ Talbot P.J., Paquette J.-S., Ciurla C., Antel J.P., Ouellet F. (1996) Myelin basic protein and human coronavirus 229E cross-reactive T cells in multiple sclerosis. *Ann. Neurol.* 39: 233-240.
- ⁶⁷ Wucherpfennig K.W., Strominger J.L. (1995) Molecular mimicry in T cell-mediated autoimmunity: viral peptides activate human T cell clones specific for myelin basic protein. *Cell* 80: 695-705.
- ⁶⁸ Hartung H.P. (1995) Pathogenese der Multiplen Sklerose – Stand der Forschung. In *Interferon-beta –1b zur Behandlung der Multiplen Sklerose*, Beilage in *Der Nervenarzt* Band 66, Heft 9.
- ⁶⁹ Nagelkerken L. (1998) Role of Th1 and Th2 cells in autoimmune demyelinating disease. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 31: 55-60.

-
- ⁷⁰ Janeway C.A., Travers P., Walport M., Shlomchik M. (2001) Immunobiology - the immune system in health and disease, Garland Publishing / Churchill Livingstone, Edinburgh.
- ⁷¹ Pender MP (1998) Genetically determined failure of activation-induced apoptosis of autoreactive T cells as a cause of multiple sclerosis. *Lancet* 351: 978-981.
- ⁷² Engelhardt B. (1997) The blood-brain barrier. In Russell W.C. (ed.) *Molecular Biology of Multiple Sclerosis*, 137-160. John Wiley & Sons, England.
- ⁷³ Kniesel U., Wolburg H. (2000) Tight junctions of the blood-brain barrier. *Cell. Mol. Neurobiol.* 20: 57-76.
- ⁷⁴ Chaudhuri J.D. (2000) Blood brain barrier and infection. *Med. Sci. Monit.* 6: 1213-1222.
- ⁷⁵ Saunders N.R., Habgood M.D., Dziegielewska K.M. (1999) Barrier mechanisms in the brain, I. Adult brain. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol* 26: 11-19.
- ⁷⁶ Engelhardt B. (1998) The Role of alpha4-Integrin in T Lymphocyte Migration Into the Inflamed and Noninflamed Central Nervous System. In Holzmann B., Wagner H. (eds.) *Current Topics in Microbiology and Immunology*, Vol. 231: 51-64. Springer Berlin, Heidelberg.
- ⁷⁷ Hohlfeld R., Meinl E., Weber F., Zipp F., et al. The role of autoimmune T-lymphocytes in the pathogenesis of multiple sclerosis. *Neurology* 45 (Suppl.): S33-S38.
- ⁷⁸ Springer T.A. (1990) Adhesion receptors of the immune system. *Nature* 346: 425-434.
- ⁷⁹ Mally M., Schaudé M. (1991) Adhäsionsmoleküle steuern die Kommunikation der Zellen. *Lab. med.* 15: 391-398.
- ⁸⁰ Greenwood J., Wang Y., Calder L. (1995) Lymphocyte adhesion and transendothelial migration in the central nervous system: the role of LFA-1, ICAM-1, VLA-4 and VCAM-1. *Immunology* 86: 408-415.
- ⁸¹ Rieckmann P., Michel U., Albrecht M., Brück W., Wöckel L., Felgenhauer K. (1995) Cerebral endothelial cells are a major source for soluble intercellular adhesion molecule-1 in the human central nervous system. *Neurosc. Letters* 186: 61-64.
- ⁸² Staunton D.E., Marlin S.D., Stratowa C., Dustin M.L., Springer T.A. (1988) Primary structure of ICAM-1 demonstrates interaction between members of the immunoglobulin and integrin supergene family. *Cell* 52: 925-933.
- ⁸³ McMurray R.W. (1996) Adhesion Molecules in Autoimmune Disease. *Semin. Arthr. Rheumat.* 25: 215-233.
- ⁸⁴ Gearing A.J.H., Newman W. (1993) Circulating adhesion molecules in disease. *Immunol. Today* 14: 506-512.
- ⁸⁵ Jander S., Heidenreich F., Stoll G. (1993) Serum and CSF levels of soluble intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in inflammatory neurologic diseases. *Neurology* 43: 1809-1813.
- ⁸⁶ Hartung H.-P., Michels M., Reiners K., Seeltrayers P., Archelos J.J., Toyka K.V. (1993) Soluble ICAM-1 serum levels in multiple sclerosis and viral encephalitis. *Neurology* 43: 2331-2335.
- ⁸⁷ Dore-Duffy P., Newman W., Balabanov R., Lisak R.P., Mainolfi E., Rothlein R., Peterson M. (1995) Circulating, soluble adhesion proteins in cerebrospinal fluid and serum of patients with multiple sclerosis: correlation with clinical activity. *Ann. Neurol.* 37: 55-62.

-
- ⁸⁸ Rieckmann P., Martin S., Weichselbraun I., Albrecht M., Kitzke B., Weber T., Tumani H., Broocks A., Lürer W., Helwig A., Poser S. (1994) Serial analysis of circulating adhesion molecules and TNF receptor in serum from patients with multiple sclerosis: cICAM-1 is an indicator for relapse. *Neurology* 44: 2367-2372.
- ⁸⁹ Droogan A.G., McMillan S.A., Douglas J.P., Hawkins S.A. (1996) Serum and cerebrospinal fluid levels of soluble adhesion molecules in multiple sclerosis: predominant intrathecal release of vascular cell adhesion molecule-1. *J. Neuroimmunol.* 64: 185-191.
- ⁹⁰ Tsukada N., Matsuda M., Miyagi K., Yanagisawa N. (1993) Increased levels of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) and tumor necrosis factor receptor in the cerebrospinal fluid of patients with multiple sclerosis. *Neurology* 43: 2679-2682.
- ⁹¹ Sharief M.K., Noori M.A., Ciardi M., Cirelli A., Thompson E.J. (1993) Increased levels of circulating ICAM-1 in serum and cerebrospinal fluid of patients with active multiple sclerosis. Correlation with TNF-alpha and blood-brain-barrier damage. *J. Neuroimmunol.* 43: 15-22.
- ⁹² Cannella B., Raine C.S. (1995) The Adhesion Molecule and Cytokine Profile of Multiple Sclerosis Lesions. *Ann. Neurol.* 37: 424-435.
- ⁹³ Diamond M.S., Staunton D.E., de Fougères A.R., Stacker S.A., Garcia-Aguilar J., Hibbs M.L., Springer T.A. (1990) ICAM-1 (CD54): A counter-receptor for Mac-1 (CD11b/CD18): *J. Cell Biol.* 111: 3129-3139.
- ⁹⁴ Makgoba M.W., Sanders M.E., Ginther Luce G.E., Dustin M.L., Springer T.A., Clark E.A., Mannoni P., Shaw S. (1988) ICAM-1 a ligand for LFA-1 dependent adhesion of B, T and myeloid cells. *Nature* 331: 86-88.
- ⁹⁵ Archelos J.J., Jung S., Mäurer M., Schmied M., Lassmann H., Tamatani T., Miyasaka M., Toyka K.V., Hartung H.-P. (1993) Inhibition of experimental autoimmune encephalomyelitis by an antibody to the intercellular adhesion molecule ICAM-1. *Ann. Neurol.* 34: 145-154.
- ⁹⁶ Rieckmann P., Michel U., Albrecht M., Brück W., Wöckel L., Felgenhauer K. (1995) Soluble forms of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) block lymphocyte attachment to cerebral endothelial cells. *J. Neuroimmunol.* 60: 9-15.
- ⁹⁷ Shrikant P., Yup Chung I., Ballestas M.E., Benveniste E.N. (1994) Regulation of intercellular adhesion molecule-1 gene expression by tumor necrosis factor-alpha, interleukin-1beta, and interferon-gamma in astrocytes. *J. Neuroimmunol.* 51: 209-220.
- ⁹⁸ Dustin M.L., Rothlein R., Bhan A.K., Dinarello C.A., Springer T.A. (1986) Induction by IL 1 and Interferon-gamma: tissue distribution, biochemistry, and function of a natural adherence molecule (ICAM-1). *J. Immunol.* 137: 245-254.
- ⁹⁹ Kramer M.D. (1997) *Immunologie und Immunpathologie.* Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart.
- ¹⁰⁰ Arnason B.G.W. (1996) Interferon Beta in Multiple Sklerosis (Short Analytical Review). *Clin. Immunol. Immunopathol.* 81: 1-11.
- ¹⁰¹ Traugott U., Lebon P. (1988) Multiple Sclerosis: involvement of interferons in lesion pathogenesis. *Ann. Neurol.* 24: 243-251.
- ¹⁰² Ling P.D., Warren M.K., Vogel S.N. (1985) Antagonistic effect of interferon-beta on the interferon-gamma-induced expression of Ia antigen in murine macrophages. *J. Immunol.* 135: 1857-1863.

-
- ¹⁰³ Barna B.P., Chou S.M., Jacobs B., Yen-Lieberman B., Ransohoff R.M. (1989) Interferon-beta impairs induction of HLA DR antigen expression in cultured adult human astrocytes. *J. Neuroimmunol.* 23: 45-53.
- ¹⁰⁴ Rudick R.A., Carpenter C.S., Cookfair D.L., Tuohy V.K., Ransohoff R.M. (1993) In vitro and in vivo inhibition of mitogendriven T-cell activation by recombinant interferon beta. *Neurology* 43: 2080-2087.
- ¹⁰⁵ Noronha A., Toscas A., Jensen M.A. (1993) Interferon beta decreases T cell activation and interferon gamma production in multiple sclerosis. *J. Neuroimmunol.* 46: 145-153.
- ¹⁰⁶ Noronha A., Jensen M.A., Toscas A., Sihag S. (1992) IFN-beta downregulates tumor necrosis factor release. *Neurology* 42 (Suppl.3): 159.
- ¹⁰⁷ Lou J., Gasche Y., Zheng L., Giroud C., Morel P., Clements J., Ythier A, Grau G.E.. (1999) Interferon-beta inhibits activated leukocyte migration through human brain microvascular endothelial cell monolayer. *Lab. Invest.* 79: 1015-1025.
- ¹⁰⁸ Gaillard P.J., van der Meide P.H., de Boer A.G., Breimer D.D. (2001) Glucocorticoid and type 1 interferon interactions at the blood-brain barrier: relevance for drug therapies for multiple sclerosis. *Neuroreport* 12: 2189-93.
- ¹⁰⁹ Corsini E., Gelati M., Dufour A., Massa G., Nespolo A., Ciusani E., Milanese C., La Mantia L., Salmaggi A. (1997) Effects of β -IFN-1b treatment in MS patients on adhesion between PBMNCs, HUVECs and MS-HBECs: an in vivo and in vitro study. *J. Neuroimmunol.* 79: 76-83.
- ¹¹⁰ Noronha A., Toscas A., Jensen M.A. (1990) Interferon beta augments suppressor cell function in multiple sclerosis. *Ann. Neurol.* 27: 207-210.
- ¹¹¹ Abreu S.L., Tondreau J., Levine S., Sowinski R. (1983) Inhibition of passive localized experimental allergic encephalomyelitis by interferon. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* 72: 30-33.
- ¹¹² Walther E.U., Dietrich E., Hohlfeld R. (1996) Therapie der multiplen Sklerose mit Interferon- β -1b. *Nervenarzt* 67: 452-456.
- ¹¹³ Hartung H.-P., Toyka K.V., Hohlfeld R. (1994) Behandlung der Multiplen Sklerose mit IFN- β . *Deutsches Ärzteblatt – Ärztliche Mitteilungen* 91: 965-970.
- ¹¹⁴ The IFNB Multiple Sclerosis Study Group (1993) Interferon- β -1b is effective in relapsing-remitting multiple sclerosis. I. Clinical results of a multicenter, randomized, double-blind, placebocontrolled trial. *Neurology* 43: 655-661.
- ¹¹⁵ Paty D.W., Li D.K.B., the UBC MS/MRI Study Group, the IFNB Multiple Sclerosis Study Group (1993) Interferon- β -1b is effective in relapsing-remitting multiple sclerosis. II. MRI analysis results of a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Neurology* 43: 662-667.
- ¹¹⁶ The IFNB Multiple Sclerosis Study Group and the University of British Columbia MS/MRI Analysis Group (1995) Interferon beta-1b in the treatment of multiple sclerosis: Final outcome of the randomized controlled trial 45: 1277-1285.
- ¹¹⁷ Lublin F.D., Whitaker J.N., Eidelman B.H., Miller A.E., Arnason B.G.W., Burks J.S. (1996) Management of patients receiving interferon beta-1b for multiple sclerosis: Report of a consensus conference. *Neurology* (46): 12-18.

-
- ¹¹⁸ Khan O.A., Xia Q., Bever C.T., Johnson K.P., Panitch H.S., Dhib-Jalbut S.S. (1996) Interferon beta-1b serum levels in multiple sclerosis patients following subcutaneous administration. *Neurology* 46: 1639-1643.
- ¹¹⁹ Jacobs L.D., Cookfair D.L., Rudick R.A., Herndon R.M., Richert J.R. et al., The Multiple Sclerosis Collaborative Research Group (MSCRG) (1996) Intramuscular interferon- β -1a for disease progression in relapsing multiple sclerosis. *Ann. Neurol.* 39: 285-294.
- ¹²⁰ Rudick R.A., Goodkin D.E., Jacobs L.D., Cookfair D.L., Herndon R.M., Richert J.R. et al., The Multiple Sclerosis Collaborative Research Group (MSCRG) (1997) Impact of interferon beta-1a on neurologic disability in relapsing multiple sclerosis. *Neurology* 49: 358-363.
- ¹²¹ Jacobs L.D., Beck R.W., Simon J.H., Kinkel R.P., Brownschidle C.M., Murray T.J., Simonian N.A., Slasor P.J., Sandrock A.W., CHAMPS Study Group (2000) Intramuscular interferon beta-1a therapy initiated during a first demyelinating event in multiple sclerosis. *N. Engl. J. Med.* 343: 898-904.
- ¹²² PRISMS (Prevention of Relapses and Disability by Interferon beta-1a Subcutaneously in Multiple Sclerosis) Study Group (1998) Randomised double-blind placebo-controlled study of interferon beta-1a in relapsing/remitting multiple sclerosis. *Lancet* 352: 1498-1504.
- ¹²³ Teitelbaum D., Aharoni R., Arnon R., Sela M. (1988) Specific inhibition of the T-cell response to myelin basic protein by the synthetic copolymer Cop 1. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* 85: 9724-9728.
- ¹²⁴ Fridkis-Hareli M., Teitelbaum D., Gurevich E., Pecht I., Brautbar C., Kwon O.J., Brenner T., Arnon R., Sela M. (1994) Direct binding of myelin basic protein and synthetic copolymer 1 to class II major histocompatibility complex molecules on living antigen-presenting cells - specificity and promiscuity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* 91: 4872-4876.
- ¹²⁵ Arnon R., Teitelbaum D., Sela M. (1989) Suppression of experimental allergic encephalomyelitis by COP1 - relevance to multiple sclerosis. *Isr. J. Med. Sci.* 25: 686-689.
- ¹²⁶ Johnson K.P., Brooks B.R., Cohen J.A., Ford C.C., Goldstein J., Lisak R.P., Myers L.W. et al., the Copolymer 1 Multiple Sclerosis Study Group (1995) Copolymer 1 reduces relapse rate and improves disability in relapsing-remitting multiple sclerosis: Results of a phase III multicenter, double-blind, placebo-controlled trial. *Neurology* 45: 1268-1276.
- ¹²⁷ Fazekas F., Deisenhammer F., Strasser-Fuchs S., Nahler G., Mamoli B., Austrian Immunoglobulin in Multiple Sclerosis Study Group (1997) Randomised placebo-controlled trial of monthly intravenous immunoglobulin therapy in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Lancet* 349: 589-593.
- ¹²⁸ Sorensen P.S. (2000) The effect on MRI of gammaglobulin treatment in relapsing multiple sclerosis. *Mult. Scler.* 6 (Suppl 2): S14-S17.
- ¹²⁹ Aktas O., Waiczies S., Grieger U., Wendling U., Zschenderlein R., Zipp F. (2001) Polyspecific immunoglobulins (IVIg) suppress proliferation of human (auto)antigen-specific T cells without inducing apoptosis. *J. Neuroimmunol.* 114: 160-167.
- ¹³⁰ Stangel M., Joly E., Scolding N.J., Compston D.A. (2000) Normal polyclonal immunoglobulins (IVIg') inhibit microglial phagocytosis in vitro. *J. Neuroimmunol.* 106: 137-144.
- ¹³¹ Warrington A.E., Asakura K., Bieber A.J., Ciric B., Van Keulen V., Kaveri S.V., Kyle R.A., Pease L.R., Rodriguez M. (2000) Human monoclonal antibodies reactive to oligodendrocytes promote remyelination in a model of multiple sclerosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* 97: 6820-6825.

-
- ¹³² Panitch H.S., Hirsch R.L., Schindler J., Johnson K.P. (1987) Treatment of multiple sclerosis with γ interferon: exacerbations associated with activation of the immune system. *Neurology* 37: 1097-1102.
- ¹³³ Yudkin P.L., Ellison G.W., Ghezzi A., Goodkin D.E., Hughes R.A.C., McPherson K., Mertin J., Milanese C. (1991): Overview of azathioprine treatment in multiple sclerosis. *Lancet* 338: 1051-1055.
- ¹³⁴ Weiner H.L., Hafler D.A. (1988): Immunotherapy of multiple sclerosis. *Ann Neurol* 23: 211-222.
- ¹³⁵ MS Therapy Consensus Group (1999) Immunomodulating staged therapy of multiple sclerosis. *Nervenarzt* 70: 371-86.
- ¹³⁶ Noseworthy J.H. Hopkins M.B., Vandervoort M.K., Karlik S.J., Lee D.H., Penman M., Rice G.P., Grinwich K.D., Cauvier H., Harris B.J. et al. (1993) An open-trial evaluation of mitoxantrone in the treatment of progressive MS. *Neurology* 43: 1401-1406.
- ¹³⁷ Goodkin D.E., Rudick R.A., Vander Brug Medendorp et al. (1995) Low-dose (7,5mg) oral methotrexate reduces the rate of progression in chronic progressive multiple sclerosis. *Ann. Neurol.* 37 (1995): 30.
- ¹³⁸ Optic Neuritis Study Group (1997) The 5-year risk of MS after optic neuritis. Experience of the optic neuritis treatment trial. *Neurology* 49: 1404-1413.
- ¹³⁹ Lyons P.R., Newman P.K., Saunders M. (1988) Methylprednisolone therapy in multiple sclerosis: a profile of adverse effects. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* 51: 285-287.
- ¹⁴⁰ Kesselring J., Miller D.H., MacManus D.G., Johnson G., Milligan N.M., Scolding N., Compston D.A., McDonald W.I. (1989) Quantitative magnetic resonance imaging in multiple sclerosis: the effect of high dose intravenous methylprednisolone. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* 52: 14-17.
- ¹⁴¹ Boumpas D.T., Chrousos G.P., Wilder R.L., Cupps T.R., Balow J.E. (1993) Glucocorticoid therapy for immune-mediated diseases: basic and clinical correlates. *Ann. Intern. Med.* 119: 1198-1208.
- ¹⁴² Weiner H.L., Dau P.C., Khatri B.O., Petajan J.H., Birnbaum G., Mc Quillen M.P., Fosburg M.T., Feldstein M., Orav E.J. (1989) Double-blind study of true vs sham plasma exchange in patients treated with immuno suppression for acute attacks of multiple sclerosis. *Neurology* 39: 1143-1149.
- ¹⁴³ Lehmann-Horn F., Ludolph A.C. (2000) *Neurologische Therapie*, 3., neu bearbeitete und ergänzte Auflage. Urban&Fischer Verlag München, Jena.
- ¹⁴⁴ Brandt T., Dichgans J., Diener H.C. (1993) *Therapie und Verlauf neurologischer Erkrankungen*, 2., überarbeitete und erweiterte Auflage. Verlag W. Kohlhammer. Stuttgart, Berlin, Köln.
- ¹⁴⁵ Kraus J., Oschmann P., Engelhardt B., Schiel C., Hornig C., Bauer R. et al. (1998) Soluble and cell surface ICAM-1 as markers for disease activity in multiple sclerosis. *Acta. Neurol. Scand.* 98: 102-109.
- ¹⁴⁶ Kraus J., Oschmann P., Engelhardt B., Bauer R., Schiel C., Kern A. et al. (2000) Soluble and cell surface ICAM-3 in blood and cerebrospinal fluid of patients with multiple sclerosis: influence of methylprednisolone treatment and relevance as markers for disease activity. *Acta. Neurol. Scand.* 101: 135-139.

-
- ¹⁴⁷ Raffael A. (1988) Grundlagen der analytischen Durchflußzytometrie. *Labor-Medizin* 11: 89-97.
- ¹⁴⁸ Otten G., Yokoyama W.M. (1992) Flow Cytometry Analysis Using the Becton Dickinson FACScan. *Current Protocols in Immunology* 5.4.1 – 5.4.19.
- ¹⁴⁹ Thompson A.J., Miller D., Youl B., MacManus D., Moore S., Kingsley D., Kendall B., Feinstein A., McDonald W. (1992) Serial gadolinium enhanced MRI in relapsing/remitting multiple sclerosis of varying disease duration. *Neurology* 42: 60-63.
- ¹⁵⁰ Filippi M., Horsfield M.A., Bressi S., Martinelli V., Baratti C., Reganati P., Campi A., Miller D.H., Comi G. (1995) Intra- and inter-observer agreement of brain MRI lesions volume measurements in multiple sclerosis. A comparison of techniques. *Brain* 118: 1593-1600.
- ¹⁵¹ Khoury S.J., Guttmann C.R., Orav E.J., Hohol M.J., Ahn S.S., Hsu L. et al. (1994) Longitudinal MRI in multiple sclerosis: correlation between disability and lesion burden. *Neurology* 44: 2120-2124.
- ¹⁵² Miller D.H., Barkhof F., Nauta J.J. (1993) Gadolinium enhancement increases the sensitivity of MRI in detecting disease activity in multiple sclerosis. *Brain* 116: 1077-1094.
- ¹⁵³ Kraus J. (1999) ICAM-1, ICAM-3 und CD45RA in Liquor cerebrospinalis und Blut als Aktivitätsparameter bei der Multiplen Sklerose. Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin des Fachbereiches Humanmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen.
- ¹⁵⁴ Hartung H.P., Archelos J.J., Zielasek J., Gold R., Koltzenburg M., Reiners K.H. et al. (1995) Circulating adhesion molecules and inflammatory mediators in demyelination: a review. *Neurology* 45(Suppl 6): S22-S32.
- ¹⁵⁵ Giovannoni G., Lai M., Thorpe J., Kidd D., Chamoun V., Thompson A.J. et al. (1997) Longitudinal study of soluble adhesion molecules in multiple sclerosis: correlation with gadolinium enhanced magnetic resonance imaging. *Neurology* 48: 1557-1565.
- ¹⁵⁶ Rieckmann P., Nunke K., Burchhardt M., Albrecht M., Wiltfang J., Ulrich M. et al. (1993) Soluble intercellular adhesion molecule-1 in cerebrospinal fluid: an indicator for the inflammatory impairment of the blood-cerebrospinal fluid barrier. *J. Neuroimmunol.* 47: 133-140.
- ¹⁵⁷ Calabresi P.A., Pelfrey C.M., Tranquill L.R., Maloni H., McFarland H.F. (1997) VLA-4 expression on peripheral blood lymphocytes is downregulated after treatment of multiple sclerosis with interferon beta. *Neurology* 49: 1111-1116.
- ¹⁵⁸ Svenningsson A., Hansson G.K., Andersen O., Andersson R., Patarroyo M., Stemme S. (1993) Adhesion molecule expression on cerebrospinal fluid T lymphocytes: evidence for common recruitment mechanisms in multiple sclerosis, aseptic meningitis, and normal controls. *Ann. Neurol.* 34: 155-161.
- ¹⁵⁹ Kraus J., Oschmann P., Engelhardt B., Stolz E., Kuehne B.S., Laske C. et al. (2000) CD45RA+ ICAM-3+ lymphocytes in cerebrospinal fluid and blood as markers of disease activity in patients with multiple sclerosis. *Acta. Neurol. Scand.* 102: 326-332.
- ¹⁶⁰ Lassmann H., Vass K. (1995) Are current immunological concepts of multiple sclerosis reflected by the immunopathology of its lesions? *Springer Semin. Immunopathol.* 17: 77-87.
- ¹⁶¹ Cannella B., Cross A.H., Raine C.S. (1991) Adhesion-related molecules in the central nervous system. Upregulation correlates with inflammatory cell influx during relapsing experimental autoimmune encephalomyelitis. *Lab. Invest.* 65: 23-31.

-
- ¹⁶² Kobayashi Y., Kawai K., Honda H., Tomida S., Niimi N., Tamatani T., Miyasaka M., Yoshikai Y. (1995) Antibodies against Leukocyte Function-Associated Antigen-1 and against Intercellular Adhesion Molecule-1 together suppress the progression of experimental allergic encephalomyelitis. *Cellular Immunology* 164: 295-305.
- ¹⁶³ Bo L., Peterson J.W., Mork S., Hoffman P.A., Gallatin W.M., Ransohoff R.M. et al. (1996) Distribution of immunoglobulin superfamily members ICAM-1, -2, -3, and the beta 2 integrin LFA-1 in multiple sclerosis lesions. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 55: 1060-1072.
- ¹⁶⁴ Bruck W., Bitsch A., Kolenda H., Bruck Y., Stiefel M., Lassmann H. (1997) Inflammatory central nervous system demyelination: correlation of magnetic resonance imaging findings with lesion pathology. *Ann. Neurol.* 42: 783-793.
- ¹⁶⁵ Killestein J., Rep M.H.; Barkhof F., Roos M.T., Ader H.J., van Lier R.A., Polman C.H. (2001) Active MRI lesion appearance in MS patients is preceded by fluctuations in circulating T-helper 1 and 2 cells. *J. Neuroimmunol.* 118: 286-94.
- ¹⁶⁶ Kraus J., Engelhardt B., Chatzimanolis N., Bauer R., Tofighi J., Kuehne B.S. et al. (2002) Cell surface bound and soluble adhesion molecules in CSF and blood in multiple sclerosis: Correlation with MRI-measures of subclinical disease severity and activity. *J. Neuroimmunol.* 122: 175-185.
- ¹⁶⁷ Duran I., Martinez-Caceres E.M., Rio J., Barbera N., Marzo M.E., Montalban X. (1999) Immunological profile of patients with primary progressive multiple sclerosis. Expression of adhesion molecules. *Brain* 122: 2297-2307.
- ¹⁶⁸ Thompson A.J., Polman C.H., Miller D.H., McDonald W.I., Brochet B., Filippi M., et al. (1997) Primary progressive multiple sclerosis. *Brain* 120: 1085-96.
- ¹⁶⁹ Archelos J.J., Storch M.K., Hartung H.P. (2000) The role of B cells and autoantibodies in multiple sclerosis. *Ann. Neurol.* 47: 694-706.
- ¹⁷⁰ Huynh H.K., Oger J., Dorovini-Zis K. (1995) Interferon- β downregulates interferon-gamma-induced class II MHC molecule expression and morphological changes in primary cultures of human brain microvessel endothelial cells. *J. Neuroimmunol.* 60: 63-73.
- ¹⁷¹ Miller A., Lanir N., Shapiro S., Revel M., Honigman S., Kinarty A., Lahat N. (1996) Immunoregulatory effects of interferon-beta and interacting cytokines on human vascular endothelial cells. Implications for multiple sclerosis and other autoimmune diseases. *J. Neuroimmunol.* 64: 151-161.
- ¹⁷² Jiang H., Williams G.J., Dhib-Jalbut S. (1997) The effect of interferon- β -1b on cytokine-induced adhesion molecule expression. *Neurochem. Int.* Vol. 300: 449-453.
- ¹⁷³ Soilu-Hänninen M., Salmi A., Salonen R. (1995) Interferon- β downregulates expression of VLA-4 antigen and antagonizes interferon-gamma-induced expression of HLA-DQ on human peripheral blood monocytes. *J. Neuroimmunol.* 60: 99-106.
- ¹⁷⁴ Defazio G., Trojano M., Ribatti D., Nico B., Giorelli M., De Salvia R., Russo G., Roncali L., Livrea P. (1998) ICAM 1 expression and fluid phase endocytosis of cultured brain microvascular endothelial cells following exposure to interferon beta-1a and TNFalpha. *J. Neuroimmunol.* 88: 13-20.
- ¹⁷⁵ Tsukada N., Matsuda M., Miyagi K., Yanagisawa N. (1993) Adhesion of cerebral endothelial cells to lymphocytes from patients with multiple sclerosis. *Autoimmunity* 14: 329-333.

-
- ¹⁷⁶ Gelati M., Corsini E., Dufour A., Massa G., La Mantia L., Milanese C., Nespolo A., Salmaggi A. (1999) Immunological effects of in vivo interferon-beta 1b treatment in ten patients with multiple sclerosis: a 1-year follow-up. *J. Neurol.* 246: 569-73.
- ¹⁷⁷ Defazio G., Gelati M., Corsini E., Nico B., Dufour A., Massa G., Salmaggi A. (2001) In vitro modulation of adhesion molecules, adhesion phenomena, and fluid phase endocytosis on human umbilical vein endothelial cells and brain-derived microvascular endothelium by IFN-beta 1a. *J. Interferon Cytokine Res.* 21: 267-272.
- ¹⁷⁸ Eguchi K., Kawakami A., Nakashima M., Ida H., Sakito S., Matsuoka N., et al. (1992) Interferon-alpha and dexamethasone inhibit adhesion of T cells to endothelial cells and synovial cells. *Clin. Exp. Immunol.* 88: 448-454.
- ¹⁷⁹ Dhib-Jalbut S., Jiang H., Williams G.J. (1996) The effect of interferon- β -1b on lymphocyte-endothelial cell adhesion. *J. Neuroimmunol.* 71: 215-222.
- ¹⁸⁰ Secondary Progressive Efficacy Clinical Trial of Recombinant Interferon-beta-1a in MS (SPECTRIMS) Study Group (2001) Randomized controlled trial of interferon- beta-1a in secondary progressive MS: Clinical results. *Neurology* 56: 1496-1504.
- ¹⁸¹ Weinshenker B.G., O'Brien P.C., Petterson T.M., Noseworthy J.H., Lucchinetti C.F., Dodick D.W., Pineda A.A., Stevens L.N., Rodriguez M. (1999) A randomized trial of plasma exchange in acute central nervous system inflammatory demyelinating disease. *Ann. Neurol.* 46: 878-886.

7 Anhang

7.1 Protokoll zur Durchführung der FACS-Analyse

1. Die Blutprobe (5ml heparinisiertes Blut) wurde sofort nach Abnahme in der Poliklinik der Neurologischen Klinik Gießen auf Eis gekühlt.
2. Im Neurochemischen Labor erfolgte die Isolierung der peripheren Blutleukozyten (PBL) mittels Fiquoll-Paque-Gradient (Fa. Pharmacia Biotech, Uppsala/Schweden).
 - a) Verdünnung des Blutes mit PBS (pH 7,2) im Verhältnis 1:2.
 - b) Überschichtung von jeweils 5ml Ficoll-Paque-Gradient mit je 5ml des verdünnten Blutes.
 - c) 30 min. Zentrifugation (Zentrifuge Rotixa/RP, Fa. Hettich, Tuttlingen) bei 2400 r/min, Raumtemperatur, Bremse 0.
 - d) Abpipettieren der Interphase (vor allem Lymphozyten und Monozyten/Makrophagen) und Verteilen auf zwei Reagenzgläser.
 - e) Zweimaliger Waschvorgang: jeweils Auffüllen der Reagenzgläser mit PBS; 10 min. Zentrifugation bei 1800 r/min, Raumtemperatur; Verwerfen des Überstandes.
 - f) Aufnehmen der PBL in FACS-Puffer (PBS, 2,5% Kälberserum und 0,1% Natriumazid) und Messung der Zellzahl mittels Sysmex (Fa. TOA Medical Electronics, Hamburg).
 - g) Lagerung der PBL auf Eis und Transport in die Abteilung für Molekulare Zellbiologie des Max-Planck-Institutes Bad Nauheim.
3. Drei Stunden nach Aufnahme der PBL in FACS-Puffer wurde mit der Färbung der Zellen begonnen. Dabei wurde stets auf Eis gearbeitet.
 - a) Verdünnen der PBL-Suspension auf $1,2 \times 10^6$ Zellen/ml.
 - b) Ausplattieren der Zellsuspension zu je 100 μ l in 8 Vertiefungen einer Mikrotiterplatte.
 - c) 6 min. Zentrifugieren (Zentrifuge 4K10, Fa. Sigma, Osterode) der Platte bei 1400 r/min und 4°C.
 - d) Ausschlagen des Überstandes und kurzes Aufrütteln der Platte, um das Pellet zu lösen.
 - e) Färben der Probe nach Pipettierschema mit monoklonalen, durch Fluoreszenzfarbstoffe markierte Antikörper und Auffüllen der Vertiefungen mit FACS-Puffer auf je 100 μ l; dabei Antikörper vor Licht schützen.
 - f) 30 min. Inkubation auf Eis unter Ausschluss von Licht.
 - g) Dreimal Waschen: Vertiefungen jeweils mit FACS-Puffer auf 200 μ l auffüllen; 6 min. Zentrifugieren bei 1400 r/min und 4°C; Ausschlagen des Überstandes und Aufrütteln der Pellets.
 - h) Fixieren der Zellen durch Resuspendieren der Pellets mit je 300 μ l FACS-Storage-Puffer (PBS mit 1% Paraformaldehyd; 0,45 μ l filtriert) und Überführen in Minitubes.
 - i) Durchführung der FACS-Analyse am FACScan innerhalb von fünf Tagen nach Fixierung.

7.2 Tabellen

Tabelle 7.2.1:

Abschätzung der Inter-Observer-Reliabilität anhand von FACS-Analysen bei 3 verschiedenen Patienten durch Berechnung des Variabilitätskoeffizienten ($V = s/m \times 100$); m = Mittelwert; s = Standardabweichung; rfi = relative Fluoreszenzintensität).

	<i>rfi ICAM-1</i> <i>Untersucher 1</i>	<i>rfi ICAM-1</i> <i>Untersucher 2</i>	<i>m</i>	<i>s</i>	<i>V</i>
<i>CD3 icam1</i>					
Patient A	3,02	2,88	2,95	0,10	3,40
Patient B	3,12	3,21	3,17	0,06	1,89
Patient C	3,35	3,37	3,36	0,02	0,54
<i>CD19 icam1</i>					
Patient A	4,98	4,47	4,73	0,36	7,59
Patient B	3,12	3,14	3,13	0,02	0,57
Patient C	5,03	4,99	5,01	0,03	0,66
<i>CD14 icam1</i>					
Patient A	32,62	33,74	33,18	0,79	2,39
Patient B	32,50	35,82	34,16	2,35	6,87
Patient C	29,47	29,40	29,43	0,05	0,16

Tabelle 7.2.2:

Klinische Daten und Expression von cICAM-1 auf CD3+ T-Zellen und CD14+ Monozyten/Makrophagen in zwei Subgruppen von Patienten mit und ohne aktive Herde im kranialen MRT. Normalverteilte Daten als Mittelwert (m) und Standardabweichung (s) angegeben, nicht normalverteilte Daten als Median (M) und Minimal- bzw. Maximalwert. Irrtumswahrscheinlichkeit p zum Vergleich des jeweiligen Parameters in den beiden Subgruppen.

	Alle Patienten	Patienten mit aktiven Herden	Patienten ohne aktive Herde	p
Anzahl	77	28	49	
Geschlecht (männl./weibl.)	23/54	9/19	14/35	n. sign.
Alter: m (s)	33 (7,3)	33 (7,5)	34 (7,2)	n. sign.
Alter bei Erkrankungsbeginn in Jahren: m (s)	28 (6,8)	28 (5,9)	28 (7,3)	n. sign.
bisherige Erkrankungsdauer in Jahren: m (s)	5 (3,2)	5 (2,9)	6 (3,4)	n. sign.
EDSS: M (min-max)	2,0 (0,0-6,0)	2,5 (0,0-6,0)	2,0 (0,0-5,5)	n. sign.
cICAM-1 auf CD3+ T-Zellen: M (min-max)	4,7 (1,4-10,0)	4,3 (1,4-8,5)	5,1 (1,8-10,0)	n. sign.
cICAM-1 auf CD14+ Monozyten/Makrophagen: M (min-max)	41,0 (13,3-67,9)	40,8 (25,1-55,2)	41,2 (13,3-67,9)	n. sign.

Tabelle 7.2.3:

Deskriptive Statistik zum Vergleich der Fluoreszenzintensität von zellgebundenem ICAM-1 auf **CD3+ T-Zellen** im Blut in den beiden Patientengruppen (N = Fallzahl, fehl. = fehlende Werte, m = Mittelwert, std = Standardabweichung, min = Minimalwert, Q25/Q75 = Q25- bzw. Q75-Konfidenzintervall, M = Median, max = Maximalwert).

Gruppe	Monat	N	fehl.	m	std	min	Q25	M	Q75	max
Kontrolle	0	25	4	4.966	1.872	2.60	3.55	4.70	6.23	9.71
	3	25	4	5.072	2.578	2.30	4.01	4.62	5.26	16.35
	6	24	5	4.501	1.715	1.46	3.37	3.92	5.52	8.29
	9	16	13	5.300	2.622	0.47	3.79	4.78	6.88	11.57
	12	14	15	4.107	2.437	0.49	3.02	3.75	4.70	10.10
	15	14	15	4.204	2.002	1.30	2.55	4.01	5.78	7.48
	18	11	18	3.470	1.980	0.84	1.69	3.60	4.99	7.01
Interferon	0	24	1	4.425	1.930	1.53	3.01	4.29	5.46	9.42
	3	24	1	5.471	2.502	2.55	3.99	5.06	6.14	13.85
	6	21	4	5.431	2.409	1.66	3.71	5.20	6.30	11.89
	9	24	1	5.632	2.475	2.19	3.83	5.59	6.89	11.80
	12	19	6	4.887	2.050	2.15	3.48	4.42	5.44	9.07
	15	16	9	5.828	1.556	2.29	4.94	6.29	6.97	7.76
	18	13	12	4.185	2.410	0.88	2.89	3.71	5.34	8.30

Tabelle 7.2.4:

Deskriptive Statistik zum Vergleich der Fluoreszenzintensität von zellgebundenem ICAM-1 auf **CD19+ B-Zellen** im Blut in den beiden Patientengruppen (N = Fallzahl, fehl. = fehlende Werte, m = Mittelwert, std = Standardabweichung, min = Minimalwert, Q25/Q75 = Q25- bzw. Q75-Konfidenzintervall, M = Median, max = Maximalwert).

Gruppe	Monat	N	fehl.	m	std	min	Q25	M	Q75	max
Kontrolle	0	26	3	7.706	2.064	4.17	6.03	7.91	9.02	11.48
	3	25	4	7.681	2.443	3.56	5.84	7.85	9.40	13.07
	6	24	5	8.549	2.237	4.58	6.63	8.59	10.14	12.49
	9	16	13	7.979	2.511	0.10	6.91	8.77	9.24	11.14
	12	14	15	7.221	1.653	4.33	6.50	7.49	8.75	9.38
	15	14	15	7.889	1.999	4.28	6.86	7.77	8.42	13.05
	18	11	18	6.819	2.559	3.93	4.70	6.57	7.19	13.17
Interferon	0	24	1	7.841	2.243	4.63	6.28	7.34	9.24	13.56
	3	24	1	7.148	1.668	3.95	6.00	7.23	8.44	9.87
	6	20	5	7.218	2.203	3.69	5.43	7.10	8.94	11.11
	9	24	1	7.415	2.278	3.54	6.04	6.91	8.46	12.76
	12	18	7	6.543	1.712	3.42	5.18	6.65	7.73	9.90
	15	16	9	6.573	1.920	3.23	5.05	7.11	7.98	9.61
	18	12	13	6.718	2.188	2.20	5.66	6.86	7.82	10.22

Tabelle 7.2.5.:

Deskriptive Statistik zum Vergleich der Fluoreszenzintensität von zellgebundenem ICAM-1 auf **CD14+ Monozyten/Makrophagen** im Blut in den beiden Patientengruppen (N = Fallzahl, fehl. = fehlende Werte, m = Mittelwert, std = Standardabweichung, min = Minimalwert, Q25/Q75 = Q25- bzw. Q75-Konfidenzintervall, M = Median, max = Maximalwert).

Gruppe	Monat	N	fehl.	m	std	min	Q25	M	Q75	max
Kontrolle	0	26	3	43.67	10.24	31.80	36.67	41.40	48.22	67.89
	3	25	4	44.06	10.44	26.29	36.73	40.02	52.45	67.83
	6	24	5	40.45	7.97	27.79	35.86	39.41	43.71	66.18
	9	16	13	43.39	9.55	27.80	33.20	44.41	50.13	60.97
	12	15	14	38.27	11.24	21.20	28.83	34.80	49.75	60.47
	15	14	15	36.26	11.78	19.45	28.74	33.84	42.98	57.30
	18	11	18	33.44	6.88	25.57	27.27	32.97	41.11	44.40
Interferon	0	24	1	40.31	9.48	25.08	35.15	38.94	47.37	60.01
	3	24	1	43.69	9.19	28.77	38.59	43.28	49.33	65.59
	6	20	5	45.33	9.20	30.09	37.58	44.47	52.69	61.81
	9	24	1	44.27	9.38	30.58	38.22	40.93	49.48	71.18
	12	18	7	46.31	7.79	36.78	42.18	44.74	47.95	70.48
	15	15	10	46.87	10.60	27.84	36.83	49.25	52.09	67.39
	18	14	11	47.83	15.42	32.90	35.92	45.94	52.42	89.77

Tabelle 7.2.6.:

Vergleiche der verschiedenen Beobachtungszeitpunkte zum Ausgangswert in der Gruppe der unbehandelten Patienten mittels Wilcoxon-Rang-Test.

Unbehandelte Patienten: cICAM-1 auf CD3+ T-Zellen

Monat	N	Mittelwert	Std	Min	Median	Max	P
3	22	0,265	3,009	-4,75	-0,180	10,50	0,9625
6	22	-0,673	2,703	-6,47	-0,630	3,59	0,3176
9	13	0,208	3,358	-5,44	0,290	5,72	0,7869
12	12	-1,203	3,076	-6,42	-1,655	4,72	0,2661
15	12	-0,852	3,127	-5,24	-1,360	3,83	0,3804
18	9	-1,541	3,037	-7,65	-0,950	2,58	0,2031

Unbehandelte Patienten: cICAM-1 auf CD19+ B-Zellen

Monat	N	Mittelwert	Std	Min	Median	Max	P
3	23	-0,242	3,239	-6,27	-0,05	8,77	0,8024
6	23	0,808	3,009	-4,49	0,52	5,81	0,2083
9	13	0,958	4,360	-9,81	2,06	6,05	0,2734
12	13	-1,107	2,485	-6,56	-1,06	3,43	0,1514
15	13	0,638	2,643	-2,62	-0,55	5,31	0,8926
18	10	-0,596	3,840	-7,55	-0,29	5,27	0,5566

Unbehandelte Patienten: cICAM-1 auf CD14+ Monozyten/Makrophagen

Monat	N	Mittelwert	Std	Min	Median	Max	P
3	23	2,137	13,919	-25,38	2,37	33,12	0,6799
6	23	-3,590	9,634	-31,84	0,44	5,75	0,4413
9	13	2,178	12,792	-14,45	-3,60	28,57	0,6848
12	14	-7,247	16,271	-39,23	-6,31	19,52	0,1353
15	13	-6,166	17,857	-29,93	-6,07	20,24	0,3054
18	10	-8,311	13,151	-27,88	-9,88	10,06	0,084

Tabelle 7.2.7:

Vergleiche der verschiedenen Beobachtungszeitpunkte zum Ausgangswert in der Gruppe der behandelten Patienten mittels Wilcoxon-Rang-Test.

Behandelte Patienten: cICAM-1 auf CD3+ T-Zellen

Monat	N	Mittelwert	Std	Min	Median	Max	P
3	24	1,047	2,913	-4,41	1,255	9,92	0,0921
6	21	1,121	3,107	-5,71	0,890	7,01	0,0851
9	24	1,208	3,567	-5,62	1,240	6,91	0,1045
12	19	0,205	2,559	-4,56	0,020	5,47	1
15	16	1,181	2,697	-4,29	1,815	6,23	0,1167
18	13	-0,316	3,194	-5,70	-0,660	5,39	0,6355

Behandelte Patienten: cICAM-1 auf CD19+ B- Zellen

Monat	N	Mittelwert	Std	Min	Median	Max	P
3	24	-0,693	3,207	-9,09	-0,135	3,57	0,5410
6	20	-0,873	2,947	-7,85	-0,375	3,65	0,2943
9	24	-0,426	2,753	-5,38	-0,780	4,72	0,4607
12	18	-1,215	2,689	-8,71	-1,500	3,18	0,0614
15	16	-0,824	2,915	-5,01	-1,280	4,15	0,3755
18	12	-1,617	3,202	-7,83	-0,995	4,30	0,1294

Behandelte Patienten: cICAM-1 auf CD14+ Monozyten/Makrophagen

Monat	N	Mittelwert	Std	Min	Median	Max	P
3	24	3,379	9,987	-11,59	4,770	24,50	0,1573
6	20	5,371	13,826	-20,36	8,300	31,03	0,1140
9	24	3,955	2,051	-19,87	6,860	17,76	0,1077
12	18	5,724	14,383	-13,67	7,050	41,30	0,1297
15	15	5,495	15,975	-22,61	3,470	40,84	0,1514
18	14	8,981	19,950	-17,55	7,395	63,22	0,0906

Tabelle 7.2.8:

Anzahl der Responder und Nonresponder in den jeweiligen Subgruppen nach Beurteilung des Therapieerfolges anhand der entsprechenden MRT-Parameter.

MRT-Parameter	Responder	Nonresponder
Fläche aller Herde	16	14
Anzahl aller Herde	14	16
Fläche aller gadoliniumanreichernden Herde	13	17
Anzahl aller gadoliniumanreichernden Herde	13	17
Fläche aller Herde mit Ödem	4	26
Anzahl aller Herde mit Ödem	4	26
Fläche aller gadoliniumanreichernden Herde mit Ödem	7	23
Anzahl aller gadoliniumanreichernden Herde mit Ödem	8	22

Tabelle 7.2.9:

Einteilung der Patienten der Therapiegruppe in Responder und Nonresponder anhand der verschiedenen MRT-Parameter; Tests auf unterschiedliche Verläufe von cICAM-1 in den beiden Subgruppen; Irrtumswahrscheinlichkeit p mit Hilfe des ANOVA für nichtparametrische Verlaufsbeobachtungen ermittelt.

MRT-Parameter	Zellpopulation	Irrtumswahrscheinlichkeit
Gesamtfläche aller Herde	CD3+ T-Zellen	0,8966
	CD19+ B-Zellen	0,4595
	CD14+ Monozyten/Makrophagen	0,3055
Anzahl aller Herde	CD3+ T-Zellen	0,6637
	CD19+ B-Zellen	0,8642
	CD14+ Monozyten/Makrophagen	0,9045
Fläche der gadoliniumanreichernden Herde	CD3+ T-Zellen	0,4272
	CD19+ B-Zellen	0,2331
	CD14+ Monozyten/Makrophagen	0,4317
Anzahl der gadoliniumanreichernden Herde	CD3+ T-Zellen	0,4272
	CD19+ B-Zellen	0,2331
	CD14+ Monozyten/Makrophagen	0,4317
Fläche der Herde mit Ödem	CD3+ T-Zellen	0,3044
	CD19+ B-Zellen	0,6722
	CD14+ Monozyten/Makrophagen	0,6812
Anzahl der Herde mit Ödem	CD3+ T-Zellen	0,3044
	CD19+ B-Zellen	0,6722
	CD14+ Monozyten/Makrophagen	0,6812
Fläche der gadoliniumanreichernden Herde mit Ödem	CD3+ T-Zellen	0,3368
	CD19+ B-Zellen	0,0230
	CD14+ Monozyten/Makrophagen	0,3546
Anzahl der gadoliniumanreichernden Herde mit Ödem	CD3+ T-Zellen	0,3120
	CD19+ B-Zellen	0,0327
	CD14+ Monozyten/Makrophagen	0,3376

Tabelle 7.2.10:

Funktionelle Systeme (FS), Funktionsbeeinträchtigung nach WHO; modifiziert nach Sonderdruck aus J. Kesselring, Multiple Sklerose, Verlag Kohlhammer.

1.) Pyramidenbahn	
	Kraftmaß nach Medical Research Council
0	keine Aktivität
1	Muskelkontraktionen ohne Bewegungseffekt
2	Bewegung unter Ausschaltung der Schwerkraft
3	Bewegung gegen die Schwerkraft
4	Bewegung gegen einigen Widerstand
5	Bewegung gegen maximalen Widerstand
0	normal
1	abnorme Befunde ohne Behinderung
2	minimale Behinderung
3	leichte oder mittelschwere Paraparese oder Hemiparese (5-3), schwere Monoparese (3-1)
4	ausgeprägte Paraparese oder Hemiparese (3-1), mittelschwere Tetraparese (4-2), Monoplegie (0)
5	Paraplegie, Hemiplegie, ausgeprägte Tetraparese (2-1)
6	Tetraplegie
9	unbekannt
2.) Kleinhirn	
0	normal
1	abnorme Befunde ohne Behinderung
2	leichte Ataxie (benötigt keine Hilfe). Erkennbarer Tremor
3	mäßige Rumpf- oder Extremitätenataxie (benötigt Stock, Abstützen an Wänden, etc.)
4	schwere Extremitätenataxie (benötigt Stützen oder Hilfsperson)
5	Unfähigkeit zu koordinierten Bewegungen infolge Ataxie
9	unbekannt
	Zusatzbefunde (bezüglich Kraft)
0	Schwäche beeinflusst Untersuchungsergebnis nicht
1	Schwäche beeinflusst Untersuchung
9	unbekannt
3.) Hirnstamm	
0	normal
1	abnorme Untersuchungsbefunde
2	mäßiger Nystagmus oder anderweitig leichte Behinderung
3	ausgeprägter Nystagmus, deutliche Paresen von äußeren Augenmuskeln, mäßige Funktionsstörungen anderer Hirnnerven
4	deutliche Dysarthrie oder andere ausgeprägte Funktionsstörungen
5	Unfähigkeit zu sprechen oder zu schlucken
9	unbekannt

4) Sensorium	
0	normal
1	Abschwächung von Vibrationssinn oder Zahlenerkennen an 1 oder 2 Extremitäten
2	leichte Verminderung von Berührungs-, Schmerz- oder Lageempfinden
3	mäßige Verminderung von Berührungs-, Schmerz- oder Lageempfinden
4	deutliche Verminderung von Berührungs-, Schmerzempfindung und Propriozeption
5	weitgehender Sensibilitätsverlust in einer oder zwei Extremitäten
6	weitgehender Sensibilitätsverlust unterhalb des Kopfes
9	unbekannt
5) Blasen- und Mastdarmfunktion	
0	normal
1	leichter Harnverhalt, leichter Harndrang
2	mäßig ausgeprägtes Harn- und/oder Stuhlverhalten, mäßig ausgeprägter imperativer Harn- bzw. Stuhl drang, seltene Harninkontinenz, intermittierende Selbstkatheterisierung
3	häufige Urininkontinenz
4	beinahe konstante Katheterisierung und konstante Verwendung von Hilfsmitteln zur Stuhlentleerung
5	Verlust der Blasenfunktion
6	Verlust von Blasen- und Darmfunktion
9	unbekannt
6) Sehfunktion (Visus korrigiert)	
0	normal
1	Skotom, Visus größer als 1,2
2	schwächeres Auge mit Skotom und Visus 1,2 bis 0,6
3	schwächeres Auge mit ausgedehntem Skotom oder mäßige Gesichtsfeldeinschränkung aber mit maximalem Visus 0,6 bis 0,4
4	schwächeres Auge mit deutlicher Gesichtsfeldeinschränkung und maximalem Visus von 0,4 bis 0,2
5	schwächeres Auge mit maximalem Visus unter 0,2
6	Grad 5 plus maximaler Visus des besseren Auges von 0,2 oder weniger
9	unbekannt
7) Zerebrale Funktionen	
0	normal
1	Stimmungsschwankungen
2	leichte organische Wesensveränderung
3	mäßiggradige organische Wesensveränderung
4	ausgeprägte organische Wesensveränderung
5	schwere Demenz
9	unbekannt
Zusatzbefunde	
A	Spastizität (0 - nicht vorhanden, 1 - vorhanden, 9 - unbekannt)
B	Kontrakturen (0 - nicht vorhanden, 1 - vorhanden, 9 - unbekannt)
C	Haut (0 - kein Dekubitus, 1 - mind. 1 Dekubitus, 9 - unbekannt)
D	Harnwegsinfekt (0 - selten HWI, 1 - häufig HWI, 9 - unbekannt)
E	Sehnervenpapille (0 - keine temporale Abblassung, 1 - temporale Abblassung vorhanden)

Tabelle 7.2.11:

Leistungsskala (EDSS) nach Kurtzke J.F. 1983. Die Angaben der Grade beziehen sich auf die Untersuchung der funktionellen Systeme (FS, siehe Tabelle 7.2.10)

0.0	Normale neurologische Untersuchung (Grad 0 in allen funktionellen Systemen).
1.0	Keine Behinderung, minimale Abnormität in einem FS (d.h. Grad 1).
1.5	Keine Behinderung, minimale Abnormität in mehr als einem FS (mehr als 1mal Grad1).
2.0	Minimale Behinderung in einem FS (ein FS Grad 2, andere 0 oder 1).
2.5	Minimale Behinderung in zwei FS (zwei FS Grad 2, andere 0 oder 1).
3.0	Mäßiggradige Behinderung in einem FS (ein FS Grad 3, andere 0 oder 1) oder leichte Behinderung in drei oder vier FS (3 oder 4 FS Grad 2, andere 0 oder 1), aber voll gehfähig.
3.5	Voll gehfähig, aber mit mäßiger Behinderung in einem FS (Grad 3) und ein oder zwei FS Grad 2; oder zwei FS Grad 3; oder fünf FS Grad 2 (andere 0 oder 1).
4.0	Gehfähig ohne Hilfe und Rast für mindestens 500m. Aktiv während ca. 12 Stunden pro Tag trotz relativ schwerer Behinderung (ein FS Grad 4, übrige 0 oder 1).
4.5	Gehfähig ohne Hilfe und Rast für mindestens 300m. Ganztägig arbeitsfähig. Gewisse Einschränkung der Aktivität, benötigt minimale Hilfe, relativ schwere Behinderung (ein FS Grad 4, übrige 0 oder 1).
5.0	Gehfähig ohne Hilfe und Rast für etwa 200m. Behinderung schwer genug, um tägliche Aktivität zu beeinträchtigen, z.B. ganztägig zu arbeiten ohne besondere Vorkehrungen. (ein FS Grad 5, übrige 0 oder 1; oder Kombination niedrigerer Grade, die aber über die für Stufe 4.0 geltenden Angaben hinausgehen).
5.5	Gehfähig ohne Hilfe und Rast für etwa 100m. Behinderung schwer genug, um normale tägliche Aktivität zu verunmöglichen (FS Äquivalente wie Stufe 5.0).
6.0	Bedarf intermittierend oder auf einer Seite konstant der Unterstützung (Krücke, Stock, Schiene), um etwa 100m ohne Rast zu gehen.
6.5	Benötigt konstant beidseits Hilfsmittel (Krücke, Stock, Schiene), um etwa 20m ohne Rast zu gehen.
7.0	Unfähig, selbst mit Hilfe mehr als 5m zu gehen. Weitgehend an den Rollstuhl gebunden. Bewegt den Rollstuhl selbst und transferiert ohne Hilfe (FS-Äquivalente Kombinationen von mehr als zwei FS Grad 4 plus, selten Pyramidenbahn Grad 5 allein).
7.5	Unfähig, mehr als ein paar Schritte zu tun. An den Rollstuhl gebunden. Benötigt Hilfe für Transfer. Bewegt Rollstuhl selbst, aber vermag nicht den ganzen Tag im Rollstuhl zu verbringen. Benötigt evtl. motorisierten Rollstuhl (FS-Äquivalente wie 7.0).
8.0	Weitgehend an Bett oder Rollstuhl gebunden, pflegt sich weitgehend selbständig. Meist guter Gebrauch der Arme (FS-Äquivalente Kombinationen meist von Grad 4 plus in mehreren Systemen).
8.5	Weitgehend an Bett gebunden, auch während des Tages. Einiger nützlicher Gebrauch der Arme, einige Selbstpflege möglich (FS-Äquivalente wie 8.0).
9.0	Hilfloser Patient im Bett. Kann essen und kommunizieren (FS-Äquivalente sind Kombinationen, meist Grad 4 plus).
9.5	Gänzlich hilfloser Patient. Unfähig zu essen, zu schlucken oder zu kommunizieren (FS-Äquivalente sind Kombinationen von lauter Grad 4 plus).
10	Tod infolge MS.

Abkürzungen

Abb.	Abbildung
aktiv.	aktiviert
bzw.	beziehungsweise
CD	Cluster Designation
CT	Computertomogramm
EAE	Experimentelle Autoimmune Encephalitis
EDSS	Expanded Disability Status Scale nach J.F. Kurtzke
evtl.	eventuell
FACS	Fluorescence Activated Cell Sorter
FAEP	Frühe akustisch evozierte Potenziale
FITC	Fluoreszeinisothiocyanat
Fl	Fluoreszenzkanal
FS	Funktionelles System
FSC	Forward Scatter (Vorwärtsstreulicht)
Gd.	Gadolinium
HLA	Histokompatibilitätsantigen
HTLV	Humanes T-Zell Leukämie Virus
cICAM-1	zellständige Form des Intercellular Adhesion Molecule-1
sICAM-1	lösliche Form des Intercellular Adhesion Molecule-1
IFN	Interferon
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
ivIg	intravenöse Immunglobuline
JLU	Justus-Liebig-Universität
KM	Kontrastmittel
LFA	Leukocyte Function Antigen
LT	Lymphotoxin
m	Mittelwert
M	Median
MBP	Myelinbasisches Protein

MEP	Motorisch evozierte Potenziale
MHC	Major Histocompatibility Complex
MRT	Magnetresonanztomogramm
MS	Multiple Sklerose
NK-Zellen	Natürliche Killer Zellen
OB	Oligoklonale Banden
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
PBL	Periphere Blut Leukozyten
PBS	Phosphate Buffered Solution
PE	R-Phycoerythrin
r	Korrelationskoeffizient nach Spearman
r _{fi}	relative Fluoreszenzintensität
s	Standardabweichung
s.	siehe
s.o.	siehe oben
SSC	Sideward Scatter (Seitwärtsstreulicht)
SSEP	Somatosensibel evozierte Potenziale
Tab.	Tabelle
TGF- β	Transforming Growth Factor- β
TNF- α	Tumornekrosefaktor- α
u.a.	unter anderem
USA	United States of America
VEP	Visuell evozierte Potenziale
VCAM	Vascular Adhesion Molecule
VLA	Very Late Antigen
z.B.	zum Beispiel
ZNS	Zentrales Nervensystem

Oberflächenmarker für Leukozyten (CD: Cluster Designation)

CD3	T-Zellen
CD4	T-Helfer-Zellen
CD8	T-Suppressor-Zellen
CD11a/CD18	LFA-1

CD11b/CD18	Mac-1, $\alpha_m\beta_2$ -Integrin
CD14	Monozyten/Makrophagen
CD19	B-Zellen
CD45	Leukozyten
CD50	ICAM-3
CD54	ICAM-1

Einheiten

g	Gramm
h	Stunde
kD	Kilo-Dalton
kg	Kilogramm
min	Minute
ml	Milliliter
μg	Mikrogramm
μl	Mikroliter
ng	Nanogramm
nl	Nanoliter
r	Umdrehung
s	Sekunde

Beteiligung an wissenschaftlichen Publikationen

V e r ö f f e n t l i c h u n g e n

J. Kraus, P. Oschmann, B. Engelhardt, C. Schiel, C. Hornig, R. Bauer, A. Kern, H. Traupe, W. Dorndorf

Soluble and cell surface ICAM-1 in blood and cerebrospinal fluid as markers for disease activity in Multiple Sclerosis.

Acta Neurologica Scandinavica 1998: 98: 102-109.

J. Kraus, P. Oschmann, B. Engelhardt, R. Bauer, C. Schiel, A. Kern, E. Stolz, A. Traupe, W. Dorndorf

Soluble and cell surface ICAM-3 in blood and cerebrospinal fluid of patients with multiple sclerosis: influence of methylprednisolone treatment and relevance as markers for disease activity.

Acta Neurologica Scandinavica 2000: 101: 135-139

C. Laske, P. Oschmann, J. Tofighi, S.B. Kuehne, H. Diehl, T. Bregenzer, J. Kraus, R. Bauer, N. Chatzimanolis, A. Kern, H. Traupe, M. Kaps

Induction of sTNF-R1 and sTNF-R2 by interferon beta-1b in correlation with clinical and MRI activity.

Acta Neurologica Scandinavica 2001: 103: 105-113

J. Kraus, B. Engelhardt, N. Chatzimanolis, R. Bauer, J. Tofighi, B.S. Kuehne, C. Laske, E. Stolz, P. Frielinghaus, C. Schaefer, F. Blaes, H. Traupe, M. Kaps, P. Oschmann

Cell surface bound and soluble adhesion molecules in CSF and blood in multiple sclerosis: correlation with MRI-measures of subclinical disease severity and activity.

Journal of Neuroimmunology 2002: 122: 175-185

V o r t r ä g e

J. Kraus, P. Oschmann, B. Engelhardt, C. Schiel, C. Hornig, R. Bauer, A. Kern, H. Traupe, W. Dorndorf

Multiple Sclerosis immunology: Is the activation of the immunosurveillance in patients detectable by the parameters soluble and cell surface ICAM-1 in blood and cerebrospinal fluid?

Seventh Meeting of the European Neurological Society, Rhodos, 14.-18. Juni 1997.

P. Oschmann, R. Bauer, J. Tofighi, B. Engelhardt, C. Schiel, J. Kraus, C. Hornig, A. Kern, H. Traupe, W. Dorndorf

Immunmonitoring bei Interferon Beta-1b-therapierten Patienten - FACS-Analysen ICAM-1 und -3-positiver Zellen.

4. Liquor-Symposium der Deutschen Gesellschaft für Liquordiagnostik und Klinische Neurochemie, Leipzig, 28.-29. November 1997.

J. Kraus, B. Engelhardt, N. Chatzimanolis, R. Bauer, J. Tofighi, B.S. Kuehne, C. Laske, E. Stolz, C. Schaefer, F. Blaes, H. Traupe, M. Kaps, P. Oschmann

Expression of cell surface bound and soluble cellular adhesion molecules in CSF and blood in multiple sclerosis: Correlation with disease burden and activity assessed by cranial magnetic resonance imaging.

European CSF Symposium on Laboratory Diagnosis of Human Brain Injury and Inflammation: New and Old Markers in CSF and Blood, Marburg, 29.-30. September 2000.

C. Laske, P. Oschmann, J. Tofighi, B.S. Kuehne, H. Diehl, T. Bregenzer, J. Kraus, N. Chatzimanolis, R. Bauer, H. Traupe, M. Kaps

Are soluble tumor necrosis factor-receptor-1 (sTNF-R1) and sTNF-R2 suitable markers to identify subgroups of patients who are likely to respond better than others to treatment with interferon beta-1b in multiple sclerosis?

Eleventh Meeting of the European Neurological Society, Paris (Frankreich), 21.-25. April 2001.

Poster

J. Kraus, P. Oschmann, B. Engelhardt, C. Schiel, C. Hornig, R. Bauer, A. Kern, H. Traupe, W. Dorndorf

Clinical relevance of adhesion molecules (cell surface and soluble ICAM-1 and -3 in CSF and blood) as markers of disease activity in patients with Multiple Sclerosis.

5. Tagung des Arbeitskreises Adhäsionsmoleküle in der Deutschen Gesellschaft für Immunologie, Bad Nauheim, 18. und 19. Februar 1997.

J. Kraus, P. Oschmann, B. Engelhardt, C. Schiel, C. Hornig, R. Bauer, A. Kern, H. Traupe, W. Dorndorf

ICAM-1 and -3 positive cells in blood and cerebrospinal fluid as parameters for disease activity in patients with Multiple Sclerosis.

Meeting of the European Federation of Neurological Societies, Prag 4.-8. Juni 1997.

A. Kern, J. Kraus, C. Schiel, P. Oschmann, B. Engelhardt, R. Bauer, W. Dorndorf, H. Traupe
Multiple Sklerose: Vergleichende Studie von MRT, Klinik und immunologischen Parametern.
32. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Neuroradiologie, Berlin, 4.-6. September 1997.

J. Kraus, C. Schiel, A. Kern, P. Oschmann, B. Engelhardt, R. Bauer, H. Traupe, W. Dorndorf
Vergleich des MRT, der Klinik und immunologischer Parameter bei Patienten mit schubförmig-remittierender Multipler Sklerose.

70. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Neurologie, Dresden, 2.-4. Oktober 1997.

P. Oschmann, R. Bauer, J. Tofighi, B. Engelhardt, C. Schiel, J. Kraus, C. Hornig, A. Kern, H. Traupe, W. Dorndorf

Immunmonitoring bei Interferon Beta-1b-therapierten Patienten - FACS-Analysen ICAM-1 und -3-positiver Zellen.

70. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Neurologie, Dresden, 2.-4. Oktober 1997.

C. Schiel, J. Kraus, A. Kern, P. Oschmann, B. Engelhardt, R. Bauer, C. Hornig, H. Traupe, W. Dorndorf

Activity parameters in Multiple Sclerosis - clinical course, MRI and intercellular adhesion molecules.

Eighth Meeting of the European Neurological Society, Nizza (Frankreich), 6.-10. Juni 1998.

C. Laske, P. Oschmann, J. Tofighi, B.S. Kuehne, H. Diehl, J. Kraus, N. Chatzimanolis, R. Bauer, B. Engelhardt, A. Kern, H. Traupe, W. Dorndorf

Immunomodulatory effects of interferon beta-1b in vivo. Induction of soluble tumor necrosis factor-receptor 1 (sTNF-R1) and sTNF-R2.

ausgezeichnet mit dem Posterpreis anlässlich des 72. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Neurologie, Magdeburg, 30. September – 3. Oktober 1999.

J. Kraus, P. Oschmann, B. Engelhardt, B.S. Kühne, J. Tofighi, N. Chatzimanolis, R. Bauer, H. Diehl, C. Laske, E. Stolz, C. Schäfer, H. Traupe, M. Kaps

Correlation of adhesion molecules in blood with disease burden in cranial MRI of patients with multiple sclerosis.

Tenth Meeting of the European Neurological Society, Jerusalem (Israel), 18.-22.6. 2000.

J. Kraus, P. Oschmann, B. Engelhardt, B.S. Kühne, J. Tofighi, N. Chatzimanolis, R. Bauer, H. Diehl, C. Laske, E. Stolz, C. Schäfer, H. Traupe, M. Kaps
CSF levels of soluble ICAM-1 correlate with disease burden in multiple sclerosis assessed by cranial MRI imaging.

Tenth Meeting of the European Neurological Society, Jerusalem (Israel), 18.-22.6. 2000.

J. Kraus, P. Oschmann, B.S. Kühne, H. Diehl, R. Bauer, N. Chatzimanolis, J. Tofighi, C. Laske, E. Stolz, B. Engelhardt, C. Schäfer, H. Traupe, M. Kaps
Are cytokine levels in serum useful parameters to determine disease burden or activity in MS patients?

Tenth Meeting of the European Neurological Society, Jerusalem (Israel), 18.-22.6. 2000.

N. Chatzimanolis, R. Bauer, B. Engelhardt, J. Kraus, B.S. Kühne, J. Tofighi, M. Kaps, P. Oschmann

Long Term Effects of interferon beta-1b-therapy on cICAM-1 and -3.

Tenth Meeting of the European Neurological Society, Jerusalem (Israel), 18.-22.6. 2000.

J. Kraus, P. Oschmann, B. Engelhardt, B.S. Kühne, J. Tofighi, N. Chatzimanolis, R. Bauer, H. Diehl, C. Laske, E. Stolz, C. Schäfer, H. Traupe, M. Kaps
Correlation of adhesion molecules in blood with disease burden in multiple sclerosis assessed by cranial MRI imaging.

16th Congress of the European Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis (ECTRIMS), Toulouse (Frankreich), 6.-9. September 2000.

J. Kraus, N. Chatzimanolis, R. Bauer, B. Engelhardt, B.S. Kühne, J. Tofighi, M. Kaps, P. Oschmann

Long Term Effects of Interferon beta-1b-therapy on cICAM-1 and -3.

16th Congress of the European Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis (ECTRIMS), Toulouse (Frankreich), 6.-9. September 2000.

J. Kraus, P. Oschmann, B. Engelhardt, B.S. Kühne, J. Tofighi, N. Chatzimanolis, R. Bauer, H. Diehl, C. Laske, E. Stolz, C. Schäfer, H. Traupe, M. Kaps

Korrelation von Adhäsionsmolekülen im Blut und der „Disease Burden“ im kranialen MRT bei der Multiplen Sklerose.

73. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Neurologie, Baden-Baden, 27. September bis 1. Oktober 2000.

J. Kraus, P. Oschmann, B. Engelhardt, B.S. Kühne, N. Chatzimanolis, R. Bauer, J. Tofighi, H. Diehl, C. Laske, E. Stolz, C. Schäfer, H. Traupe, M. Kaps

Lösliches ICAM-1 im Liquor korreliert mit der Krankheitsaktivität im kranialen MRT bei der Multiplen Sklerose.

73. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Neurologie, Baden-Baden, 27. September bis 1. Oktober 2000.

J. Kraus, P. Oschmann, B.S. Kühne, H. Diehl, R. Bauer, N. Chatzimanolis, J. Tofighi, C. Laske, E. Stolz, B. Engelhardt, C. Schäfer, H. Traupe, M. Kaps

Sind Zytokinkonzentrationen im Serum nützliche Parameter zur Bestimmung der „Disease Burden“ oder der Krankheitsaktivität bei MS-Patienten?

73. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Neurologie, Baden-Baden, 27. September bis 1. Oktober 2000.

N. Chatzimanolis, R. Bauer, B. Engelhardt, J. Kraus, B.S. Kühne, J. Tofighi, C. Laske, E. Stolz, C. Schäfer, M. Kaps, P. Oschmann
Langzeiteffekte einer immunmodulatorischen Therapie mit Interferon beta-1b auf die Expression zellgebundener Adhäsionsmoleküle.
73. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Neurologie, Baden-Baden, 27. September bis 1. Oktober 2000.

J. Tofighi, B.S. Kühne, J. Kraus, C. Laske, N. Chatzimanolis, R. Bauer, H. Traupe, M. Kaps, T. Bregenzer, P. Oschmann
Long-term observation of adhesion molecules and cytokines in the serum of MS-patients treated by Interferon-beta-1b: preliminary results.
17th World Congress of Neurology, London (Großbritannien), 17.-22. Juni 2001.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Familienname: Bauer
Vorname: Roland Alfred
Geburtsdatum: 24. August, 1972
Geburtsort: Landsberg am Lech
Nationalität: deutsch
Familienstand: verheiratet
Konfession: römisch-katholisch

Schulausbildung

Grundschule: 1978-1982 Grundschule Pürgen
Gymnasium: 1982-1991 Gymnasium Landsberg

Zivildienst

09/1991-11/1992 Rettungsdiensthelfer beim Roten Kreuz in Landsberg am Lech

Hochschulstudium

10/1992-03/1993: Architektur an der Universität Stuttgart
04/1993-11/1999: Humanmedizin an der Justus-Liebig-Universität Gießen
März 1996: Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
September 1998: Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
November 1999: Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

Praktisches Jahr

1.Tertial: Innere Medizin am Hospital Clinico, Universitat de Valencia, Spanien, Chefarzt Prof. Dr. Redón
2.Tertial: Neurologie an der Neurologischen Universitätsklinik Gießen, Chefarzt Prof. Dr. M. Kaps
3.Tertial: Chirurgie am Ngwelezana Hospital, Empangeni, Südafrika, Chefarzt Dr. S. Morell

Weiterbildung

01.03.00 bis 31.07.00: AiP an der Psychiatrischen Klinik und Poliklinik der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz unter der Leitung von Prof. Dr. Benkert
01.08.00 bis 31.08.01: AiP an der Neurologischen Klinik des Städtischen Klinikums Karlsruhe (Leitung Prof. Dr. Dr. Druschky)
Seit 01.09.2002: Beschäftigung als Assistenzarzt an der Neurologischen Klinik des Städtischen Klinikums Karlsruhe (Leitung Prof. Dr. Dr. Druschky)

Danksagung

Bei Herrn PD Dr. Oschmann möchte ich mich für die interessante Fragestellung der Arbeit sowie die stets kompetente und hilfsbereite Betreuung bedanken.

Frau PD Dr. Engelhardt danke ich ebenfalls für die kompetente und freundliche Betreuung und die vielen konkreten Hilfestellungen nicht nur bei methodischen Problemen.

Ebenso gilt mein Dank Herrn Jörg Kraus für die vielen praktischen und freundschaftlichen Ratschläge, ohne die diese Arbeit in der vorliegenden Form nicht zustande gekommen wäre.

Für die gute Zusammenarbeit sowohl im fachlichen als auch im menschlichen Bereich bedanke ich mich bei Niko Chatzimanolis, Jasmin Tofighi, Hendrik Diehl, Sabina Kühne, Claudia Schäfer, Dr. Christoph Schiel, Dr. Erwin Stolz, Dr. Christoph Laske, Peter Laß-Tegethoff und Dr. Michael Hahn.

Mein besonderer Dank gilt den Mitarbeitern des Liquorlabors der Neurologischen Klinik der Justus-Liebig-Universität Gießen: Helga Weiser-Fichtner, Cornelia Roth, Marita Hölz, Manuela Pfeiffer, Hanne Reising und Simone Biebersdorf.

Bedanken möchte ich mich auch bei den Mitarbeitern der Abteilung für Molekulare Zellbiologie des Max-Planck/W.G. Kerckhoff-Instituts Bad Nauheim, insbesondere Herrn Prof. Dr. Werner Risau, Gabi Hoch, Martina Schulz, Stefan Hamm und Yvonne Reiss für die freundliche Unterstützung und das gute Arbeitsklima.

Für die aufwendige und kompetente Auswertung der MRT-Bilder danke ich Herrn Prof. Dr. H. Traupe und Herrn Dr. Andreas Kern.

Ebenso bedanke ich mich bei den Ärzten und beim Pflegepersonal der Neurologischen Klinik der JLU Gießen für die tatkräftige Unterstützung.

Dank gebührt auch Herrn Dr. Bregenzer für die Durchführung der aufwendigen und kompetenten statistischen Auswertungen.

Vor allem möchte ich mich bei den Patienten bedanken, die an der vorliegenden Untersuchung teilgenommen haben und ohne deren uneigennützigem Mitarbeit das Zustandekommen dieser Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Schließlich bedanke ich mich bei meinen Eltern, allen Freunden und vor allem bei meiner Frau Angelika, die mich über die ganze Zeit von der ersten Patientenprobe bis zur Fertigstellung der Arbeit unterstützt haben.