

3. Methodik

3. 1. Retrospektive Datenanalyse

Datenbasis ist die Datenbank MUSIS (Multiple Sklerose Informationssystem) [Schröder, 1999] des Jüdischen Krankenhauses Berlin, die Daten von Patienten mit Multipler Sklerose die am Jüdischen Krankenhaus Berlin betreut wurden und werden enthält. Es finden sich Angaben zu Ergebnissen der klinischen Untersuchungen, dem Behinderungsgrad gemessen mittels des EDSS [Kurtzke, 1983], MRT-Untersuchungen, medikamentöser Therapie und anderen Parametern (Laborparameter, Liquorparameter). Bei nicht vorhandenen oder unvollständigen Daten wurden die jeweiligen Krankenakten der Patienten gesichtet.

Die Krankenakten, der Neurologischen Klinik des Jüdischen Krankenhauses Berlin wurden retrospektiv für den Zeitraum Januar 1995 bis Oktober 2003 hinsichtlich dem Vorliegen von oligoklonalen Banden im Liquor, Alter und Geschlecht der Patienten, Alter zu Krankheitsbeginn, Krankheitsdauer, Behinderungsgrad (EDSS) sowie Krankheitsverlauf untersucht. Ebenso wurden Befunde der MRT Untersuchung, sowie gegebenenfalls von Zusatzinformationen, wie Spektroskopie, Biopsien und anderem, sowie Informationen zur Therapie überprüft.

Eingeschlossen wurden alle lumbalpunktierten MS Patienten bei denen keine oligoklonalen IgG Banden im Liquor nachgewiesen werden konnten, bzw. die identische oligoklonale Banden im Liquor und Serum hatten (Typ 4 [Anderson et al., 1994]), und die folgende Kriterien erfüllten: Klinisch sichere Multiple Sklerose nach den Diagnosekriterien von Poser [Poser et al., 1983] oder nach Kriterien von McDonald [McDonald et al., 2001].

Ausschlusskriterien waren:

Patienten mit möglicher MS, Patienten mit 2 bis 4 oligoklonalen Banden (grenzwertig positiver Typ 2a nach Wurster [Wurster, 2003]), Patienten mit über 2 isolierten und über 2 identischen Banden (Typ 3 nach Anderson [Anderson et al., 1994]), sowie Patienten mit erhöhtem IgG- Index.

Tabelle 3: Klassifikation der oligoklonalen Banden in der isoelektrischen Fokussierung. Nach Europäischem Konsens [Anderson et al., 1994] mit zusätzlicher Unterteilung nach Wurster [Wurster, 2003].

Typ		Banden
1		Keine Banden
2	a	2-3 isolierte Banden in Liquor
	b	≥ 4 isolierte Banden im Liquor
3	a	2- 3 isolierte Banden im Liquor und 2- 3 identische Banden
	b	≥ 4 isolierte Banden im Liquor und 2- 3 identische Banden
	c	2- 3 isolierte Banden im Liquor und ≥ 4 identische Banden
	d	≥ 4 isolierte Banden im Liquor und ≥ 4 identische Banden
4	a	2- 3 identische Banden in Liquor und Serum
	b	≥ 4 identische Banden
5		Paraproteinämie

Unter den 70 Patienten mit sicherer MS sind 5 Patienten die identische oligoklonale Banden im Liquor und Serum hatten, entsprechend der Klassifikation der oligoklonalen Banden, Typ 4 [Anderson et. al, 1994]. Vier Patienten hatten zusätzlich eine isolierte Bande im Liquor. Auch sie wurden in die Untersuchung miteinbezogen.

3. 1. 1. Übersicht der Liquorlabore

Von den 70 Patienten mit klinisch sicherer MS wurden 13 (18,6%) im Liquorlabor der Neurologischen Abteilung der Medizinischen Hochschule Hannover untersucht. Die Analyse der Liquores erfolgte mittels isoelektrischer Fokussierung und nachfolgender Silberfärbung. Die übrigen Untersuchungsbefunde stammen von verschiedenen anderen Liquorlaboren. Die folgende Tabelle stellt eine Übersicht der Labore und Methoden, in denen die Liquores der siebenzig OB negativen MS Patienten analysiert worden sind, dar.

Tabelle 4: Übersicht der verschiedenen Liquorlabore und Methoden

Krankenhaus	Methode	Anzahl
Medizinische Hochschule Hannover	PAGE ¹ , IEF ² und Silberfärbung	13
Charite Berlin	IEF ² und Silberfärbung	7
W.-Griesinger KH Berlin	IEF ² und Silberfärbung	7
Universitätsklinikum Benjamin Franklin Berlin	IEF ² und Silberfärbung	4
KEH Berlin	PAGE ¹ , IEF ² und Silberfärbung	3
Schloßparklinik Berlin	IEF ² und Silberfärbung	3
Carl-Thiem Klinikum Cottbus	IEF ² und Silberfärbung	2
St. Josephs KH Potsdam	IEF ² und Silberfärbung	2
Landesklinik Brandenburg	IEF ² und Silberfärbung	2
KBN Berlin	IEF ² und Silberfärbung	2
andere Krankenhäuser		14
unbekannt		11

¹Polyacrylamid Gel Elektrophorese, ²Isoelektrische Fokussierung

3. 1. 2. Kernspintomographie-Daten

Es wurden alle verfügbaren Kernspintomographie Befund-Daten der 70 OB negativen und 70 OB positiven MS Patienten, insbesondere hinsichtlich einer Gadoliniumaufnahme ausgewertet. Bei 68 der 70 OB negativen MS Patienten konnten die schriftlichen Befunde der durchgeführten Kernspintomographien erfasst werden. Bei 2 OB negativen MS Patienten konnten keine Angaben gefunden werden. Davon konnte bei einem Patienten wegen Platzangst kein MRT durchgeführt werden. Bei 4 OB positiven MS Patienten konnten ebenfalls keine MRT-Daten ausgewertet werden. Es wurde die mittlere Anzahl Gadoliniumaufnehmender Läsionen im kranialen sowie spinalen MRT bei den 70 MS Patienten ohne nachweisbare oligoklonale Banden, und bei den 70 OB positiven MS Patienten berechnet und verglichen. Wenn im MRT Befundbericht ‚multiple Gadoliniumaufnehmende Läsionen‘ ohne konkrete Angaben wie viele Läsionen Gadolinium aufnahmen befundet wurden, wurde dieses als 3 Gadoliniumaufnehmende Läsionen in diesem MRT gewertet. Dieses Vorgehen wurde in beiden Patientengruppen angewandt.

3. 2. Benigner Krankheitsverlauf

Ein benignen Krankheitsverlauf wurde für Patienten mit einem EDSS ≤ 3 und einer Krankheitsdauer von ≥ 10 Jahren definiert [Hawkins und McDonnell, 1999].

3. 3. Progressionsindex

Für die Berechnung des Progressionsindex wird folgend Formel verwandt:

$$\text{EDSS} / \text{Krankheitsdauer} = \text{Progressionsindex}$$

Der Progressionsindex wurde nur für Patienten die länger als ein Jahr krank waren berechnet.

3. 4. Paarweiser Gruppenvergleich

Zu den 70 MS Patienten ohne Nachweis oligoklonaler Banden, wurden aus der Datenbank MUSIS 70 MS Patienten nach einem Zufallsprinzip ausgewählt, die den OB negativen MS Patienten in Geschlecht, Manifestationsalter (Alter zu Beginn der Krankheit), Krankheitsverlauf (schubförmig remittierend oder primär chronisch progredient), Krankheitsdauer und dem Alter möglichst entsprachen. Um eine repräsentative Vergleichsgruppe von OB positiven Patienten zu erhalten, wurde nach dem jeweils bestmöglich passenden Patient (größtmögliche Übereinstimmung in Alter, Geschlecht, Alter zu Krankheitsbeginn und Krankheitsdauer) gesucht und wenn mehrere Patienten in Frage kamen, wurde aus dieser Gruppe nach einem Zufallsprinzip ein Patient ausgewählt. Es wurden OB negative MS Patienten mit einem primär chronisch progredienten Krankheitsverlauf mit primär chronisch progredienten OB positiven MS Patienten paarweise verglichen. OB negative MS Patienten mit einem schubförmig remittierenden Krankheitsverlauf wurden mit OB positiven MS Patienten mit einem schubförmig remittierenden oder schubförmig progredienten bzw. sekundär chronisch progredienten Krankheitsverlauf paarweise verglichen. OB negative MS Patienten mit einem sekundär chronischen Krankheitsverlauf, wurden mit entsprechenden OB positiven Kontrollen paarweise verglichen. Der für die oben beschriebenen Kriterien jeweils nächste passende Patient im Zufallsprinzip wurde als OB positive Kontrolle definiert.

3. 5. Liquorzytologie sowie Liquor- und Serumproteinanalyse der 205 OB positiven MS Patienten

Aus der Gruppe OB positiver MS Patienten der Datenbank MUSIS des Jüdischen Krankenhauses Berlin, wurde der Liquor von 205 Patienten mit sicherer MS im Liquorlabor der Neurologischen Klinik der Medizinischen Hochschule Hannover untersucht. Die Analyse der Zahl der oligoklonalen Banden erfolgte mittels isoelektrischer Fokussierung und nachfolgender Silberfärbung. Die Liquordaten, Zahl der oligoklonalen Banden, IgG- Index, prozentuale IgG-Synthese, Liquorzellzahl, Zahl der Erythrozyten im Liquor, der 205 OB positiven MS Patienten wurden der Datenbank des Liquorlabors der Neurologischen Klinik der Medizinischen Hochschule Hannover entnommen und daraus wurden die jeweiligen Quotienten wie folgt berechnet. Als Maß der intrathekalen IgG- Index-Produktion wurde der Liquor- IgG- Index nach folgender Gleichung berechnet [Link und Tibbling, 1977]:

$$\text{IgG- Index} = (\text{IgG- Index Liquor} \times \text{Albumin Serum}) / (\text{IgG- Index Serum} \times \text{Albumin Liquor})$$

Der Grenzwert für eine intrathekale IgG-Produktion liegt bei 0,7. Werte über 0,7 wurden als pathologisch gewertet.

Zusätzlich wurde als Maß der intrathekalen IgG-Synthese pro Tag die Formel nach Reiber und Felgenhauer [Reiber und Felgenhauer 1987], die die IgG-Synthese in mg/l angibt verwandt. Als oberer Grenzwert gilt im Liquorlabor der Neurologischen Klinik der Medizinischen Hochschule Hannover 0 mg/l.

Formel der IgG-Produktion nach Reiber und Felgenhauer:

$$\text{IgG-Synthese} = (\text{IgG CSF/ IgG Serum} - [0,8 \times \text{Wurzel} (\text{Alb CSF/ Alb Serum})^2 + 1,5] + 1,8) \times \text{IgG Serum} + 2$$

Die Werte 0,93 sowie 6 und 1,7 sind empirisch entwickelte Konstanten für IgG ausgehend von einer allgemeinen hyperbolischen Funktion, die für alle Immunglobulinklassen gültig ist und die Beziehung zwischen Liquor und Serum Albuminquotienten beschreibt.

Weiterhin wurde die prozentuale IgG-Synthese nach Reiber [1988] berechnet.

Die Formel lautet:

$$\text{IgG-Synthese nach Reiber-Felgenhauer (mg/l)} / \text{IgG CSF} \times 0,1$$

Die Liquorzellzahl wurde im Liquorlabor der Neurologischen Klinik der Medizinischen Hochschule Hannover mittels Fuchs-Rosenthal-Zählkammer bestimmt. Werte über $4/\mu\text{l}$ wurden als erhöht gewertet.

3. 6. Statistische Methoden

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem PC-Programm SPSS (Statistical Package for the Social Science). Zur Analyse von Unterschieden zwischen den beiden Gruppen wurde der nichtparametrische Wilcoxon-Test für zwei verbundene Stichproben verwandt. Für die zweifaktorielle Datenanalyse wurde das Statistikprogramm SAS verwandt. Für die Analyse der Zahl der oligoklonalen Banden, IgG-Index, und sonstiger Liquordaten und des EDSS wurden Mann-Whitney-U-Test, Kruskal-Wallis ANOVA sowie für die Korrelation, der Korrelationskoeffizient nach Spearman berechnet. Als signifikant wurden Ergebnisse gewertet, deren Irrtumswahrscheinlichkeit $p < 0,05$ war.